



CONSTITUENTES VOLÁTEIS DOS GALHOS DE QUATRO ESPÉCIES DE *Protium* OCORRENTES NA FLORA DA RESERVA DUCKE¹

Lyege Magalhães Oliveira², Darlene Pinto Keng Queiroz², Loretta Ennes Sabóia de Melo², Marcia Ortiz Mayo Marques³, Roselaine Facanali³, Maria da Paz Lima⁴

Submetido 01/11/2016 – Aceito 28/08/2017 – Publicado on-line 04/01/2018

Resumo

As espécies de *Protium* são conhecidas por produzir resina aromática em abundância nos troncos das árvores. Na Reserva Ducke observamos que algumas espécies não produzem resina ou a exsudação ocorre em pequena quantidade embora apresentem aroma nas partes aéreas. Nesse trabalho, selecionou-se folhas e galhos para avaliação dos constituintes voláteis das espécies *Protium subserratum* (Engl.) Engl., *Protium nitidifolium* (Cuatrec.) Daly, *Protium robustum* (Swart) D.M. Porter e *Protium trifoliolatum* Engl. Os óleos essenciais obtidos por hidrodestilação em sistema de Clevenger foram analisados por CG-DIC and CG-EM. As amostras de folhas forneceram apenas traços de óleos essenciais. Nas amostras dos galhos das quatro espécies detectou-se um maior número de sesquiterpenos, predominando os oxigenados espatulenol (22,35%), óxido de cariofileno (15,31%), β -copaeno-4- α -ol (29,79%) em *P. nitidifolium*; espatulenol (10,89%), β -copaeno-4- α -ol (3,92%) e khusimona (53,79%) em *P. subserratum*. No óleo essencial de *P. robustum* os sesquiterpenos hidrocarbonetos *cis*-calameneno (8,82%), e α -copaeno (6,37%) e o oxigenado α -cadinol (7,84%) foram predominantes, *P. trifoliolatum* apresentou percentual alto de α -cadinol (59,16%). Os resultados desta pesquisa agregam conhecimento químico à Flora da Reserva Ducke.

Palavras-Chave: *Protium nitidifolium*, *Protium subserratum*, *P. robustum* e *P trifoliolatum*

Volatile constituents of the fourth species of *Protium* occurrents in the reserve Flora Ducke

The species of *Protium* are known to produce aromatic resin in abundance on the trunks of trees. Na Reserve Ducke we observed that some species do not produce resin or the exudation occurs in small amount although exhibit flavor in the aerial parts. In this paper, we selected leaves and branches to evaluate the volatile constituents of the species *Protium subserratum* (Engl.) Engl., *Protium nitidifolium* (Cuatrec.) Daly, *Protium robustum* (Swart) D.M. Porter and *Protium trifoliolatum* Engl. The essential oils obtained by hydrodistillation in Clevenger system were analyzed by GC-FID and GC-MS. The samples of leaf give only traces of essential oils. In the samples of the branches of the four species was detected greater number of sesquiterpenes predominating the oxygenates, spathulenol (22.35%), caryophyllene oxide (15.31%), β -copaene-4- α -ol (29.79%) from *P. nitidifolium*; spathulenol (10.89%), β -copaene- α -4-ol (3.92%) and khusimone (53.79%) from *P. subserratum*. In the essential oil of *P. robustum* the sesquiterpene hydrocarbons *cis*-calamenene (8.82%) and α -copaene (6.37%), and the oxygenated α -cadinol (7.84%) were the predominant, *P. trifoliolatum* presented high percentage of α -cadinol (59.16%). These results aggregate chemical knowledge to the Flora Ducke Reserve.

Key-words: *Protium nitidifolium*, *Protium subserratum*, *P. robustum* e *P trifoliolatum*

¹ Projeto de Pesquisa dos Autores no âmbito do Programa Integrado de Pesquisa & Inovação Tecnológica - PIPT da FAPEAM

² Aluna de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Inovação Tecnológica, Avenida André Araújo, 2936, Caixa Postal 478, CEP 69060-001, Manaus-Brasil

³ Pesquisadora Dra. Instituto Agrônomo de Campinas, Avenida Barão de Itapura, 1481, Caixa Postal 28, CEP 13012-970, Campinas-Brasil

⁴ Pesquisadora Dra. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Inovação Tecnológica, Avenida André Araújo, 2936, Caixa Postal 478, CEP 69060-001, Manaus-Brasil, *mdapaz@inpa.gov.br

1. Introdução

Burseraceae consiste de uma das famílias botânicas mais importantes na Amazônia como ficou evidente em numerosos inventários florestais quantitativos revisado por Daly et al. (2011), é considerada um grupo de plantas com excelente modelo para estudar os padrões biogeográficos de florestas de terra firme. No levantamento florístico realizado na Reserva Florestal Ducke, foram identificadas 42 espécies de Burseraceae, pertencentes à 5 gêneros, *Protium* tem o maior número de espécies, estando representado por 33 taxa, algumas endêmicas na região (Ribeiro, et al., 1999). A Reserva, localizada no km 26 da rodovia Manaus-Itacoatiara (AM-10), possui uma área de 100 km² de floresta de "terra firme", sendo um dos locais da Amazônia melhor estudados floristicamente. As espécies de Burseraceae podem ser encontradas na Reserva Ducke em quatro tipos de habitats: Mata de baixio (solo arenoso, com acúmulo de sedimentos), Floresta de platô (solo argiloso, pobre em nutrientes), Campinarana (solo de areia branca) e Floresta de vertente (solos argiloso e areno-argiloso). Os espécimens são fichados e mapeados, permitindo sua localização com facilidade.

As espécies de *Protium* são conhecidas por produzir resina aromática em abundância nos troncos das árvores. Na Reserva Ducke observamos que algumas espécies não produzem resina ou a exsudação ocorre em pequena quantidade embora apresentem aroma nas folhas e/ou galhos (Tabela 1). Para o conhecimento da composição aromática da Reserva alguns estudos foram conduzidos em óleos essenciais em partes aéreas destas espécies cuja composição química é caracterizada por altas porcentagens de sesquiterpenos em *P. elegans* (Carvalho et al, 2009), *P. crassipetalum*, *P. heptaphyllum* subs. *ulei*, *P. pilosissimum* and *P. polybotryum* (Carvalho et al, 2013).

Os altos teores de monoterpenos nos voláteis desse gênero geralmente é encontrado em resina, como exemplificado pela resina de *P. hebetatum* da Reserva Ducke, tanto a resina exudada naturalmente como a resina produzida pelo estímulo de Tefon apresentaram altos teores de monoterpenos, especialmente limoneno e *p*-cimeno (Lima, 2016; Pinto et al., 2010).

Outras espécies de *Protium* ocorrente na Reserva Florestal Ducke e que não apresentam resina em seus troncos incluem *P. subserratum*,

Protium nitidifolium, *P. robustum* e *P. trifoliolatum* cujas sinônimas e ocorrência (Mobot 2016) na Tabela 2. Visando enriquecer o conhecimento da flora aromática da Reserva Ducke, foi avaliado as partes aéreas destas quatro espécies sem estudos prévios dos constituintes voláteis.

Tabela 1. Constituintes predominantes em partes aéreas (P) de *Protium* da Reserva Florestal Ducke

Espécies	P	Constituintes predominantes (%)
<i>P. elegans</i> ¹	fo	<i>trans</i> -cariofileno (35.0) óxido de cariofileno (27.09) α -humuleno (12.60)
	ga	<i>trans</i> -cariofileno (6.78) óxido de cariofileno (55.83) α -humuleno (2.80)
<i>P. crassipetalum</i> ²	fo	α -copaeno (19.6) <i>trans</i> -cariofileno (16.4) espathulenol (13.9)
	ga	α -copaeno (15.2) <i>trans</i> -cariofileno (10.1)
<i>P. heptaphyllum</i> subs. <i>ulei</i> ²	fo	α -copaeno (11.8) <i>trans</i> -cariofileno (16.9) germacreno B (12.8)
	ga	β -sesquiphellandreno (24.3)
<i>P. pilosissimum</i> ²	fo	β -sesquiphellandreno (24.3)
	ga	selin-11-eno-4-a-ol
<i>P. polybotryum</i> ²	ga	khusimona (35.9 %)

Fonte de Pesquisa: fo- folhas; ga- galhos 1- Carvalho et al., 2009; 2- Carvalho et al., 2013)

Tabela 2. Sinônimas e ocorrência de 4 espécies de *Protium* selecionadas para estudos dos voláteis

<i>Protium subserratum</i> (Engl.) Engl. Sin.: <i>Icicopsis subserrata</i> Engl.e <i>Tingulonga subserrata</i> (Engl.) Kuntze Ocorrência: Norte da América do Sul
<i>Protium nitidifolium</i> (Cuatrec.) Daly Sin.: <i>Paraprotium nitidifolium</i> Cuatrec. Ocorrência: Colombia, Peru e Norte do Basil
<i>Protium robustum</i> (Swart) D.M. Porter Sin.: <i>Protium neglectum</i> var. <i>robustum</i> Swart Ocorrência: Equador, Bolívia, Venezuela, Brasil
<i>Protium trifoliolatum</i> Engl Sin.: <i>Protium joannis</i> Cuatrec, <i>Protium martianum</i> Engl., <i>Protium pauciflorum</i> Swart, <i>Protium titubans</i> J.F. Macbr., <i>Tetragastris trifoliolata</i> (Engl.) Cuatrec., <i>Tingulonga martiana</i> (Engl.) Kuntze e <i>Tingulonga trifoliolata</i> (Engl.) Kuntze Ocorrência: Norte da América do Sul

2. Material e Método

2.2. Material vegetal e Extração dos óleos essenciais

Folhas e galhos foram coletados nos seguintes indivíduos previamente identificados na Reserva o Ducke:

P. nitidifolium (n0. 1675)

P. subserratum (n0. 1784)

P. robustum (n0. 1655)

P.trifoliolatum (n0. 1601)

As amostras foram secas por sete dias em ambiente com ar condicionado, picotadas, moidas e então submetidas à extração por hidrodestilação por quatro horas em aparelho Clevenger (Figura 1). Os óleos extraídos foram secos com sulfato de sódio anidro e analisados por CG/MS. As amostras de folhas forneceram apenas traços de óleos essenciais.



Figura 1. Sistema de Clevenger utilizado para extração das 4 amostras de *Protium*

2.3. Análise dos constituintes voláteis

As amostras dos óleos essenciais foram analisadas química por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (CG-EM, Shimadzu, QP-5000) com coluna capilar de sílica fundida OV-5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm Ohio Valley Specialty Chemical, Inc.), operando nas seguintes condições: gás de arraste: hélio (fluxo de 1,0 mL/min.); temperatura do injetor e detector: 240°C; volume de injeção: 1 µL de solução (1 µL óleo essencial/1mL acetato de etila), tipo split (1/20), programação de temperatura: 60°C-240°C à 3 °C/min; impacto eletrônico: 70 eV. Os componentes foram

identificados com base nos espectros de massas, índices de retenção e comparação com os dados da biblioteca do sistema CG-EM (Nist. 62 lib.) e literatura (McLafferty & Stauffer 1989). Os índices de retenção (IR) foram calculados utilizando-se uma série homóloga dos *n*-alcanos nas mesmas condições de operação (Adams, 2001).

3. Resultados e Discussão

Rendimentos de óleos essenciais nos galhos:

P. nitidifolium (PN) - 0,09 %

P. subserratum (PS) - 0,12%

P. robustum (PR) - 0,06%

P trifoliolatum (PT) - 0,09%

As análises dos cromatogramas dos óleos essenciais das quatro espécies permitiram identificar os constituintes químicos voláteis, os quais foram agrupados em mono e sesquiterpenos além dos registros de alguns constituintes com anel aromático. Conforme mostra a Tabela 3, foi detectado um maior número de sesquiterpenos.

Tabela 3. Número de constituintes químicos identificados nos óleos essenciais (OE)

OE	Mono	Mono	Sesq	Sesq	Ar
	H	Ox	H	Ox	
PN			2	6	
PS			6	6	
PR		7	11	7	
PT	3	2	8	4	2

mono- monoterpeno; sesq- sesquiterpeno; H- hidrocarboneto; Ox- oxigenado, Ar- Aromático

O óleo essencial de *P. nitidifolium* consistiu de oito sesquiterpenos, seis destes são oxigenados, representando 79,16% da composição química do óleo essencial (Tabela 4): espatulenol (22,35%), óxido de cariofileno (15,31%), β-copaeno-4-α-ol (29,79%), khusimone (6,11%), 1-*epi*-cubenol (2,02%) e cubenol (3,58%), predominando o β-copaeno-4-α-ol, espatulenol e óxido de cariofileno (figura 2). Em estudos prévios com resina coletada nesta espécie na Reserva Ducke ficou evidenciada a constituição inteiramente de monoterpenoides (Ramos et al., 2000).

A composição química do óleo essencial de *P. subserratum* é constituída de doze sesquiterpenos, os oxigenados também tem maiores percentuais (73,78%): espatulenol

(10,89%), β -copaeno-4- α -ol (3,92%), khusimona (53,79%), γ -eudesmol (1,08%), α -muurolol (1,73%) e α -eudesmol (2,37%).

Tabela 4. Composição química (%) dos óleos essenciais de *P. nitidifolium* e *P. subserratum*

Constituintes	IR	PN	PS
α -cubebeno	1351		1,54
α -copaeno	1374		4,12
<i>trans</i> -cariofileno	1417	2,9	
α - <i>trans</i> -bergamoteno	1436		1,55
γ -muurolo	1477		2,51
α -muurolo	1500	3,78	
γ -cadineno	1514		1,23
α -calacoreno	1542		0,48
espatulenol	1578	22,35	10,89
óxido de cariofileno	1582	15,31	
β -copaeno-4- α -ol	1584	29,79	3,92
khusimone	1591	6,11	53,79
1- <i>epi</i> -cubenol	1627	2,02	
γ -eudesmol	1631		1,08
cubenol	1642	3,58	
α -muurolol	1645		1,73
α -eudesmol	1650		2,37
Total		82,94	85,21

PN- *P. nitidifolium*; PS-*P. subserratum*

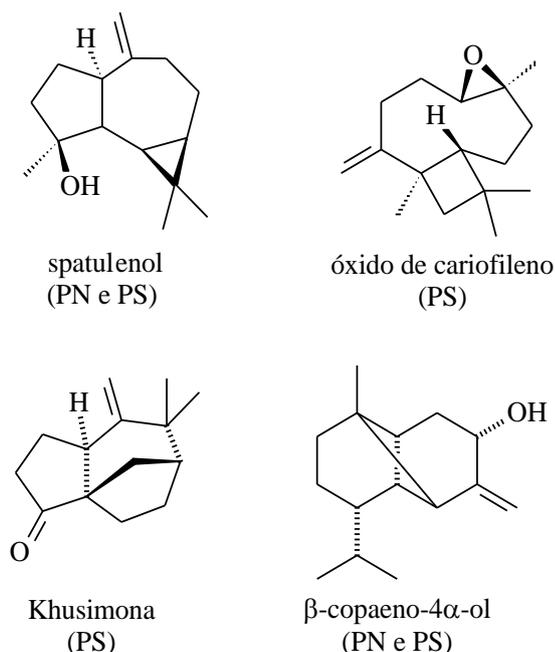


Figura 2. Estruturas química dos sesquiterpenos predominantes em *P. nitidifolium* (PN) e *P. subserratum* (PS).

Tabela 5. Composição química (%) dos óleos essenciais de *P. robustum* e *P. trifoliatum*

Substância	IR	PR	PT
α -pineno	931		5,13
β -pineno	973		4,43
limoneno	1025		1,29
<i>trans</i> -pinocarveol	1139	5,56	
pinocarvona	1162	2,17	
borneol	1165	0,38	
terpin-4-ol	1172	0,94	
α -terpineol	1185	3,51	1,3
mirtenal	1193	6,15	
mirtenol	1194	3,56	
<i>trans</i> -anetol	1283		2,29
α -cubebeno	1351	5,74	0,82
α -copaeno	1374	6,37	0,42
β -cubebeno	1390	0,64	
metil eugenol	1398		0,53
longifoleno	1400		1,57
<i>trans</i> -cariofileno	1417	1,22	3,59
γ -elemeno	1433	5,78	
α -guaiano			0,55
α -humuleno	1451		0,42
δ -gurjuneno	1473	1,05	
germacreno D		3,19	
β -selineno	1486	0,73	
<i>trans</i> -metil isoeugenol	1491		0,86
α -muurolo	1500		1,29
α -bulneseno	1506		5,20
<i>cis</i> -calameneno	1521	8,82	
<i>trans</i> -calameneno	1532	1,28	
<i>trans</i> -nerolidol	1564	3,59	2,77
ledol	1565	2,32	
espatulenol	1578	2,56	
óxido de cariofileno	1582		1,63
1- <i>epi</i> -cubenol	1627	1,75	
<i>epi</i> - α -cadinol	1641	4,91	
cubenol	1642		2,36
α -muurolol	1645	1,23	
α -cadinol	1654	7,84	59,16
cadaleno	1674	1,15	
Total Identificado		82,44	95,61

PR- *Protium robustum*; PT- *Protium trifoliatum*

Os sesquiterpenos oxigenados spathulenol, khusimona, e óxido de cariofileno foram previamente identificados em óleos essenciais de parte áreas de *Protium* da Reserva Ducke: khusimona (35,9%) em galhos de *P. polybotryum* (Carvalho et al., 2013), spathulenol (13,9%) em folhas *P. crassipetalum* (Carvalho et al., 2013, óxido de cariofileno com teores de 27,09% em folhas e 55,83% em galhos de *P. elegans* (Carvalho et al., 2009). A detecção de spathulenol em teor mais alto (31,8%) foi registrada em *P. aracouchine* de ocorrência na Mata Atlântica no Estado de Pernambuco (Freitas et al, 2011).

No óleo essencial de *P. robustum* foram identificados 25 constituintes voláteis (tabela 3); sete monoterpenos oxigenados (22,27%) com IR

entre 1139-1194; dezoito sesquiterpenos, com maior porcentagem dos sesquiterpenos hidrocarbonetos (35,97%): α -cubebeno, α -copaeno, β -cubebeno, *trans*-cariofileno, γ -elemeno, δ -gurjuneno, germacreno D, β -selineno, *cis*-calameneno, *trans*-calameneno e cadaleno. Os demais sesquiterpenos são oxigenados totalizando 24,20% da composição do óleo essencial. Esse óleo não apresentou um constituinte predominante, os percentuais relativamente maiores foram dos sesquiterpenos *cis*-calameneno (8,82%), α -cadinol (7,84%) e α -copaeno (6,37%).

O óleo de *P. trifoliatum* constituído de dezenove substâncias voláteis (Tabela 5): cinco monoterpenos (IR 931-1283), oito sesquiterpenos hidrocarbonetos (IR 1351 a 1506). Os demais são sesquiterpenos oxigenados além de dois derivados do eugenol (substâncias com anéis aromáticos). Nesse óleo predominou o sesquiterpeno oxigenado α -cadinol (59,16%).

O sesquiterpeno *cis*-calameneno foi previamente detectado em *Protium* com percentual baixo (Siani et al., 2004). O α -copaeno tem sido detectado com altos teores em partes aéreas de espécies de Burseraceae da Reserva Ducke (Carvalho, et al, 2009; Pinto et al., 2010). A presença de α -cadinol com altos percentuais não é comum para as espécies amazônicas de *Protium*.

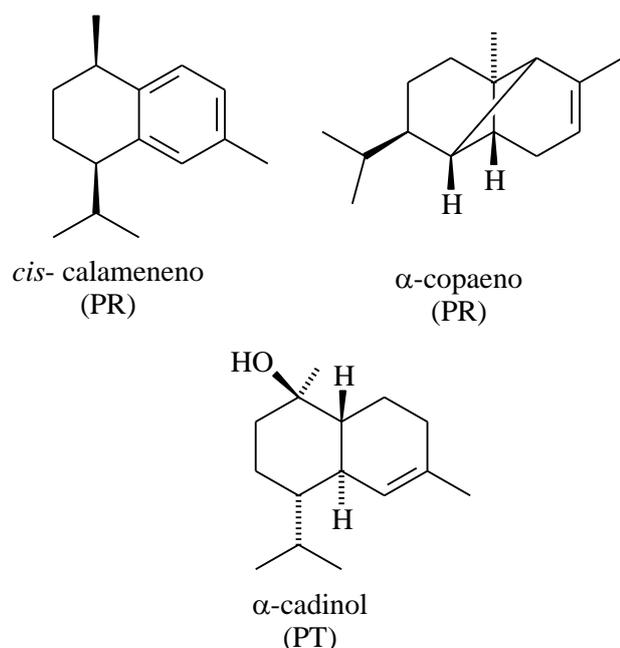


Figura 3. Sesquiterpenos predominantes nos óleos essenciais de *P. robustum* (PR) e *P. trifoliatum* (PT)

4. Conclusão

Esse trabalho contribui para o conhecimento químico da família Burseraceae ocorrente na flora da Reserva Florestal Adolpho Ducke. Análises da composição química dos óleos essenciais de quatro espécies de *Protium* mostrou que esses são caracterizados por sesquiterpenos *P. nitidifolium* e *P. subserratum*, mono e sesquiterpenos em *P. robustum* e *P. trifoliolatum*, com predominância de sesquiterpenos., Esse é o primeiro relato sobre os voláteis em galhos dessas espécies de *Protium*.

Agradecimentos

Os autores deste trabalho agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Baylor University, Allured. 2001. 804p.
- CARVALHO, L. E; MAGALHÃES, L. A. M.; LIMA. M. P.; MAYO, M. O. & FACANALI, R. Essential Oils of *Protium* of the Adolpho Ducke Forest Reserve: *Protium crassipetalum*, *P. heptaphyllum* subs. *ulei*, *P. pilosissimum* and *P. polybotryum*. **J. Essent. Oil Bearing Plants**, v. 16, 551-554, 2013.
- CARVALHO, L. E; PINTO, D. S.; LIMA. M. P.; MAYO, M. O. & FACANALI, R. The Chemistry of Essential Oils of *Crepidospermum rhoifolium*, *Trattinnickia rhoifolia* and *Protium elegans* of the Amazon Region. **Journal of Essential of the Oil Bearing Plants**, v. 12, 92-96, 2009.



Daly, D. C.; Harley, M. M.; Martínez-Habibe, M.-C. & Weeks, A. 2011. Burseraceae. *In*: Kubitzki, K. (ed.). **The families and genera of vascular plants**. Vol. X. Flowering plants. Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. Springer-Verlag, Berlin. Pp. 76-104.

FREITAS, J.G.R.; CAMARA, C.A.G.; MORAES, M.M. & SILVA, H.C.H. Volatile constituents of two species of *Protium* from the Atlantic rainforest in the state of Pernambuco, Brazil. *Nat. Prod. Commun.*, V. 6, 1727–1730, 2011.

MCLAFFERTY, F. W.; STAUFFER, D. **The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data**. New York: Wiley –Interscience Pub. 1989.

MOBOT-Missouri Botanical Garden-W3. Disponível em <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>. Acesso em Outubro de 2016.

PINTO, D. S.; CARVALHO, L. E.; LIMA, M. P.; MARQUES, M. O. M.; FACANALI, R. & RIBEIRO, J. E. L. S. Volatiles of foliar rachis, branches and resin elicited by insects from *Protium hebetatum* grows wild in Amazon. **Journal Essential of the Oil Bearing Plants**, v. 13, 699-703, 2010.

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* spp. of the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 15, 383-387, 2000.

RIBEIRO, J.E.L.S. & DALY, D. C. 1999. Burseraceae. *In*: Ribeiro et al., (ed.). **Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra-firme na Amazônia Central**. Manaus: INPA/DFID, pp.534-543.

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, 477-489, 2004.

THIAGO, A. A. C.; RIBEIRO, J. E. L. S. MARQUES, M. O. M.; FACANALI, R. & LIMA, M. P. Estimulo para produção de resina em *Protium hebetatum* Daly e avaliação dos constituintes químicos voláteis. **Scientia Amazonia**, v. 5, 21-24, 2016.