

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOSÉ GILDO RUFINO DE FREITAS

**Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Gênero *Protium*
(Burseraceae) que Ocorrem em um Fragmento de Mata Atlântica de
Pernambuco**

Dissertação apresentada pelo discente José Gildo Rufino de Freitas sob a orientação do Prof. Dr. Cláudio Augusto Gomes da Camara, ao **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de **Mestre em Química.**

RECIFE
PERNMABUO – BRASIL
AGOSTO 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Gênero *Protium*
(Burseraceae) que Ocorrem em um Fragmento de Mata Atlântica de
Pernambuco**

Por: JOSÉ GILDO RUFINO RUFINO DE FREITAS

Esta dissertação foi julgada para a obtenção do título de **Mestre em Química** e aprovada em ___/___/_____ pelo Programa de Pós-Graduação em Química, em sua forma final.

Banca Examinadora:

Prof^o. Dr. Cláudio Augusto Gomes da Câmara
Orientador – DQ/UFRPE

Prof^o. Dr. Roberto de Vasconcelos Antunes
Membro interno/UFRPE

Prof^o. Dr. Clécio Souza Ramos
Membro interno /UFRPE

Prof^a. Dra. Lourinalda Luiza Dantas Da Silva
Membro externo/UAST/UFRPE

“A natureza é exatamente simples, se conseguirmos encará-la de modo apropriado... Essa crença tem me auxiliado, durante toda a minha vida, a não perder as esperanças, quando surgem grandes dificuldades de investigação.”

Albert Einstein

DEDICATÓRIA

Aos meus pais João Rufino de Freitas e Júlia Ferreira de Freitas, minhas fontes maior de inspiração na vida, sempre com palavras certas, gestos de bondade e compreensão suprema comigo.

Aos meus irmãos, Marcelo Rufino (*In memoriam*), Marlene Rufino, Sônia Rufino, Gilvan Rufino, Gilson Rufino, Gerson Rufino e principalmente a João Rufino de Freitas Filho que sempre me incentivou e não deixou que desistisse no meio da caminhada, com seus conselhos e opiniões.

Aos meus sobrinhos, Juliano Rufino e Jucleiton Rufino, a quem eu sempre recorria para a montagem das estruturas químicas.

Aos meus filhos, Ana Júlia Rufino de Freitas, José Gildo Rufino de Freitas Filho e Maria Cecília Joana de Albuquerque Freitas, por serem as razões maiores da minha vida.

A toda minha família, que de uma forma ou de outra, contribuíram nesta caminhada.

Ao Prof. Dr. Cláudio Augusto Gomes da Câmara, pela orientação neste trabalho, pela paciência e confiança, pelo incentivo e por estar sempre disposto a ajudar e principalmente, pela amizade.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Cláudio Augusto Gomes da Câmara, orientador deste trabalho, pelo exemplo de pesquisador, incentivador, por acreditar na realização da pesquisa e por todo o suporte dado nesta caminhada.

Ao botânico Henrique Costa Hermenegildo da Silva da Pós-graduação em Engenharia Florestal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela identificação botânica das espécies estudadas.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Departamento de Química, pela oportunidade de desenvolver este trabalho de pesquisa, especialmente à pessoa do coordenador. A todos os Prof^o. do Mestrado, que foram decisivos e contribuíram grandemente para a minha formação.

Aos meus queridos e inesquecíveis colegas do Laboratório de Produtos Naturais Bioativos (LPNBIO): Ivelton, Ilzenayde Neves, Roberta Neves e especialmente ao amigo Marcílio Moraes pela ajuda indispensável nas extrações, testes e análises dos resultados, bem como o apoio, atenção e paciência.

À funcionária Ana Amâncio, do Programa de Pós-Graduação em Química pela presteza e simpatia com que sempre nos atendia. A Ana Katarina do COMUT/UFRPE, pelo empenho na solicitação de várias referências.

RESUMO

São encontradas em território brasileiro, cerca de 10% das espécies descritas em todo o planeta. Mesmo reduzida e fragmentada, principalmente no estado de Pernambuco, a Mata Atlântica continua a ter importância vital por guardar um dos maiores índices de biodiversidade do mundo. O presente trabalho tem como objetivo identificar os constituintes químicos voláteis por CG-FID e CG/EM, obtidos por hidrodestilação a partir das folhas de *Protium giganteum* (PG) e *P. aracouchine* (PA), coletadas em um fragmento de Mata Atlântica conhecido por Mata da Cruzinha, localizada no Engenho São José, município de Igarassu, litoral Norte de Pernambuco. Os rendimentos dos óleos obtidos foram similares (PG = 0.05±0.09% e PA = 0.04±0.06%). A rotação específica revelou que são dextrorrotatórios [α]_D = +1,7 para o óleo de PG e [α]_D = +4.4° para o óleo de PA). Trinta e dois e vinte e nove substâncias foram identificadas, representando 93.9% e 97.8% do total de óleo de PG e PA, respectivamente. Entre os trinta e dois constituintes identificados no óleo de PG, 93.6% são sesquiterpenos e β -Cariofileno(26.0 ± 0.8%), globulol (9.3 ± 0.2%), α -Cadinol (7.0 ± 0.5%), α -Humuleno (6.4 ± 0.1%) e Germacreno D (6.2 ± 0.3%) são os constituintes químicos majoritário. No óleo de PA, cerca de 95,9% referem-se aos sesquiterpenos. Por outro lado, os constituintes principais foram Espatulanol (31.8 ± 1.6%), α -cis-Bergamotene (8.8 ± 0.2 %) e Viridiflorol (9.7 ± 0.7%). Apesar do óleo essencial dessas espécies serem constituídas basicamente por compostos da dos sesquiterpenos, eles são qualitativamente e quantitativamente diferentes. Os dados encontrados para essas duas espécies de *Protium* são comparados e discutidos com os reportados na literatura para outras amostras congêneres coletadas em outras regiões do Brasil e do mundo.

PALAVRAS-CHAVE: Mata Atlântica, Burseraceae, *Protium* ssp., composição química, óleo essencial

ABSTRACT

They are found in Brazilian territory, about 10% of described species on the whole planet. Even reduced and fragmented, especially in the state of Pernambuco, the Atlantic Forest continues to be vital by saving one of the highest levels of biodiversity in the world. This paper aims to identify the volatile chemical components by GC-FID and GC / MS, obtained by hydrodistillation from the leaves of the *Protium giganteum* (PG) and *P. aracouchine* (PA), collected in a fragment of Atlantic Forest known as the Cruzinha Forest, located in Engenho São José, municipality of Igarassu, northern coast of Pernambuco. The oil yields obtained were similar (PG = $0.05 \pm 0.09\%$ and PA = $0.04 \pm 0.06\%$). The specific rotation revealed that they are dextrorotatórios [α] D = +1.7 for the oil PG and [α] D = +4.4 ° for oil PA). Thirty-two and twenty-nine substances were identified, representing 93.9% and 97.8% of the total oil of PG and PA, respectively. Among the thirty-two identified components in oil of PG, 93.6% are sesquiterpenes and β -Caryophyllene ($26.0 \pm 0.8\%$), globulol ($9.3 \pm 0.2\%$), α -cadinol ($7.0 \pm 0.5\%$), α -humulene ($6.4 \pm 0.1\%$) and germacrene D ($6.2 \pm 0.3\%$) are the majority of the chemical components. In BP oil, about 95.9% refer to sesquiterpenes. On the other hand, the main components were Spathulenol ($31.8 \pm 1.6\%$), α -cis-bergamotene ($8.8 \pm 0.2\%$) and Viridiflorol ($9.7 \pm 0.7\%$). In spite of the oils of these species are constituted by sesquiterpens basically, they are different qualitatively and quantitatively. The data found for these two species of *Protium* are compared and discussed with those reported in the literature for other counterparts samples collected in other regions of Brazil and the world.

Keywords: Atlantic rainforest, Burseraceae, *Protium* spp., Essential oil composition

LISTA DE FIGURAS

		Pg.
Figura 1	Mapa de Biomas do Brasil	01
Figura 2	Fragmento de Mata Atlântica, localizado da Mata de Cruzinha, litoral Norte de Pernambuco.	07
Figura 3	Aspectos foliares e dos frutos de duas espécies do gênero <i>Protium</i> que ocorrem no Bioma Mata Atlântica no litoral Sul de Pernambuco.	12
Figura 4	Folhas do <i>P.giganteum</i> e <i>P. aracouchine</i> .	18
Figura 5	Aparelho do tipo Clevenger utilizado na obtenção do óleos essencial das espécies de <i>Protium</i> .	19
Figura 6	Cromatogramas dos óleos essenciais das folhas das espécies de <i>Protium</i> e as estruturas químicas dos constituintes majoritários.	24
Figura 7	Monoterpenos identificados no óleo de <i>P. aracouchine</i> e <i>P. giganteum</i> .	28
Figura 8	Sesquiterpenos encontrados concomitantemente em <i>P. giganteum</i> e <i>P. aracouchine</i>	28
Figura 9	Espectro de massas das substâncias majoritárias identificadas no óleo A = <i>P. giganteum</i> e B = <i>P. aracouchine</i>	29

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Percentual de coleta por Bioma brasileiro das espécies do gênero <i>Protium</i> investigadas quanto a composição química do óleo essencial.	14
-----------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Rendimento, rotação específica e percentual relativo dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais de <i>P. giganteum</i> e <i>P. aracouchine</i> .	25
Tabela 2	Percentual de monoterpenos e sesquiterpenos identificados no óleo das folhas de espécies do gênero <i>Protium</i> .	30

LISTA QUADROS

Quadro 1	Percentuais dos constituintes químicos de óleos essenciais e óleos resinas encontradas como componentes principais em espécies do gênero <i>Protium</i> coletadas em diferentes regiões do Brasil	34
----------	---	----

SUMÁRIO

	Pg.	
1	Introdução	01
	1.1. Importância do estudo químico de óleos essenciais	05
2	Objetivos	10
	2.1. Geral	10
	2.2. Específicos	10
3	Potencial Químico e Biológico de Óleos Essenciais de Espécies do Gênero <i>Protium</i> .	11
4	Material e Métodos	16
	4.1. Coleta do material botânico	16
	4.2. Obtenção dos óleos	19
	4.3. Rotação Ótica.	20
	4.4. Análise e identificação química dos óleos essenciais das espécies de <i>Protium</i> por CG e CG/EM.	20
	4.4.1. Cromatografia Gasosa - Flame Ionization Detector – FID (CG-FID)	20
	4.4.2. Cromatografia Gasosa/Espectrometria de massas	21
	4.4.3. Identificação dos constituintes químicos do óleo essencial	21
5	Resultados e discussão	23
6	Conclusão	48
7	Referências Bibliográficas	49

1. INTRODUÇÃO

São encontradas em território brasileiro, cerca de 10% das espécies descritas em todo o planeta. Este importante acervo de recursos genético coloca o Brasil no grupo dos países denominados de megadiversos. Aproximadamente, 22% das espécies angiospermas são encontradas no Brasil e destas, cerca de 55 mil já foram identificadas e estão distribuídas nas diferentes formações vegetais do país (BICUDO & MENEZES, 1996).

As regiões geográficas, que apresentam as condições ambientais específicas, determinando a flora e a fauna características dessas regiões é denominada de Biomas. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) são encontrados no Brasil 6 biomas distintos (Figura 1)



Figura 1: Mapa de Biomas do Brasil (<http://www.ibge.gov.br> acessado em 17 de agosto de 2010)

Em geral, esses biomas podem ser classificados em aquáticos e terrestres. Os terrestres podem ser distinguidos de acordo com os seguintes critérios: Tipo de vegetação se é deserto, campo, matagal, savana ou floresta. Quanto à latitude, se

está nos trópicos, regiões temperadas quente, frio ou polar; quanto ao clima, se úmido, árido, continental ou marítimo, quanto ao tipo de solo e história geológica.

A Mata Atlântica é o terceiro maior bioma brasileiro que se estende por 4.000 km pela costa Atlântica entre o Rio Grande do Norte e Rio Grande do Sul.

Segundo a *Conservation International*, que é uma organização não governamental sediada em Washington D.C., que visa a proteção de áreas selvagens ou regiões marinhas de alta biodiversidade ao redor do globo, a Mata Atlântica é um dos 5 “hotspots” de biodiversidade mais valiosos da Terra. Compreende a segunda maior Reserva da Biosfera no mundo e aproximadamente 600 dos 900 unidades de conservação brasileiras. As Reservas de Mata Atlântica do Sudeste e da Costa do redescobrimento do Brasil foram declaradas Patrimônio Mundial pela UNESCO em 1992.

A flora da Mata Atlântica é exuberante. Com mais de 450 espécies de árvore / hectare (100 x 100 m) em alguns lugares, a biodiversidade é maior que na Amazônia. Sua estrutura e composição variam conforme a altitude, os solos, a temperatura e a precipitações. No nível do mar, ocorrem florestas de planície, mata ciliar e ecossistemas marinhos, como manguezais e restinga.

No Nordeste brasileiro a Floresta Atlântica, embora se pareça mais degradada quando comparada com outras regiões do Brasil, é considerada uma significativa área de endemismo da América do Sul (SILVA & TABARELLI, 2000).

Especificamente no Estado de Pernambuco, a monocultura da cana-de-açúcar continua sendo a principal utilização do solo, representando cerca de 40% da ocupação da zona da mata norte (CPRH, 2003). Esta situação é comum ao norte do Rio São Francisco, onde boa parte dos fragmentos florestais se encontra em áreas pertencentes as usinas de cana-de-açúcar e álcool, que têm voltado, recentemente,

maior atenção em relação à conservação dos recursos naturais (FARIAS et al., 2007).

Mesmo reduzida e fragmentada, principalmente no estado de Pernambuco, a Mata Atlântica continua a ter importância vital por guardar um dos maiores índices de biodiversidade do mundo. A Mata Atlântica abriga mais de 20 mil espécies de plantas, das quais 50% são endêmicas, ou seja, espécies que não existem em nenhum outro lugar do mundo. Comparada com a Floresta Amazônica, a Mata Atlântica apresenta, proporcionalmente, maior diversidade biológica. O bioma de Pernambuco, incluindo a mata atlântica é rica em plantas aromáticas. Entende-se como Bioma Mata Atlânticos, o conjunto de formações florestais e ecossistemas associados, conhecidos por: Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Estacional Decidual, manguezais, restingas, florestas de altitude, ilhas litorâneas, entre outras. A Floresta Atlântica se estendia sobre cadeias montanhosas litorâneas, formando uma faixa de largura variável, desde o Estado do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul. Ocupava aproximadamente 12% do território do Brasil. Hoje, porém, o que resta dessa cobertura original fica em torno de 8% (MITTERMEIER et al. 2005). A devastação nesse tipo de Bioma se inicia com o processo de ocupação territorial no Brasil, mais precisamente com o ciclo extrativista do pau-brasil, passando por vários ciclos exploratórios dos recursos naturais, acelerando cada vez mais a ação predatória, sem qualquer preocupação quanto à proteção ambiental. Dentre as plantas de grande interesse químico e biológico, devido à produção de óleos essenciais, têm-se as plantas aromáticas. De acordo com a International Standardization Organization (ISO), óleos essenciais ou, óleos voláteis são substâncias químicas obtidas de partes das plantas através de destilação por arraste

por vapor d'água. A volatilidade destes constituintes é uma característica de grande relevância dos óleos essenciais e que necessitam de uma investigação química minuciosa e sistemática para identificação da composição química para descoberta de novos compostos para serem utilizados como matéria prima na química fina para vários setores industriais, tais como, agrícola, de alimentos, cosmética e farmacêutica.

Há muito tempo, as áreas cobertas pela Floresta Atlântica em todo o litoral brasileiro vêm sofrendo, historicamente, uma crescente e permanente devastação (BOREM & RAMOS, 2001). Em especial no Nordeste e especificamente em Pernambuco, a introdução e a expansão das grandes monoculturas exigiram cada vez mais a substituição da vegetação natural, deixando a paisagem original bastante modificada, sobretudo nas áreas planas, transformando as áreas de Floresta Atlântica em fragmentos de vegetação secundária (BRANDÃO et al., 2009).

As conseqüências mais alarmantes para a devastação da Floresta Atlântica se apresentam na Região Nordeste em sua forma mais contundente, a qual se encontra extremamente fragmentada. Entre os Estados da região, Pernambuco é um dos mais desmatados e menos protegido devido, em grande parte, ao ciclo exploratório da cana-de-açúcar. Seus fragmentos possuem diferentes tamanhos, formas, graus de isolamento, tipos de vizinhança e históricos de perturbação, que comprometem a composição, estrutura e dinâmica da floresta, tendo a perda de biodiversidade como o principal impacto ambiental para o processo de isolamento (VIANA, 1990; COIMBRA-FILHO & CÂMARA 1996, LIMA & CAPOBIANCO 1997).

Apesar de fragmentada, a Floresta Atlântica ainda detém uma das maiores diversidades biológica do planeta e, portanto, estudos que possibilitem a sua

conservação, preservação, manejo e recuperação devem ser fundamentais e prioritários.

De acordo com MARANGON *et al.* (2003), para que se estabeleça uma base para a compreensão da dinâmica das espécies arbóreas, estudos florísticos e fitossociológicos se tornam imprescindíveis, haja vista que envolvem o estudo das inter-relações de espécies vegetais normalmente em comunidades arbóreas. Estudos como esses, se baseiam no conhecimento quantitativo da composição, estrutura, funcionamento, dinâmica, distribuição e relações ambientais da comunidade vegetal em foco. Nesse contexto, o estudo investigativo do conhecimento químico de comunidades vegetais que são produtoras de óleo essencial contribuirá para o melhor entendimento destas relações ambientais entre as diferentes comunidades vegetais, ao mesmo tempo em que contribuirá para preservação do potencial químico, em especial encontrados nas plantas aromáticas por meio da apropriação do conhecimento da composição química de óleos essenciais dessas espécies, com risco de extinção, as quais ocorrem naturalmente em fragmentos da Mata Atlântica do litoral pernambucano.

1.1. Importância do estudo químico de óleos essenciais

Com a crescente demanda no mercado de óleos essenciais, utilizados para fins de perfumaria, cosméticos e terapêuticos, diversas espécies nativas brasileiras vêm sendo exploradas, ainda que em pequena escala, em diversas regiões.

O termo óleo essencial é empregado para designar líquidos oleosos voláteis dotados de forte aroma, quase sempre agradável e extraído principalmente de plantas (UGAZ, 1994). Produzidos como metabólitos secundários de algumas plantas, estão associados a várias funções necessárias à sobrevivência do vegetal

em seu ecossistema, exercendo um papel fundamental na defesa contra microorganismos e predadores, e também na atração de insetos e outros agentes polinizadores (SIANI, *et al.*, 2000) que atuam na dispersão da planta (BAKKALI *et al.*, 2008). Podem ser obtidos de flores, folhas, frutos, sementes, grammas, raízes, rizomas e caules das plantas, por evaporação ou hidrodestilação, técnicas praticadas desde a Idade Média pelos árabes. São conhecidos por suas propriedades antissépticas, bactericidas, fungicidas, além de sua fragrância.

Os óleos essenciais constituem os elementos voláteis contidos em vários tecidos da planta e assim são denominados devido à composição lipofílica que apresentam quimicamente diferentes da composição glicerídica dos verdadeiros óleos e gorduras.

A literatura tem reportado vários resultados de que óleos essenciais, de diferentes fontes vegetais possuem propriedade antifúngica, antiviral, antioxidantes e inseticidas (BURT, 2004; KORDALI *et al.*, 2005). Alguns desses óleos têm sido usados no tratamento de câncer (SYLVESTRE *et al.*, 2006), na preservação de alimentos (FAID *et al.*, 1995), aromaterapia (BUTTNER *et al.*, 1996) e na indústria de perfume, cosmético (VAN DE BRAAK; LEIJTEN, 1999).

Dessa forma, pode-se concluir que óleos essenciais são fontes de compostos biologicamente ativos. Por isso, o grande interesse de conhecer o potencial químico da flora aromática por meio da identificação dos constituintes de óleos essenciais de espécies que crescem naturalmente em nosso bioma (MILHAU *et al.*, 1997).

Nesse contexto, como área de coleta vegetal das espécies aromáticas para estudo dos constituintes químicos de óleos essenciais a partir da flora aromática de Pernambuco, o local escolhido foi o fragmento de Mata Atlântica, localizado no município de Igarassu, litoral norte de Pernambuco (Figura 1). Essa região

apresenta vegetação de domínio da floresta ombrófila densa, resquícios de Mata Atlântica (VELOSO & GÓES-FILHO, 1982).

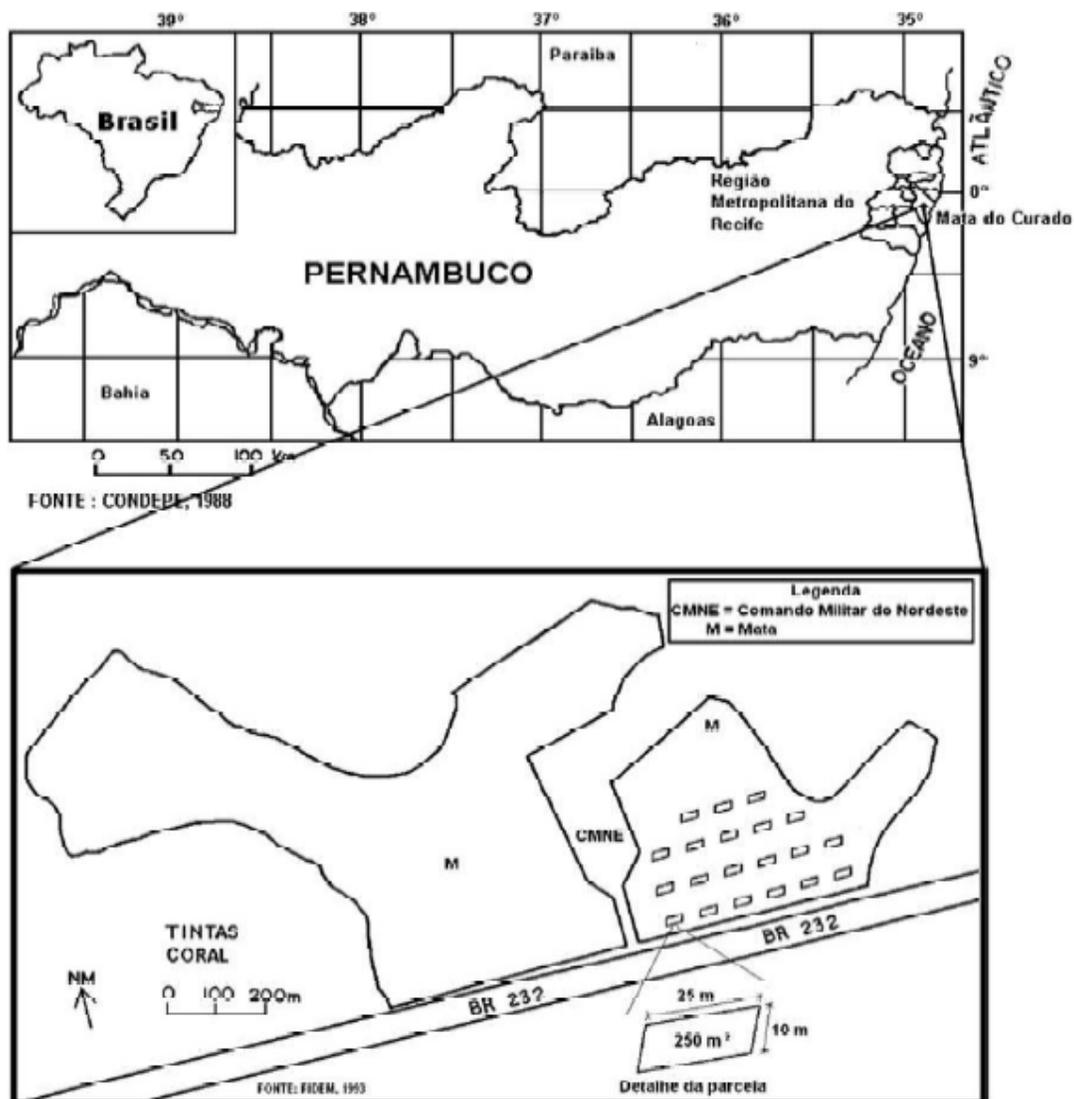


Figura 2: Fragmento de Mata Atlântica, localizado da Mata de Cruzinha, litoral Norte de Pernambuco. Croqui descrito por Alves –Junior et al. (2007).

Nessa região fica sediada a Usina São José, a qual é dividida em engenhos, distribuídos em 106 áreas de fragmentos florestais, correspondendo a 66,639 km² e destes apenas 16% são superiores a 100 ha, a maior parte com forma irregular e situada em terrenos de encosta e vales estreitos (TRINDADE et al., 2007).

Dentre as espécies que ocorrem nesse fragmento de Mata Atlântica, destacam-se as espécies pertencentes ao gênero *Protium* da família Burseraceae. A família Burseraceae compreende 21 gêneros e cerca de 600 espécies distribuídas principalmente na América do Sul e no continente africano. Em regiões neotrópicas, esta família é amplamente representada pelo gênero *Protium* com 135 espécies. No Brasil, a região de maior distribuição e diversificação de espécies dessa família é a região amazônica. Mas, espécies do gênero *Protium* podem ser facilmente encontradas no litoral brasileiro, nos fragmentos da Mata Atlântica. Espécies desse gênero se caracterizam pela produção de óleos essenciais e por exsudarem resinas aromáticas, os quais são responsáveis pela reputação destas espécies na etnobotânica em regiões onde ocorrem.

Espécies do gênero *Protium* têm sido usadas na medicina popular com tônico, estimulante, anti-inflamatório, analgésico, no tratamento de tosse, ulcera e hemorragias (COSTA, 1994; CORRÊA, 1987; POTT, 1994; SIANI et al., 1999a). Outras aplicações incluem a produção de incensos a partir dos de óleos resinas ou o seu uso como repelente de insetos (PERNET, 1972; CORRÊA, 1987).

Análise química de espécies do gênero *Protium* tem revelado para estas espécies uma fonte segura de compostos terpenóides. Quanto ao potencial biológico de espécies desse gênero, vários estudos têm mostrado que estas atividades estão relacionadas, principalmente com a presença de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides em diferentes partes do vegetal, inclusive no óleo essencial (AHMED et al., 1994; DORMAN & DEANS, 2000).

As espécies pertencentes ao gênero *Protium*, selecionadas para investigação da composição química do óleo essencial foram: *Protium giganteum* e *Protium*

aracouchine. Até o momento, nenhum trabalho tem sido publicado com relação à composição química dessas duas espécies do gênero *Protium*.

A compreensão da dinâmica das espécies arbóreas a partir das investigações florística, fitossociológicas e fitoquímica, por envolver o estudo das interações dessas espécies nativas e desconhecidas (quanto ao potencial químico e biológico) em uma comunidade vegetal degradada, auxilia na recuperação da vegetação original além de promover descobertas das potencialidades química e biológicas de grande utilidade para o homem.

Nesse contexto, como parte de um estudo sistemático de contribuição ao conhecimento químico da flora aromática de Pernambuco, este trabalho relata, pela primeira vez, a composição química das folhas de duas espécies do gênero *Protium* que ocorrem no fragmento de mata atlântica, localizado no litoral norte de Pernambuco.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Identificar os constituintes químicos do óleo essencial de duas espécies pertencentes ao gênero *Protium* (Burseraceae) que ocorrem naturalmente em fragmentos da mata atlântica no litoral Norte de Pernambuco.

2.2. Específicos

2.2.1- Identificar os constituintes químicos dos óleos essenciais das folhas de *Protium giganteum* e *Protium aracouchine* por Cromatografia gasosa (CG-FID) e Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM)

2.2.2- Mensurar os rendimentos químicos e a rotação específica dos óleos essenciais obtidos por hidrodestilação das espécies estudadas

2.2.3- Comparar a composição química obtida para as espécies que ocorrem no bioma de Pernambuco com espécies congêneres que ocorrem em outras regiões do Brasil e/ou do mundo.

3- POTENCIAL QUÍMICO E BIOLÓGICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Protium*.

A família Burseraceae compreende aproximadamente 600 espécies e 21 gêneros. As espécies da família Burseraceae se notabilizam por exsudar uma resina oleosa rica em óleos essenciais e triterpenos. A família compreende 21 gêneros com aproximadamente seiscentas espécies (WEEKS et al., 2005).

A família Burseraceae é distribuída em três tribos: Protieae (4 gêneros), Bowellieae (8 gêneros) e Canarieae (9 gêneros). O gênero *Protium* é o maior e mais heterogêneo da tribo Protieae. As espécies ocorrem predominantes nas regiões tropicais.

Na região tropical, essa família é amplamente representada pelo gênero *Protium*, com cerca de 150 espécies distribuídas em todo o Brasil, especialmente na região Amazônica. Mais de 80% destas espécies da família Burseraceae, que cresce naturalmente na região amazônica, pertencem a este gênero (KHALID , 1983).

Espécies deste gênero são caracterizadas pela presença de óleo essencial e óleo resina, que se encontram armazenadas em diferentes partes da planta. A família Burseraceae quase sempre tem traços de látex branco resinoso tanto em seus ramos, como dispersos em formas de gotículas em talhos feitos na casca. Ferimentos nos troncos são caracterizados pelo esbranquiamento, devido à rápida secagem da resina aromática. A resina é utilizada também na indústria de verniz e calefetação de embarcações e outros objetos de madeira, e também é popularmente queimada pela sua ação repelente de insetos.

Espécies deste gênero na medicina popular são utilizadas para o tratamento de endemias populares e consideradas como importantes agentes terapêuticos e

são usadas como antiinflamatório, analgésico, expectorante e cicatrizante (BANDEIRA et al., 2002 e MAIA et al., 2000; CORRÊA, 1987; SIANI et al., 1999b).

Desta forma, atualmente os estudos envolvendo os óleos essenciais extraídos destes gêneros têm merecido atenção especial.

O mercado internacional é muito receptivo a este tipo de resina, por exemplo, como fonte de fixadores para tintas artísticas, uma propriedade devido a riqueza de triterpenos nas resinas de *Protium ssp*

Estes óleos essenciais podem ser obtidos de diferentes partes da planta, como resina, caule, folhas e frutos. É preciso salientar ainda, que diferenças quantitativas e qualitativas, na composição química destes óleos, são encontradas quando se trabalha com óleos extraídos de partes diferentes de uma mesma planta ou até da mesma espécie que cresce em diferentes regiões.

Em Pernambuco, são facilmente encontradas em regiões arenosas, com solo seco e úmido, como no fragmento de floresta ombrófila densa, localizado no município de Igarassu e nas restingas, como podem ser encontradas as espécies *P. heptaphyllum* e *P. bahianum* no litoral Sul, na praia de Tamandaré (Figura 3).



Figura 3 *Protium bahianum* e *Protium heptaphyllum* que ocorrem no Bioma Mata Atlântica no litoral Sul de Pernambuco.

Portanto, devido a importância dos óleos resinas, bem como dos óleos essenciais de espécies do gênero *Protium*, como descrito acima, o conhecimento prévio da constituição química de óleos de novas espécies deste gênero que ocorrem em um fragmento de mata atlântica, em Pernambuco torna-se fundamental para uso e aproveitamento pelas indústrias química, farmacêutica, cosmética e de perfumes. Poucas espécies desse gênero, que ocorrem aqui em Pernambuco têm sido objeto de estudo investigativo quanto à composição química do óleo essencial. De acordo com o levantamento bibliográfico, o gênero *Protium* é rico em compostos pertencentes à classe dos terpenóides.

Com o intuito de levantar os tipos de trabalhos publicados relacionados com a investigação química do óleo essencial de espécies pertencentes ao gênero *Protium*, realizou-se uma pesquisa bibliográfica de espécies do gênero *Protium* utilizando a ferramenta de busca, SciFinder Scholar™ 2007. O levantamento abrangeu trabalhos publicados em periódicos indexados no período de 1980 a 2010. Utilizou-se como palavra chave o termo *Protium*. Em seguida, o resultado inicialmente obtido foi refinado com as palavras: “Oil”, “volatile” e “Essential oil”.

Com base no levantamento bibliográfico referente ao estudo químico dos componentes voláteis das espécies de *Protium*, pouco mais de 10% dessas espécies têm sido investigadas. Observou-se ainda que espécies desse gênero botânico têm sido investigados quanto à sua ação antiinflamatória, antioxidante, acaricida, citotóxica, antimicrobiana, antinoceptiva e contra o trematódeo causador da esquistossomose.

Como o foco desse trabalho dissertativo é o perfil químico dos constituintes identificados nos óleos essenciais de espécies do gênero *Protium*, o levantamento foi direcionado apenas para a composição química dos óleos essenciais ou óleo

resinas, com o intuito de se comparar o perfil químico obtido para as espécies coletadas no Bioma Mata Atlântica de Pernambuco com os reportados nesse levantamento para amostras congêneres coletadas em outras regiões.

Como resultado do levantamento bibliográfico realizado, vinte espécies tem sido encontradas e estudos relacionados à composição química do óleo essencial obtido a partir de diferentes partes da planta têm sido reportados em sua grande maioria com espécies investigadas a partir dos biomas brasileiros (Anexo 1).

Todas as espécies descritas no anexo 1 foram coletadas no Brasil, com exceção da espécie *P. confusum* e *P. neglectum*, que foram coletadas no Panamá e Venezuela, respectivamente.

Das 25 publicações obtidas a partir do levantamento bibliográfico relacionado às 20 espécies do gênero *Protium*, 18 trabalhos foram realizados com espécies coletadas a partir dos Biomas brasileiros. Dos seis biomas, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, essas espécies foram coletadas em quatro. O gráfico 1 mostra o percentual de trabalhos publicados relacionados a composição química do óleo essencial de espécies do gênero *Protium* coletadas nos quatro biomas do Brasil.

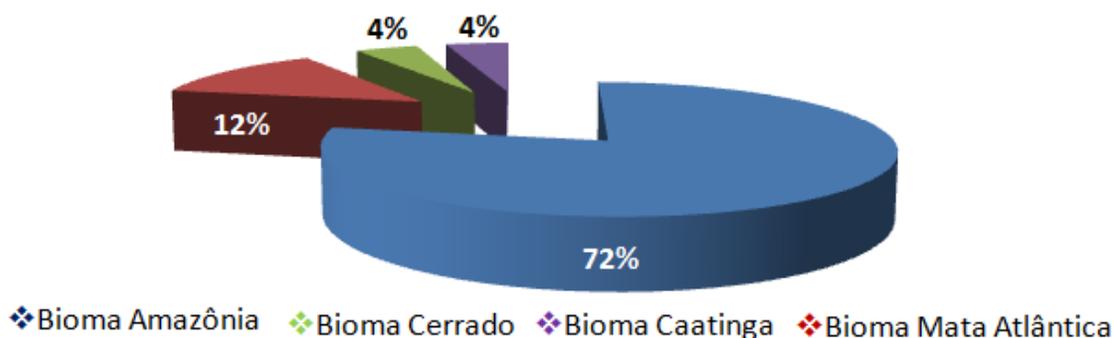


Gráfico 1: Percentual de coleta por Bioma brasileiro das espécies do gênero *Protium* investigadas quanto a composição química do óleo essencial.

Dos sete estados do Brasil que as espécies de *Protium* foram coletadas, o do Amazonas foi o que teve o maior número de espécies coletadas (13), seguidos do Pará (6), Pernambuco e Acre com duas cada, e Piauí, Paraíba e Ceará com uma espécie coletada. A espécie *P. heptaphyllum* foi a mais investigada e a única coletada em todos os estados mencionados acima.

Basicamente, a grande maioria das espécies descritas no levantamento bibliográfico foi coletada no Bioma Amazônia. São elas: *P. spruceanum*, *P. panicullatum*, *P. heptaphyllum*, *P. copal*, *P. icicariba*, *P. decandrum*, *P. elegans*, *P. unifoliolatum*, *P. grandifolium*, *P. hebetatum*, *P. lewellyni*, *P. paraense*, *P. strumosum*, *P. pilosum*, *P. subserratum*, *P. heptaphyllum* subsp. *Heptaphyllum*, e *P. heptaphyllum* subsp. *ulei*. Por outro lado, no Bioma Mata Atlântica foram: *P. heptaphyllum*, *P. bahianum* e, por fim, a espécie *P. heptaphyllum*, que foi coletada nos Biomas, Cerrado e Caatinga.

As partes da planta que foram objeto de investigação dessas espécies foram bastante variadas, indo desde os frutos, folhas, caule e resinas, estendendo-se para a casca do caule e galhos finos e ramos (estes último com relação a computação dos dados no Anexo 1, foram considerados como caule). Como essas espécies são conhecidas por exsudarem uma resina oleosa, esse material, de acordo com o levantamento foi o mais investigado.

Quanto à composição química do óleo essencial das espécies de *Protium* coletadas em diferentes regiões do Brasil e em outros países, o levantamento bibliográfico revelou que esses óleos e resinas são constituídos raramente por benzenóides e fenilpropanóides. A classe predominante são hidrocarbonetos monoterpênicos e sesquiterpênicos, com diferentes níveis de oxidações (Anexo 1).

Apesar da Região Norte do Brasil ser o local de maior ocorrência de espécies do gênero *Protium*, outras regiões também são contempladas com a ocorrência dessas espécies.

Como o principal habitat dessas plantas está minimizado devido às ações depredatórias do homem pela ocupação das terras para o plantio de monoculturas e /ou loteamentos, essa situação urge esforços, no sentido de se investigar a flora aromática dos fragmentos de Mata Atlântica, os que ainda existem e resistem à ação do homem, levando em consideração a contribuição ao conhecimento de sua diversidade química por meio da caracterização de óleos essenciais da flora aromática, em especial de duas espécies inusitadas do gênero *Protium* (*P. giganteum* e *P. aracouchine*) que ocorrem naturalmente na Mata de Cruzinha, em um fragmento de Mata Atlântica, localizado no município de Igarassu, litoral Norte de Pernambuco.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A análise química do óleo essencial das espécies botânicas foi realizada na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

4.1. Coleta do material botânico

As plantas foram selecionadas para coleta, levando-se em consideração o uso de suas congêneres na medicina popular e ausência de trabalhos com a parte do vegetal selecionada para estudo.

As espécies coletadas receberam um único número de registro de coleta na caderneta de campo, assim como os nomes vulgares fornecidos por moradores da região, os quais foram comparados com os existentes na literatura. O material vegetal representando cada uma das espécies coletadas foi prensado para montagem das exsicatas de acordo com o método estabelecido por MORI *et al.* (1989). Cada espécie foi registrada *in loco* por fotografia (Figura 4).

As folhas foram coletadas no período da manhã em setembro de 2009. Esta área é um fragmento de mata atlântica denominado de mata de cruzinha. Esta mata tem características de uma floresta ombrófila densa. As principais características das espécies coletadas são:

- 1) *Protium giganteum*: De porte arbóreo podendo atingir cerca de 9 metros de altura. Apresenta folhas grandes de odor suave com coloração verde escuro. O caule apresenta a casca clara e entrecasca vermelha clara e alborno branco. A parte de interesse para obtenção do óleo essencial foram as

folhas. As folhas foram coletadas a partir de um indivíduo jovem, estérreo com cerca de 6m de altura.

- 2) *Protium aracouchine*: Planta arbórea com folhagem de coloração também verde escuro e de cheiro cítrico. O caule possui fibras claras de disposição longitudinal. A parte de interesse para obtenção do óleo essencial foram as folhas. As folhas foram coletadas a partir de um indivíduo jovem com cerca de 4m de altura.

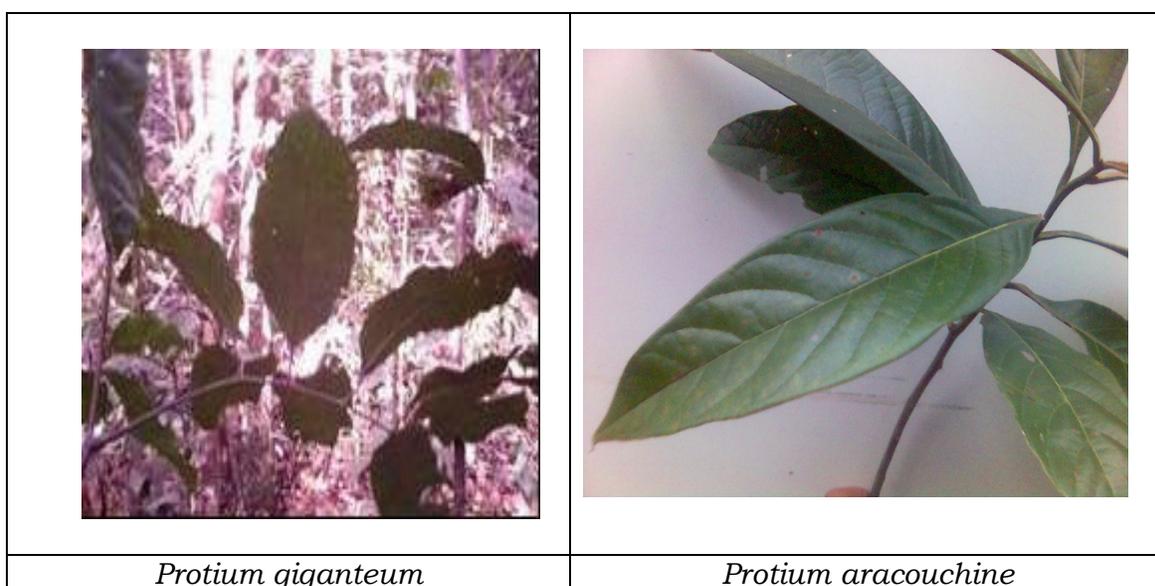


Figura 4 Imagens das espécies objeto de estudo

Folhas das duas espécies selecionadas para estudo foram coletadas na Mata de Cruzinha em Igarassu- PE em setembro de 2009 no período da manhã. As coordenadas geográficas dos pontos de coleta dessas espécies foram: *Protium aracouchine* (Aubl.) Marchand: (07°59'05.8" S - 032° 40'02.9" W) e *Protium giganteum* Engl (07° 50'05,8"S – 35°00'0,20"W). As plantas foram identificadas pelo botânico Henrique Costa Hermenegildo da Silva. O primeiro exemplar destas espécies foram incorporada ao acervo do Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho

da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob nos números: 49647 para *Protium giganteum* Engl. e 49648 para *Protium aracouchine* (Aubl.) Marchand

4.2. Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais das plantas coletadas foram obtidos utilizando um aparelho Clevenger modificado pela técnica de hidrodestilação (Figura 5).



Figura 5 Aparelho do tipo Clevenger utilizado na obtenção dos óleos essenciais das espécies de *Protium*.

Folhas das duas espécies foram coletadas separadamente de forma aleatória a partir das árvores sob investigação, armazenadas em sacolas plásticas sem odor e levadas ao laboratório de Produtos Naturais Bioativos da UFRPE (LPNBio). No LPNBio as folhas foram lavadas, secas ao ar livre e subdivididas em três porções de 100 g cada, trituradas e submetidas a hidrodestilação por duas horas em um aparato do tipo Clevenger. O óleo obtido foi separado por diferença de densidade, seco sob sulfato de sódio anidro, pesado e estocado em frasco âmbar, hermeticamente fechado sob refrigeração a + 5 °C antes das análises cromatográficas.

O rendimento total do óleo foi expresso em percentagem (g/100g do peso fresco do material vegetal). Para determinação do percentual de rendimento dos óleos, os experimentos foram realizados em triplicata. As análises quantitativa e qualitativa dos óleos foram realizadas por CG-FID e CG/EM, respectivamente.

O óleo foi separado da água por diferença de densidade. As frações dos óleos obtidas foram separadas e tratadas com Na₂SO₄ (Sulfato de sódio anidro) para retirar o excesso de água solubilizado no óleo. Os óleos obtidos serão armazenados em recipientes de vidro hermeticamente fechados à temperatura inferior à 8°C. O rendimento será calculado com base no peso do material fresco e a quantidade de óleo extraído.

4.3. Rotação Ótica

As medidas de rotação ótica das amostras de óleo essencial das espécies de *Protium* foram realizadas a 26°C em diclorometano em um polarímetro digital A. Krüss, West Germany, modelo Px800, equipado com uma lâmpada de sódio (589 nm).

4.4. Análise e identificação química dos óleos essenciais das espécies de *Protium* por CG e CG/EM.

4.4.1. Cromatografia Gasosa - Flame Ionization Detector – FID (CG-FID)

A análise quantitativa dos óleos essenciais, por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (Flame Ionization Detector – FID) foi feita usando uma aparelho Hewlett-Packard 5890 Series II GC equipado com uma coluna capilar de sílica fundida, apolar DB-5 (30m x 0.25mm x 0.25mm µm film thickness) J & W

Scientific. A temperatura do forno foi programada em 50 – 220 °C a uma razão de 3 °C/min. A temperatura do injetor e detector foram de 250 °C. Hidrogênio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1 L/min e 30 p.s.i. de pressão interna; modo split (1:30). O volume de injeção da amostra foi de 0.5µL de uma solução de diluída (1/100) em hexano.

As análises foram realizadas em triplicata e as quantidades de compostos foram calculadas a partir da área do pico do CG-FID em uma coluna capilar apolar DB-5 e expresso em percentagens relativas da área total do cromatograma, sem uso de padrão interno ou fatores de correção.

4.4.2. Cromatografia Gasosa/Espectrometria de massas

A análise por CG/EM dos óleos essenciais foram realizadas usando um sistema Hewlett-Packard GC/MS (CG: 5890 SERIES II/ CG-MS: MSD 5971) no modo de Impacto Eletrônico a 70 eV, equipado com a mesma coluna e a mesma programação realizadas nas análises por CG-FID. O gás de arraste usado foi helio, com fluxo de 1 mL/min, no modo split (1:30). O volume de amostra injetada foi 1 µL de uma solução de hexano 1/100 diluída.

4.4.3. Identificação dos constituintes químicos do óleo essencial

A identificação dos componentes químicos dos óleos essenciais das espécies de *Protium* investigada foi baseada pela comparação nos índices de retenções (IR) da literatura (Adams, 2001) com os obtidos a partir das análises por CG-FID com referência a uma série homóloga de n-alcenos C₁₁-C₂₄, os quais foram calculados de acordo com a equação de Van den Dool & Kratz (1963). Além da comparação

desses IR obtido com os da literatura, foi feita também a comparação dos espectros de massas obtidos com os da literatura (Adams, 2007) e com os dados da biblioteca do sistema de GC/MS (NIST 98 e WILEY).

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos essenciais obtidos, a partir das folhas de *P. giganteum* e *P. aracouchine* através da técnica de hidrodestilação apresentaram uma coloração verde clara e os rendimentos obtidos foram bastante similares $0,05\pm 0,09\%$ para *P. giganteum* e $0,04\pm 0,06$ para *P. aracouchine*.

Encontra-se na literatura resultados bastante discrepantes a respeito dos rendimentos dos óleos obtidos de espécies *Protium*. Isto se deve ao fato de que a quantidade de óleo essencial extraído de matrizes vegetais está muito relacionada à estrutura de armazenamento destes óleos nas plantas, assim, como também à época do ano, uma vez que a produção destes óleos varia durante o ciclo vegetativo.

A análise por CG-FID e CG/EM revelou os perfis cromatográficos distintos apresentados na figura 6.

A partir dos cromatogramas gerados a partir das análises por CG/EM foi possível identificar 32 compostos no óleo essencial das folhas de *P. giganteum* e 29 no óleo das folhas do *P. aracouchini*, representando aproximadamente 93% e 98% respectivamente dos constituintes.

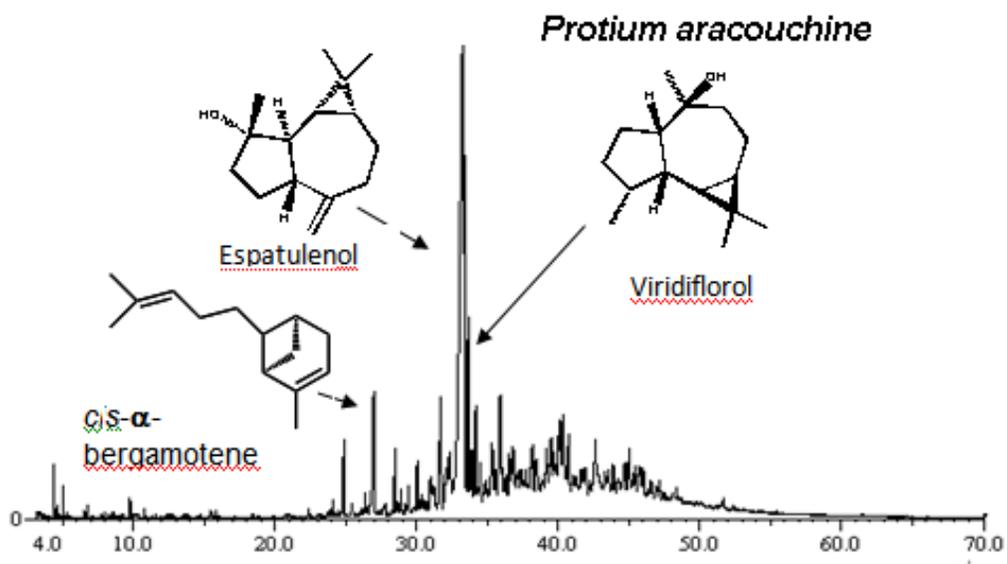
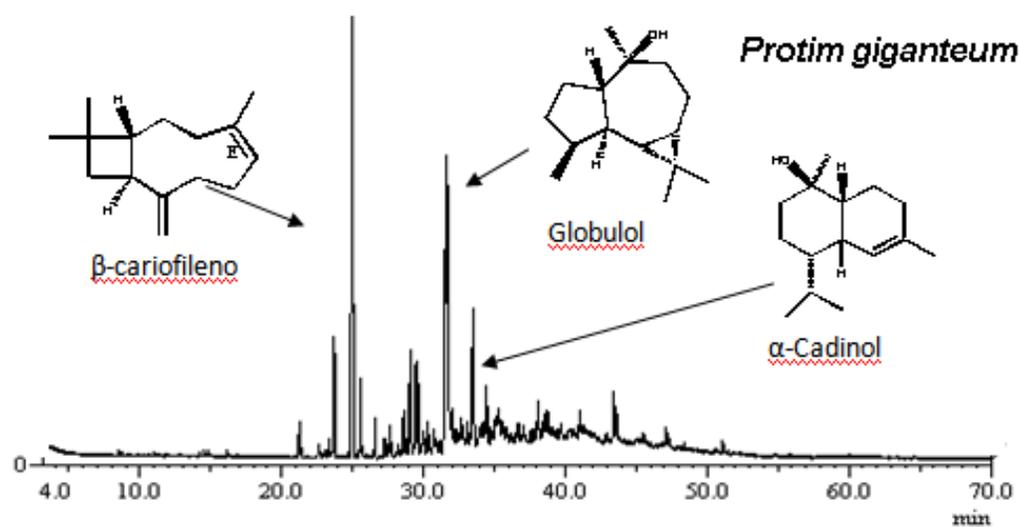


Figura 6. Cromatogramas dos óleos essenciais das folhas das espécies de *Protium* e as estruturas químicas dos constituintes majoritários.

Na Tabela 1 são descritos, em ordem crescente de eluição na coluna apolar DB-5 os constituintes químicos identificados no óleo das duas espécies de *Protium* que ocorrem no fragmento de mata atlântica, litoral norte de Pernambuco.

Tabela 1. Rendimento, rotação específica e percentual relativo dos constituintes químicos identificados nos óleos essenciais de *P. giganteum* e *P. aracouchine*

Compound ^a	I.R. ^b	I.R. ^c	<i>Protium</i>	
			<i>Giganteum</i>	<i>aracouchine</i>
Yield (%)			0.05±0.09	0.04±0.06
[α] _D ²⁶ (c.=1,CH ₂ Cl ₂)			+1.7 ^o	+4.4 ^o
Limoneno	1024	1020	-	0.8 ± 0.3
<i>trans</i> -diidro- oxido Rose	1068	1063	-	0.3 ± 0.0
Linalool	1095	1095	-	0.4 ± 0.0
α-Terpineol	1186	1186	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.0
δ-Elemeno	1335	1329	0.2 ± 0.1	-
α-Cubebeno	1345	1341	0.5 ± 0.0	0.2 ± 0.0
α-Copaeno	1374	1373	3.2 ± 0.2	-
β-Cubebeno	1387	1383	0.7 ± 0.0	-
β-Elemeno	1389	1384	-	0.9 ± 0.1
α- <i>cis</i> Bergamoteno	1411	1406	-	8.8 ± 0.2
<i>trans</i> -Cariofileno	1417	1426	26.0 ± 0.8	-
β-Copaeno	1430	1427	0.6 ± 0.0	-
α- <i>trans</i> -Bergamoteno	1432	1427	-	0.4 ± 0.1
α-Guaieno	1437	1435	0.3 ± 0.0	-
allo-Aromadendreno	1458	1453	-	0.6 ± 0.2

α -Humuleno	1452	1454	6.4 \pm 0.1	-
deidro-Aromadendrano	1460	1457	0.6 \pm 0.0	-
Dauca-5,8-dieno	1471	1469	-	1.6 \pm 0.2
Germacreno D	1484	1480	6.2 \pm 0.3	-
<i>cis</i> - β -Guaieno	1492	1484	0.6 \pm 0.0	-
α -Muuroleno	1500	1494	-	0.9 \pm 0.1
Bicyclogermacreno	1500	1495	5.8 \pm 0.2	-
γ -Patchouleno	1502	1500	0.2 \pm 0.0	-
β -Bisaboleno	1505	1501	-	2.3 \pm 0.1
γ -Cadineno	1513	1509	0.2 \pm 0.0	2.5 \pm 0.1
<i>trans</i> -Calameneno	1521	1516	-	1.8 \pm 0.1
δ -Cadieno	1522	1523	5.4 \pm 0.2	-
α -Cadineno	1537	1534	0.2 \pm 0.1	-
α -Calacoreno	1544	1540	0.2 \pm 0.0	1.3 \pm 0.2
(E)-Veltonal	1555	1557	-	1.3 \pm 0.1
β -Calacoreno	1564	1559	0.5 \pm 0.2	-
Maaliol	1566	1566	0.8 \pm 0.1	-
Palustrol	1567	1565	-	1.0 \pm 0.2
Espatulenol	1577	1580	0.9 \pm 0.0	31.8 \pm 1.6
Globulol	1590	1585	9.3 \pm 0.2	-
Viridiflorol	1592	591	5.0 \pm 0.2	9.7 \pm 0.7
Rosifoliol	1600	1591	4.3 \pm 0.6	-
Ledol	1602	1592	-	4.8 \pm 0.2
Sesquiteriferol	1604	1601	-	2.3 \pm 0.1

5-epi-7-epi- α -Eudesmol	1607	1605	1.1 \pm 0.0	-
Epoxido de Humuleno II	1608	1610	1.0 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0
Junenol	1614	1614	-	2.2 \pm 0.1
α -1-epi-Cubenol	1627	1627	-	1.8 \pm 0.2
<i>cis</i> -Cadin-4-en-7-ol	1635	1629	1.8 \pm 0.1	-
α -epi-Muurolol	1640	1640	-	3.2 \pm 0.3
Cubenol	1645	1643	1.9 \pm 0.1	-
α -Cadinol	1652	1652	7.0 \pm 0.5	5.2 \pm 0.1
Cadalenol	1675	1675	-	3.3 \pm 0.1
Khusinol	1679	1681	0.7 \pm 0.0	-
<i>cis</i> -ácido tujopsênico	1864	1864	-	3.1 \pm 0.1
Z,Z)Geranyl linalool	1960	1969	2.0 \pm 0.1	-
hexadecanoate de isopropila	2024	2024	-	4.2 \pm 0.5
monoterpenoids			0.3	1.9
Sesquiterpenoids			93.6	95.9
Total			93.9	97.8

^aCompostos listados de acordo com a eluição em uma coluna capilar apolar DB-5. ^bÍndice de Retenção linear calculado de acordo com uma série homóloga de n-alcenos em uma coluna apolar DB-5. ^cÍndice de retenção linear da literatura.

Ambos os óleos apresentam apenas monoterpenos em baixo percentual e sesquiterpeno como classe química predominante, representando mais do que 90% dos óleos analisados. Os monoterpenos identificados nos óleos foram: Limoneno (**A**), *trans*-óxido de diidro de rose (**B**), linalol (**C**) e α -terpineol (**D**) em *P. aracouchine*. Em *P. giganteum*, apenas α -terpineol está presente. Esses monoterpenos ocorrem nos óleos em percentual abaixo de 1% (Figura 7).

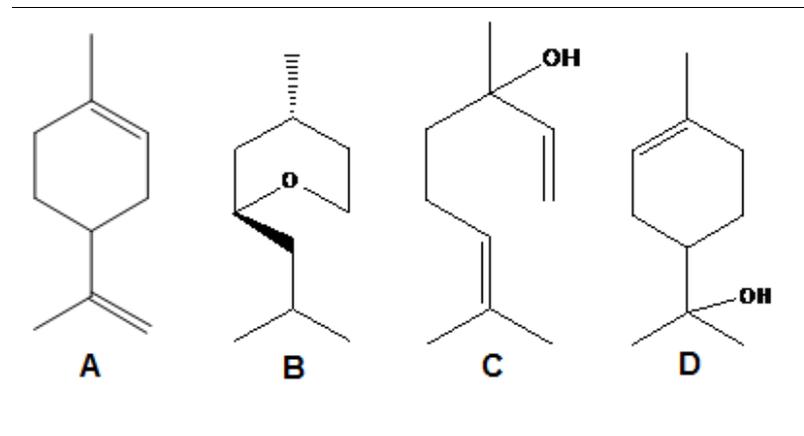


Figura 7: Monoterpenos identificados no óleo de *P. aracouchine* e *P. giganteum*.

Mesmo apresentando percentuais semelhantes de sesquiterpenóides cíclicos, esses óleos diferem qualitativamente entre si. Os resultados das análises por CG e CG/EM mostraram que apenas os composto α -cubebeno, γ -cadineno, α -calacoreno, Viridiflorol, espatulenol, Epoxido de Humuleno II , α -cadinol e α -terpineol(Figura 8) foram identificados concomitantemente em ambas espécies.

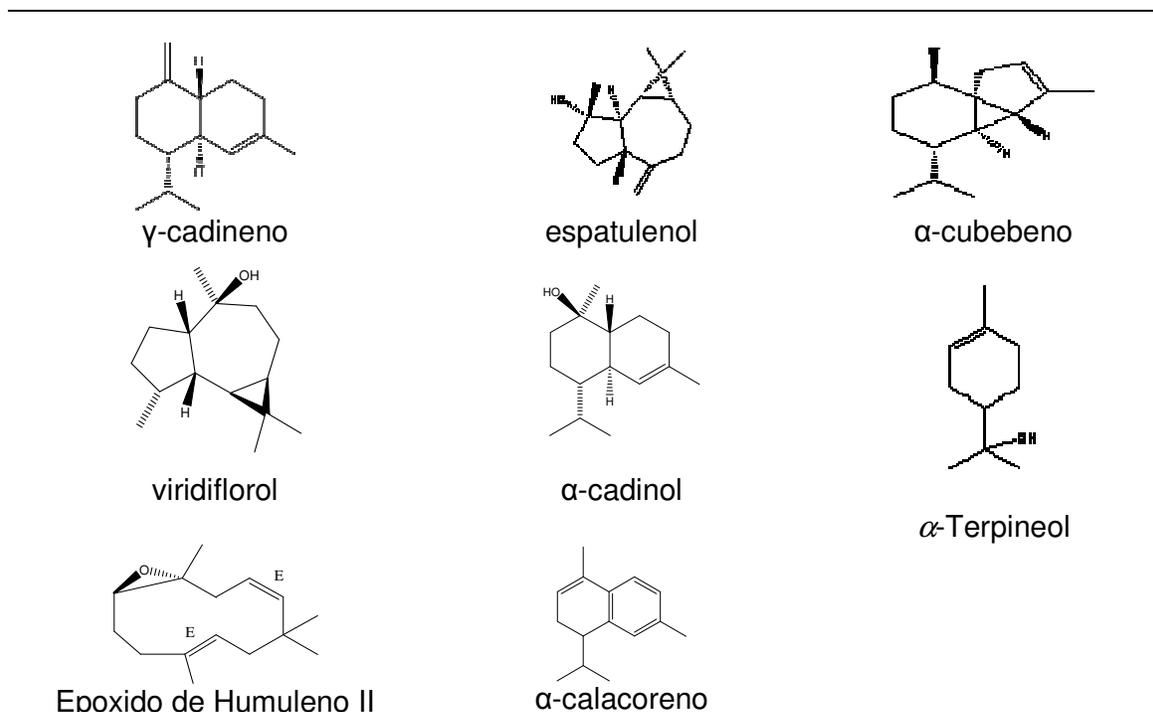


Figura 8 Sesquiterpenos encontrados concomitantemente em *P. giganteum* e *P. aracouchine*

O componente principal do óleo de *P. Aracouchine* foi o sesquiterpeno oxigenado, espatulenol (31,8,±1,6%), caracterizado em percentual menor do que 1% no óleo de *P. Giganteum* (0,98%). Outros compostos com percentual $\geq 5\%$ foram também identificados, tais como: viridiflorol (9,7±0,7%), α -cis-bergamoteno (8,8±0,2%) e α -cadinol (5,2±0,1%). Por outro lado, o constituinte majoritário encontrado no óleo de *P. Giganteum* foi o tras-cariofileno (26,0±0,8%), o qual não foi caracterizado no óleo de *P. aracouchine* (Figura 9). Essa análise revelou que um número maior de substâncias com percentual $\geq 5\%$ foram encontrados em *P. giganteum*. São eles: α -humuleno, (6,4±0.1%), germacreno D (6,2±0.3%), bicilogermanceno (5,8±0.2%), δ -cadineno (5,4±0.2%), globulol (9,3±0.2%), viridiflorol (5,0±0.2%) e α -cadinol (7,0±0.5%)

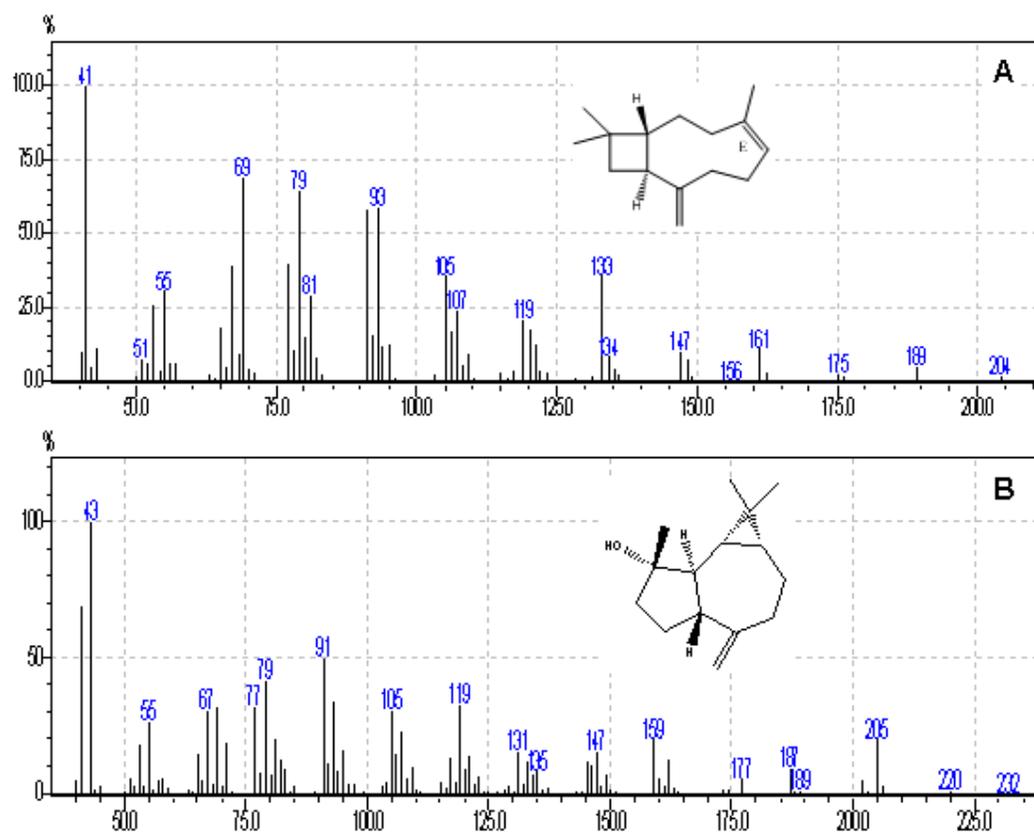


Figura 9 Espectro de massas das substâncias majoritárias identificadas no óleo **A** = *P. giganteum* e **B** = *P. aracouchine*

Este é o primeiro relato da composição química do óleo essencial dessas espécies que ocorrem em Pernambuco. Estes dados mostram a predominância de sesquiterpenos cíclicos, principalmente aqueles derivados da via de ciclização do cadinano, guaiano, germacrano e cariofilano. Esses dados estão de acordo com os reportados na literatura para outras espécies desse gênero. Investigação fitoquímica do óleo essencial das folhas de espécies congêneres coletadas em outros biomas brasileiros tem revelado uma composição preferencial desses sesquiterpenos cíclicos, com destaque para o óleo das espécies, *P. grandifolium*, *P. strumosum* e *P. elegans*, constituídos por mais de 90% de sesquiterpenos. A Tabela 2 mostra os percentuais dos constituintes majoritários identificados nos óleos das folhas de espécies do gênero *Protium* coletadas em diferentes regiões do Brasil.

Tabela 2: Percentual de monoterpenos e sesquiterpenos identificados no óleo das folhas de espécies do gênero *Protium*.

Espécie	% mono	% sesq	Local de coleta	Referências
<i>P. bahianum</i>	14,9	65,9	PE	Pontes et al. 2010
	13,6	84,4		Pontes et al. 2010
<i>P. heptaphyllum</i>	20,11	46,86	PA	Zoghbi et al., 1995
	27,6	57,9	CE	Bandeira et al. 2001
<i>P. pilosum</i>	94,1	4,7	PA	Zoghbi et al., 2005
<i>P. confusum</i>	95,5	2,1	Panamá	Santana et al., 2009
<i>P. decandrum</i>	91,5	8,4	PA	Zoghbi et al., 2005
	45,7	47,81	AM	de carvalho et al. 2010
	72,7	26,7		Zoghbi et al., 2002
<i>P. spruceanum</i>	89,2	7,6	PA	Machado et al. 2003
	85,0	11,7		Zoghbi et al., 2005
<i>P. unifoliolatum</i>	26,97	52,11		Zoghbi et al., 1993
<i>P. strumosum</i>	8,0	92,0		
<i>P. grandifolium</i>	6,0	94,0		
<i>P. Lewilliny</i>	20,0	78	AM	Siani et al., 1999a
<i>P. hebetatum</i>	16	83		
<i>P. elegans</i>	0,37	91,06		de carvalho et al. 2009
<i>P. icicariba</i>	18,61	76,36		Siani et al., 2004

*Dados estimados de acordo com os percentuais das substâncias majoritárias disponibilizadas nos resumos. Mono = monoterpenos, Sesqu = sesquiterpenos

Com base no levantamento bibliográfico, das 20 espécies encontradas, 13 foram estudadas quanto a composição química do óleo das folhas. Destas espécies, só a *P. cunfusum*, que foi coletada fora do Brasil (SANTANA et al., 2009). Essa amostra coletada no Panamá revelou como substâncias principais os sesquiterpenos: *trans*-cariofileno (8,0%) e espatulenol (19,3%), os mesmos caracterizados, em quantidades significativas, nos óleos analisados nesse trabalho, *trans*-cariofileno ($26,0 \pm 0,8\%$) caracterizado em *P. giganteum* e espatulenol ($31,8 \pm 1,6\%$) identificado em *P. Aracouchine*.

Todas as outras espécies com dados do óleo essencial obtidos a partir das folhas reportados na literatura foram coletadas em três biomas brasileiros (Mata Atlântica, Amazônia e Caatinga). Apenas a espécie *P. heptaphyllum* foi oriunda dos Biomas Mata Atlântica (PONTES et al., 2007a) e Amazônia (ZOGHBI et al., 2005). As espécies coletadas a partir do Bioma Amazonia foram provenientes dos estados Pará e Amazônia.

As espécies coletadas no Pará apresentaram hidrocarbonetos monoterpênicos como a classe predominante. Entretanto, as espécies coletadas no Amazonas apresentaram sesquiterpenos como constituintes majoritários, com exceção das amostras de *P. spruceanum* e *P. decandrum*, que apresentaram monoterpenos como classe química predominantes (ZOGHBI et al., 2002; DE CARVALHO et al., 2010). (Tabela 3).

A Tabela 2 mostra ainda que os monoterpenos majoritários identificados nesses óleos foram α -pineno (31,7% em *P. pilosum*; 78,6% em *P. decandrum* e 16,4% em *P. spruceanum*); α -felandreno (24,1% em *P. pilosum*, % < 1% em *P. decandrum* e ausente em *P. spruceanum*); p-cimeno (31,2% em *P. pilosum*, 4,5% em *P. decandrum* e % < 1% em *P. spruceanum*) (ZOGHBI et al., 2002; MACHADO

et al., 2003; ZOGHBI et al., 2005; DE CARVALHO et al., 2010). Comparando esse perfil de identificação relacionado ao monoterpenos, nenhum deles foi caracterizado nos óleos de *P. giganteum* e *P. aracouchine*.

Com relação a classe de sesquiterpenos, caracterizado em grande parte das espécies coletadas na Amazônia, o *trans*-cariofileno é uma das substâncias presentes em maior quantidade.

Comparando o percentual encontrado na amostra de *P. giganteum* para o *trans*-cariofileno ($26,0 \pm 0,8\%$) com os dados reportados para as espécies coletadas no Amazonas, as espécies, com percentual similar foram: *P. decandrum* (22,8%) (ZOGHBI et al., 2005; DE CARVALHO et al., 2010), *P. spruceanum* (36,4%) (ZOGHBI et al., 2002; MACHADO et al., 2003; ZOGHBI et al., 2005), *P. unifoliolatum* (37,45%) (ZOGHBI et al., 2005); *P. grandifolium* (24,5%), *P. hebetatum* (12,8%) (SIANI et al., 1999a) e *P. elegans* (35,9%) (DE CARVALHO et al., 2009). Outro sesquiterpeno pertencente a via de ciclização do cariofilano, identificado em *P. giganteum* e encontrado em percentual acima de 5% nas espécies estudadas a partir do Bioma Amazônia é o isômero do *trans*-cariofileno, α -humuleno. Essa substância foi encontrada em percentuais significativos nas seguintes espécies: *P. unifoliolatum* (9,94%) (ZOGHBI et al., 2005); *P. lewellyni* (9,39%); *P. grandifolium* (8,26%) (SIANI et al., 1999a) e *P. elegans* (12,60%) (DE CARVALHO et al., 2009).

Outros sesquiterpenos, provenientes da via de ciclização dos cadinano, identificados no óleo de *P. giganteum*, como por exemplo, α -copaeno ($3,2 \pm 0,2\%$) e δ -cadineno ($5,4 \pm 0,2\%$) têm sido reportados por SIANI et al. (1999a) em três amostras coletadas no Amazonas da espécie *P. icicariba* (6,5/ 8,3 e 5,6% de δ -cadineno e 9,8/12/ e 7,55% de α -copaeno). Estes mesmos compostos foram relatados por Machado et al. (2003) para o óleo de *P. spruceanum* em quantidades

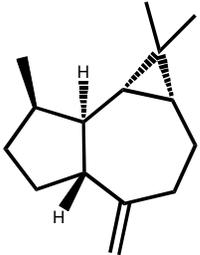
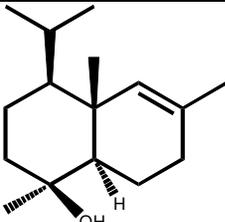
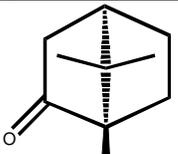
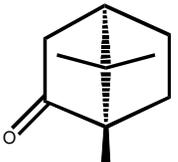
inferiores a 2%. Já o δ -cadineno foi identificado nas espécies *P. lewellyni* (4,11%), *P. grandifolium* (11,4%), *P. hebetatum* (6,99%) (Siani et al., 1999a) e *P. elegans* (0,15%) (de Carvalho et al., 2009).

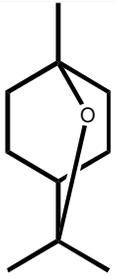
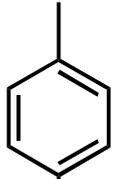
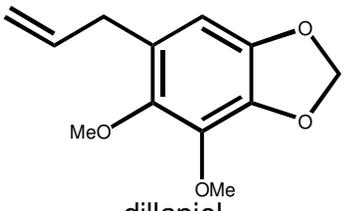
Além desses compostos pertencentes as vias de ciclização do cariofilano e cadinano, os compostos Germacreno D (6,2 \pm 0,3%) e Bicyclogermacreno (5,8 \pm 0,2%), provenientes da via de ciclização dos germacranos, que foram indentificados no óleo de *P. giganteum*, também foram encontrados como constituintes principais no óleo de três amostras foliares de *P. icicariba* (16, 23; 14% de germacreno D e 6,6; 12 e 9,9% de bicyclogermacreno(SIANI et al., 2004). Por outro lado, SIANI et al. (1999a) observou que o germacreno D aparece nas nas espécies *P. hebetatum* (0,79%), *P. strumosum* (1,47%), *P. grandifolium* (1,52%) e *P. lewellyni* (2,04%) variando o percentual entre 0,79% e 2,04% (Tabela 2).

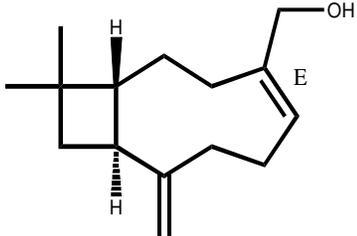
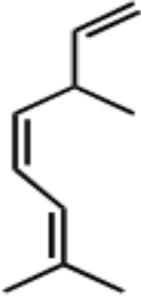
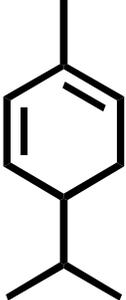
De acordo com os dados reportados na literatura para o óleo essencial e óleo resinas de espécies do gênero *Protium* (Quadro 1), pode-se sugerir que há uma predominância de monoterpenos nos frutos e resinas e de sesquiterpenos nas folhas de espécies do gênero *Protium*, coletados em diferentes regiões do Brasil e outras partes do mundo (ZOGHBI et al., 1995; BANDEIRA et al., 2001; ZOGHBI et al., 2002; , SUAREZ et al., 2007; SANTANA et al., 2009).

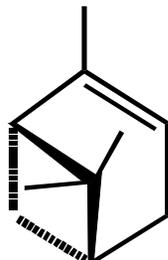
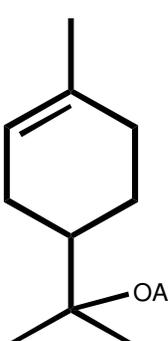
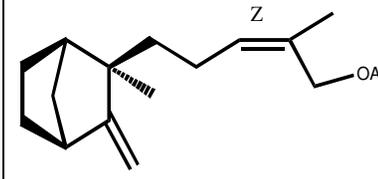
O perfil químico e a quantidade de óleo em uma dada planta podem ser influenciados por fatores bióticos e abióticos (MACHADO et al., 2003; SIANI et al., 2004). Por isso, plantas que crescem ou ocorrem em diferentes localidades com ecossistemas específicos podem apresentar variações nos percentuais relativos de seus constituintes, chegando até apresentar diferenças qualitativas, mesmo em plantas da mesma espécie.

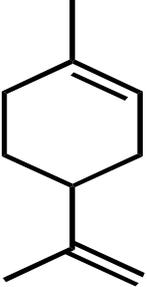
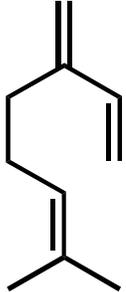
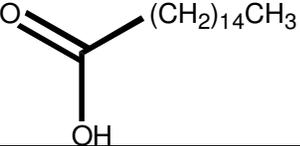
Quadro 1 Percentuais dos constituintes químicos de óleos essenciais e óleos resinas encontradas como componentes principais em espécies do gênero *Protium* coletadas em diferentes regiões do Brasil

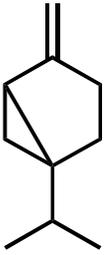
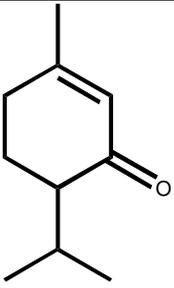
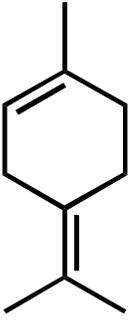
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE DA PLANTA				LOCAL de coleta
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
 aromadendreno	Pontes, et al.,2010	<i>P. bahianum</i>		20,3			Pernambuco
 epi- α -cadinol	Zoghbi, et al.,2002	<i>P. spruceanum</i>	20,4				Pará
 Canfora			14,5				
 δ -3-careno	Cito, et al., 2003	<i>P. heptaphyllum</i>	7,1				Piauí

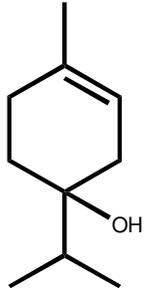
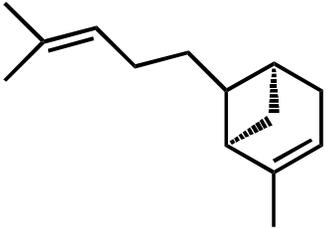
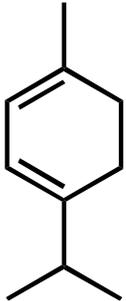
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE				LOCAL
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
 1,8-cineol	Rao, et al., 2007		58,7				Paraíba
 p-cimeno	Marques, et al., 2010	<i>P. heptaphyllum</i> subsp. <i>heptaphyllum</i>	39,93				Acre
	Siani, et al., 2004	<i>P. icicariba</i>	30/ 20/ 40				Amazonas
	Suárez et al., 2007	<i>P. neglectum</i>	5,2				Venezuela
	Bandeira, et al., 2001; Bandeira, et al., 2006	<i>P. heptaphyllum</i>	6,0				
	Zoghbi, et al., 2005	<i>P. pilosum</i>		31,2			Pará
	Ramos, et al., 2000	<i>P. strumosum</i>	31,5				
	Amaral, et al 2009	<i>P. paniculatum</i>	69,3				
	Siani, et al., 1999a	<i>P. heptaphyllum</i>	10,78				Amazonas
	Siani, et al., 1999 b		11,0				
	11,0V 36,0F						
 dillapiol	Siani, et al., 1999a	<i>P. heptaphyllum</i>	16,1				Amazonas
	Siani, et al., 1999b	<i>P. heptaphyllum</i>	16,0V				

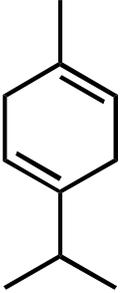
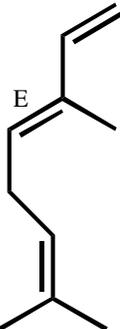
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE				LOCAL	
			Resina	Folha	Fruto	Caule		
 14-hidroxi-9-epi-cariofileno	Pontes, et al., 2007b	<i>P. heptaphyllum</i>		16,7	21,4		Pernambuco	
 β -ocimeno	Cito, et al., 2003	<i>P. heptaphyllum</i>	11,2				Piauí	
 α -felandreno	Rao, et al., 2007	<i>P. heptaphyllum</i>	10,4				Paraíba	
	Lima, et al., 1992		12,3					
	Bandeira, et al., 2006		16,7F					Ceará
	Bandeira, et al., 2001		16,7F					
	Cito, et al., 2003		7,2					Piauí
	Pontes, et al., 2007a	<i>P. bahianum</i>	13,9				Pernambuco	
	Zoghbi, et al., 2005	<i>P. pilosum</i>		24,1			Pará	
	Zoghbi, et al., 1998	<i>P. subserratum</i>	20,8					
	Ramos, et al., 2000	<i>P. paniculatum</i>	15,1				Amazonas	
	Gottlieb, et al., 1981	<i>P. paraense</i>				6,6		
Santana, et al., 2009	<i>P. confusum</i>		14,1			Panamá		

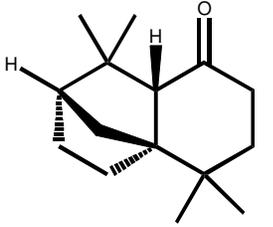
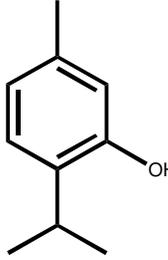
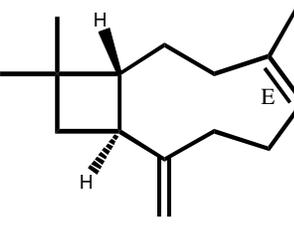
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE				LOCAL	
			Resina	Folha	Fruto	Caule		
 <p>α- pinene</p>	Pontes, et al.,2010	<i>P. bahianum</i>		7,8	34,0		Pernambuco	
	Zoghbi, et al., 2005	<i>P. decandrum</i>		78,6			Pará	
		<i>P. pilosum</i>		31,7				
	Bandeira, et al.,2006	<i>P. heptaphyllum</i>		10,5F			Ceara	
				8,5			Paraíba	
	Lima, et al., 1992							
	Bandeira, et al., 2001	<i>P. heptaphyllum</i>		10,5F		71,2	Ceará	
	Siani, et al 2004	<i>P. icicabira</i>		7,7/ 6,3/ 5,6				Amazonas
	Case, et al .,2003	<i>P. copal</i>		17,95				
Machado, et al., 2003	<i>P. spruceanum</i>			16,4			Pará	
Gottlieb, et al., 1981	<i>P. paraense</i>					50,5	Amazonas	
 <p>β- acetato de terpinila</p>	Cito, et al.,2003	<i>P. heptaphyllum</i>		23,2			Piauí	
 <p>β-(Z)-acetado de santalol</p>	Pontes, et al.,2007a	<i>P. bahianum</i>		83,1			Pernambuco	

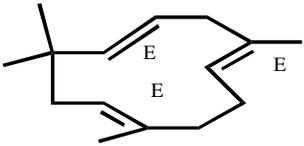
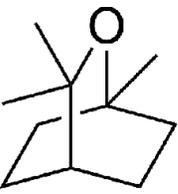
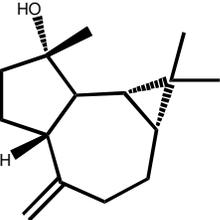
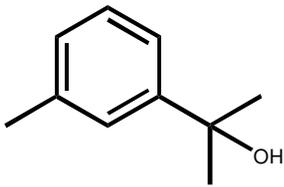
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE				LOCAL
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
 limoneno	Marques, et al., 2010	<i>P. Heptaphyllum Subsp. Ulei</i>	11,87				Acre
	Amaral, et al 2009	<i>P. heptaphyllum</i>	49,96				Amazonas
	Zoghbi et al. 1993	<i>P. unifoliolatum</i>		24,3			
	Siani, et al., 2004	<i>P. icicabira</i>	8,0/ 5,8/ 7,3				
	Siani, et al., 1999a	<i>P. lewellyni</i>		18,6			
	Cito, et al., 2003	<i>P. heptaphyllum</i>	18,2				Piauí
	Bandeira, et al., 2006		16,9F		5,2		Ceará
	Bandeira, et al., 2001		16,9F				
	Zoghbi, et al., 2005	<i>P. strumosum</i>	75,5				Pará
	Santana, et al., 2009	<i>P.confusum</i>			60,2		Panamá
	Zoghbi, et al., 2002	<i>P. spruceanum</i>	7,9		22,1	19,4	Pará
Case, et al ., 2003	<i>P. copal</i>	16,88					
 mirceno	Bandeira, et al., 2001	<i>P. heptaphyllum</i>		18,6			Ceará
	Santana, et al., 2009	<i>P. confusum</i>				8,4	Panamá

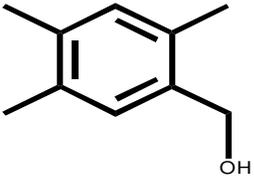
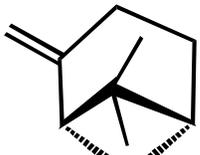
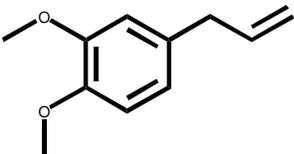
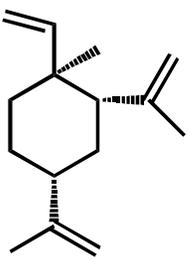
<i>Acido hexadecanóico</i>							
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE DA PLANTA				LOCAL de coleta
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
 <p>sabineno</p>	Zoghbi, et al., 2005	<i>P. spruceanum</i>		56,3			Pará
	Machado, et al., 2003		61,3	81,4		79,8	
	Zoghbi, et al 2002			33,9	56,1	33,8	
	Case, et al., 2003	<i>P. copal</i>	12,51				Amazonas
 <p>Piperitona</p>	Suarez, et al., 2007	<i>P. neglectum</i>	25,4				Venezuela
	Marques, et al., 2010	<i>P. Heptaphyllum subsp. Ulei</i>	42.31				Acre
	Siani, et al., 2004	<i>P. icicabira</i>	7,4/ 31,0/ 5,8*	7,6/ 4,4/ 12			Amazonas
	Bandeira, et al., 2006	<i>P. heptaphyllum</i>	28,5F				Ceará
	Lima, et al., 1992		12,0				Paraíba
	Bandeira, et al., 2001		28,5F				Ceará
	Siani, et al., 1999a		21,8				Amazonas
	Siani, et al., 1999b		11,0V				
	Zoghbi, et al., 1995			15,45			40,28

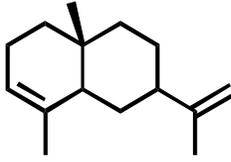
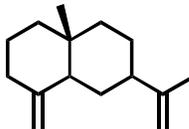
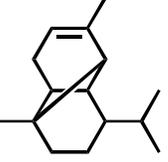
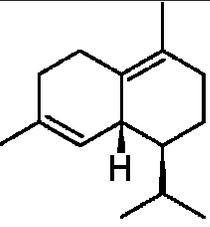
terpinoleno							
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE DA PLANTA				LOCAL de coleta
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
 terpinen-4-ol	de Carvalho, et al., 2010	<i>P. decandrum</i>		64,8			
	Zoghbi, et al., 2002	<i>P. spruceanum</i>		10,3		7,5	Pará
	Pontes, et al., 2007a	<i>P. bahianum</i>	7,4				Pernambuco
 trans- α -bergamoteno	de Carvalho, et al., 2010	<i>P. decandrum</i>	47,7			22,1	Amazonas
	Rao, et al., 2007	<i>P. heptaphyllum</i>	13,7				Paraíba
	Siani, et al., 1999b		18,0F				Amazonas
	Pontes, et al., 2007b	<i>P. bahianum</i>			47,6		Pernambuco

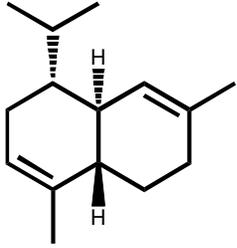
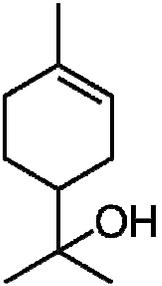
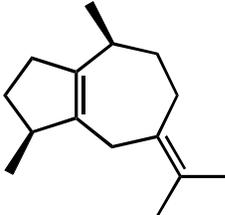
α -terpineno	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE DA PLANTA				LOCAL de coleta
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
 <p>γ-terpineno</p>	Siani, et al., 1999 b	<i>P.heptaphyllum</i>	12,0F				Amazonas
 <p>trans-β-ocimeno</p>	Amaral, et al., 2009	<i>P.heptaphyllum</i>	11.81				Amazonas
	Pontes, et al., 2007b	<i>P.heptaphyllum</i>		10,7			Pernambuco

							
trans-isolongifolanono							
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE DA PLANTA				LOCAL de coleta
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
	Suárez, et al., 2007	<i>P. neglectum</i>	17,5				Venezuela
 trans- cariofileno	Zoghbi, et al., 2002	<i>P. spruceanum</i>		10,8			Amazonas
	de Carvalho, et al., 2009	<i>P. elegans</i>		35,9		6,78	
	Siani et al. 1999a	<i>P. lewellyni</i>		32,2			
		<i>P. hebetatum</i>		12,8			
		<i>P. grandifolium</i>		24,5			
	Zoghbi, et al., 1995	<i>P. heptaphyllum</i>		11,11			
	Zoghbi, et al., 1993	<i>P. unifoliolatum</i>		37,45			
	Machado, et al., 2003	<i>P. spruceanum</i>		36,4			Pará
Santana, et al., 2009	<i>P. confusum</i>		8,0			Panamá	
Santana, et al., 2009	<i>P. confusum</i>		14,1				

Oxido de cariofileno	de Carvalho, et al., 2009	<i>P. elegans</i>		27,09		55,83	Amazonas
 α -Humuleno	Siani et al. 1999a	<i>P. grandifolium</i>		12,60			
	de Carvalho, et al., 2009	<i>P. elegans</i>		8,26			
	Zoghbi, et al., 1993	<i>P. unifoliolatum</i>		12,60			
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE DA PLANTA				LOCAL de coleta
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
 eucaliptol	Amaral, et al., 2009	<i>P.heptaphyllum</i>	10,92				
 espatulenol	Santana, et al., 2009	<i>P. confusum</i>		19,3		9,5	Panamá
	Santana, et al., 2009	<i>P. confusum</i>				14,4	Panamá
	Siani et al., 1999a	<i>P. heptaphyllum</i>	11,3				Amazonas
	Siani et al., 1999b		11,0V				
	Siani et al., 2004	<i>P. icicariba</i>	24/10/26				

<i>p</i> -cymen-8-ol								
 durenol	Suarez, et al.,2007	<i>P.neglectum</i>	15,6					Venezuela
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE DA PLANTA				LOCAL de coleta	
			Resina	Folha	Fruto	Caule		
 β -pineno	Gottlieb, et al., 1981	<i>P. paraense</i>				8,6	Amazonas	
	Bandeira et al., 2001	<i>P.heptaphyllum</i>			8,6		Ceará	
 Metil eugenol	Suarez, et al.,2007	<i>P.neglectum</i>	9,2					Venezuela
	Zoghbi, et al.,1995	<i>P.heptaphyllum</i>				22,09		Pará

<i>β</i> -elemene							
	Siani et al., 1999a	<i>P. strumosum</i>		15,4			
<i>α</i> -selineno							
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE DA PLANTA				LOCAL de coleta
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
	Siani et al., 1999a	<i>P. strumosum</i>		17,0			Amazonas
<i>β</i> -selineno	Siani et al., 1999a			6,33			
	Siani et al., 2004	<i>P. icicariba</i>		9,8/ 12/ 7,5			
<i>α</i> -copaeno	Siani et al., 1999a	<i>P. grandifolium</i>		11,4			
	Siani et al., 2004	<i>P. icicariba</i>		6,5/ 8,3/ 5,6			
	Siani et al., 1999a	<i>P. hebetatum</i>		6,99			
<i>δ</i> -cadineno	Pontes et al., 2010	<i>P. bahianum</i>		10,1			Pernambuco

 <p>α-cadineno</p>							
COMPOSTO	REFERÊNCIA	Espécie	PARTE DA PLANTA				LOCAL de coleta
			Resina	Folha	Fruto	Caule	
 <p>α-terpineol</p>	Suárez et al., 2007	<i>P. neglectum</i>	6,9				Venezuela
 <p>cis-β-guaieno</p>	Pontes et al., 2010	<i>P. bahianum</i>		9,9			Pernambuco

6 – CONCLUSÃO

Os dados inéditos obtidos a partir das análises químicas dos óleos essenciais das folhas de *P. giganteum* e *P. aracouchine* por CG/EM revelaram dois quimiotipos diferentes que ocorrem naturalmente no Bioma Mata Atlântica.

Os quimiotipos são derivados da via de ciclização dos compostos do grupo cariofilano e germacrano. O quimiotipo para a espécie *P. giganteum* foi *trans*-cariofileno, o qual é bem representado por espécies que crescem no Bioma Amazônia, enquanto que o quimiotipo espatulenol, caracterizado para o óleo de *P. aracouchine* foi encontrado apenas na espécie *P. confusum* coletado no Panamá.

Apesar das diferenças qualitativas descritas para as duas amostras de óleo de *Protium* (*P. giganteum* e *P. aracouchine*) coletadas no mesmo ecossistema (Mata de Cruzinha, fragmento de Mata Atlântica), elas apresentaram sesquiterpenos como classe química predominante. Esses resultados corroboram com o fato das influências bióticas e abióticas e das variabilidades genéticas das espécies em estudo para a produção dos constituintes químicos, principalmente entre espécies congêneres.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA. 2001.

ALVES JUNIOR, F. T.; SILVA BRANDÃO, C. F. L.; DA ROCHA, K. D.; DA SILVA, J. T.; MARANGON, L. C.; FERREIRA, R. L. C. Estrutura Diamétrica e Hipsométrica do Componente Arbóreo de um Fragmento de Mata Atlântica-Recife. **Cerne**, v. 13, n. 1, p. 8 2007.

AHMED, M.; SCORA, R. W.; TING, I. P. Composition of leaf oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. **Journal of Essential Oil Research**, v. 6, p. 571-5. 1994.

AMARAL, M. P. M.; BRAGA, F. A. V.; PASSOS, F. F. B.; ALMEIDA, F. R. C.; OLIVEIRA, R. C. M.; CARVALHO, A. A.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. A. Additional evidence for the anti-inflammatory properties of the essential oil of *Protium heptaphyllum* resin in mice and rats. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.28, n. 5, p. 775-782. 2009.

ARAÚJO, E. C. C.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; ANDRADE-NETO, M.; ANDRADE, I. L.; LIMA, M. A. A. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 13, p. 3760-3762, 2003.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BANDEIRA, P. N.; FONSECA, A. M.; COSTA, S. M. O.; LINS, M. U. D. S.; PESSOA, O. D. L.; MONTE, F. J. Q.; NOGUEIRA, N. A. P.; LEMOS, T. L. G. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of resin of *Protium heptaphyllum*. **Natural Product Communications**, v. 1, n. 2, p. 117-120. 2006.

BANDEIRA, P. N.; MACHADO, M. I. L.; CAVALCANTI, F. S.; LEMOS, T. L. G. Essential Oil Composition of Leaves, Fruits and Resin of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, p. 33-34, 2001.

BANDEIRA, P. N.; PESSOA, O. D. L.; TREVISAN, M. T. S.; LEMOS, T. L. G. Metabólitos secundários de *Protium heptaphyllum* March. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1078-1080, 2002.

BANDEIRA, P. N.; MACHADO, M. I. L.; CAVALCANTI, F. S.; LEMOS, T. L. G. Essential oil composition of leaves, fruits and resin of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, p. 33-34, 2001.

BANDEIRA, P. N.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; BRAZ-FILHO, R. Estudo dos constituintes fixos e voláteis da resina de *Protium heptaphyllum*. In: **Reunião**

Anual Da Sociedade Brasileira De Química, 23, 2000, Poços de Caldas. São Paulo. PN 1447/2. 2000.

BERTAN, L. C.; TANADA-PALMU, P. S.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. **Food hydrocolloids**, v. 19, p. 73-82, 2005.

BICUDO, C. A.; MENEZES, N. A. **Biodiversity in Brazil: a First Approach**, São Paulo: CNPq/Instituto de Botânica, pp. 121-154, 1996.

BORÉM, R. A. T.; RAMOS, D. P. Estrutura fitossociológica da comunidade arbórea de uma topossequência pouco alterada de uma área de floresta atlântica, no município de Silva Jardim-RJ. **Revista Árvore**, v. 25, n. 1, p. 131-140, 2001.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223– 253, 2004.

BUTTNER, M.; WILLEKE, K.; GRINSHUPUN, S. **Sampling and analysis of airborne microorganisms**. In: Hurst C.J., Manual of Environmental Microbiology. Washington: ASM Press, p. 629–640, 1996.

BRANDÃO, C. F. L. S.; MARANGON, L. C.; FERREIRA, R. L. C.; SILVA, A. C. B. L. Estrutura fitossociológica e classificação sucessional do componente arbóreo em um fragmento de floresta atlântica em Igarassu – Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 1, p. 55-61, 2009.

CASE, R. J.; TUCKER, A. O.; MACIARELLO, M. J.; WHEELER, K. A. Wilmington, D. E. Chemistry and ethnobotany of commercial incense copals, copal blanco, copal oro, and copal negro of North America. USA. **Economic Botany**, v. 57, n. 2, p. 189-202, 2003.

CITÓ, A.M.G.L.; COSTA, F. B.; LOPES, J. A. D.; LIVEIRA, V. M. M.; CHAVES, M. H. Identificação de constituintes voláteis de frutos e folhas de *Protium heptaphyllum* Aubl (March) . **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p.4-7, 2006.

CITÓ, A. M. G. L.; SOUZA, A. A.; LOPES, J. A. D.; CHAVES, M. H.; COSTA, F. B.; SOUSA, S. A. A.; AMARAL, M. P. M. Resina de *Protium heptaphyllum* March(Burseraceae): Composição química do óleo essencial e avaliação citotóxica frente a *Artemia Salina* Leach. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v. 52, n. 2, p. 74-76, 2003.

COIMBRA-FILHO, A. F.; CÂMARA, I. G. **Os limites originais do bioma Mata Atlântica na região Nordeste do Brasil**. Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza, Rio de Janeiro. 1996.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Imprensa nacional, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, Brasil, vol. V., p.82, 1987.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 5. Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. V. 1

CPRH (Companhia Pernambucana do Meio Ambiente). Diagnóstico sócio-ambiental do litoral Norte de Pernambuco. Recife. CPRH, 2003. 214p.

CARVALHO, L. E.; PINTO, D. S.; LYEGE A. M. M; LIMA, M. P. M.; MARQUES, M. O. M.; FACANALI, R. Chemical constituents of essential oil of *Protium decadrum* (Burseraceae) from Western Amazon. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants** , v. 13, n. 2, p. 181-184, 2010.

CARVALHO, L. E.; PINTO, D.S.; LYEGE A. M. M; LIMA, M. P. M.; MARQUES, M. O. M.; FACANALI, R. The Chemistry of Essential Oils of *Crepidospermum rhoifolium*, *Trattinnickia rhoifolia* and *Protium elegans* of the Amazon Region. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v.12, n.1, p. 92-96, 2009.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, p. 308 –316, 2000.

FAID, M.; ANCHAD, M.; BAKHY, K.; TAUTAOU-ELARAKI, A. Physicochemical and microbiological characterizations and preservation with sorbic acid and cinnamon. **Journal of Food Products**, v. 58, n. 5, p. 547-550, 1995.

FARIAS, G. B.; ALVES, A. G. C.; LINS-E-SILVA, A. C. B. Riqueza de aves em cinco fragmentos de Floresta Atlântica na Zona da Mata Norte de Pernambuco, Brasil. **Biotemas**, v. 20, n. 4, p. 111-122. 2007.

GOTTLIEB, O. R.; KOKETSU, M.; MAGALHAES, M. T.; MAIA, J. G. S.; MENDES, P. H.; DA ROCHA, A. I.; DA SILVA, M. L.; WILBERG, V. C. Essential oils from the Amazon VII. **Acta Amazonica** , v. 11, n. 1, 143-148, 1981.

KORDALI, S.; KOTAN. R.; MAVI, A.; CAKIR, A.; ALA. A.; YILDIRIM, A. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *A. santonicum*, and *A. spicigera* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 3, n. 24, p. 9452-9458, 2005.

KHALID, S. A. Chemistry of the Burseraceae. In: **Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales**. Edits., P. G. Waterman and M. F. Grundon, pp 281–299, Academic Press, New York, 1983.

LIMA, A. R.; CAPOBIANCO, J. P. R. (coords.). **Mata Atlântica: avanços legais e institucionais para sua conservação**. Documentos do ISA n. 004. Instituto Sócio Ambiental, Brasília, 1997.

LIMA, E. O.; GOMPERTZ, O. F.; PAULO, M. Q.; GIESBRECHT, A. M. In vitro antifungal activity of essential oils against clinical isolates of dermatofytes. **Revista de Microbiologia**, v. 23, n. 4, p. 235-238, 1992.

MAIA, R. M.; BARBOSA, P. R.; CRUZ, F. G.; ROQUE, N. F.; FASCIO, M. Triterpenos da resina de *Protium heptaphyllum* March (Burseraceae): Caracterização em misturas binárias. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 623-626, 2000.

MACHADO, L. B.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A. Seasonal variation in the composition of the essential oils from de leaves, thin branches and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) Engl. **Flavour Fragrance Journal**, v. 18, p. 338-341, 2003.

MARANGON, L. C.; SOARES, J. J.; FELICIANO, A. L. P. Florística arbórea da Mata da Pedreira, município de Viçosa, Minas Gerais. **Revista Árvore**, v. 27, n. 2, p. 207-215, 2003.

MARQUES, D. D.; SARTORI, R. A.; LEMOS, T. L. G.; MACHADO, L. L.; NERY, J. S. S.; MONTE, F. J. Q. Universidade Federal do Acre, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, 227-230, 2010.

MILHAU, G.; VALENTIN, A.; BENOIT, F.; MALLIE, M.; BASTIDE, J. M. In vitro antimalarial activity of eight essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 9, p. 329-333, 1997.

MITTERMEIER, R. A.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; BRANDON, K. Uma breve história da conservação da biodiversidade no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, p. 15-21, 2005.

MORI, S. A. Eastern, extra-Amazonian Brazil. In: Campbell, D.G. & Hammond, H.D. (eds.) **Floristic inventory of tropical countries: the status of plant systematics, collections, and vegetation, plus recommendations for the future**. New York, The New York Botanical Garden, p. 427-454. 1989.

OTUKI, M. F.; LIMA, F. V.; MALHEIROS, A.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Topical anti-inflammatory effects of the ether extracts from *Protium kleinii* and α -amyrin pentacyclic triterpene. **European Journal of Pharmacology**, v. 507, p. 253-259, 2005.

PERNET, R. Phytochimie des Burceraceae. **Lloydia**. Journal Written in French, v.35, n. 3, p. 280-287, 1972

PONTES, W. J. T.; SILVA, J. M. O. ; DA CAMARA, C. A. G.; GONDIM-JUNIOR, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; SCHWARTZ, M. O. E. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oils from fruits and leaf of *Protium bahianum* Daly. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, p. 279-282, 2010.

PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S.; CAMARA, C. A. G.; LOPES, C. H. R. Composition and acaricidal activity of the resin's essential oil of *Protium bahianum* Daly against two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 379-383, 2007a.

PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S.; CAMARA, C. A. G.; LOPES, A. C. H. R.; GONDIM-JUNIOR, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R., SCHWARTZ, M. O. E.

Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* L. (Burseraceae). **Acta Amazonica**, v. 37, p. 103 - 110 2007b.

POTT, A.; POTT, V.J. **Plantas do Pantanal**. Corumbá, EMBRAPA. 320p. 1994

RAO, V. S. N.; SANTOS, F. A. Pharmacological and bioactivity studies on the natural resin from traditional medicinal plant, *Protium heptaphyllum* March. **Recente Progress in Medicinal Plants**, v. 17, p. 273-282, 2007

RAO, V. S. N.; MAIA, J. L.; OLIVEIRA, F. A.; LEMOS, T. L. G.; CHAVES, M. H. SANTOS, F. A. Composition and antinociceptive activity of the essential oil from *Protium heptaphyllum* Resin. **Natural Product Communications**, v. 2, p.1-3, 2007.

RAMOS, M. F. S.; SIANI, A. C.; TAPPIN, M. R. R.; GUIMARÃES, A. C.; RIBEIRO, J. E. L. S. Essential oils from oleoresins of *Protium ssp.* of the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 150, p. 383-387, 2000.

RAMOS, M. F. S.; GUIMARÃES, A. C.; SIANI, A. C. Volatile monoterpenes from the oleoresin of *Trattinnickia rhoifolia*. **Biochemical systematic and Ecology**, v. 31, p. 309-311, 2003.

ROQUE, N. F. **Identificação e determinação estrutural de terpenos**. 1990. 160f. Tese(Livre Docência) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.

SANTANA, A. I.; VILA, R.; ESPINOSA, A.; OLMEDO, D.; GUPTA, M. P.; CANIGUERAL, S. Composition and biological activity of essential oils from *protium confusum*. **Natural Product Communications**, v. 4, n.10, p. 1401-1406, 2009.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, F. L. A.; SOUZA, C. M.; HENRIQUE, O. M. G. M.; RAMOS, S. F. M. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento**, v. 3, n. 16, p. 37-43, 2000.

SIANI, A. C.; GARRIDO, I. S.; MONTEIRO, S. S.; CARVALHO, E. S.; RAMOS, M. F. S. *Protium icicariba* as a source of volatile essences. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 477-489, 2004.

SIANI, A. C.; RAMOS, M. F. S.; LIMA-JUNIOR, O. M.; SANTOS, R. R.; FERREIRA, E. F.; SOARES, R. O. A.; ROSAS, E. C.; SUSUNAGA, G. S.; GUIMARÃES, A. C.; ZOGHBI, M. G. B.; HENRIQUES, M. G. M. O. Evaluation of anti-inflammatory – realted activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, p. 57-69, 1999a.

SIANI, A. C.; RAMOS, M. F. S. Volatile Constituents from Oleoresin of *Protium Heptaphyllum* (Aubl.) March. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 11, p. 72-74, 1999b.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, F. L. A.; SOUSA, C. M.; HENRIQUE, O. M. G. M.; RAMOS, S.F.M. Óleos essenciais. **Biotecnologia, Ciencia e Desenvolvimento**, v. 3, p.37-43, 2000.

SILVA, J.M.C.; TABARELLI, M. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of Northeastern Brazil. **Nature**, v. 404, p. 72-74, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCKENKEL, E. P.; GOSMANN C.; MELLO, J. C. P. DE; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R (Eds.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFSC, 2000. p. 387 – 415.

SUAREZ, A. I.; COMPAGNONE, R. S.; ACOSTA, D.; VASQUEZ, L.; DIAZ, B.; CANELON, D. J. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Oleoresin of *Protium neglectum* S. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 10, p. 70-75, 2007.

SYLVESTRE, M.; PICHETTE, A.; LONGTIN, A.; NAGAU, F.; LEGAULT J. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 99-102, 2006

TRINDADE, M. B.; SILVA, H. P.; LINS-E-SILVA, A. C. B.; SCHESSL, M. Utilização de sensoriamento remoto na análise da fragmentação da Mata Atlântica no litoral norte de Pernambuco, Brasil. **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, v. 13, p.1907-1914. 2007

TROVATI, G. **Estudo Analítico da composição química do óleo essencial da espécie *Aloysia gratissima***. 2003. 87f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade São Paulo, São Carlos, 2003.

UGAZ, O. L.; **Investigación Fitoquímica – Métodos en el estudio de Productos Naturales**. 2ª ed. Pontificia Universidad Católica del Perú, cap.2, 1994.

VAN DE BRAAK S.; LEIJTEN, G. **Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union**. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, p. 116, 1999

VAN DEN DOOL, H.; Kratz, P.H. A Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, 463-471. 1963.

VELOSO, H. P.; GÓES-FILHO, L. Fitogeografia brasileira - classificação fisionômico-ecológica da vegetação neotropical. **Boletim Técnico do Projeto RADAMBRASIL**, Série Vegetação 1:1-80. 1982.

VIANA, V. M. **Biologia e manejo de fragmentos florestais**. In: Anais 6º Congresso Florestal Brasileiro, 1990. Campos do Jordão, p. 113-8. 1990.

WEEKS, A.; DALY, D. C.; SIMPSON, B. B. The phylogenetic history and biogeography of the frankincense and myrrh family (Burseraceae) based on nuclear and chloroplast sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 35, p. 85-101. 2005.

ZOGHBI, M. G. B.; CUNHA, E. V. L.; WOLTER-FILHO, W. Essential oil of *Protium unifoliolatum* (Burseraceae). **Acta Amazônica**, v. 23, n. 1, p. 15-16, 1993.

ZOGHBI, M. G. B.; MAIA, J. G. S. Volatile Constituents from Leaves and Stems of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **Journal of Essential Oil Research**, v. 7, p. 541-543, 1995.

ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S. Volatile Constituents of the *Protium subserratum* (Engl.) Engl. and *Tetragastris panamensis* (Engl.) Kuntz. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, p. 325-326, 1998.

ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Composition of the essential oils from leaves, wood, fruits and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) Engl. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, n. 3, p. 169-171, 2002.

ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; LIMA, M. P.; SILVA, T. M. D.; DALY, D. C. The essential oils of five species of *Protium* growing in the north of Brazil. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 8, n. 3, 312-317, 2005.