

UVV-ES
UNIVERSIDADE VILA VELHA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AVALIAÇÃO COMPARADA DA QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS
DA OLEORRESINA DE COPAÍBA (*Copaifera langsdorffii* Desf.) E DA
PIMENTA ROSA (*Schinus terebinthifolia* Raddi)

LUIZ CARLOS CAVALCANTI

VILA VELHA
MARÇO DE 2012

Catalogação na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

C376a Cavalcanti, Luiz Carlos

Avaliação comparada da química dos óleos essenciais da oleoresina de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) e da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia* Raddi)/Luiz Carlos Cavalcanti. – 2012.
64 f.:il.

Orientador: Prof. Dr. Ary Gomes da Silva

Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) –
Universidade Vila Velha, 2012.

1. Compostos voláteis. 2. Mata atlântica. 3. Bálsamo.
4. Fabaceae. 5. *Anacardiaceae*. I. Silva, Ary Gomes da. II.
Universidade Vila Velha, Programa de Pós-graduação em Ciências
Farmacêuticas. III. Título.

CDD 615

Dissertação de Mestrado

AVALIAÇÃO COMPARADA DA QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DA OLEORRESINA DE COPAÍBA (*Copaifera langsdorffii* Desf.) E DA PIMENTA ROSA (*Schinus terebinthifolia* Raddi)

LUIZ CARLOS CAVALCANTI

Aprovada em 30 de março de 2012.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ary Gomes da Silva – UVV/ES

Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster– UFRJ

Prof. Dr. Alessandro Coutinho Ramos – UVV/ES

Dedico à conclusão deste trabalho à Áurea, a minha família e ao meu orientador Ary que lutou incansavelmente até o final, a despeito das adversidades, para que pudéssemos fazer um trabalho digno de valor e que pudesse trazer à tona novos conhecimentos.

Agradecimentos ao Laboratório Tommasi Analítica, que mui gentilmente disponibilizou equipamentos, reagentes e pessoal qualificado para a realização dos ensaios de cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas e a FUNADESP que financiou parte desta pesquisa.

Resumo

Objetivo: Comparar a química dos óleos essenciais de *Copaifera langsdorffii* Desf. e *Schinus terebinthifolia* Raddi através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Método:** Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação e analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Comparou-se o rendimento, densidade, composição qualitativa, diversidade química e a equitabilidade. **Resultado:** Comparativamente, os óleos essenciais estudados se apresentam bem distintos, o de pimenta rosa é composto majoritariamente por monoterpenóides, com sesquiterpenóides em traços residuais, enquanto no óleo essencial da oleorresina de copaíba se dá o inverso. A substância majoritária do óleo essencial de copaíba foi o β -duprezianeno (43,7%) e o δ -3-careno (46,95%) foi a substância majoritária do óleo essencial de pimenta rosa. 15 substâncias foram comuns a ambos os óleos, predominantemente sesquiterpenóides. **Conclusões:** Quanto ao rendimento, a matéria prima oleorresina de copaíba pode ser uma fonte mais produtiva de extração de óleo essencial se comparada aos frutos maduros da pimenta rosa. Em *S. terebinthifolia* o δ -3-careno e o α -pineno são possibilidades de marcadores químicos presentes no óleo essencial desta espécie, enquanto o β -duprezianeno pode ser utilizado como substância característica para a oleorresina de *C. langsdorffii* originária da região de Castelo, na região serrana do Espírito Santo.

Palavras-chaves: compostos voláteis, mata atlântica, bálsamo, Fabaceae, Anacardiaceae.

Abstract

Objective: To compare the chemistry of essential oils from *Copaifera langsdorffii* Desf. and *Schinus terebinthifolia* Raddi by gas chromatography/mass spectrometry.

Method: The essential oils were obtained by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. We compared the performance, density, qualitative composition, chemical diversity and equitability. **Result:** In comparison, the essential oils studied that exhibit distinct, the Brazilian pepper is composed mainly of monoterpenes, with residual traces of sesquiterpenoids, while the essential oil of the oleoresin copaiba the opposite occurs. The major substance of the essential oil from copaiba was the β -duprezianene (43.7%) and δ -3-carene (46.95%) was the major substance of the essential oil from Brazilian pepper. 15 compounds were common to both oils, predominantly sesquiterpenoids.

Conclusions: As for performance, the raw material of copaiba oleoresin may be a more productive source of essential oil extraction compared to the mature fruits of Brazilian pepper. In *S. terebinthifolia* the δ -3 carene and α -pinene are possibilities of chemical markers present in the essential oil of this species, while the substance β -duprezianeno can be used as characteristic for the *C. langsdorffii* oleoresin original from Castelo, in the mountainous region of the Espírito Santo.

Keywords: volatile compounds, atlantic forest, balsam, *Fabaceae*, *Anacardiaceae*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Rendimento, densidade absoluta, diversidade química e equitabilidade do óleo essencial de <i>C. langsdorffii</i> Desf e <i>S. terebinthifolia</i> Raddi.....	30
Tabela 2	Composição química qualitativa e centesimal dos óleos essenciais de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. e <i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi.....	35
Tabela 3	Índices de retenção, substâncias identificadas e composição centesimal (%) nas amostras de óleo essencial de <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf e <i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi.....	36

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Cromatogramas comparados dos componentes do óleo essencial de *Schinus terebenthifolia* Raddi e *Copaifera langsdorffii* Desf. mostrando as moléculas dos principais componentes.....32
- Figura 2** Cromatograma dos componentes do óleo essencial de *Schinus terebenthifolia* Raddi, mostrando as moléculas dos principais componentes.....33
- Figura 3** Cromatograma dos componentes do óleo essencial de *Copaifera langsdorffii* Desf, mostrando as moléculas dos principais componentes.....34

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

μL	Microlitro
AI	Índice de Retenção de Adans
as	Altamente significativo
C	Sequência de Hidrocarboneto;
eV	Eletrovolts
g	Gramas
g ml⁻¹	Unidade de densidade
H'	Índice de diversidade de Shannon-Weaverr
J'	Equitabilidade
JCR	Fator de impacto da Revista
K²	Teste de normalidade
KI	Índice de Retenção de Kovats
m	Massa
mg	Miligramas
mL	Mililitro
ns	Não signigicativo
°C	Graus Celsius
p	Nível de significância
s	Significativo
S	Sul
UVV	Universidade Vila Velha
W	Oeste
WHO	Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

RESUMO	06
ABSTRACT	07
LISTA DE TABELAS	08
LISTA DE FIGURAS	09
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	10
1. INTRODUÇÃO	13
1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
1.1.1 Óleos Essenciais.....	15
1.1.1.1 Pimenta rosa (Aroeira)	17
1.1.1.2 Copaíba.....	22
2. OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL.....	23
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
3. ENCARTE DE PUBLICAÇÃO	
3.1. Manuscrito: AVALIAÇÃO COMPARADA DA QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DA OLEORRESINA DE COPAÍBA (<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) E DA PIMENTA ROSA (<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi)	25
3.1.1 RESUMO.....	26
3.1.2 INTRODUÇÃO.....	27
3.1.3 MÉTODOS EXPERIMENTAIS.....	28
3.1.4 RESULTADOS.....	30
3.1.5 DISCUSSÃO.....	39
3.1.6 CONCLUSÕES.....	42

3.1.7 REFERÊNCIAS	44
4. CONCLUSÕES.....	47
5. REFERÊNCIAS	47
ANEXO.....	56
ANEXO A - Normas da revista Journal of Natural Products (JCR 2,82)	57

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a Política Nacional de Plantas Medicinais tem estimulado o uso de plantas em cuidados de saúde primários, validando a medicina tradicional e apontando para a falta de um conjunto consistente de provas que apoie os seus usos e indicações de etnobotânica e etnofarmacologia (BRASIL, 2006).

Os óleos essenciais já vêm sendo utilizados pela medicina há milhares de anos. Registros egípcios de seis mil anos atrás relatam práticas religiosas associadas à cura de males, unções da realeza e busca de bem estar físico, através de aromas obtidos de partes específicas de certos vegetais como resinas, folhas, flores e sementes. Na China e na Índia, as substâncias aromáticas já eram populares há centenas de anos antes da era cristã, quando eram utilizadas em incensos, poções e vários tipos de acessórios usados diretamente sobre o corpo. Entretanto, a real comercialização de materiais aromáticos só se iniciou a partir da Idade Média, quando cientistas muçumanos introduziram o processo de destilação de óleo oriundo de diversas partes de plantas (SIANI et al., 2000).

Schinus terebinthifolia Raddi (Anacardiaceae), popularmente conhecida como aroeira-vermelha ou pimenta rosa, é uma árvore de folhas perenes, originária da América do Sul, especialmente do Brasil, Paraguai e Argentina. Os frutos são do tipo drupa e têm coloração verde no início e depois, quando maduros, se tornam vermelhos com uma casca seca que se transforma em uma espécie de concha de papel que envolve a semente. A semente é única por fruto, marrom escura e mede cerca de 0,3 milímetros de diâmetro (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2004). Em testes de laboratório, o óleo essencial de pimenta rosa demonstrou propriedades antifúngicas e antibacterianas e além destas propriedades, a pimenta rosa exibe atividade anticancerígena e citotóxica (AZEVEDO, 2000).

O extrato fluido e a tintura da casca da aroeira fazem parte da primeira edição da farmacopéia brasileira (SILVA, 1926). Os frutos e sementes conhecidos como pimenta rosa são conhecidos e aplicados em diversos países como condimento apresentando uso alimentar amplamente difundido (EUROPEAN SPICE ASSOCIATION, 2007). As estruturas secretoras de óleos essenciais são ductos que ocorrem no caule, ramos, folhas e frutos (MACHADO, 2001). Em ensaios com cobaias a pimenta rosa foi considerada de baixa toxicidade quando administrada por via oral em ratos, por se tratar de uma dose 2.500 vezes maior, que a usada diariamente no consumo humano (PIRES et al., 2004).

À parte do uso da pimenta rosa como condimento nas culinárias mais refinadas, o uso medicamentoso de seu bálsamo, a oleorresina que contém os óleos essenciais que são objeto deste trabalho, consta da farmacopeia brasileira em sua primeira edição (SILVA, 1926).

As copaibeiras são árvores pertencentes à família das Leguminosae-Caesalpinoidae que alcançam de 25 a 40 metros de altura, podendo viver até 400 anos (VEIGA Jr; PINTO, 2002). Do tronco dessas árvores é extraído o óleo de copaíba que funciona como defesa da planta contra animais, fungos e bactérias (PONTES et al., 2003). Vários estudos estão sendo realizados, baseados na medicina popular, para avaliar as propriedades antiinflamatória, analgésica e cicatrizante a partir do uso do óleo de copaíba (POSSA et al., 2007).

O conhecimento tradicional sobre o uso das plantas é amplo, e em muitos casos é o único recurso disponível que a população rural de países em desenvolvimento possui. As plantas utilizadas como remédio quase sempre têm posição predominante e significativa nos resultados das investigações etnobotânicas de uma região ou grupo étnico (PASA; GUARIM NETO, 2005).

Avaliou-se e comparou-se a química de óleos essenciais extraídos de duas plantas tradicionalmente utilizadas no Brasil, ou seja, a pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia* Raddi) e a copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.).

Há estudos que indicam a ação antiinflamatória e antibacteriana dos óleos essenciais de pimenta rosa e copaíba (DEGÁSPARI, 2010, GUERRA; HENRIQUES et al., 2000). Trabalhos anteriores demonstraram atividades antissépticas e antiinflamatórias do óleo essencial de pimenta rosa (MARTINEZ et. al. 1996) e óleo essencial de copaíba (VEIGA et al., 1997).

O estudo comparativo da química dos óleos essenciais de pimenta rosa e copaíba, duas plantas às quais são atribuídas ações antissépticas e antiinflamatórias justifica-se, pois a população, segundo a OMS, dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para sua atenção primária, tendo em vista que 80% desta população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% destes utilizam plantas ou preparações destas (BRASIL, 2006).

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são produzidos por estruturas secretoras especializadas como as glandulares com bolsas características, células parenquimáticas, pêlos e canais oleíferos. Podem ser estocados em certos órgãos vegetais tais como nas folhas, casca e frutos, onde estas estruturas secretoras ocorrem (SIMOES et al., 2004).

Os óleos essenciais são um produto do metabolismo secundário e estão contidos em vários órgãos da planta. Possuem varias funções vitais para os vegetais dentro do seu ecossistema, pois atuam defendendo-a contra microrganismos e predadores

(HENRIQUES et al., 2000).

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos químicos com características voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (MARTINS et al., 2002). Podem estar presentes em um só órgão ou em toda planta, sintetizados em diferentes órgãos variando de acordo com a família e armazenados em células secretoras, cavidades, células epidérmicas e tricomas. Geralmente, possuem densidade menor que da água e são solúveis em compostos orgânicos (BAKKALI et al., 2008).

A composição química dos óleos essenciais sofre importante influência do ambiente e tipo de cultivo há que o vegetal é submetido, especialmente nas espécies cuja estocagem ocorre em regiões mais superficiais (MACIEL et al., 2002). Os óleos podem conter cerca de 20 a 60 componentes em diferentes concentrações. Geralmente dois ou três componentes apresentam-se em maior concentração-20 a 70% que vão caracterizar o óleo e determinar sua propriedade biológica. Os componentes podem ser de dois grupos, terpenos e substâncias fenilpropanóides (BAKKALI et al., 2008).

A composição química dos óleos essenciais inclui substâncias de diferentes classes químicas funcionais. Podem incluir substâncias nitrogenadas como aminas e amidas alifáticas e aromáticas, compostos fenólicos como os fenilpropanóides (cinâmicos) ou cumarínicos; e compostos sulfurados principalmente derivados alílicos. Porém a grande predominância é dos compostos terpenoídicos como os mono e sesquiterpenoides ou mesmo alguns diterpenoides mais voláteis (BAKKALI et al., 2008).

Estes constituintes tem permitido ao mesmo tempo a utilização segura dos óleos essenciais como aromatizantes e flavorizantes nas indústrias farmacêuticas,

cosméticas e de alimentos ao mesmo tempo em que tem chamado atenção para cuidados quanto aos riscos, principalmente de reações alergizantes e fototóxicas. Essas reações adversas têm sido associadas a alguns quimiotipos padrões de óleos essenciais (BURFIELD, 2000), entre eles o óleo de bergamota (LANKERANI e BARON, 2004, KEJLOVA et al., 2007) de limão e de lima (LANKERANI e BARON, 2004, KEJLOVA et al., 2010) de lavanda, sândalo e cedro (LANKERANI e BARON, 2004).

Para os óleos essenciais de pimenta rosa e copaíba não há relatos descritos até o momento de fototoxicidade, e uma consulta em cosméticos notificados na página da ANVISA, 2011 revelou que existem 29 produtos cosméticos contendo óleo essencial de pimenta rosa notificados. Na mesma página podemos verificar que existem 369 produtos cosméticos notificados contendo óleo de copaíba. Produtos cosméticos podem ser notificados ou registrados conforme seu grau de risco de utilização. Todos os produtos notificados são obrigatoriamente grau de risco 1 (BRASIL, 2005), devido ao seu baixo risco potencial de utilização. Incluem óleos corporais, hidratantes, sabonetes, cremes faciais, desodorantes, xampus, entre outras formas cosméticas, o que reforça o fato da extrema segurança na aplicação tópica destes produtos, entretanto, é de suma importância a caracterização química dos componentes das frações voláteis destes óleos para uma padronização que possibilite um efetivo controle de qualidade destas matérias primas.

1.1.1.1 Pimenta rosa (aroeira)

Generalidades

A aroeira, popularmente conhecida como pimenta rosa é uma árvore grande, de casca fina e escamosa. Possui folhas compostas por folíolos lanceolados e pontiagudos, numerosas flores, dispostas em pedículos, pequenas e brancas ou

amarelas esverdeadas. Seu fruto é uma drupa vermelha e lustrosa, cujo cheiro se assemelha ao da pimenta. É originária do Peru, tendo sido introduzida na Europa, Ásia e outras regiões da América. No Brasil, tem distribuição em todo território, sendo catalogadas oito espécies diferentes (LISBOA-NETO et al., 1998).

A aroeira tem sido utilizada em diferentes situações, sendo grande o seu uso terapêutico. Sua entrecasca possui propriedades antiinflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes (VIANA et al., 1995).

As raízes são usadas no tratamento de reumatismo e as folhas são indicadas para o tratamento de úlceras (ALMEIDA et al., 1998). Além disso, sua madeira, em função da durabilidade e dificuldade de putrefação, é muito usada na construção civil como postes ou dormentes para cercas, na confecção de móveis de luxo e adornos torneados (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 1992).

Estudo do óleo essencial extraído da pimenta rosa demonstrou atividade antimicrobiana sobre bactérias gram-positivas e antiinflamatória por inibição da enzima fosfolipase A₂ (PIRES et al., 2004).

A pimenta rosa tem demonstrado ação antiinflamatória e cicatrizante além de caráter inibitório específico e está diretamente relacionada à triterpenóides presentes nos frutos (JAIN et al., 1995).

O óleo essencial presente nas folhas de *Schinus terebinthifolia* Raddi Desf., casca e frutos é uma rica fonte de substâncias químicas. O fruto pode conter até 5% de óleo essencial, e as folhas até 1%. Em testes de laboratório, o óleo essencial apresentou propriedades antifúngicas e antibacterianas e além destas propriedades, a pimenta rosa brasileira é anticancerígena e citotóxica (AZEVEDO, 2000).

Pesquisas comprovam que *S. terebinthifolia* é indicada para o tratamento de estomatite e externamente como antisséptico, agente curativo e antiinflamatório. O extrato hidroalcoólico da casca da planta também é dotado de atividade antiinflamatória, aliada à ação anti-histamínica. O óleo essencial mostrou atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus albus*. Conforme estudos realizados, a atividade antifúngica do óleo essencial da pimenta rosa demonstrou resultados positivos para os testes com os fungos de *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus* e *Trichoderma* spp. (SIDDIQUI et al., 2003)

O extrato da pimenta rosa mostrou potencial mutagênico em bactérias e propriedades antioxidantes, propriedades estas atribuídas à presença de flavonóides (CARVALHO et al., 2003). Atividade antioxidante também foi encontrada nos extratos aquosos e etanólicos dos frutos (DEGASPARI et al., 2004).

O óleo essencial de pimenta rosa não mostrou nenhuma toxicidade para animais experimentais e nem para seres humanos. Herboristas e médicos de saúde natural na América do Norte e do Sul usam a pimenta rosa para resfriado e outras infecções respiratórias superiores; como remédio anti-hipertensivo, para arritmia cardíaca e para infecções provocadas por fungos (BALANDRIN et al., 1985).

Importância e Relevância Social e Científica

Ao longo do tempo têm sido registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais. Apesar da grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização com orientação científica pelas populações carentes, impossibilitadas desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações dos

países em desenvolvimento (VEIGA JR. et al., 2005).

Histórico de Uso

Desde os tempos mais remotos, os gregos, egípcios e outros povos já utilizavam as plantas para o tratamento das doenças da humanidade (PONTES et al., 2003).

A pimenta-rosa, muitas vezes confundida com a pimenta-do-reino, não pertence à família das pimentas. Trata-se da fruta da aroeira (de tamanho semelhante ao da pimenta-do-reino) que, apesar do aroma de pimenta, apresenta sabor levemente adocicado e ardência bem delicada, quase imperceptível (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002).

Há registros que os egípcios a mais de 6 mil anos atrás já usavam os óleos essenciais nas práticas religiosas associadas a curas e unções das realezas e, através de aromas extraídos de resinas, folhas, frutos e sementes de plantas, buscavam o bem estar físico. As substâncias aromáticas também já eram conhecidas pelos chineses e indianos no período A.C. quando já incorporavam em seus incensos poções e acessórios que eram usados junto ao corpo. Mas foi somente na Idade Média que ocorreu a introdução do processo de destilação, desenvolvido pelos mulçumanos, iniciando assim a fabricação dos óleos essenciais (TYRREL, 1990).

Em outros tempos, a aroeira foi utilizada pelos jesuítas que, com sua resina, preparavam o “Bálsamo das Missões”, famoso no Brasil e no exterior. Externamente, o óleo essencial da aroeira brasileira é utilizado na forma de loções, géis ou sabonetes, indicados para limpeza de pele, coceiras, espinhas-acne-, manchas, desinfecção de ferimentos, micoses e para banho (LORENZI; MATOS, 2002).

O óleo essencial é o principal responsável por várias atividades desta planta, especialmente à ação antimicrobiana contra vários tipos de bactérias e fungos e contra vírus de plantas, bem como atividade repelente contra a mosca doméstica. Este óleo essencial, rico em monoterpenos, é indicado em distúrbios respiratórios. É eficaz em micoses, tratamento local de candidíases e alguns tipos de câncer como carcinoma, sarcoma, etc. e como antiviral e bactericida. Possui ação regeneradora dos tecidos e é útil em escaras, queimaduras e problemas de pele (LORENZI; MATOS, 2002).

Em muitos estudos *in vitro*, extratos da folha da aroeira brasileira demonstram ação antiviral em plantas e demonstram citotoxicidade para nove tipos de câncer (LORENZI; MATOS, 2002).

Perfil Fitoquímico

Análises fitoquímicas de *S. terebinthifolia* revelaram que a mesma contém taninos, fenóis, saponinas esteroidais, flavonóides, triterpenos, antraquinonas e uma quantidade grande de óleo essencial (LIMA et al., 2006; CARVALHO et al., 2003).

Alguns triterpenos como o ácido masticadienônico, Schinol, baueren-28-carboxi-3-ona, β -sistoterol, α -amirina, bauerenona, simiarenol e n-triacontano, foram isolados de cascas e folhas da pimenta-rosa, constatando-se também a possível presença de baurenol e α -amirinona (MARSAIOLI, 1974).

Estudos com a pimenta rosa revelam atividades antimicrobianas (MARTINEZ et al., 1996; MELO-JÚNIOR et al., 2002; SCHMOURLO et al., 2005; LIMA et al., 2006), antiinflamatórias (PIRES et al., 2004), antioxidante (VELÁSQUEZ et al., 2003) e antitumoral (QUEIRES et al., 2006), atividades essas que têm sido demonstradas

em diferentes modelos farmacológicos.

Alguns componentes do óleo essencial, particularmente α -felandreno, β -felandreno e δ -3-careno, em combinação com cardanol são considerados como prováveis agentes causadores de dermatites (STAHL et al., 1983), enquanto alguns artigos relatam que os frutos da pimenta rosa (*S. terebinthifolia*), utilizados como condimento, possuem baixa toxicidade oral aguda (PIRES et al., 2004).

Componentes e Mecanismo de ação

A pimenta rosa é uma planta medicinal de uso amplamente difundido no Nordeste para tratamento de diversas infecções. Múltiplos mecanismos de ação têm sido descritos para *Schinus*, demonstrando-se atividade antiinflamatória não-esteróide pela inibição competitiva específica da fosfolipase A₂ (SANTOS; AMORIM, 2002) por dois de seus componentes, o Schinol e o Ácido masticadienóico (FURONES, 1993).

Por outro lado, os bioflavonóides componentes do *Schinus*, também apresentam ação antiinflamatória, e diversas substâncias presentes em seu extrato apresentam atividade antimicrobiana, como a terebinthona, o ácido hidroximasticadienóico, o ácido terebinthifólico e o ácido ursólico. Já se demonstrou, *in vitro*, atividade contra *Klebsiella pneumoniae*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Leuconostoc cremoris*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium sporogenes*, *Acinetobacter calcoacetica*, *Escherichia coli*, *Beneckea natriegens*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e várias espécies de fungos (MARTINEZ et al., 1996).

1.1.1.2 Copaíba

As copaibeiras são árvores pertencentes à família das Leguminosae-Caesalpinioideae que alcançam de 25 a 40 metros de altura, podendo viver até 400 anos (VEIGA Jr;

PINTO, 2002). Do tronco dessas árvores é extraído o óleo de copaíba que funciona como defesa da planta contra animais, fungos e bactérias (PONTES et al., 2003).

Vários estudos estão sendo realizados, baseados na medicina popular, para avaliar as propriedades antiinflamatória, analgésica e cicatrizante com o uso do óleo de copaíba (POSSA et al., 2007).

A partir do século XVI, os primeiros colonizadores das Américas relataram que as índias aplicavam este óleo no umbigo dos recém-nascidos e os guerreiros, após as batalhas, em seus ferimentos, sendo observada sua utilização como agente antiinflamatório e cicatrizante. Este conhecimento dos índios adveio da observação de que animais quando feridos esfregavam-se no tronco das copaibeiras para cicatrizarem suas feridas (MACIEL et al., 2002). Os colonos também descobriram que o óleo de copaíba pode ser utilizado como antisséptico das vias urinária e respiratória (PINTO et al., 2007).

Depois da introdução do óleo de copaíba nas farmacopéias como medicamento antiblenorrágico, seu uso generalizou-se na medicina popular como cicatrizante e antiinflamatório local e, internamente, como diurético, expectorante e antimicrobiano nas afecções urinárias e da garganta, neste caso misturado ao mel de abelhas e limão (LORENZI; MATOS, 2002).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Separar e caracterizar físico-quimicamente as frações voláteis dos óleos essenciais de pimenta rosa e copaíba e comparar a química destas frações voláteis.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Separar a fração volátil dos frutos e sementes de *Schinus terebinthifolia Raddi* e do oleorresina de copaíba;

Caracterizar físico-quimicamente as frações voláteis purificadas;

Padronizar uma técnica de análise dos óleos essenciais em estudo pelo método de cromatografia em fase gasosa de alta resolução, acoplada à espectrometria de massas;

Identificar quimicamente os componentes dos óleos essenciais das espécies em estudo a partir da consulta em biblioteca molecular para os espectros de massas obtidos e dos Índices de Retenção aritméticos de Wan der Dolls e de Kovats calculados;

3 ENCARTE DE PUBLICAÇÃO

AVALIAÇÃO COMPARADA DA QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DA OLEORRESINA DE COPAÍBA (*Copaifera langsdorffii* Desf.) E DA PIMENTA ROSA (*Schinus terebinthifolia* Raddi)

Manuscrito apresentado nas normas da revista Journal of Natural Products (JCR 2,82)

Luiz Carlos Cavalcanti ‡, Drielle Lima de Almeida Pratti ‡, Rodrigo Scherer‡§ e Ary
Gomes da Silva‡*

Universidade Vila Velha – UVV. Rua Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista,
Vila Velha, ES, Brasil - CEP 29.102-770.

* Tel: 55 (27) 3421-5527. Fax: 55 (27) 3421-2000. E-mail: arygomes@uvv.br

‡ Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Vila Velha –
UVV. Rua Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista, Vila Velha, ES, Brasil - CEP
29.102-770.

§ Tommasi Analítica. Av. Luciano das Neves, 2016. Divino Espírito Santo, Vila Velha/ES.
CEP: 29.107-010

AValiação Comparada da Química dos Óleos Essenciais da Oleorresina de Copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) e da Pimenta Rosa (*Schinus terebinthifolia* Raddi)

Resumo

Copaifera langsdorffii Desf. e *Schinus terebinthifolia* Raddi, são fonte de óleos essenciais que estudos anteriores indicam ações antiinflamatória e antibacteriana. Comparou-se o rendimento, densidade, composição qualiquantitativa, diversidade química e equitabilidade. Comparativamente, os óleos essenciais estudados se apresentam bem distintos, o de pimenta rosa é composto majoritariamente por monoterpenóides, com sesquiterpenóides em traços residuais, enquanto no óleo essencial da oleorresina de copaíba se dá o inverso. Foram identificadas 47 substâncias no óleo essencial de copaíba, majoritariamente o β -duprezianeno (43,7%) e 74 substâncias no de pimenta rosa, sendo majoritário o δ -3-careno (46,95%). 15 substâncias foram comuns a ambos os óleos, predominantemente sesquiterpenóides.

Palavras-chave: cromatografia gasosa, aroma, compostos voláteis, mata atlântica, bálsamo.

1. Introdução

As plantas do gênero *Copaifera* encontram-se distribuídas na África e em regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, principalmente no Brasil, Venezuela, Guianas e Colômbia. No Brasil são encontradas principalmente nos estados do Pará e Amazonas, mas também ocorrem no Cerrado e na Mata Atlântica.¹

O óleo de copaíba é, na verdade, uma oleorresina também conhecida por bálsamo de copaíba, obtida por exsudação do tronco após perfuração ou trauma, principalmente, de *Copaifera reticulata* Ducke, a copaíba marimari, *Copaifera officinalis* (Jacq.) L., a copaíba verdadeira, e *Copaifera langsdorffii* Desf., a copaíba vermelha,^{2,3,4} cujo interesse se deve ao seu variado uso na medicina popular, principalmente como cicatrizante e anti-inflamatório.²

Copaifera langsdorffii Desf é uma árvore da família Leguminosae (Caesalpinioideae) conhecida popularmente por copaíba, pau-d'óleo, podói, cupaúba e cupiúva.² Entre os componentes químicos e farmacológicos dos óleos essenciais dos frutos e das cascas dos frutos de *C. langsdorffii* foram identificados para os frutos γ -muuroleno (29,8%) e β -cariofileno (14,8), enquanto que para o óleo das cascas dos frutos o constituinte principal era o óxido de cariofileno (47,3%).^{5,6} As atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial das cascas dos frutos foram descritas por Paiva *et al.*⁷

Schinus terebinthifolia Raddi (Anacardiaceae), popularmente conhecida como aroeira-vermelha ou pimenteira rosa, é uma árvore de folhas perenes, originária da América do Sul, especialmente do Brasil, Paraguai e Argentina. Os frutos são do tipo drupa e têm coloração verde no início e depois, quando maduros, se tornam vermelhos com uma casca seca que se transforma em uma espécie de concha de papel que envolve a semente. A semente é única por fruto, marrom escura e mede cerca de 0,3 milímetros de diâmetro.⁸

Análises fitoquímicas de *S. terebinthifolia* revelaram que a mesma contém taninos, fenóis, saponinas esteroidais, flavonóides, triterpenos, antraquinonas e uma quantidade grande de óleo essencial.⁹ O óleo essencial presentes nas folhas, casca e frutos é uma

fonte rica de substâncias químicas. O fruto pode conter até 5% de óleo essencial, e as folhas até 1%. Em testes de laboratório, o óleo essencial demonstrou propriedades antifúngicas e antibacterianas e além destas propriedades a pimenta rosa brasileira exibe atividade anticancerígena e citotóxica.¹⁰

Alguns triterpenos como o ácido masticadienônico, schinol, baueren-28-carboxi-3-ona, β -sitosterol, α -amirina, bauerenona, simiarenol e *n*-triacontano, foram isolados de cascas e folhas da pimenta-rosa, constatando-se também a possível presença de baurenol e α -amirinona.¹¹

O objetivo deste trabalho foi comparar a química dos óleos essenciais destas duas espécies, buscando marcadores fitoquímicos que permitam a padronização destes óleos essenciais para fins terapêuticos, pois há estudos que indicam a ação antiinflamatória e antibacteriana dos óleos essenciais de copaíba e pimenta rosa,^{8,12} e torna-se importante elucidar se esta convergência farmacológica corresponde a uma similaridade química o que justifica tal pesquisa.

2. Métodos Experimentais

Extração do óleo essencial e determinação da densidade

A oleorresina da copaibeira foi coletada a partir de espécimes de *Copaifera langsdorffii* Desf., originários da região rural de Castelo, Espírito Santo, Brasil nas coordenadas 20°30'45''S e 41°11'20''W. Os frutos de pimenta rosa foram coletados de espécimes de *Schinus terebinthifolia* Raddi de regiões litorâneas de restinga da Barra do Riacho no Município de Aracruz, Espírito Santo, Brasil nas coordenadas 19°50'31''S e 40°03'43''W. Exsiccatas de ambas as espécies estão depositadas no Herbário da UVV-ES.

A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação em um aparelho de Clevenger¹³ a partir de 200g da oleorresina de *C. langsdorffii* em aliquotas de 50g em cada ensaio, durante uma hora de processo extrativo, contados a partir da ebulição da

amostra, com aquecimento mantido na temperatura mínima necessária à ebulição. A extração do óleo essencial de pimenta rosa utilizou a mesma técnica a partir de alíquotas de 100g cada de frutos maduros triturados. Ambas as extrações foram realizadas no laboratório de Ciências Químicas, na UVV. Após a extração, os óleos essenciais foram separadamente transferidos para um frasco de vidro, e sua purificação foi feita por separação da água remanescente por congelamento, o óleo essencial que foi mantido na fase líquida, foi drenado do frasco. A densidade de cada óleo essencial foi determinada gravimetricamente por pesagem 1 mL de líquido a 20°C, em temperatura controlada. Os óleos essenciais foram pesados em uma balança analítica com precisão de 1,0 mg.

Perfil fitoquímico dos óleos essenciais

A análise cromatográfica dos componentes do óleo essencial de cada espécie em estudo foi realizada através da cromatografia gasosa de alta resolução, no Laboratório de Química Fina do Tommasi Analítica. O volume de injeção foi de 2 µL, composto por 1,6 µL de uma solução de óleo essencial (30 mg/ml) e 0,4 µL de uma solução de uma série de hidrocarbonetos de C7-C30, como padrão interno, tanto em n-hexano como solvente. A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa - GC-MS-sistema utilizado consistiu de um cromatógrafo a gás, Thermo Scientific® Ultra GC acoplado a um espectrômetro de massa Thermo Scientific®. A coluna de sílica fundida utilizada foi uma DB-5 J & W Scientific (30 m × 0,25 mm × 0,25 mm). Hélio foi o gás de arraste e o programa de temperatura da coluna foi aumentada em 3°C por minuto entre 60°-240°C. Os espectros de massa foram obtidos a 70 eV a uma taxa de varredura de 0,84 scan/sec, na faixa de m/z 40-500.¹⁴ Os tempos de retenção dos componentes da amostra e uma mistura de n-alcanos de C7-C30, co-injetados no sistema GCMS no mesmo programa de temperatura, foram utilizados para o cálculo do Índice de Retenção de Kovats - KI¹⁴ e do Índice de Retenção Aritmético de van der Dool e Kratz.¹⁵

Os arquivos gerados com os espectros de massa obtidos nas varreduras foram utilizados na identificação dos componentes dos óleos essenciais, realizada no

Laboratório de Ecologia Funcional da UVV, através a utilização do programa Xcalibur, versão 2.0.7. A identificação foi baseada na similaridade espectral, feita através da comparação dos espectros obtidos com os presentes na biblioteca espectral e os disponíveis na literatura ¹⁴, e na comparação dos índices de retenção calculados, comparados com o disponível na literatura. ¹⁴

A diversidade química das amostras de óleo foi estimada pelo índice de Diversidade de Shannon-Weaver – H' – e a equitabilidade foi estimada pelo índice J de Pielou, ¹⁶ sendo ambas testadas em relação a eventuais diferenças pelo teste t para amostras independentes. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade de igualdade entre os índices médios foi $p \leq 0,05$. ¹⁷

3. Resultados

O rendimento do processo extrativo de óleo essencial a partir da oleorresina de *C. langsdorffii* foi quase 10 vezes superior ao dos frutos da *S. terebinthifolia*. Ambos caracterizaram-se como líquidos oleosos de baixa viscosidade, incolores e translúcidos. O rendimento, a densidade, a diversidade química e a equitabilidade química também foram maiores para *C. langsdorffii*. (Tabela 1).

Tabela 1. Rendimento, densidade absoluta, diversidade química equitabilidade do óleo essencial de *C. langsdorffii* Desf e *S. terebinthifolia* Raddi.

Parâmetro	% Média (p/p) ± Erro Padrão		Teste t, gl=6, t, p
	<i>C. langsdorffii</i>	<i>S. terebinthifolia</i>	
Rendimento (%)	26,202 ± 2.919	2,729 ± 0.151	8,030; $p = 0,000^{as}$
Densidade (g mL ⁻¹)	0,905 ± 0.007	0,865 ± 0.002	5,895; $p = 0,001^{as}$
Diversidade química (H')	2,211 ± 0,0034	2,057 ± 0.046	2,662; $p = 0,037^s$
Equitabilidade (J)	0,6030±0,002	0,487±0,010	11,730; $p = 0,000^{as}$

Legenda: **H'** : índice de diversidade de Shannon-Weaverr; **as**: altamente significativo; **s**: significativo; **ns**: não significativo.

Houve uma diferença significativa entre as equitabilidades químicas dos óleos essenciais de *Copaifera langsdorffii* Desf. e *Schinus terebinthifolia* Raddi, sendo a de *Schinus* menor que a de *Copaifera*, isto é compatível com o fato de que em *S. terebinthifolia* são necessárias apenas as cinco substâncias majoritárias para compor 82,4% da composição percentual de todas as substâncias, enquanto na *C. langsdorffii* são necessárias nove substâncias para se atingir este mesmo valor.

Apesar de *C. langsdorffii* possuir 23 substâncias a menos na composição do óleo essencial quando comparada a *S. terebinthifolia*, o índice de diversidade química encontrada para a primeira foi significativamente maior que o encontrado para a segunda. Isto reflete a equitabilidade maior também encontrada para *C. langsdorffii*, pois os índices de diversidade não medem apenas o número de diferentes categorias existentes no espaço amostral, mas também a forma proporcional como as diferentes categorias se representam neste mesmo espaço.

Considerando os óleos essenciais das quatro amostras de *C. langsdorffii* e das dez amostras de *S. terebinthifolia* foram detectadas para o óleo de copaíba 47 substâncias e para a pimenta rosa 74 substâncias. As substâncias majoritárias podem ser comparadas através dos respectivos cromatogramas (Figuras 1; 2 e 3).

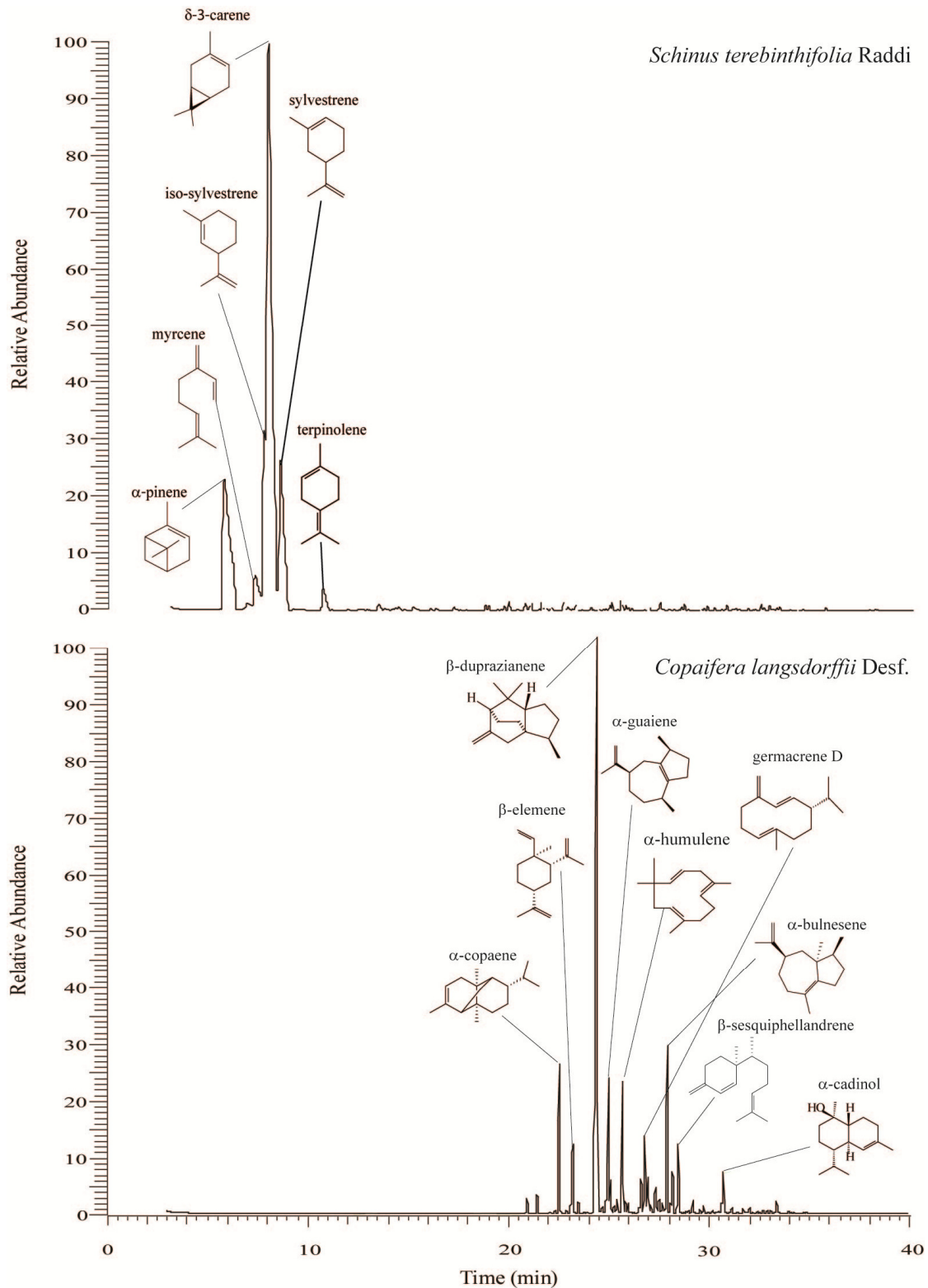


Figura 1 Cromatogramas comparados dos componentes do óleo essencial de *Schinus terebinthifolia* Raddi e *Copaifera langsdorffii* Desf. mostrando as moléculas dos principais componentes.

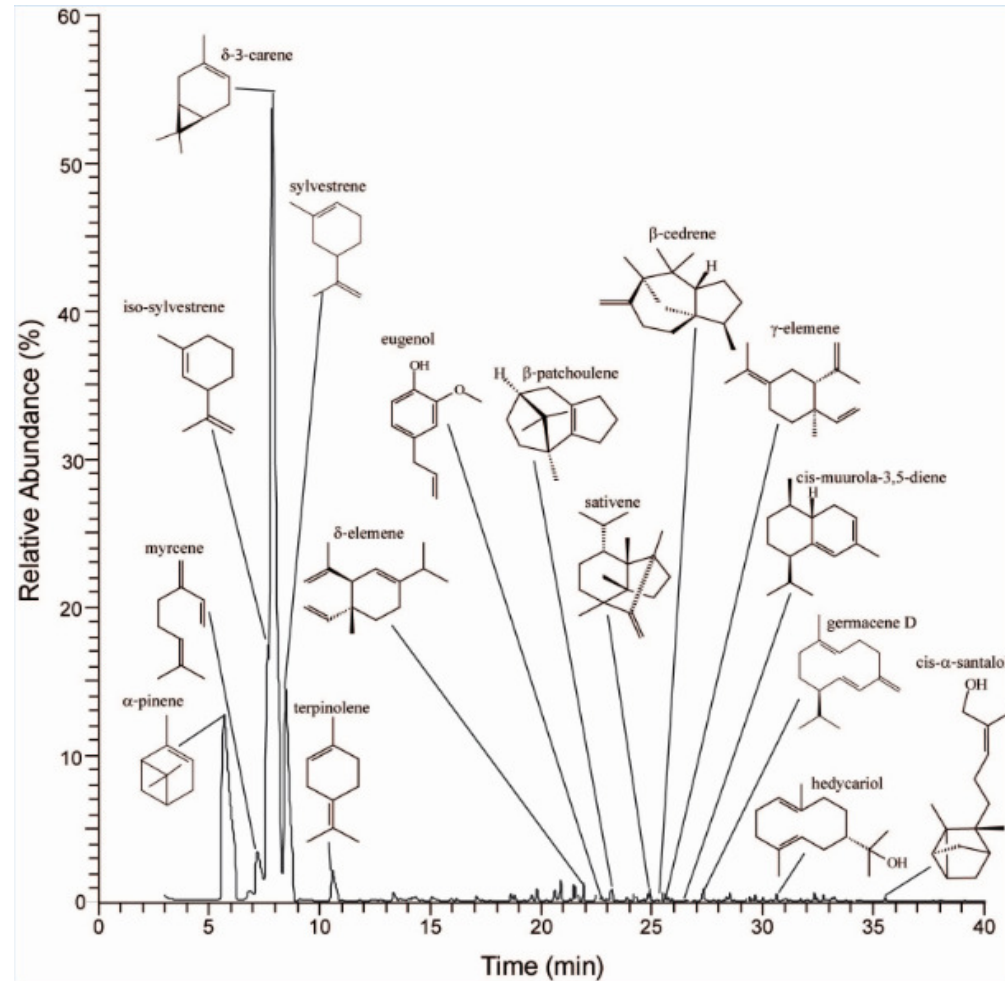


Figura 2 Cromatograma dos componentes do óleo essencial de *Schinus terebinthifolia* Raddi, mostrando as moléculas dos principais componentes.

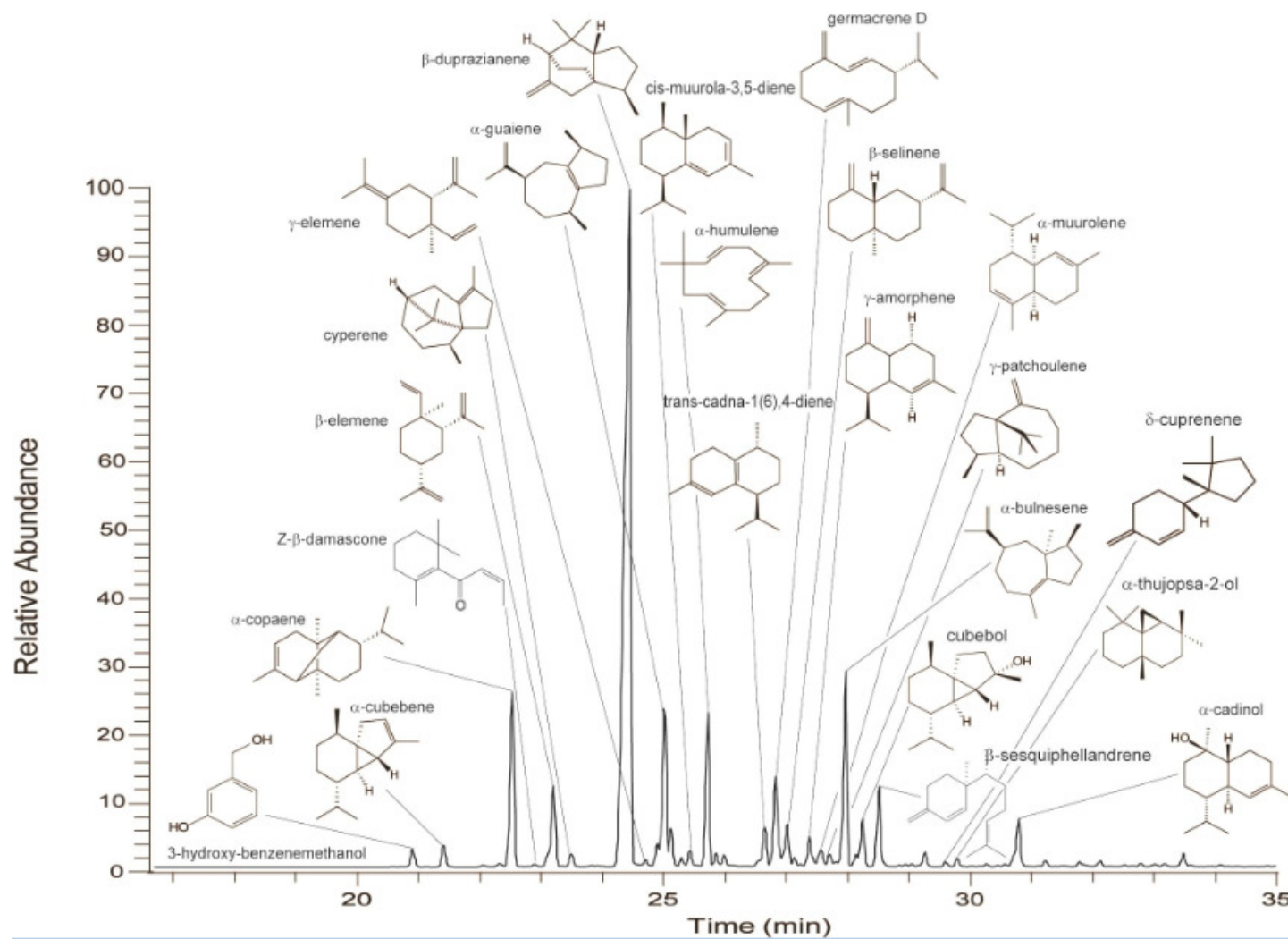


Figura 3 Cromatograma dos componentes do óleo essencial de *Copaifera langsdorffii* Desf, mostrando as moléculas dos principais componentes.

Entre os componentes químicos, basicamente sesquiterpenos, o β -duprezianeno foi o componente majoritário nas tres amostras analisadas de *C. langsdorffii*, provenientes da mata atlântica, apresentando teores de 43,7%, sendo tal substância um possível marcador químico da espécie. Outro componente que atua como um marcador do gênero é o α -copaeno, encontrado na concentração de 6,08%. Em se tratando de *S. terebinthifolia* Raddi, a amostra revelou grande teor de monoterpenos, sendo o δ -3-careno o componente majoritário com teor de 46,95%. Outras substâncias dignas de destaque e que também poderiam ter esta função de marcadores químicos seriam o α -pineno (14,94%); silvestreno (9,26%) e o iso-silvestreno com 7,21%. (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química qualitativa e centesimal dos óleos essenciais de *Copaifera langsdorffii* Desf. e *Schinus terebinthifolia* Raddi

<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.		<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi	
Substância	% Área	Substância	% Área
β -duprezianene	43,70	δ -3-carene	46,95
α -guaiene	6,55	α -pinene	14,94
α -bulnesene	6,52	sylvestrene	9,26
α -humulene	6,35	iso-sylvestrene	7,21
α -copaene	6,08	α -phellandrene	4,04
germacrene D	4,88	germacrene D	2,14
β -elemene	3,39	myrcene	1,76
β -sesquifelandrene	2,61	silphiperfol-6-ene	1,52
cubebol	2,36	eugenol	1,39
β -selinene	1,93	terpinolene	1,33
thujopsan-2- α -ol	1,80	methyl perillate	0,76
cis-muurola-3,5-diene	1,74	β -ylangene	0,76
γ -elemene	1,50	β -bisabolol	0,72
γ -patchoulene	1,23	cis-muurola-3,5-diene	0,61
γ -amorfene	1,15	hedycaryol	0,61
trans-cadina-1(6),4-diene	0,90	δ -elemene	0,38
3-hydroxi-benzenemetanol	0,82	isoborneol	0,29
α -cubebene	0,74	γ -elemene	0,28
Z- β -damascone	0,72	cis- β -damascenone	0,25
α -muurolene	0,66		
TOTAL	95,61	TOTAL	95,19

Considerando os óleos essenciais de *C. langsdorffii* e *S. terebinthifolia* foram detectados e identificados 113 substâncias na composição das duas espécies somadas, entre elas 16 substâncias foram comuns às duas espécies: (E,E)- α -farneseno; 1-epi-cubenol; α -humuleno; allo-aromadendreno; aromadendreno; β -sesquifelandreno; cis- β -damascenona; cis-muuro-la-3,5-dieno; δ -cadineno; δ -selineno; γ -amorfenol; γ -elemeno; germacreno D; hedycaryol; silvestreno; viridiflorol que estão destacados em negrito (tabela 3).

Tabela 3. Índices de retenção, substâncias identificadas e composição centesimal (%) nas amostras de óleo essencial de *Copaifera langsdorffii* Desf e *Schinus terebinthifolia* Raddi.

Índices de Retenção				Substância	%	
van der Dool e Kratz		Kovats			<i>S. terebinthifolia</i>	<i>C. langsdorffii</i>
Calculado	Adams ¹⁴	Calculado	Adams ¹⁴			
932	932	937	939	α -pinene	14,94	
988	988	990	990	myrcene	1,76	
1004	1002	1005	1002	α -phellandrene	4,04	
1006	1007	1008	1008	iso-sylvestrene	7,21	
1011	1008	1013	1011	δ -3-carene	46,95	
1028	1025	1032	1030	silvestrene	9,26	0,03
1035	1032	1039	1037	Z- β -ocimene		0,04
1087	1086	1089	1088	terpinolene	1,33	
1129	1128	1133	1132	allo-ocimene		0,02
1156	1155	1160	1160	isoborneol	0,29	
1163	1162	1166	1166	δ -terpineol	0,11	
1173	1174	1176	1177	terpinen-4-ol	0,03	
1176	1176	1179	1179	m-cymen-8-ol	0,08	
1180	1179	1183	1182	p-cymen-8-ol	0,22	
1198	1196	1198	1197	safranal	0,11	
1219	1219	1221	1221	cis-sabinene hydrate acetate	0,08	
1225	1226	1227	1228	neoiso-dihydro carveol	0,05	
1246	1244	1250	1248	car-3-en-2-one	0,11	
1283	1283	1285	1285	isobornyl acetate	0,24	
1285	1284	1287	1285	bornyl acetate	0,12	
1296	1297	1297	1298	carvacol ethyl ether	0,02	
1301	1300	1302	1300	terpinyl acetate	0,01	
1304	1303	1304	1304	E-cinnamyl alcohol	0,13	
1311	1312	1312	1313	cis-pinocarvyl acetate	0,22	

Tabela 3 cont. Índices de retenção, substâncias identificadas e composição centesimal (%) nas amostras de óleo essencial de *Copaifera langsdorffii* Desf e *Schinus terebinthifolia* Raddi.

Índices de Retenção				Substância	%	
van der Dool e Kratz		Kovats			<i>S. terebinthifolia</i>	<i>C. langsdorffii</i>
Calculado	Adams ¹⁴	Calculado	Adams ¹⁴			
1319	1318	1321	1320	methyl thujate	0,04	
1330	1328	1332	1130	E-patchenol		0,14
1330	1332	1332	1334	cis-piperitol acetate	0,22	
1336	1335	1339	1338	δ-elemene	0,38	
1337	1338	1340	1340	3-hydroxy-benzenemethanol		0,82
1349	1348	1352	1351	α-cubebene		0,74
1349	1350	1351	1352	citronellyl acetate	0,23	
1355	1356	1357	1359	eugenol	1,39	
1361	1361	1364	1364	cis-β-damascenone	0,25	0,04
1364	1365	1366	1367	cis-carvyl acetate		0,07
1377	1377	1378	1379	silphiperfol-6-ene	1,52	
1379	1379	1381	1381	geranyl acetate	0,09	
1384	1386	1385	1387	Z-β-damascone		0,72
1385	1386	1386	1387	4aa,7a,7ab-nepetalactone	0,06	
1391	1389	1392	1390	β-elemene		3,39
1392	1392	1393	1393	methyl perillate	0,76	
1398	1398	1398	1398	cyperene		0,46
1407	1407	1407	1407	longifolene	0,10	
1422	1417	1423	1419	β-duprezianene		43,70
1418	1419	1420	1420	β-ylangene	0,76	
1426	1428	1427	1429	dictamnol	0,04	
1430	1429	1432	1431	cis-thujopsene	0,11	
1434	1434	1436	1436	γ-elemene	0,28	1,50
1438	1437	1440	1439	α-guaiene		6,55
1439	1439	1441	1441	aromadendrene	0,05	0,04
1442	1442	1444	1444	6,9-guaiadiene		0,13
1447	1448	1449	1450	cis-muurola-3,5-diene	0,61	1,74
1452	1452	1454	1454	α-humulene	0,18	6,35
1454	1454	1456	1456	(E)- β-farnesene	0,05	
1457	1458	1459	1460	allo-aromadendrene	0,04	0,02
1476	1475	1477	1476	trans-cadina-1(6),4-diene		0,90
1480	1480	1481	1481	germacrene D	2,14	4,88
1488	1489	1489	1490	β-selinene		1,93
1492	1492	1493	1492	δ-selinene	0,07	0,66

Tabela 3 cont. Índices de retenção, substâncias identificadas e composição centesimal (%) nas amostras de óleo essencial de *Copaifera langsdorffii* Desf e *Schinus terebinthifolia* Raddi.

Índices de Retenção				Substância	%	
van der Dool e Kratz		Kovats			<i>S. terebinthifolia</i>	<i>C. langsdorffii</i>
Calculado	Adams ¹⁴	Calculado	Adams ¹⁴			
1493	1495	1493	1495	γ-amorphene	0,21	1,15
1499	1500	1499	1500	α -muurolene		0,66
1502	1502	1502	1502	γ -patchoulene		1,23
1505	1505	1505	1505	(E,E)-a-farnesene	0,02	2,61
1509	1509	1510	1509	α -bulnesene		6,52
1516	1514	1517	1515	cubebol		2,36
1520	1521	1521	1522	β-sesquiphellandrene	0,08	2,61
1525	1522	1526	1523	β-cadinene	0,23	0,20
1534	1533	1536	1535	10-epi-cubebol		0,27
1537	1537	1539	1539	α -cadinene		0,28
1543	1542	1544	1543	δ -cuprenene		0,54
1546	1546	1548	1548	hedycaryol	0,61	0,22
1549	1548	1550	1550	α -agarofuran	0,06	
1551	1550	1553	1551	cis-muurol-5-en-4- β -ol		0,20
1552	1550	1554	1551	silphiperfol-5-en-3-one B	0,09	
1556	1556	1557	1557	trans-dauca-4(11),7-diene		0,27
1564	1567	1565	1568	(E)-p-methoxy-cinnamaldehyde	0,07	
1571	1570	1572	1571	dendrolasin	0,03	
1579	1577	1580	1579	trans-sesquisabinene hydrate	0,11	
1582	1586	1583	1587	thujopsan-2- α -ol		1,80
1589	1590	1589	1591	(E)-dihydro-apofarnesol	0,06	
1593	1592	1593	1592	viridiflorol	0,02	0,22
1605	1604	1605	1604	khusimone	0,05	
1608	1608	1608	1608	humulene-epoxide II		0,27
1612	1612	1613	1613	cis-isolongifolanone	0,01	
1615	1614	1616	1615	(E)-isoeugenol acetate	0,03	
1617	1618	1618	1618	junenol		0,25
1623	1625	1624	1626	trans-isolongifolanone	0,13	
1627	1628	1629	1628	1-epi-cubenol	0,16	0,09
1635	1634	1636	1635	camphoric acid		0,10
1634	1636	1636	1637	β -acorenol	0,11	
1641	1640	1642	1641	hinesol		0,04
1644	1643	1646	1645	2-epi- β -cedren-3-one	0,06	
1645	1644	1646	1645	α -muurolol		0,30

Tabela 3 cont. Índices de retenção, substâncias identificadas e composição centesimal (%) nas amostras de óleo essencial de *Copaifera langsdorffii* Desf e *Schinus terebinthifolia* Raddi.

Índices de Retenção				Substância	%	
van der Dool e Kratz		Kovats			<i>S. terebinthifolia</i>	<i>C. langsdorffii</i>
Calculado	Adams ¹⁴	Calculado	Adams ¹⁴			
1650	1650	1651	1651	cedr-8(15)-en-9-a-ol	0,14	
1653	1652	1655	1654	α -cadinol		0,48
1664	1665	1665	1666	intermedeol		0,01
1670	1672	1671	1673	5-iso-cedranol		0,10
1674	1674	1675	1675	β -bisabolol	0,72	
1677	1676	1678	1677	occidenol		0,04
1683	1683	1683	1684	epi- α -bisabolol		0,03
1690	1692	1691	1692	junicedranol		0,07
1713	1713	1713	1714	longifolol	0,06	
1775	1775	1776	1776	2- α -hydroxy-amorpha-4,7(11)-diene	0,02	
1781	1777	1781	1778	(Z)-a-santalol	0,02	
1783	1783	1784	1784	hinesol acetate	0,02	
1793	1792	1793	1793	8- α -acetoxyelemol	0,02	
1815	1813	1816	1813	cryptomeridiol	0,02	
1850	1848	1851	1849	1,10- β -epoxy-6-oxofuranoeremophilane	0,02	

Observa-se que as substâncias que apareceram em ambos os cromatogramas são substâncias minoritárias, pensando numa perspectiva de pesquisa futura, seria válido investigar se as indicações populares destas duas espécies como antisséptico e antiinflamatório poderiam ter sua ação ou parte dela relacionadas a tais substâncias comuns.

4. Discussão

As diferenças de rendimento encontradas entre estas duas espécies refletem a composição natural das duas fontes. O teor mínimo de óleos essenciais esperado para o bálsamo de copaíba é de 40% (p/p)¹⁸ enquanto a pimenta rosa pode chegar a ter 5 % (p/p) de óleo essencial.¹⁰ Porém, para ambas as espécies, os rendimentos obtidos

foram pouco maiores que a metade do esperado. Divergências desta ordem têm sido atribuídas a diferentes fatores, tanto intrínsecos à variabilidade genética das espécies, como a ambientais relacionados ao solo, exposição solar, a quantidade de água e outros fatores externos.¹⁹ Embora não haja informação de referência para a densidade do óleo essencial de copaíba, o resultado obtido para o de pimenta rosa foi significativamente menor que outros dois trabalhos, onde num deles foi determinada uma densidade de $0,9097 \pm 0,02 \text{ g.mL}^{-1}$.²⁰

A equitabilidade encontrada evidencia a maneira pela qual o número de substâncias químicas está distribuído em suas proporções nas espécies em estudo, indicando o grau de simetria na distribuição proporcional de massas entre os componentes dos óleos essenciais. Os valores menores que um vão expressando uma concentração cada vez mais irregular entre os componentes na medida em que se aproximam de zero, o que é muito comum nos óleos essenciais nos quais se identificam facilmente mais de 40 substâncias, porém apenas um pequeno número é responsável pela maior proporção de massas.²¹

Analisando-se a composição quali quantitativa do óleo essencial de copaíba verificou-se que os sesquiterpenos foram os compostos majoritários, tendo o β -dupreziano maior proporção (43,7%). Os estudos sobre o que é conhecido popularmente como óleo de copaíba, se concentram na análise da oleorresina, que é uma solução natural de ácidos diterpênicos em óleos essenciais que é composto principalmente de sesquiterpenos.²²

Em outro estudo com a mesma espécie, outro sesquiterpeno, o cis-thujopseno aparece como substância majoritária (46,96%)²³ o que indica a variabilidade destas substâncias conforme o local, época de coleta e método de extração. Tal fato também demonstra a necessidade da elucidação da composição quali quantitativa dos componentes do óleo essencial de copaíba em qualquer trabalho que o utilize como fonte de pesquisa. Na faixa de 6,08%, o α -copaeno que aparece mais frequentemente

associado ao óleo de copaíba e que é considerado um marcador do gênero *Copaifera*,²³ representou o quinto componente e sua concentração ainda foi inferior que as do α -guaiano, α -bulneseno e α -humuleno.

Os estudos sobre o que é conhecido popularmente como óleo de copaíba, se concentram na análise da oleorresina, que é uma solução natural de ácidos diterpênicos¹⁹ em óleos essenciais que é composto principalmente de sesquiterpenos²¹.

Os sesquiterpenos mais comumente detectados são o cariofileno, copaeno, zingibereno, bisaboleno e bergamoteno. Os principais diterpenos são os ácidos caurenóico, hardwichiico, kovalenico, polialtico e copálico, sendo este último considerado um diterpeno típico do gênero *Copaifera*.²⁴ Não há relatos específicos sobre a composição do óleo essencial de copaíba.

Uns dos primeiros estudos com óleo essencial de pimenta brasileira relataram que os seus constituintes principais foram δ -3-careno (29,22%), β -felandreno (18,08%), α -felandreno (13,04%), α -pineno (12,94%) e β -pineno (5,02%).²² Outro estudo mostra que os componentes principais do óleo foram δ -3-careno (30,37%), limoneno (17,44%), α -felandreno (12,60%), α -pineno (12,59%), mirceno (5,82%) e o-cimeno (3,46%).²⁵ Em outro estudo os principais constituintes foram sabineno, α -pineno, cariofileno e germacreno D.²⁰

Para o óleo essencial de pimenta rosa, o perfil fitoquímico do presente estudo revelou como principais componentes para o óleo essencial de pimenta rosa os monoterpenos δ -3-careno (46,95%), α -pineno (14,94%), silvestreno (9,26%), iso-silvestreno (7,21%), α -felandreno (4,04%) e germacreno D (2,14%) o que mostra uma composição química semelhante nos compostos majoritários ainda que haja diferenças percentuais em alguns componentes. O iso-silvestreno figurou entre os compostos majoritários do material estudado, diferentemente de outras amostras anteriormente processadas no mesmo laboratório.^{26, 27}

Variações qualitativas e quantitativas desta ordem na composição do óleo essencial de uma mesma espécie vegetal podem estar relacionadas com várias causas diferentes. Estes tipos de diferenças podem ocorrer como consequência da variação intra-clonal no melhoramento genético de cultivares exclusivamente de propagação vegetativa de rosa com cheiro de gerânio, *Pelargonium* sp., sugerindo que mesmo variações genéticas somáticas podem afetar a biossíntese e a produção de óleo essencial.²⁸

Em outras situações, essas diferenças podem ser devidas a razões ambientais que podem envolver a origem geográfica, como consequência de estresse produzido por fatores abióticos como vento, umidade do ar e salinidade.²⁹ A forma de cultivo pode também ocasionar variações na composição do óleo essencial,³⁰ e mesmo o processo de extração não deve ser descartado.³¹ Neste caso, o processo experimental de extração pode ser refutado como uma causa para esta variação, uma vez que os três compostos principais eram os mesmos encontrados anteriormente, após a extração e análise cromatográfica exatamente nas mesmas condições como descritas aqui.²⁶

No entanto, os frutos e sementes utilizados, apesar de vir da mesma região geográfica, foram coletados no final da fenofase de frutificação. Então, essas pequenas diferenças quantitativas nos principais compostos, e as diferenças qualitativas e quantitativas sobre os compostos minoritários, como descrito por Silva et al.²⁶ pode ser provavelmente uma consequência da sazonalidade.³²

5. Conclusões

As densidades determinadas para os óleos essenciais estudados foram menores que as disponíveis na literatura. Porém, o próprio conhecimento tradicional indica que eventos ambientais abióticos, como a precipitação pluviométrica, podem afetar características físico-químicas como a viscosidade da oleorresina de copaíba, e outras

plantas secretoras de oleorresina não estão livres desta influência. Estes parâmetros podem mesmo ser característicos e específicos da procedência de cada fonte de matéria prima, sendo necessário padronizar o fracionamento de suas doses em massas, ao invés de volumes.

Levando-se em conta apenas o rendimento, como matéria prima, a oleorresina de copaíba pode ser uma fonte mais produtiva de extração de óleo essencial se comparada aos frutos maduros da pimenta rosa. As substâncias encontradas em comum a ambas as espécies são substâncias minoritárias nos cromatogramas de cada uma delas. Não se descarta, contudo, a hipótese de que os efeitos anti-inflamatórios e antissépticos popularmente atribuídos a estas espécies e relatados em estudos prévios sejam devidos a tais substâncias em comum.

Os componentes majoritários encontrados podem ser utilizados como marcadores fitoquímicos para identificação dos óleos essenciais em estudo em avaliações de controle de qualidade e padronização destes para utilização com fins cosméticos. Para *S. terebinthifolia* estas substâncias são monoterpenos, enquanto para *C. langsdorffii* são sesquiterpenos. Em *S. terebinthifolia* o δ -3-careno e o α -pineno são possibilidades de marcadores químicos presentes no óleo essencial desta espécie já que apareceram em estudos anteriores e em mais altas concentrações. Entre os compostos majoritários de *C. langsdorffii* o α -copaeno tem sido indicado como um marcador importante para o gênero *Copaifera*, enquanto o β -duprezianeno pode ser utilizado como substância característica para a oleorresina de *C. langsdorffii* originária da região de Castelo, na região serrana do Espírito Santo.

6. Agradecimentos

Agradecemos à FUNADESP financiadora da bolsa de pesquisa do Dr. Ary Gomes da Silva, a Universidade Vila Velha – UVV/ES, ao Tommasi Analítica pelo apoio tecnológico e ao Dr. Roy Funch pela revisão da versão final em inglês deste

trabalho.

7. Referências

- (1) Willis, J.C. *A Dictionary of flowering plants and ferns*, 8 ed.; The Cambridge Press: Great Britain, 1973.
- (2) Corrêa, M.P. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*, 1 ed.; Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, 1984.
- (3) Veiga Jr, V.F.; Patitucci, M.L.; Pinto, A.C. *Quim. Nova*. **1997**, 20, 612.
- (4) Veiga Jr, V.F.; Pinto, A.C. *Quim. Nova* **2002**, 25, 273-286.
- (5) Gramosa, N.V. *Estudo Químico Farmacológico de Copaifera langsdorffii* Desf., Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2001.
- (6) Gramosa, N.V.; Silveira, E.R.J. *Essent. Oil Res.* **2005**, 17, 130.
- (7) Paiva, L.A.F.; Santos, F.A.; Rao, V.S.N.; Silveira, E.R. *Resumos do 14º Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*, Florianópolis, Brasil, 1996.
- (8) Degáspari, C.L.; Waszczyński, N.; dos Santos, R.J. **2004**, *Visão acadêmica*, 5, 2, 83-89.
- (9) Lima, M.R.F.; Luna, J.S.; Santos, A.F.; Andrade, M.C.C.; Sant'ana, A.E.G.; Genet, J.P.; Marques, B.; Neuville, L.; Moreau, N. **2006**, *J. Ethnopharmacol*, Limerick, 105, 137-147.
- (10) Azevedo, A.S. *Caracterização anatômica e análise do óleo essencial de Conyza bonariensis (L) Cronquist (Asteraceae)*. Dissertação de mestrado, UFV, Viçosa, 2000, p 67.

- (11) Marsaioli, A.J. Estudo fitoquímico do *Schinus terebinthifolia* Raddi. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, SP, 1974, p 102.
- (12) Guerra, M.J.M.; Barreiro, M.L.; Rodríguez, Z.M.; Rubalcaba, Y. Rev Cubana Plant Méd., **2000**, 05, 1, 23 25.
- (13) Simões, C.M.; Spitzerr, V. Óleos voláteis. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento; Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovicks, P.R., 5 ed; UFS/UFRGS: Florianópolis-Porto Alegre, 2004; pp 467 469.
- (14) Adams, R.P. Identification of essential oil components by gás chromatography/mass spectrometry; 4 ed., Carol Stream: Allured Publishing Corporation: USA, 2009.
- (15) van der Dool, H.; Kratz, P.D. J Chromatogr, **1963**, 11, 463 471.
- (16) Ludwig, J.A.; Reynolds, J.F. Statistical ecology: a primer of methods and computing. Wiley Press, New York, New York. 1988; pp 337.
- (17) Zar, J.H. Biostatistical analysis. 5 ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. 2010; pp 944.
- (18) Silva, R.A.D. Bálsamo de copahyba. In: Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil. 1 ed.; Indústria Gráfica Siqueira: São Paulo, 1926, pp 110 111.
- (19) Rigamonte-Azevedo, O.C.; Wadt, P.G.S.; Wadt, L.H.O. Revista Árvore, **2006**, 30, 583 591.
- (20) Cole, E.R. Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e sua eficácia no combate ao dengue. MSc dissertation, Federal University of the Espírito Santo - Brazil, Department of Chemistry, Center of Exact Sciences, 2008.

- (21) Bakkali F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Food and Chemical Toxicology, **2008**, 46, 446 475.
- (22) Veiga Jr, V.F.; Pinto, A.C. Química nova, 2002, 25, 2, 273 286.
- (23) Silva, A.G.; Puziol, P.F.; Leitã,o R.N.; Gomes, T.R.; Scherer, R.; Martins, M.L.L.; Cavalcanti, AS.S.; Cavalcanti, L.C. Alternative Medicine Review, **2012**, 17: no prelo.
- (24) Biavatti, M.W.; Dossin, D.; Deschamps, F.C.; Lima, M.P. Rev Bras Farmacognosia, **2006**, 16, 230 235.
- (25) Clemente, A.D. Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e sua eficácia no combate ao dengue. MSc dissertation, Federal University of the Viçosa, MG - Brazil, 2006.
- (26) Silva, A.G.; Almeida, D.L.; Ronchi, S.N.; Bento, A.C.; Scherer, R.; Ramos, A.C.; Cruz, Z.M.A. Parasites & Vectors, 2010, 3, 79.
- (27) Kweka, E.J.; Nyindo, M.; Mosh, F.; Silva, A.G. Parasites & Vectors, 2011, 4, p 129.
- (28) Kulkarni, R.N.; Baskaran, K.; Ramesh, S.; Kumar, S. Ind. Crops Prod, 1997, 6, 107 112.
- (29) Kokkini, S.; Karousou, R.; Vokou, D. Biochem. Sys. Ecol., 1994, 22, 517 528.
- (30) Paul, A.; Thapaa, G.; Basub, A.; Mazumdarb, P.; Kalita, M.C.; Sahoo, L. Ind. Crops Prod., 2010, 32, 366 374.
- (31) Sefidkon, F.; Abbasi, K.; Jamzad, Z.; Ahmadi, S. Food Chem., 2007, 100, 1054 1058.
- (32) Paolini, J.; Barboni, T.; Desjobert, J.M.; Djabou, N.; Muselli, A.; Costa, J. Biochem. Sys. Ecol., 2010, 38, 865 874.

4 CONCLUSÕES

Levando-se em conta apenas o rendimento, a matéria prima oleorresina de copaíba pode ser uma fonte mais produtiva de extração de óleo essencial se comparada aos frutos maduros da pimenta rosa. As substâncias encontradas em ambas as espécies são substâncias minoritárias nos cromatogramas de cada espécie, não se descarta, contudo que os efeitos anti-inflamatórios e antissépticos popularmente atribuídos a estas espécies e relatados em estudos prévios não se devam a tais substâncias em comum. As substâncias majoritárias para *S. terebinthifolia* são monoterpenos, já na *C. langsdorffii* são os sesquiterpenos.

5 REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gás chromatografy/mass spectrometry**. 4 ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation: USA, 2009.

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, v. 163, n. 03, p. 273-285, 2002.

ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO S.M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. 188p.

AMORIM, M.M.R.; SANTOS, L.C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **Rev Brás Ginecol Obst**; v. 25, n.2, p. 95-102, 2003

ANTIGNAC, E.; NOHYEK, G.J.; RE, T.; CLOZEAU, J.; TUTAN, H. Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics. **Food and Chemical Toxicoly**, v.49, p.324-341, 2011.

ANTIGNAC, E.; NOHYEK, G.J.; RE, T.; CLOZEAU, J.; TUTAN, H. Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics. **Food and Chemical Toxicoly**,

v.49, p.324-341, 2011.

AZEVEDO, A. S. Caracterização anatômica e análise do óleo essencial de *Conyza bonariensis* (L) Cronquistst (Asteraceae). Viçosa: UFV, p. 67, 2000. Dissertação (**Mestrado em Botânica**). Universidade Federal de Viçosa, 2000.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.
BALANDRIN, N. F.; KLOOCKE, E. S. W.; BOLINGER, W. H. **Natural Plants Glenmical: Sources of Industrial and Medicinal Material Science**, v. 228, p. 1154–1160, 1985.

BIAVATTI M.W.; DOSSIN D; DESCHAMPS, F.C.; LIMA, M.P. Análise de óleos resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. **Rev Bras Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 230-235, 2006.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 05, **Diário Oficial da União**, 2008, v.145, n. 242, p. 56-58.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 211/2005, estabelece a Definição e a Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. **Diário Oficial da União**, 2005, v. 142, n. 136, p.58.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 37/2009, trata da admissibilidade das Farmacopéias estrangeiras. **Diário Oficial da União**, 2009, v. 146, n. 128, p.40.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14/2010. Dispõe sobre o registro de fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, 2010a, v. 147, n. 63, p. 85-87.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, DF, 2007.

BURFIELD, T. Safety of essential oils. **International Journal of Aromatherapy**. v. 10, 2000.

CARVALHO, M. C. R. D.; de BARCA, F. N. T. V.; AGNES LIMA, L. F.; de MEDEIROS, S. R. B. Research Article Evaluation of mutagenic activity in na extract of pepper tree stem bark (*Schinus terebinthifolius* Raddi), **Environ Mol. Mutagen.** v. 42, p. 185 – 191, 2003.

CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry.** v. 55, p. 773-778, 2000.

CLEMENTE, A.D. **Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e sua eficácia no combate ao dengue.** MSc dissertation, Federal University of the Viçosa, MG - Brazil, 2006.

COLE, E.R. **Estudo fitoquímico do óleo essencial dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e sua eficácia no combate ao dengue.** MSc dissertation, 2008, Federal University of the Espírito Santo - Brazil, Department of Chemistry, Center of Exact Sciences.

CORRÊA, M.P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas,** 1 ed,; Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, 1984.

DEGÁSPARI, C. L.; WASZCZYNSKYJ, N.; dos SANTOS, R. J. Antioxidant activity of extracts from fruit of aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Visão acadêmica,** v. 5, n. 2, p. 83-89, 2004.

FURONES MOURELLE, J.A. Anti-inflammatory activity of *Schinus terebinthifolius* (Copal) in Rats. **Rev Cub Farm;** n. 27 p.139-44. 1993

GRAMOSA, N.V. **Estudo Químico Farmacológico de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae).** 2001. 236 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

GRAMOSA, N.V.; SILVEIRA, E.R. **J. Essent. Oil Res.** v. 17, p. 130-132, 2005.

GUERRA, M.J.M.; BARREIRO, M.L.; RODRÍGUEZ, Z.M.; RUBALCABA, Y. Actividad antimicrobiana de um extrato fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). **Rev Cubana Plant Méd.,** v.05, n.1, p.23-25, 2000.

HENRIQUES, M. G. M.; SIANI, A. C.; ROSAS, E. C.; GUIMARÃES, A. C.; ZOGHBI, M. G. B.; SOARES, R. O. A. Óleos essenciais – Potencial antiinflamatório. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Rio de Janeiro, v.3, n.16, p. 38-43, 2000.

JAIN, M.K., YU, B.Z. ; ROGERS, J.M. et al. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A2 from berries of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**; v. 39, p. 537-547, 1995.

KEJLOVA, K.; JIROVA, D.; BENDOVA, H.; GAJDOS, P.; KOLAROVA, H. Phototoxicity of essential oils intended for cosmetic use. **Toxicology in vitro**. v.24, p. 2084-2089, 2010.

KEJLOVÁ,K.; JIROVA,D.; BENDOVA, H.; KANDAROVA, H.; WEIDENHOFFER,Z.; KOLAROVA, H.; LIEBSCH, M. Phototoxicity of bergamot oil assessed by in vitro techniques in combination with human patch tests, **Toxicology in vitro**. v.21, p. 1289-1303, 2007.

KOKKINI, S.; KAROUSOU, R.; VOKOU, D. **Biochem. Sys. Ecol.**, v. 22, p. 517- 528, 1994.

KOROKOLVAS, A., BURCKHALTER, J.H. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1988, p.13-37.

KULKARNI, R.N.; BASKARAN, K.; RAMESH, S.; KUMAR, S. **Ind. Crops Prod**. v. 6, p.107-112, 1997.

KWEKA, E.J.; NYINDO, M.; MOSHA, F.; SILVA, A.G. **Parasites & Vectors**. v. 4, p. 129, 2011.

LANKERANI, L.e BARON, E.D. Photosensitivity to exogenous agents. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**. v.8, p. 424-431, 2004.

LERTSATITTHANAKORN, P.; TAWEECHAISUPAPONG, S.; AROMDEE, C.; KHUNKITT, W. In vitro bioactivities of essential oils used for acne control. **Int. J. Aromather**. v. 16: p. 43-49, 2006.

LIMA, M. R. F.; LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; ANDRADE, M. C. C.; SANT'ANA, A. E. G.; GENET, J. P.; MARQUES, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 105, p. 137-47,

2006.

LISBOA-NETO, J.; MACHADO, J.L.; MELO JR, E.J.M.; RAPOSO, M. J. Avaliação do efeito cicatrizante da Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e do mastruço (*Chenopodium ambrosioides*) em feridas de extração dental em ratos: estudo histológico. **Rev ABO Nac.** p. 173-5. 1998.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo: Plantarum, v.1, p. 368-1992, 2002.

LORENZI, H.F.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil, nativas e exóticas.** 1 ed. São Paulo, p. 544 - 557. 2002.

LUDWIG, J.A.; REYNOLDS, J.F. *Statistical ecology: a primer of methods and computing.* Wiley Press, New York, New York. 1988; p 337.

MACHADO, S.R.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Acta Botanica Brasilica.** v.15; p. 189-195, 2001

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARSAIOLI, A. J. **Estudo fitoquímico do *Schinus terebinthifolia* Raddi.** 1974. 102 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, SP, 1974.

MARTINEZ, M.J.; BETANCOURT, J.; ALONSO-GONZAELZ, N.; JAUREGUI, A. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology.** v. 5, p. 171-174, 1996.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Medicinais.** Viçosa: editora UFV, 2002.

MELO-JÚNIOR, E. J. M.; RAPOSO, M. J.; LISBOA-NETO, J. A.; DINIZ, M. F. A.; MARCELINO-JÚNIOR, C. A. C.; SANT'ANA, A. E. G. Medicinal plants in the healing of dry sockets in rats: microbiological and microscopic analysis. **Phytomedicine**, Jena, v. 9, p. 109-160, 2002.

PAIVA, L.A.F.; SANTOS, F.A.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Resumos do **14º Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Florianópolis, Brasil, 1996.

PAOLINI, J.; BARBONI, T.; DESJOBERT, J.M.; DJABOU, N.; MUSELLI, A.; COSTA, J. **Biochem. Sys. Ecol.** v. 38, p. 865-874, 2010.

PASA, M. C.; SOARES, J. J.; GUARIM NETO, G. Estudo etnobotânico na comunidade de conceição-açu (alto da bacia do rio aricá açu, mt, brasil). **Acta Botanica Brasílica**, v.19, p.195-207, 2005.

PAUL, A.; THAPAA, G.; BASUB, A.; MAZUMDARB, P.; KALITA, M.C.; SAHOO, L. **Ind. Crops Prod.** v. 32, p. 366-374, 2010.

PINTO, A.C.; VEIGA Jr, V.F. O Olhar dos Primeiros Cronistas da História do Brasil sobre a Copaíba. 2002. Disponível em: [www.s bq.org.br/PN NET/causo6.htm](http://www.s bq.org.br/PN_NET/causo6.htm). Acessado em: 06 de março de 2010.

PINTO, A. A. et al. Uso de óleo de copaíba no tratamento de escaras em pacientes acamados. **Ciência & Consciência**, v. 2, n. 1, 2007.

PIRES, O.C.; TAQUEMASA, A.V.C.; AKISUE, G.; OLIVEIRA, F. ARAUJO, C.O.P. Análise preliminar de toxicidade aguda e dose letal mediana (DL₅₀) comparativa entre os frutos de pimenta do reino do Brasil (*Schinus terebinthifolius Raddi*) e Pimenta do Reino (*Piper nigrum L.*). **Latin Americam Journal of Pharmacie.** v. 32. n.2. p. 176-182. 2004.

PONTES, A. B.; CORREIA, D. Z.; COUTINHO, M. S.;MOTHÉ, C. G. Emulsão dermatológica a base de copaíba. **Revista Analytica**, n. 07, p. 36-42, 2003.

POSSA, D. V. et al. **Contribuição ao estudo morfométrico de cicatrização de feridas cutâneas de segunda intenção com óleo de copaíba, em ratos.** In: Salão de Iniciação Científica, V., 2007, Ji-Paraná. Anais... Ji-Paraná: Ciência & Consciência, v. 2, 2007.

QUEIRES, L. C.; FAUVEL-LAFETVE, F.; TERRY, S.; TAILLE, A.; KOUYOUUMDJIAN, J. C.; CHOPIN, D. K.; VACHEROT, F.; RODRIGUES, L. E.; CREPIN, M. Polyphenols purified from the Brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius Raddi*) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. **Anticancer Research**, v. 26, n. 01A, p. 379-87, 2006.

RIGAMONTE-AZEVEDO, O.C.; WADT, P.G.S.; WADT, L.H.O. **Revista Árvore.** v. 30, p. 583-591, 2006.

SANTOS, A.O.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B.P.; VEIGA JR, V.F.; PINTO, A.C.; NAKAMURA, C.V. Effect of Brazillian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. **J Ethnopharmacol.** v. 120, p. 204-208, 2008.

SANTOS, L.C.; AMORIM, M.M.R. Uso da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para tratamento de infecções vaginais. **Femina**, p. 30-42, 2002.

SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; ALVIANO, C. S.; COSTA, S. S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 96, p.563-8, 2005.

SEFIDKON, F.; ABBASI, K.; JAMZAD, Z.; AHMADI, S. **Food Chem.** v. 100, p. 1054-1058, 2007.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A. L.; SOUSA, M. C.; HENRIQUE, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. S. R. Óleos essenciais potencial antiinflamatório. **Biotecnologia ciência e Desenvolvimento**, v. 16, p. 37-45, 2000.

SIDDIQUI, R.; ZUNINO, M. P.; ZYGADLO, J. A. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. **Biochemical systematics and ecology.** n. 31, p. 563-572, 2003.

SILVA, A.G.; ALMEIDA, D.L.; RONCHI, S.N.; BENTO, A.C.; SCHERER, R.; RAMOS, A.C.; CRUZ, Z.M.A. **Parasites & Vectors.** v. 3, p. 79, 2010.

SILVA, A.G.; PUZIOI, P.F.; LEITÃO, R.N.; GOMES, T.R.; SCHERER, R.; MARTINS, M.L.L.; CAVALCANTI, A.S.S.; CAVALCANTI, L.C. **Alternative Medicine Review**, v. 17, 2012 no prelo.

SILVA, R.A.D.: Aroeira. In: **Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil. 1 ed.** São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, p. 100-101, 1926.

SILVA, R.A.D.: Bálsamo de copahyba. In: **Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil. 1 ed.**; São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, p.110-111, 1926.

SIMÕES, C. M.; SPITZERR, V. Óleos voláteis. In: Simões, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A; PETROVICKS, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. FlorianópolisPorto Alegre: UFS/UFRGS, p. 467-469, 2004

STAHL, E.; KELLER, K.; BLINN, C. A skin irritant in pink pepper. **Planta Med.**, Stuttgart, v. 48, n. 1, p. 5-9, 1983.

TYRREL, M.H. Evolution of natural flavor development with the assistance of modern technologies. **Food Technol.** p. 68-72, 1990.

van der DOOL, H.; KRATZ, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J Chromatogr.** v. 11, p.463-471, 1963.

VASCONCELOS, A.F.F.; GODINHO, O.E.S. Uso de métodos analíticos convencionados no estudo da autenticidade do óleo de copaíba. **Quím. Nova**, Rio de Janeiro, v.25, p. 1057-106, 2002

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VEIGA JÚNIOR, V. F; PATITUCCI, M. L.; PINTO, A. C. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 20 n. 6, p. 612, 1997.

VEIGA JÚNIOR, V.; PINTO, A. C. O Gênero *Copaifera* L. **Química nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

VELÁSQUEZ, E.; TOURNIER, H. A.; BUSCHIAZZO, P. M.; SAAVEDRA, G.; SCHINELLA, G. R. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 74, p. 91-7, 2003.

VIANA, G. S. B. et al. **Aroeira-do-sertão: estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, p.164. 1995.

WILLIS, J.C. **A Dictionary of flowering plants and ferns**, 8 ed.; The Cambridge Press: Great Britain, 1973.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 5 ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. 2010, p 944.

ANEXO

ANEXO A

Normas da revista Journal of Natural Products (JCR 2,82)

Template for Submission of Manuscripts to American Chemical Society Journals

Word 2003, Version 2 (2009)

This template is to be used to prepare manuscripts for submission to any American Chemical Society (ACS) primary research journal. As a result, it contains paragraph styles that may not normally be used in the journal you have selected for submission. Please consult the Instructions to Authors or a recent issue of the ACS journal where you plan to submit this paper for the appropriate paragraph styles. Use of this template is a benefit to the author in that the entire manuscript (text, tables, and graphics) may be submitted in one file. Inserting graphics and tables close to the point at which they are discussed in the text of the manuscript can also be a benefit for the reviewer. Use of the template is not a requirement for submission. When you submit a manuscript using this template, you will not actually see the page formatting that appears in the printed journal. This will occur as part of the editorial production process using the paragraph tags you inserted from the template. Please read the general instructions given below on how to use the template. If you are unfamiliar with the use of templates, additional instructions can be found at the site where you downloaded this template.

Using the template

1. Abbreviated instructions for using the template follow. Additional instructions can be found in the [readme](#) file at the site where you downloaded this template.
2. If typing your manuscript directly into the template, select (highlight) the text of the template that you want to replace and begin typing your manuscript (i.e., select the Title section for typing in your title).
3. If you have already prepared your document in a Word file, you will need to attach the template to your working document in order to apply the Word Style tags. Further instructions can be found in the [readme](#) file at the site where you downloaded this template.
 - a. Go to the Word Style list on the formatting toolbar and you will see all the Word Styles from the template that have now been imported into the current document. A Styles toolbar has been generated that will display the different Styles for you to choose from. If this is not present, select **View, Toolbars**, and then select **Styles** and it should appear. You can close this at any time and then reopen it when needed.
 - b. Click in the sentence or paragraph and then go to the Word Style menu on the toolbar and select the relevant Word Style. This will apply the Word Style to the entire text (sentence or paragraph). Do this for all sections of the manuscript.
4. In ACS publications there are many different components of a manuscript (i.e., title, abstract, main text, figure captions, etc.) that are represented in the template. See the Guide, Notes, Notice, or Instructions for Authors that appear in each publication's first issue of the year and the journal's homepage to determine which parts should be included for the manuscript that you are preparing.
5. To insert graphics within the text or as a figure, chart, scheme, or table, create a new line and insert the graphic where desired. If your graphic is not visible, ensure that the Word Style is "Normal" with an automatic height adjustment. If the size of the artwork needs to be adjusted, re-size the artwork in your graphics program and re-paste the artwork into the template (maximum width for single-column artwork, 3.3 in. (8.5 cm); maximum width for double-column artwork, 7 in. (17.8 cm)). **NOTE:** If you

are submitting your paper to a journal that requires a Table of Contents graphic, please insert the graphic at the end of the file.

6. Delete all sections from the template that are not needed, including these instructions.
7. Save the file with the graphics in place: select **Save As (File menu)** and save it as a document file (.doc).
8. Proof a printout of the manuscript (from a 600 dpi or higher laser printer) to ensure that all parts of the manuscript are present and clearly legible.
9. Consult the Info for Authors page from the home page of the ACS journal that you have selected for the latest instructions on how to proceed with the submission of your manuscript.
10. Ensure that page numbers are present on all pages before submitting your manuscript.

TITLE (Word Style “BA_Title”). The title should accurately, clearly, and concisely reflect the emphasis and content of the paper. The title must be brief and grammatically correct

AUTHOR NAMES (Word Style “BB_Author_Name”). Include in the byline all those who have made substantial contributions to the work, even if the paper was actually written by only one person. Use first names, initials, and surnames (e.g., John R. Smith) or first initials, second names, and surnames (e.g., J. Robert Smith). Do not use only initials with surnames (e.g., J. R. Smith) because this causes indexing and retrieval difficulties and interferes with unique identification of an author. Do not include professional or official titles or academic degrees. At least one author must be designated with an asterisk as the author to whom correspondence should be addressed.

AUTHOR ADDRESS (Word Style “BC_Author_Address”). The affiliation should be the institution where the work was conducted.

AUTHOR EMAIL ADDRESS (Word Style “BI_Email_Address”)

RECEIVED DATE (to be automatically inserted after your manuscript is accepted if required according to the journal that you are submitting your paper to)

TITLE RUNNING HEAD (Word Style “AF_Title_Running_Head”). If you are submitting your paper to a journal that requires a title running head (condensed title appearing at the top of the journal page), please provide a 50-character or less summary of the title of the manuscript.

CORRESPONDING AUTHOR FOOTNOTE (Word Style “FA_Corresponding_Author_Footnote”). Clarify all corresponding authors’ addresses by accompanying footnotes if they are not apparent from the affiliation line. Telephone numbers, fax numbers, and e-mail addresses may all be included in the corresponding author footnotes. If an author’s address is different than the one given in the affiliation line, this information may also be included here.

ABSTRACT (Word Style “BD_Abstract”). All manuscripts must be accompanied by an abstract. The abstract should briefly state the problem or purpose of the research, indicate the theoretical or experimental plan used, summarize the principal findings, and point out major conclusions. The optimal length is one paragraph.

KEYWORDS (Word Style “BG_Keywords”). If you are submitting your paper to a journal that requires keywords, provide significant keywords to aid the reader in literature retrieval.

BRIEFS (WORD Style “BH_Briefs”). If you are submitting your paper to a journal that requires a brief, provide a one-sentence synopsis for inclusion in the Table of Contents.

MANUSCRIPT TEXT (Word Style “TA_Main_Text”). For full guidelines, please see the Guide, Notes, Notice, or Instructions for Authors that appear in each publication’s first issue of the year and on the World Wide Web at <http://pubs.acs.org>. This may include an introduction, experimental details (sections titled Experimental Methods, Experimental

Section, or Materials and Methods), theoretical basis (sections titled Theoretical Basis or Theoretical Calculations), results, discussion, and conclusions.

ACKNOWLEDGMENT (Word Style “TD_Acknowledgments”). Generally the last paragraph of the paper is the place to acknowledge people, organizations, and financing (you may state grant numbers and sponsors here). Avoid use of phrases like “we (I or the authors) would like to thank” and “we (I or the authors) wish to thank”, instead use “we (I or the authors) thank”. Follow the journal’s guidelines on what to include in the Acknowledgments section.

SUPPORTING INFORMATION PARAGRAPH (Word Style “TE_Supporting_Information”). A brief statement in nonsentence format listing the contents of material placed here should be included at the end of the manuscript as a separate section titled **Supporting Information Available**. The contents of Supporting Information may include the following: (1) large tables, (2) extensive figures, (3) lengthy experimental procedures, (4) mathematical derivations, (5) analytical and spectral characterization data, (6) molecular modeling coordinates, (7) modeling programs, (8) crystallographic information files (CIF), (9) instrument and circuit diagrams, (10) and expanded discussions of peripheral findings. For complete instructions on how to prepare this material for publication, check the Guide, Notes, Notice, or Instructions for Authors that appear in each publication’s first issue of the year and on the World Wide Web at <http://pubs.acs.org>.

FIGURE CAPTIONS (Word Style “VA_Figure_Caption”). Each figure must have a caption that includes the figure number and a brief description, preferably one or two sentences. The caption should immediately follow the figure with the format “**Figure X**. Figure caption.”. All figures must be mentioned in the text consecutively and numbered with Arabic numerals. The caption should be understandable without reference to the text. It is preferable to place the

keys to symbols used in the figure in the caption, not in the artwork. Ensure that the symbols and abbreviations in the caption agree with those in the figure itself and in the text and that the figure is already sized appropriately.

SCHEME TITLES (Word Style “VC_Scheme_Title”). Chemical reactions and flow diagrams may be called schemes. Schemes may have brief titles describing their contents. The artwork for each scheme should immediately follow the scheme title. The title should follow the format “**Scheme X.** Scheme Title”. All schemes must be mentioned in the text consecutively and numbered with Arabic numerals. Schemes may also have footnotes (use Word Style “FD_Scheme_Footnote”), inserted after the artwork.

CHART TITLES (Word Style “VB_Chart_Title”). Lists of structures may be called charts. Charts may have brief titles describing their contents. The title should follow the format “**Chart X.** Chart Title”. Charts may also have footnotes (use Word Style “FC_Chart_Footnote”). To insert the chart into the template, be sure it is already sized appropriately and paste it immediately after the chart title.

TABLES. Each table must have a brief (one phrase or sentence) title that describes its contents. The title should follow the format “**Table X.** Table Title” (Word Style “VD_Table_Title”). The title should be understandable without reference to the text. Put details in footnotes, not in the title (use Word Style “FE_Table_Footnote”). Define nonstandard abbreviations in footnotes.

Use tables (Word Style “TC_Table_Body”) when the data cannot be presented clearly as narrative, when many precise numbers must be presented, or when more meaningful interrelationships can be conveyed by the tabular format. **Do not use Word Style “TC_Table_Body” for tables containing artwork.** Tables should supplement, not duplicate,

text and figures. Tables should be simple and concise. It is preferable to use the Table Tool in your word-processing package, placing one entry per cell, to generate tables.

REFERENCES (Word Style “TF_References_Section”). In many journals, references are placed at the end of the article, while in others they are treated as footnotes. In any case, place your list of references at the end of the manuscript. The appropriate placement will be made as part of the editorial process. In ACS publications, references are cited in three ways: superscript numbers, italic numbers on the line and in parentheses, and by author name and year of publication in parentheses inside the punctuation. Please use the appropriate style for the journal for which you are submitting your manuscript. Authors are responsible for the accuracy and completeness of all references. Authors should check all parts of each reference listing against the original document. Detailed information on reference style can be found in *The ACS Style Guide*, 2nd ed., available from Oxford Press.

SYNOPSIS TOC (Word Style “SN_Synopsis_TOC”). If you are submitting your paper to a journal that requires a synopsis graphic and/or synopsis paragraph, see the Guide, Notes, Notice, or Instructions for Authors that appear in each publication’s first issue of the year and the journal’s homepage for a description of what needs to be provided and for the size requirements of the artwork.