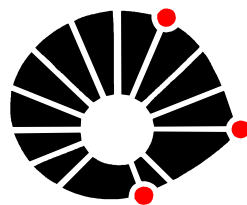


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



UNICAMP

INSTITUTO DE QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ESTUDO DA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE
PLANTAS AROMÁTICAS DA
AMAZÔNIA**

**ALUNA: FERNANDA AVILA LUPE
ORIENTADOR: PROF. DR. LAURO E. S. BARATA**

CAMPINAS

2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE
QUÍMICA DA UNICAMP

L973e	<p>Lupe, Fernanda Avila. Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia / Fernanda Avila Lupe . – Campinas, SP: [s.n], 2007.</p> <p>Orientador: Lauro Euclides Soares Barata.</p> <p>Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p>1. Óleo essencial. 2. Plantas aromáticas. 3. Composição química. 4. CG-EM. I. Barata, Lauro Euclides Soares. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.</p>
-------	--

Título em inglês: Chemical composition of the essential oils from Amazonian aromatic plants

Palavras-chaves em inglês: Essential oil, Aromatic plants, Chemical composition, GC-MS

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Mestre em Química na Área de Química Orgânica

Banca examinadora: Prof. Dr. Lauro Euclides Soares Barata (orientador), Prof. Dr. Massuo Jorge Kato (IQ-USP), Prof. Dr. Fábio Augusto (IQ-Unicamp)

Data de defesa: 26/02/2007

Aos meus pais Maria de Fátima e Lupércio
Aos meus irmãos Tania e Ricardo
Ao meu sobrinho Arthur
Ao Nelson e Emerval
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar força para concluir mais uma etapa.

Ao Instituto de Química da UNICAMP pela oportunidade de aperfeiçoamento dos meus conhecimentos em Química.

À Secretaria de Educação do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro.

Ao professor Dr. Lauro E. S. Barata pelo apoio e orientação.

Ao Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), à Sra. Maria Emília Andrade, ao Sr. Raul Alencar e ao Dr. Nilson Maia pela doação das amostras deste trabalho.

Aos professores Dr. Fábio Augusto e Dr^a Angélica Zaninelli Schreiber pelas análises feitas em colaboração.

À Rita pela ajuda técnica, dedicação e amizade.

Aos amigos do laboratório de Química de Produtos Naturais, em especial à Adriana, pelo aprendizado e descontração.

Aos amigos Ilton e Antonio por serem tão prestativos.

À Ana Cláudia e ao Márcio por ensinar a técnica de *SPME*.

Às minhas queridas amigas Mônica e Carla pelo incentivo e paciência.

Aos meus alunos pelo carinho.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

CURRICULUM VITAE

FORMAÇÃO ACADÊMICA

- Universidade de São Paulo – USP Ribeirão Preto.
Bacharelado em Química, concluído em dezembro de 2000.
Licenciatura em Química, concluído em dezembro de 2000.
Atribuições Tecnológicas em Química, concluído em julho de 2001.

- Escola Técnica Estadual “Conselheiro Antônio Prado” – ETECAP
Curso técnico em Química, concluído em dezembro de 1996.

EXPERIÊNCIA

- SENAI – Paulínia
Professora do curso Técnico em Química das disciplinas: Análise Qualitativa, Análise Instrumental, Corrosão e Tecnologia Ambiental.
Desde novembro de 2005 até os dias atuais.

- Escolas Estaduais de Ensino Médio.
Professora Efetiva de Química do Ensino Médio.
Desde março de 2001 até os dias atuais.

- Oficina Pedagógica - Diretoria de Ensino – Região de Sumaré.
Bolsista do Programa Bolsa Mestrado.
Início em novembro de 2004 até fevereiro de 2007.

- Colégio Alternativa – Sumaré
Professora de Química do curso pré-vestibular e pré-vestibulinho.
Início em março de 2005 até os dias atuais.

- Curso Pré-Col. Tec – Campinas.
Professora Plantonista de Química.
Início em fevereiro de 2004 até dezembro de 2004.

- Colégio Nova Veneza – Unidade II – Hortolândia.
Professora de Química do Ensino Médio.
Início em fevereiro de 2004 até julho de 2004.

APRESENTAÇÕES

▪ “Revisão de estudos fitoquímico e farmacológico de *Aniba canelilla* e análise do óleo da madeira e folhas” – pôster.

VI Jornada Paulista de Plantas Medicinais.

26 a 29 de outubro de 2003.

▪ “Massoia lactona constituinte principal do resíduo de *Aeollanthus suaveolens* por HS-SPME” – pôster.

III Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais.

8 a 10 de novembro de 2005.

PUBLICAÇÕES

▪ **LUPE, F. A.;** LEMES, A. C.; AUGUSTO, F.; BARATA, L. E. S. Fragrant Lactones in the steam distillation residue of *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng and analysis by HS-SPME. *Journal of Essential Oil Research*, v 19 (3), 201-202, 2007

▪ **LUPE, F. A.;** SOUZA, R. C. Z; BARATA, L. E. S. Linalool enantiomers from *Aniba rosaeodora* (rosewood), *Lippia alba* (erva cidreira nacional) and *Ocimum basilicum* (basil) oils. (*Perfumer & Flavorist*, submetido).

RESUMO

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS AROMÁTICAS DA AMAZÔNIA

O presente trabalho envolveu o estudo da composição química dos óleos essenciais de cinco plantas aromáticas *Aeollanthus suaveolens*, *Aniba canelilla*, *Aniba rosaeodora*, *Lippia alba* e *Ocimum basilicum* por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM). Amostras destas plantas - óleo essencial, planta fresca, seca e resíduo da extração do óleo essencial - foram extraídas por Microextração em Fase Sólida em Espaço confinado (*HS-SPME*) e analisadas por CG-EM. Os óleos foram extraídos por arraste a vapor. Os óleos essenciais ricos em linalol de *A. rosaeodora* (madeira e folhas), *L. alba* e *O. basilicum* foram avaliados por CG-EM com coluna HP-5 e a composição dos enantiômeros de linalol determinada usando coluna quiral. Com o resultado dessa comparação, foi avaliada a substituição do óleo essencial da madeira de *A. rosaeodora* pelos óleos essenciais estudados. Um estudo sazonal de *L. alba* para definir as concentrações e quiralidade do linalol encontrado foi feito com seis coletas. As principais moléculas dos óleos essenciais e/ou extratos de *A. canelilla* (1-nitro-2-feniletano e metileugenol) e *A. suaveolens* (massoia lactona) foram isoladas utilizando técnicas de fracionamento como: destilação, hidrodestilação, extração ácido-base, cromatografia em coluna e cromatografia em camada delgada preparativa, e identificadas por RMN de ^1H e ^{13}C . A semi-síntese da massoia lactona foi feita a partir de uma molécula comercial (δ -decalactona). Ensaios biológicos - antifúngico e anti bacteriano – foram realizados pela técnica de difusão com discos com amostras de *A. canelilla* e *A. suaveolens*.

ABSTRACT

CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OILS FROM AMAZONIAN AROMATIC PLANTS

This work involved the chemical composition study of the following five aromatics plants *Aeollanthus suaveolens*, *Aniba canelilla*, *Aniba rosaeodora*, *Lippia alba* and *Ocimum basilicum* using Gas Chromatography / Mass Spectrometry (GC-MS). Samples of these plants – essential oils, fresh and dried plants as well as extraction residues – were extracted using Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) and analyzed with GC-MS. The oils were extracted by steam distillation. The essential oils of *A. rosaeodora* (wood and leaves), *L. alba* and *O. basilicum* rich in linalool were evaluated by GC-MS using HP-5 column, while the linalool enantiomer composition using a chiral column. From the results of this comparison the replacement of *A. rosaeodora* essential oil from its wood by the plants listed above was evaluated. A seasonal study of *L. alba* to define linalool concentrations and chirality was made using six different samples. The main molecules of the essential oils and/or extracts of *A. canelilla* (1-nitro-2-phenylethane and methyl eugenol) and *A. suaveolens* (massoia lactone) were isolated using separation techniques as distillation, hydro-distillation, acid-base extraction, column chromatography and preparative thin layer chromatography, and identified by NMR ^1H and ^{13}C . The semi-synthesis of the massoia lactone was obtained from a commercial molecule (δ -decalactone). Biological assays – anti-fungal and antibacterial – with samples of *A. canelilla* and *A. suaveolens* were conducted using the diffusion technique in discs.

LISTA DE ABREVIACÕES

CCD: Cromatografia em camada delgada

CCDP: Cromatografia em camada delgada preparativa

CG-EM: Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

d: Dubleto

dd: Duplo dubleto

dt: Duplo tripleto

HS – SPME: Microextração em fase sólida no *headspace* da amostra

M: Multipleteo

o.e.: Óleo essencial

PDMS: Polidimetilsiloxano

RMN de ^{13}C : Ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN de ^1H : Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

SPME: Microextração em fase sólida (*Solid phase micro-extraction*)

t: Tripleto

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Evolução do faturamento líquido do setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos no Brasil.....	3
Figura 2. Origem dos terpenóides e fenilpropanóides.....	6
Figura 3. Ciclo biossintético geral dos metabólitos secundários ³	7
Figura 4. Foto de <i>A. suaveolens</i>	12
Figura 5. Foto de <i>A. canelilla</i>	14
Figura 6. Foto de <i>A. rosaeodora</i>	16
Figura 7. Foto de <i>L. alba</i>	19
Figura 8. Foto de <i>O. basilicum</i>	22
Figura 9. Espectro de RMN de ¹ H da massóia lactona isolada de <i>A. suaveolens</i>	34
Figura 10. Espectro de RMN de ¹³ C da massóia lactona isolada <i>A. suaveolens</i>	35
Figura 11. Espectro de RMN de ¹ H da massóia lactona sintetizada.....	37
Figura 12. Espectro de RMN de ¹³ C da massóia lactona sintetizada.....	38
Figura 13. Espectro de RMN de ¹ H da δ -decalactona.....	39
Figura 14. Espectro de RMN de ¹³ C da δ -decalactona.....	39
Figura 15. Fluxograma de extração ácido-base do óleo essencial bruto da madeira de <i>A. canelilla</i>	41
Figura 16. Espectro de RMN de ¹ H do 1-nitro-2-feniletano.....	44
Figura 17. Espectro de RMN de ¹³ C do 1-nitro-2-feniletano.....	44
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H do metileugenol.....	45
Figura 19. Espectro de RMN de ¹³ C do metileugenol.....	46
Figura 20. Cromatograma do o.e. de <i>A. suaveolens</i>	56
Figura 21. Principais constituintes do o.e. essencial de <i>A. suaveolens</i> .	57

Figura 22. Obtenção da massóia lactona.....	62
Figura 23. Cromatograma do o.e. bruto da madeira de <i>A. canelilla</i> (A)	64
Figura 24. Cromatograma da fração obtida por destilação fracionada do o.e. bruto da madeira de <i>A. canelilla</i> (B).....	64
Figura 25. Cromatograma da alíquota obtida por destilação fracionada da fração B da madeira de <i>A. canelilla</i> (C).....	65
Figura 26. Cromatograma da fração obtida por hidrodestilação do o.e. bruto da madeira de <i>A. canelilla</i> (D).....	65
Figura 27. Cromatograma do o.e. das folhas de <i>A. canelilla</i> (E).....	65
Figura 28. Principais constituintes do o.e. da madeira de <i>A. canelilla</i> ...	66
Figura 29. Variação percentual dos principais componentes do óleo essencial de <i>A. canelilla</i> em frações hidrodestiladas.....	70
Figura 30. Cromatograma do o. e. das folhas de <i>A. rosaeodora</i>	74
Figura 31. Cromatograma do o. e. da madeira de <i>A. rosaeodora</i>	75
Figura 32. Principais constituintes do óleo essencial de <i>A. rosaeodora</i>	76
Figura 33. Cromatograma do o. e. de <i>L. alba</i>	78
Figura 34. Principais constituintes do óleo essencial de <i>L. alba</i>	79
Figura 35. Cromatograma do o. e. de <i>O. basilicum</i>	81
Figura 36. Principais constituintes do óleo essencial de <i>O. basilicum</i> ...	82
Figura 37. Enantiômeros do linalol	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Eluentes, volumes usados e frações da coluna cromatográfica para isolamento da massóia lactona.....	33
Tabela 2. Eluentes, volumes usados e frações da coluna cromatográfica para isolamento de 1-nitro-2-feniletano e metileugenol.....	42
Tabela 3. Frações da hidrodestilação do o.e. de <i>A. canelilla</i>	48
Tabela 4. Datas, observações das coletas e rendimentos das extrações de <i>L. alba</i>	53
Tabela 5 Constituintes do o.e. de <i>A. suaveolens</i> e área percentual relativa dos picos no cromatograma.....	57
Tabela 6. Constituintes voláteis de <i>A. suaveolens</i> fresca (1), seca (2), óleo essencial (3) e resíduo da extração do o.e. (4) extraídos por <i>HS-SPME</i> e área percentual relativa dos picos no cromatograma.....	60
Tabela 7. Amostras de <i>A. canelilla</i> analisada por CG-EM.....	64
Tabela 8. Constituintes do óleo essencial de <i>A. canelilla</i> da madeira – bruto (A) e frações B, C, D – e das folhas (E), e área percentual relativa dos picos nos cromatogramas (Figura 22, 23, 24, 25, 26).....	66
Tabela 9. Concentração (%) de 1-nitro-2-feniletano (m/m) nos óleos essenciais de <i>A. canelilla</i>	68
Tabela 10. Constituintes do óleo essencial hidrodestilado da madeira de <i>A. canelilla</i> e área percentual relativa dos picos no cromatograma .	69
Tabela 11. Óleo essencial e extratos testados no ensaio biológico.....	72
Tabela 12. Teste preliminar de atividade do o.e. e dos extratos realizado pela técnica de difusão com discos.....	73
Tabela 13. Constituintes do óleo essencial da madeira e folhas de <i>A.</i>	

<i>rosaeodora</i> e área percentual relativa dos picos no cromatograma.....	75
Tabela 14. Constituintes do óleo essencial da madeira e folhas de <i>A. rosaeodora</i> e área percentual relativa dos picos no cromatograma ³³	76
Tabela 15. Constituintes do óleo essencial de <i>L. alba</i> e área percentual relativa dos picos no cromatograma.....	78
Tabela 16. Análise comparativa de linalol em diferentes amostras de <i>L. alba</i>	80
Tabela 17. Constituintes do óleo essencial de <i>O. basilicum</i> e área percentual relativa dos picos no cromatograma.....	82
Tabela 18. Constituintes voláteis de amostras de <i>A. rosaeodora</i> , <i>L. alba</i> e <i>O. basilicum</i> analisados por <i>HS-SPME-CG-EM</i> e área percentual relativa dos picos no cromatograma.....	85
Tabela. 19. Comparação dos constituintes do o.e. de <i>O. basilicum</i> por injeção do o.e. e por <i>HS-SPME</i>	86
Tabela 20. Enantiômeros do linalol nos o.e. de <i>A. rosaeodora</i> , <i>L. alba</i> e <i>O. basilicum</i>	87

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Óleo essencial.....	4
1.2. Mercado de óleos essenciais.....	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 <i>Aeollanthus suaveolens</i> Mart. ex-Spreng.....	12
2.2 <i>Aniba canelilla</i> (H.B.K.) Mez.....	14
2.3 <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke.....	16
2.4 <i>Lippia alba</i> Mill. N. E. Br.....	19
2.5 <i>Ocimum basilicum</i> L.	22
3. OBJETIVOS.....	27
3.1. Objetivo Geral.....	27
3.2. Objetivos Específicos.....	27
4. EXPERIMENTAL.....	29
4.1. Material botânico.....	30
4.2. Extração do óleo essencial de <i>Aeollanthus suaveolens</i>	31
4.3. Extração a frio do resíduo de <i>A. suaveolens</i>	31
4.4. Extração das partes aéreas de <i>A. suaveolens</i> com solvente.....	32
4.5. Isolamento da massóia lactona do extrato hexânico de <i>A. suaveolens</i>	32
4.5.1. Eliminação de clorofila.....	32
4.5.2. Coluna cromatográfica.....	33
4.5.3. Cromatografia em camada delgada preparativa.....	34

4.6. Constituintes voláteis de <i>Aeollanthus suaveolens</i> extraídos por Micro-extração em fase sólida (SPME).....	35
4.7. Obtenção da massóia lactona.....	36
4.8. Fracionamento do óleo essencial da madeira de <i>A. canelilla</i> por extração ácido-base, cromatografia em coluna e cromatografia em camada delgada preparativa.....	40
4.9. Destilação do óleo essencial bruto da madeira de <i>A. canelilla</i>	46
4.10. Redestilação do óleo essencial da madeira de <i>A. canelilla</i>	47
4.11. Hidrodestilação do óleo essencial bruto da madeira de <i>A. canelilla</i>	47
4.12. Extração e análise do óleo essencial das folhas de <i>A. canelilla</i>	48
4.13. Quantificação de 1-nitro-2-feniletano no óleo essencial da madeira e folhas de <i>A. canelilla</i> e frações.....	48
4.14. Extração das folhas de <i>A. canelilla</i> com diclorometano.....	49
4.15. Ensaio biológico.....	49
4.15.1. Amostras e microorganismos avaliados.....	49
4.15.2. Preparação do inóculo.....	50
4.15.3. Preparação dos discos.....	50
4.15.4. Meio de cultura.....	51
4.15.5. Inoculação das placas de teste.....	51
4.15.6. Aplicação de discos a placas de ágar inoculadas.....	52
4.15.7. Leitura das placas e interpretação dos resultados.....	52
4.16. Extração do óleo essencial de <i>Lippia alba</i>	53

4.17. Microextração em Fase Sólida de <i>A. rosaeodora</i> , <i>L. alba</i> e <i>O basilicum</i>	54
4.18. Avaliação dos enantiômeros de linalol nos óleos essenciais de <i>A. rosaeodora</i> , <i>L. alba</i> e <i>O. basilicum</i>	54
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5.1. Constituintes voláteis do óleo essencial de <i>A. suaveolens</i>	56
5.1.1. Isolamento da massoia lactona.....	58
5.1.2. Constituintes de <i>A. suaveolens</i> extraídos por <i>HS-SPME</i>	59
5.1.3. Obtenção da massoia lactona.....	61
5.2. Constituintes voláteis do óleo essencial de <i>Aniba canelilla</i>	63
5.2.1. Quantificação de 1-nitro-2-feniletano no óleo essencial de <i>A. canelilla</i>	68
5.2.2. Variação dos constituintes voláteis do óleo essencial da madeira de <i>A. canelilla</i> no processo de hidrodestilação.....	69
5.2.3. Isolamento de 1-nitro-2-feniletano e de metileugenol.....	70
5.3. Ensaio biológico com amostras de <i>Aeollanthus suaveolens</i> e <i>Aniba canelilla</i>	72
5.4. Constituintes voláteis do óleo essencial de <i>Aniba rosaeodora</i> das folhas e da madeira.....	74
5.5. Constituintes voláteis do óleo essencial de <i>Lippia alba</i>	77
5.5.1. Variação sazonal de linalol no óleo essencial de <i>Lippia alba</i>	80
5.6. Constituintes voláteis do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	81
5.7. Análise comparativa de <i>A. rosaeodora</i> , <i>L. alba</i> e <i>O.</i>	

<i>basilicum</i>	83
5.7.1 Constituintes voláteis de <i>A. rosaeodora</i> , <i>L. alba</i> e <i>O. basilicum</i> extraídos por Microextração em Fase Sólida.....	83
5.7.2. Avaliação dos enantiômeros de linalol nos óleos essenciais de <i>A. rosaeodora</i> , <i>L. alba</i> e <i>O. basilicum</i>	87
5.7.3. Análise dos óleos essenciais de <i>L. alba</i> , <i>O. basilicum</i> e das folhas de <i>A. rosaeodora</i> comparando com o óleo essencial da madeira de <i>A. rosaeodora</i>	89
6. CONCLUSÕES.....	91
7. REFERÊNCIAS.....	93
8. ANEXOS.....	101

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que o Brasil possua 50.000 espécies de plantas superiores, produtoras de madeiras, celulose, fibras, alimentos, óleos vegetais e óleos essenciais entre outros produtos naturais. A floresta Amazônica com 4 milhões km², teria 30.000 espécies de plantas, cerca de um terço medicinais e/ou aromáticas e talvez 70 % destas usadas como medicamentos pela população local, além de outros usos. Porém, acredita-se que apenas 8 % das espécies vegetais da flora brasileira foram estudadas em busca de compostos bioativos e apenas 1.100 espécies vegetais da flora brasileira foram avaliadas em suas propriedades medicinais.¹

Plantas têm sido tradicionalmente usadas por populações de todos os continentes no controle de diversas doenças e pragas, além de representar uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem modelos para síntese de um grande número de fármacos. O fato que gera interesse nos produtos encontrados na natureza é que esses apresentam enorme diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas. A diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese, que, apesar dos avanços consideráveis, ainda é limitada. Além disso, como produtos de organismos que possuem muitas similaridades com o metabolismo dos mamíferos, os produtos naturais muitas vezes exibem propriedades adicionais às antimicrobianas a eles associados.²

Estudos apontam que a maior parte da população nacional usa a medicina alternativa como fonte de recursos terapêuticos.

Com o aumento da demanda pela utilização de plantas medicinais na cura ou prevenção de doenças, o cultivo e/ou o extrativismo dessas plantas

torna-se uma alternativa cada vez mais importante na agricultura nacional. No entanto, o intenso extrativismo coloca em risco de extinção inúmeras espécies nativas, causando distúrbios ecológicos. Considerando-se o valor das plantas medicinais não apenas como recurso terapêutico, mas também como fonte de recurso econômico, torna-se importante estabelecer linhas de ação voltadas para o desenvolvimento de técnicas de manejo ou cultivo, tendo em vista a utilização dessas espécies vegetais pelo homem aliada à manutenção do equilíbrio dos ecossistemas tropicais.³

O mercado de produtos farmacêuticos derivados de plantas é um segmento promissor, já que o crescimento do mercado de medicamentos fitoterápicos é da ordem de 15 % ao ano, enquanto o crescimento anual do mercado de medicamentos sintéticos gira em torno de 3 a 4 %, além de constituir-se em uma opção terapêutica eficaz e culturalmente apropriada.³

O último diagnóstico do mercado de cosméticos feito pela ABIHPEC (Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos), disponível para consulta, mostra que o Brasil conta com 1.367 empresas atuando no setor, sendo que as 16 de grande porte são responsáveis por 72,4 % de faturamento total. As vendas de cosméticos em 2005 atingiram o valor de R\$ 15,4 bilhões e o crescimento do setor de cosméticos, higiene pessoal e perfumaria em 2005 foi de 14,5 %, apresentando nos últimos 10 anos um crescimento médio de 10,7 %. Adicionalmente, o setor de cosméticos tem alta demanda por novos produtos. Essa dissertação visa a inovação em novos produtos para perfumaria e cosméticos. A Figura 1 apresenta a evolução do faturamento desse setor.⁴

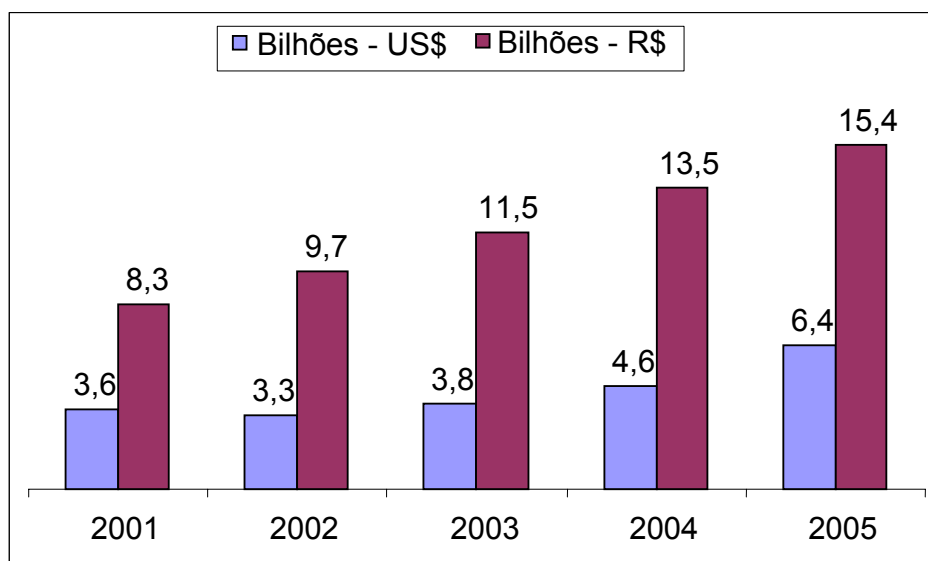


Fig. 1. Evolução do faturamento líquido do setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos no Brasil

A Amazônia tem papel de grande importância, nacional e internacional. Sua flora e fauna são extremamente ricas, e centenas de espécies de animais e plantas são encontradas exclusivamente na região. É urgente a necessidade de preservar sua biodiversidade, pois a floresta Amazônica sofre grande devastação, tanto pela exploração madeireira como pela prática agrícola. Estima-se que o desmatamento já destruiu cerca de 625.000 km² de floresta, não poupando nem mesmo plantas úteis para a área Farmacêutica ou Cosmética. O custo ecológico destas derrubadas é altíssimo, e o ambiente é afetado de forma irreparável.

Apesar da indústria de Perfumaria e Cosméticos exigir produtos novos com frequência, e esta ser uma boa área de investimento por consumir baixos volumes de materiais a altos preços, apenas três espécies aromáticas oriundas da Biodiversidade fazem parte da pauta de exportação e comércio na Amazônia: as favas de cumarú (*Coumarona odorata*), o óleo

de copaíba (*Copaifera spp.*) e o óleo de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*).⁵ Recentemente, o Estado do Acre iniciou a extração do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervium*) originado de cultivos, como produtor de safrol, e o Pará extração do óleo essencial de priprioça (*Cyperus articulatus*) para perfumes finos. No Sul do Brasil a espécie *Ocotea sassafras* está em perigo de extinção e a erva baleeira (*Cordia verbenaceae*) a única que se tornou comercial, em bases sustentáveis como medicamento Acheflan desenvolvido pela Aché em colaboração com o CPQBA - UNICAMP.

1.1. ÓLEO ESSENCIAL

As substâncias odoríferas em plantas possuem funções ecológicas, especialmente como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra a perda de água e aumento da temperatura, entre outras.^{6,7}

Óleos essenciais também chamados de óleos voláteis são produtos obtidos de partes de plantas através, sobretudo, de destilação por arraste com vapor d'água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos. De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas geralmente odoríferas e líquidas. Sua principal característica é a volatilidade, diferindo-se, assim, dos óleos fixos, mistura de substâncias lipídicas, obtidos geralmente de sementes. Apresentando também outras características:

- aparência oleosa à temperatura ambiente;
- aroma agradável e intenso da maioria dos óleos;

- solubilidade em solventes orgânicos apolares. Em água apresentam solubilidade limitada, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são denominadas hidrolatos;
- sabor: geralmente acre (ácido) e picante;
- cor: quando recentemente extraídos são geralmente incolores ou ligeiramente amarelados; são poucos os óleos que apresentam cor, como o óleo volátil de camomila de coloração azulada pelo seu alto teor de azuleno;
- estabilidade: em geral não são muito estáveis, principalmente na presença de ar, calor, luz, umidade e metais;
- a maioria possui índice de refração e são opticamente ativos;
- seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, e até compostos com enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações, normalmente, um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades ou traços.³

A grande maioria dos óleos essenciais é constituída de derivados de terpenóides ou de fenilpropanóides, sendo que os primeiros preponderam. Os terpenóides são derivados de unidades do isopreno e os fenilpropanóides se formam a partir do ácido chiquímico, que forma as unidades básicas dos ácidos cinâmico e p-cumárico. A Figura 2 mostra a origem dos terpenóides e fenilpropanóides.

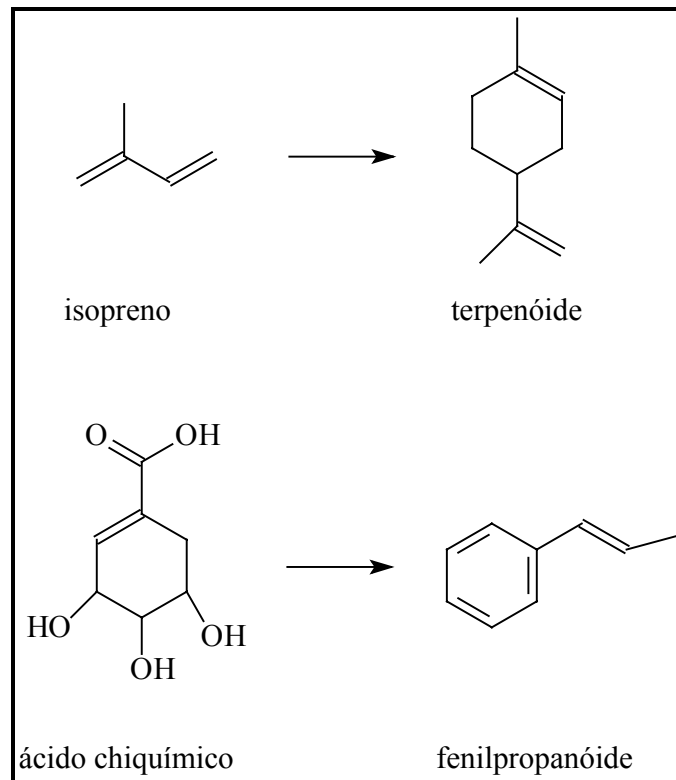


Fig. 2. Origem dos terpenóides e fenilpropanóides

Tais compostos são metabólitos secundários que têm a sua origem explicada a partir do metabolismo da glicose. Esse ciclo biossintético pode ser observado na Figura 3.

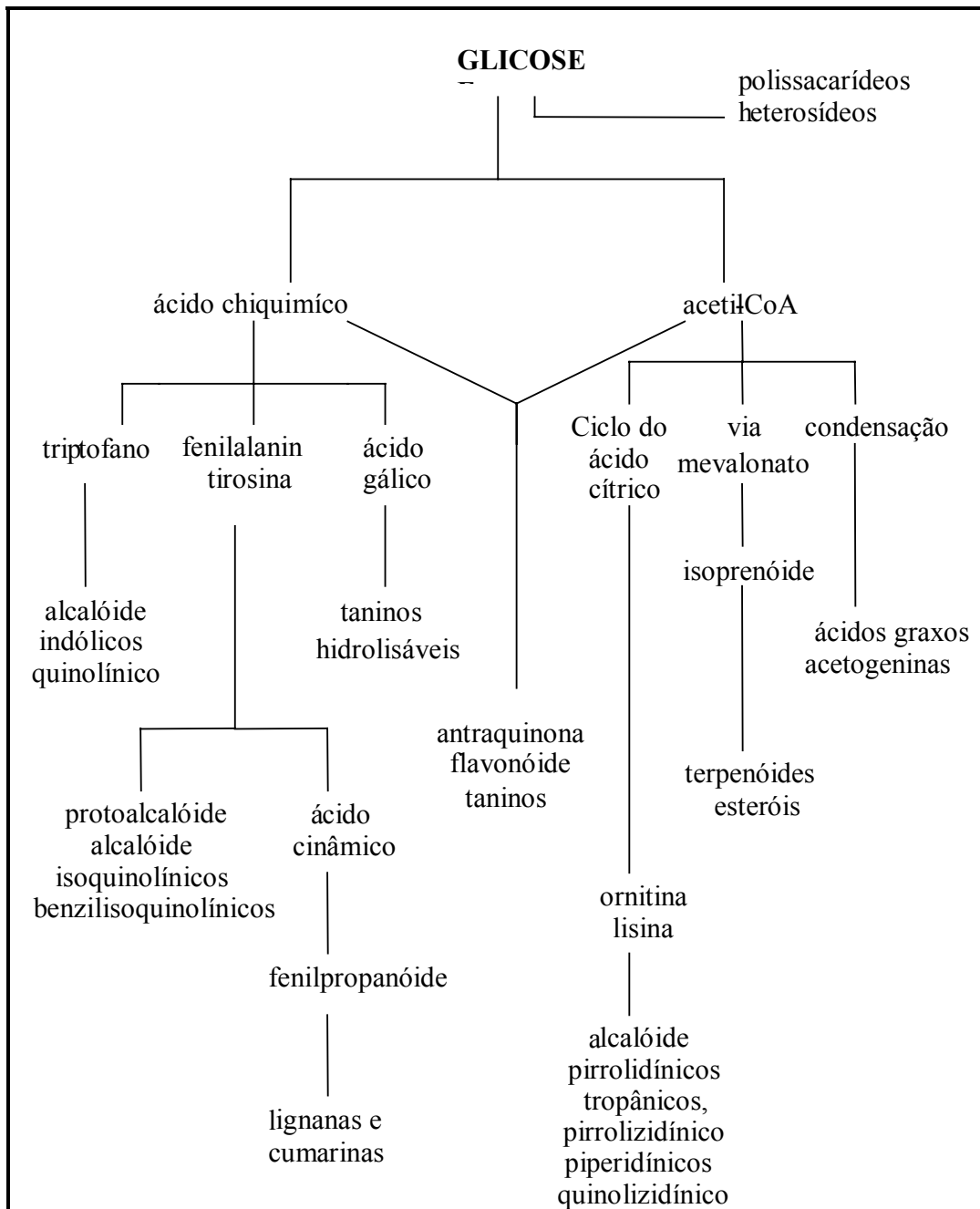


Fig. 3. Ciclo biossintético geral dos metabólitos secundários ³

Os óleos essenciais podem estar estocados em certos órgãos, tais como nas flores, folhas ou ainda nas cascas dos caules, madeira, raízes, rizomas, frutos ou sementes. Embora todos os órgãos de uma planta possam

acumular óleos essenciais, sua composição pode variar segundo a localização.³

A composição química dos óleos essenciais pode ser afetada pelas condições ambientais. Por exemplo: um indivíduo cultivado numa região chuvosa pode apresentar composição química diferente de outro indivíduo da mesma espécie cultivado em uma região seca.

Os métodos de extração variam conforme a localização do óleo essencial na planta e com a proposta de utilização do mesmo, os mais comuns são:

1. “enfleurage”: é empregado para extrair óleo essencial de pétalas de flores,. As pétalas são depositadas, a temperatura ambiente, sobre uma camada de gordura, durante certo período de tempo. Em seguida essas pétalas esgotadas são substituídas por novas até a saturação total, quando a gordura é tratada com álcool. Para se obter o óleo essencial, o álcool é destilado a baixa temperatura, o produto assim possui alto valor comercial.
2. arraste por vapor d’água: os constituintes do material vegetal possuem pressão de vapor mais elevada que a da água, sendo por isso, arrastados pelo vapor d’água. Em pequena escala, emprega-se o aparelho de Clevenger. O óleo essencial obtido, após separar-se da água, deve ser seco com Na_2SO_4 anidro. Esse procedimento, embora clássico, pode levar à formação de artefatos em função da alta temperatura empregada. Preferencialmente, esse método é utilizado para extrair óleos de plantas frescas.
3. extração com solventes orgânicos: os óleos essenciais são extraídos, preferencialmente, com solventes apolares que, entretanto, extraem

outros compostos lipofílicos, além dos óleos essenciais. Por isso, os produtos assim obtidos raramente possuem valor comercial.

4. prensagem (ou expressão): é empregado para extração de óleos essenciais de frutos cítricos. Os pericarpos desses frutos são prensados e a camada que contém o óleo essencial é, então, separada. Posteriormente, o óleo é separado da emulsão formada com água através de decantação, centrifugação ou destilação fracionada.
5. extração por CO₂ super crítico: esse método permite recuperar os aromas naturais de vários tipos e não somente óleo essencial, de um modo bastante eficiente. É o método ideal para extração industrial de óleos essenciais. Nenhum traço de solvente permanece no produto obtido, tornando-o mais puro do que aqueles obtidos por outros métodos. Para tal extração, o CO₂ é primeiramente liquefeito através de compressão e, em seguida, aquecido a uma temperatura superior a 31 °C. Nessa temperatura, o CO₂ atinge um quarto estado, no qual sua viscosidade é análoga à de um gás, mas sua capacidade de dissolução é elevada como a de um líquido. Uma vez efetuada a extração, faz-se o CO₂ retornar ao estado gasoso, resultando na sua total eliminação.

1.2. MERCADO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

O uso de extratos e óleos essenciais na indústria de cosméticos e, em particular, no ramo de perfumes remonta à Antigüidade. Na China, na Índia e no Oriente Médio, as plantas aromáticas, os óleos, as águas perfumadas e preparações cosméticas eram utilizadas na cozinha, em cosméticos, na medicina e nas práticas religiosas. A indústria de cosméticos moderna foi

buscar na sabedoria milenar da fitoterapia as receitas para hidratação e relaxamento da pele e do cabelo.⁸

Além dos óleos essenciais obtidos de plantas, produtos sintéticos são encontrados no mercado. Esses óleos sintéticos podem ser imitações dos naturais ou composições de fantasia. Para o uso farmacêutico, somente os naturais são permitidos pelas farmacopéias. Exceções são aqueles óleos que contém somente uma substância, como o óleo de baunilha, que contém vanilina. Nesses casos, algumas farmacopéias permitem também os equivalentes sintéticos.³

No mercado internacional o Brasil é o décimo maior importador de óleos essenciais e o quarto maior exportador somando US\$ 98 bilhões em 2004. Existem hoje aproximadamente 3.000 óleos conhecidos e 300 comercializados, sendo os seis principais produzidos e exportados os óleos de laranja, limão taiti, eucalipto, pau-rosa, lima e capim-limão.⁵

Empresas multinacionais, sobretudo começam a instalar-se na Amazônia a partir do ano 2001. Assim a Crodamazon, a Cognis além da Beraca (Brazmazon) produzem diferentes óleos e extratos para importantes indústrias de cosméticos.

O mercado mundial de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosmético chegou a US\$ 240 bilhões em 2004,⁹ sendo provavelmente 10 % desse valor o consumo de matérias primas. O valor deste mercado mostra claramente que os produtos naturais da Amazônia têm uma oportunidade única neste contexto, visto que a demanda de novos óleos essenciais para o mercado de perfumaria é crescente, principalmente aqueles oriundos da Amazônia e da Mata Atlântica. Infelizmente, a baixa qualidade das matérias primas originadas na região aliada a fatores como suprimento inadequado,

prazos, e falta de controle de qualidade, liquidam a competitividade da região na busca de novos mercados.

Baseado na importância do estudo de novas fontes sustentáveis, óleos essenciais de cinco plantas aromáticas (*Aeollanthuns suaveolens*, *Aniba canelilla*, *Aniba rosaeodora*, *Lippia alba* e *Ocimum basilicum*) foram escolhidos para esse trabalho. *Aeollanthuns suaveolens* pelo seu aroma marcante de côco, tornando seu óleo uma possível fragrância para perfumaria, *Aniba canelilla* por seu aroma de canela, podendo ser usado nas indústrias alimentícia e de cosméticos, *Aniba rosaeodora* dado ao esgotamento de suas fontes naturais e por sua importância no mercado internacional de óleos essenciais, *Lippia alba* e *Ocimum basilicum* por serem citados na literatura como possíveis fontes de linalol para substituir o óleo essencial de *A. rosaeodora*. A revisão bibliográfica de cada planta está a seguir.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex- Spreng



Fig. 4. Foto de *A. suaveolens*

Aeollanthus suaveolens, conhecida popularmente como catinga de mulata, pertence à família Lamiaceae e é uma erva anual nativa da Amazônia. O óleo essencial dessa planta foi recentemente apresentado, pelo nosso grupo de pesquisa, no Congress on Perfumery and Natural raw material ⁵, na França, e na empresa Quest, em Paris, onde recebeu grande atenção.

A planta é usada pela população em banhos de cheiro feito pela infusão de plantas aromáticas, em motivos religiosos ou folclóricos, e em perfumes caseiros. No folclore é usado para quebranto. Na etnomedicina é usado no combate à febre, dor de cabeça, início de derrame, sendo a folha a parte mais utilizada como chá e sumo.¹⁰ Devido a importância desta planta como medicinal e como fragrância, vários autores a estudaram.

Estudos anteriores mostraram que os óleos essenciais das folhas e flores obtidos por hidrodestilação apresentaram como principais componentes o (-) linalol, farneseno e (-) massoia lactona.¹⁰ Por esses autores, o maior rendimento de linalol ocorre na folha (31,50 %), para o farneseno observa-se maior concentração na flor (55,32 %), seguida do caule (42,17 %) e folha (21,90 %).¹⁰ Com relação a massoia lactona, o percentual de maior significado ocorreu na folha (25,15 %), nas demais partes do vegetal, as porcentagens foram insignificantes.¹⁰ Um outro estudo mostra que o rendimento da destilação do óleo essencial é maior no período de florescência (0,11 %) do que no período sem flores (0,07 %).¹¹ No caso da hidrodestilação, amostras frescas apresentam menor rendimento (0,1 %) que amostras secas (0,5 %).¹²

A atividade antimicrobiana do óleo essencial foi comprovada, sendo a massoia lactona fortemente ativa contra os microorganismos *S. setubal* e *Bacillus subtilis*.¹³ A CIM (Concentração Inibitória Mínima) do óleo volátil mostra atividade mais acentuada contra a bactéria *Escherichia coli* e o fungo *Cryptococcus neoformans*.¹³

Estudos fitoquímicos monitorados farmacologicamente evidenciaram que o óleo essencial é o responsável pelo bloqueio de convulsões induzidas por Metrazol (PTZ) em camundongos.¹⁴ A atividade anticonvulsivante das lactonas detectadas nesta planta, (δ - decalactona, δ - decen-2-lactona e γ - decalactona) foram avaliadas em camundongos, sendo que as duas primeiras não apresentaram resultados significativos, mas a γ - decalactona apresentou atividade sedativa.¹⁵ O extrato hidroalcolico de *A. suaveolens* mostrou forte atividade analgésica e antiinflamatória em camundongos.¹⁶

Dado a importância etnomédica, farmacológica e a possibilidade de ser utilizada em perfumaria, decidimos estudar mais profundamente essa planta.

2.2. *Aniba canelilla* (H. B. K.) Mez

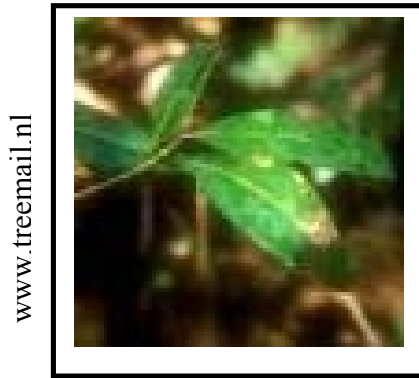


Fig. 5. Foto de *A. canelilla*

A *Aniba canelilla* pertence à família *Lauraceae* e é nativa da região Amazônica, distribuindo-se amplamente nas matas pluviais do interior da Guiana Francesa no leste, ao longo do escudo das Guianas, atravessando Suriname, Venezuela e Colômbia até à Amazônia peruana. No Brasil, ocorre nos estados do Pará e Amazonas. Apresenta os nomes vulgares de preciosa¹⁷, folha-preciosa, pau-precioso¹⁸, casca-preciosa¹⁷, casca-do-maranhão¹⁷, falsa-canela¹⁸, amapaiama¹⁸, pereiorá¹⁸. Esta árvore fornece madeira de ótima qualidade, apropriada para mobiliário e construção civil.

A planta é enormemente utilizada na medicina popular. O chá das cascas e folhas é empregada contra o artrismo, esgotamento nervoso como redutora da albumina do sangue¹⁹, para hidropsia, catarro crônico, sífilis, leucorréia, aerofagia, males do coração e para amenizar a dor após a extração de dentes¹⁷, sendo ainda considerado anti-anêmico, anti-desentérico, anti-espasmódico, digestivo, eupéptico, peitoral e

estimulante¹⁸. Também usado para resfriados, tosses, dor-de-cabeça e náuseas.²⁰ Possíveis aplicações em cosméticos são sugeridas pelo seu uso etnobotânico. O óleo essencial é usado contra acnes, dermatites, febre, infecções diversas e ferimentos.²⁰

Devido ao aroma de canela é usado como condimento.²¹ O odor do óleo essencial da preciosa, semelhante ao da canela, fez com expedições portuguesas e espanholas, após o descobrimento do Brasil, penetrassem na região amazônica em busca dessa especiaria.²²

Os tecidos indicam a composição: eugenol, linalol, metileugenol, anabasina, anibina e tanino.²³ O principal componente do óleo essencial, tanto do tronco quanto das folhas de *A. canelilla*, é o 1-nitro-2-feniletano, uma molécula rara em produtos naturais, derivada da fenilalanina. O óleo da madeira apresenta rendimento de 0,7-1,0 % e consiste de eugenol (1 %), metil eugenol (15 %) e 1-nitro-2-feniletano (80 %).²⁴ A análise de CG-EM do óleo essencial das folhas apresentou a seguinte composição química: α -pineno, β -pineno, β -felandreno, β -cariofileno, β -sesquifelandreno, p-cimeno, linalol, 1-nitro-2-feniletano, α -copaeno e espatulenol.¹⁸ Em outro estudo²² foram identificados sesquiterpenos no óleo essencial das folhas, bem como a presença de moléculas precursoras da biossíntese de 1-nitro-2-feniletano como benzonitrila, benzoacetaldeído e benzoacetona. O óleo essencial das cascas apresentou os alcalóides benziltetrahydroisoquinolina²³, tetrahidroprotoberberina²⁵, (R)-(+)–noranicanina²⁶, anicanina²⁶, canelila²⁷, norcanelilena²⁷, (-) norcanelilina²⁸, (+) canelilina²⁸, canelilinoxina.²⁸

A atividade anti-espasmódica do óleo das cascas de *A. canelilla* foi comprovada *in vivo*.²⁹

O componente majoritário do óleo essencial 1-nitro-2-feniletano, possui alta toxicidade contra *Candida albicans*. A DL_{50} do extrato de éter de petróleo da planta é maior que 800 mg/Kg por rato BALB/c.³⁰

Nosso interesse nessa planta deriva do seu aroma especial, do uso etnobotânico e da sua ação sobre a pele como mostrado por Maia e col.¹⁸ Adicionalmente, nosso estudo é voltado para as folhas dessa planta, que mostram os trabalhos de Maia e col.^{18,22} possui enorme concentração de 1-nitro-2-feniletano.

2.3. *Aniba rosaeodora* Ducke



Eduardo Mattoso

Fig. 6. Foto de *A. rosaeodora*

A *Aniba rosaeodora* é uma árvore da família *Lauraceae*, conhecida como pau-rosa, que no Brasil ocorre desde o Amapá até a fronteira com o Peru ao longo de ambas as margens do rio Amazonas.

A planta é usada em cosméticos, perfumes caseiros e *sprays* para aromatizar ambientes e em loções com óleo de Andiroba (*Carapa guianensis*) para reumatismo. O óleo essencial puro é usado na odontologia

e alergias. O hidrolato (água aromática subproduto da destilação) é usado para a desinfecção de banheiros e ralos com grande eficiência. As folhas de *A. rosaeodora* são utilizadas pelas lavadeiras á beira dos rios da Amazônia, para a última água de enxágüe das roupas, o que lhe confere um aroma especial de limpeza.

No folclore amazônico os homens passam gotas do óleo atrás dos lóbulos da orelha, acreditando que isto lhes confere atrativo sexual. São os perfumes atrativos encontrados na feira Ver-o-Pêso preparados com álcool desodorizado 70 %, casca e folhas do pau-rosa e outras plantas aromáticas. Defumações de limpeza do ambiente são feitas com raspas de casca e folhas de *A. rosaeodora* aspergidas sobre braseiros toda 1^a sexta-feira do mês, e no folclore isto afasta os maus espíritos.

Na Aromaterapia, o óleo essencial de *A. rosaeodora* é aconselhado como estimulante celular, regenerador de tecidos, antidepressivo, tônico dos nervos, calmante e é utilizado para dores de cabeça e náuseas.

Na Cosmetologia é indicado para os cuidados com a pele sensível, pele envelhecida, rugas e cuidados em geral e também para cicatrizes e lesões, acne e dermatite. É indicado para qualquer tipo de preparado para o corpo ou para a pele (óleos de banho, loções, máscaras e massagens faciais).

A. rosaeodora, espécie cujo aroma da madeira lembra a rosa, produz óleo essencial constituído na maior parte por linalol (70-90 %). Linalol e seus ésteres, como o acetato de linalila, são matérias odoríferas de cheiro intenso e agradável. Esse álcool é um importante intermediário na produção de vitamina E, e embora de origem sintética seja bastante usado em perfumaria para produtos de fragrâncias florais, pode ser aplicado em detergentes e sabões. Desde o início do século a indústria de Perfumaria e

Cosméticos vem utilizando este óleo, que hoje é vendido por US\$80/kg (FOB Manaus). O preço tem aumentado com a escassez do produto, já que as últimas fontes naturais estão esgotando-se. Os principais compradores do óleo são os Estados Unidos e Europa, podemos citar empresas sofisticadas como a francesa Chanel, que utiliza o óleo na produção dos seus perfumes.

Para produzir anualmente cerca de 40 toneladas de óleo essencial da madeira de *A. rosaeodora*, é necessário que sejam derrubadas cerca de 4 mil árvores. De acordo com o Ibama, para cada tambor de 180 litros de óleo produzido, 80 mudas de *A. rosaeodora* deveriam ser plantadas. Existe, entretanto, a escassez de mudas, o que as torna caras. O principal problema é que para a extração do óleo essencial de *A. rosaeodora* ocorre a destruição da árvore, pois, para obtenção desse óleo, o tronco é cortado transformado em serragem, outros problemas são a falta de técnicas de plantio e o longo período de maturação dessas plantas na floresta para corte da madeira - mais de 25 anos.

Nos últimos tempos, a indústria de Perfumaria tem reduzido o consumo do óleo de *A. rosaeodora*, tanto pelo preço quanto pela questão ambiental, tendo em vista que a espécie corre perigo de extinção, as grandes empresas, em geral, preferem não correr o risco de ter seu nome associado à devastação do meio ambiente.

Cientistas brasileiros preocupados com o esgotamento das reservas naturais de *A. rosaeodora* têm pesquisado fontes alternativas de óleos essenciais ricos em linalol. Alguns estudos mostram que o óleo de *O. basilicum* por apresentar considerável concentração de linalol (31 %) e grande facilidade de cultivo seria uma possível alternativa ao uso do óleo de *A. rosaeodora*.³¹ Outros estudos apontam o óleo da *L. alba* como

alternativa, devido a sua alta concentração de linalol (60 %) nas partes aéreas.³²

Análises do óleo essencial das folhas de *A. rosaeodora* feitas pelo nosso grupo de pesquisa mostraram que este é a melhor alternativa de fonte sustentável do óleo da sua madeira, por possuir perfil cromatográfico e qualidade olfativa após destilação, similar ao linalol da madeira. O linalol apresenta-se em alta concentração no óleo essencial da madeira (85 %) e nas folhas (81 %).³³

O estudo dos óleos essenciais da madeira e das folhas de *A. rosaeodora* foi introduzido nessa dissertação para comparar a quiralidade dos compostos desses óleos com as dos óleos essenciais de *Lippia alba* e *Ocimum basilicum*.

2.4. *Lippia alba* Mill. N. E. Br.

Adriana Lopes Schiozer



Fig. 7. Foto de *L. alba*

Também conhecida como erva cidreira nacional, erva cidreira de arbusto, erva cidreira do campo, alecrim do campo, alecrim selvagem, carmelitana, cidreira brava, falsa melissa, lípia (Brasil); *white* ou *bush*

Lippia, wild sage (inglês); pampa orégano (Amazônia peruana); toronjil mulato, orégano de burro, cidrona (Venezuela); paralisado, salvia (Argentina); salvia betonica (México).³⁴ Ocorre nas Américas Central e do Sul, habitando praticamente todas as regiões do Brasil, onde é empregada como medicinal, pelas suas propriedades sedativa, carminativa, analgésica, espasmolítica e emengoga.

L. alba é um arbusto perene de até 3 m de altura, muito ramificado e de galhos finos. As folhas são curto-pecioladas, opostas, ovadas, ovado-oblongas ou oblongas, agudas ou obtusas no ápice, estreitas na base. As flores são pequenas, normalmente róseo-violáceas, mas às vezes vermelhas ou brancas, em espigas densas. Planta de fácil propagação, não tolerando excesso de temperatura. Cresce em vários tipos de solo, preferindo os levemente arenosos.³⁴

A composição do óleo essencial apresenta variação qualitativa e quantitativa, levando a separação em quimiotipos denominados *Lippia alba* 1, 2, 3, os quais produzem como componente majoritário no óleo essencial o citral, a carvona e o linalol, respectivamente,³⁵ mesmo que cultivadas em condições semelhantes. O óleo essencial do quimiotipo 3 obtido por hidrodestilação das folhas das plantas foi analisado por CG, sendo identificados oito compostos (aproximadamente 93,6 % do óleo): linalol (69,3 %), 1,8 cineol + limoneno (4,6 %), germacreno D (4,2 %), SS-cariofileno (3,6 %) e germacreno D-4-ol (2,7 %).³⁶ Em outra análise, o óleo essencial das folhas apresentou a composição: linalol (78,9 %), 1,8 cineol (6,5 %), germacreno – D (3,5 %), β - cariofileno (2,7 %) e α - terpineol (2 %).³⁷ A análise do linalol com coluna quiral mostrou que a *L. alba* apresenta exclusivamente o isômero S-linalol.³⁸ Humberto, Lage e Leitão³⁹ afirmam que *L. alba* é uma fonte em potencial de linalol 3S-(+)-linalol, que requer

pequenas áreas para o cultivo a apresenta crescimento rápido, além disso é uma fonte sustentável porque o melhor óleo obtido dessa planta é o da sua folha. Kleber, Bem e Jannuzzi⁴⁰, agrônomos da Universidade de Brasília (UNB), estudaram diferentes quimiotipos de *L. alba* determinando a composição de linalol com até 60 % nas partes aéreas. Os autores sugerem que o óleo essencial dessa planta poderia vir a substituir o óleo essencial da madeira de *A. rosaeodora*.

O óleo essencial de *L. alba* mostra efeito fungistático contra *Colletotrichum falcatum* and *C. pallescens* a 700 ppm ou menos e efeito fungicida em concentrações maiores para *Fusarium moniliforme*, *Ceratocystis paradoxa*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia lunata*, *Periconia atropurpuria* e *Epicoccum nigrum*.⁴¹ Também apresenta atividade antibacteriana, sendo maior, sobre os germes grampositivos.⁴² e mostra um promissor potencial tóxico contra insetos de grãos.⁴³

Avaliando a atividade inseticida de compostos de origem vegetal para obter inseticidas com baixa toxicidade para mamíferos, testou-se extrato de *Lippia alba* contra a praga *Tribolium castaneum* e como se observou um efeito letal sobre *T. castaneum* concluiu-se que esse extrato poderia servir como base para a obtenção de novos agroquímicos.⁴⁴ O extrato também apresentou efeito alelopático e citotóxico sobre sementes de alface⁴⁵ e atividade anti-candida.⁴⁶

O extrato de acetato de etila de *L. alba* mostra atividades anti-poliovírus.⁴³ Administração oral de infusão de *L. alba* previne lesões gástricas induzidas por indometacina (anti-inflamatório).⁴⁸ Uma fração não-volátil de *L. alba* extraída em etanol 80 % (v/v) apresentou efeitos sedativo e miorelaxante em camundongos.⁴⁹

O óleo essencial é anti-oxidante natural apropriado para produtos farmacêuticos e alimentícios, por exemplo: loções, cremes, xampus e doces.⁵⁰

O uso etnomédico de *L. alba* e suas propriedades bactericidas, fungicidas e anti-oxidante conduziram nosso interesse para o estudo dessa planta. Adicionalmente, a sugestão de autores (Maia e col.³², Humberto, Lage, Leitão³⁹ e Kleber, Bem e Jannuzzi⁴⁰) de que o óleo essencial de *L. alba* poderia substituir o óleo da madeira de *A. rosaeodora*, provocou a análise comparativa desses óleos.

2.5. *Ocimum basilicum* L.



Fig. 8. Foto de *O. basilicum*

Entre as ervas aromáticas, *O. basilicum*, conhecido popularmente como manjeriço, possui importância econômica no Brasil, podendo ser utilizado *in natura* ou como óleo essencial.⁵¹ Este óleo é produzido em larga escala mundialmente: Índia, Bulgária, Egito, Paquistão, Israel, Iugoslávia, Estados Unidos, Madagascar, Albânia e Hungria. O Brasil exporta esse óleo por 50 US\$/Kg, a Índia e o Egito por 12 – 15 US\$/Kg.⁵² O tipo europeu é

considerado de altíssima qualidade, produzindo um delicado aroma devido à mistura de linalol e estragol em sua composição química, sendo extensivamente utilizado como aromatizante de licores e perfumes finos.⁵³

Na Etnomedicina essa planta é utilizada contra várias doenças como: estimulante, estomacal, bronquite, reumatismo e antiespasmódico. Na Aromaterapia cabocla da Amazônia a planta é usada em banhos de cheiro, mas cuidados devem ser tomados quando se utiliza o óleo essencial de *O. basilicum* em banhos, pois ele pode causar irritações na pele de pessoas sensíveis.^{54,55,56}

São identificados sete quimiotipos de *Ocimum basilicum*: (1) linalol, (2) metil cinamato, (3) metil cinamato/ linalol, (4) metil eugenol, (5) citral, (6) metil chavicol, e (7) metil chavicol/ citral.⁵⁷

A análise química do *O. basilicum* mostra a presença de taninos, flavonóides, saponinas, cânfora e no óleo essencial: timol, metil-chavicol, linalol, eugenol, cineol e pineno.⁵¹

Diversos autores avaliaram a produtividade de *O. basilicum* em ambiente protegido: 1) hidroponia (*floating*); 2) substrato preparado e 3) substrato comercial. O sistema hidropônico apresentou a maior produtividade de massa verde, aproximadamente 44 % superior aos outros dois tipos de cultivo. Não houve diferença significativa entre as formas de cultivo quanto ao rendimento e composição química dos óleos essenciais.⁵¹

Um estudo sobre o efeito da temperatura na composição do óleo essencial foi realizado, sendo que na temperatura de 25 °C houve aumento de eugenol e cis-ocimeno, enquanto em 15 °C o acréscimo se deu nos compostos cânfora e trans – β – farneseno. Os compostos linalol e 1,8 cineol não sofreram efeito da temperatura.⁵⁸

A análise do óleo essencial de *O. basilicum* leva a resultados diferentes dependendo do método de extração. Enquanto a composição dos óleos obtidos com arraste convencional, usando-se microondas como fonte de aquecimento e com CO₂ pressurizado forneceu estragol como principal constituinte, o óleo extraído com solvente a partir da água codestilada apresenta linalol em maior teor.⁵⁹

Um estudo do armazenamento e conservação do *O. basilicum*, em diferentes épocas e horários de colheita, mostrou o decréscimo linear dos teores de óleo essencial, de clorofila e do número de colônias de fungos e bactérias ao longo do armazenamento. Não houve efeito da época ou do horário de colheita sobre a composição do óleo essencial, mas os teores de eugenol e linalol aumentaram durante o armazenamento.⁶⁰ O número de coliformes ficou abaixo de 0,3 NMPg⁻¹ e o número de *Staphylococcus aureus*, abaixo de 1,0x 10² UFC g⁻¹.⁶⁰

O óleo essencial das folhas extraído tanto por hidrodestilação quanto por arraste à vapor ou de toda planta é usado em aroma alimentício, produtos de higiene bucal, em fragrâncias, em rituais, aromaterapia e como medicinal.

O óleo essencial apresenta propriedades inseticidas, nematicida, fungistático, antimicrobiano⁶¹ e antifúngico.⁶² Diferentes métodos utilizados para testar a atividade antibacteriana mostraram que o óleo essencial obtido de partes aéreas de *O. basilicum* possui forte efeito inibitório sobre *Staphylococcus*, *Enterococcus* e *Pseudomonas*.⁶³

O crescimento micelial do fungo patogênico (*Botrytis fabae*) de planta foi reduzido significativamente nos quimiotipos metil chavicol e linalol. Todos os componentes individuais de maior concentração nos óleos

– metil chavicol, linalol, eugenol e eucaliptol - diminuem o crescimento do fungo.⁶⁴

O óleo essencial a uma dose de 1,5 mL/L inibe completamente o crescimento micelial de 22 espécies de fungos e é também repelente ao inseto *Allacophora foveicollis*. A dose tóxica é muito menor que de alguns fungicidas comerciais.⁶⁵

Nos testes antifúngicos, os melhores resultados foram obtidos com o extrato das folhas frescas a 20 %, que ocasionou inibição de 100 %, 91 % e 84 % sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, *L. theobromae* e *M. phaseolina* respectivamente e com o óleo essencial a 0,2 % que promoveu uma inibição de 91 %, 100 % e 43 % frente a *C. gloeosporioides*, *L. theobromae* e *M. phaseolina* respectivamente. Os extratos das folhas secas foram completamente inativos nas mesmas condições.⁵⁹

O eugenol encontrado no óleo essencial mostra atividade antioxidante,⁶⁶ além dos 2 compostos fenólicos – ácido rosmarínico (RA) e ácido cafeico (CA) - que apresentam essa propriedade fortemente pronunciada.⁶⁷

As substâncias apigenina, linalol e ácido ursólico foram isoladas dos extratos aquoso e etanólico e apresentaram amplo espectro de atividade antiviral, como atividade contra vírus da Herpes e hepatite B.⁶⁸

O extrato aquoso, metanólico e hidro-metanólico e os flavonóides glicosilados de *O. basilicum* diminuem o índice de úlcera, inibe o ácido gástrico e secreções da pepsina e aumenta hexosaminas em ratos em tratamento com aspirina.⁶⁹

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *O. basilicum* contra microorganismos tem sido amplamente relatada. Prasad et al. (1986) e Farag et al. (1989) ressaltam ainda que o óleo essencial obtido de *O.*

basilicum e outras espécies de *Ocimum* são mais eficientes contra bactérias Gram-positivas (*Bacillus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Lactobacillus sp.*) que contra bactérias Gram-negativas (*Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Salmonella sp.*).⁷⁰

O. basilicum é tolerante a cobre e zinco em altas concentrações e é sensível a Co e Ni. Estudos da distribuição subcelular das folhas e raiz revelam a seletiva divisão de altas concentrações de Cu e Zn nas paredes da célula, e Co e Ni na fração do citoplasma.⁷¹

O óleo essencial de *O. basilicum* é um aromatizante utilizado em indústrias Alimentícia e de Perfumaria, possui atividades antimicrobiana e antifúngica. Somando-se a isso é citado na literatura³¹ como uma possível fonte sustentável de linalol, pois sua concentração é de 31 % e apresenta grande facilidade de cultivo, por isso é sugerido como um substituinte do óleo essencial da madeira de *A. rosaeodora*. Tornando-se assim, um objeto interessante para nosso estudo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Estudar a composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas de valor comercial por CG-EM.

3.2. Objetivos Específicos

1. Extrair o óleo essencial das folhas de *Aniba canelilla* e *Lippia alba* e partes aéreas de *Aeollanthus suaveolens*.
2. Caracterizar quimicamente por CG-EM os óleos essenciais das espécies *Aeollanthus suaveolens*, *Aniba canelilla*, *Aniba rosaeodora*, *Lippia alba* e *Ocimum basilicum*.
3. Extrair por Microextração em Fase Sólida e analisar por CG-EM os compostos voláteis de amostras de *A. suaveolens*, *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum*.
4. Comparar por CG-EM em coluna quiral a composição dos enantiômeros de linalol nos óleos essenciais de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum* e avaliar a substituição do óleo essencial da madeira de *A. rosaeodora* pelos óleos essenciais das folhas de *A. rosaeodora*, de *L. alba* e/ou de *O. basilicum*.
5. Isolar e identificar fitoquimicamente as principais moléculas dos óleos essenciais e/ou extratos de *A. canelilla* e *A. suaveolens*.
6. Transformar a δ -decalactona comercial na lactona majoritária de *A. suaveolens*: massóia lactona, por uma rota diferente da literatura.

7. Concentrar a massoia lactona no resíduo da extração do óleo essencial por arraste a vapor.
8. Realizar (em colaboração) ensaios biológicos preliminares – antifúngico e antibacteriano - pela técnica de difusão com discos com amostras de *Aniba canelilla* e *Aeollanthus suaveolens*.
9. Estudo sazonal de *L. alba* por CG-EM para definir as variações de rendimento do óleo essencial e concentração de linalol.

4. EXPERIMENTAL

Para análises de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) foi utilizado um cromatógrafo a gás HP 5890 com detector seletivo de massas HP 5870 – B, com exceção da quantificação de 1-nitro-2-feniletano no óleo essencial da madeira e das folhas de *A. canelilla* e em suas frações, realizada no cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama modelo HP 5890, integrador 3396. A coluna usada foi HP-5 (5 % fenil 95 % metilpolisiloxano) com comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm e filme com espessura de 0,25 μm . As condições foram:

- Temperatura inicial: 60 °C
- Temperatura final: 240 °C
- Rampa: 3 °C/ min.
- Injetor: 240 °C
- Detector: 260 °C
- Gás de arraste: Hélio, fluxo: 1,0 mL/min

Nas análises usando *HS-SPME* (do inglês *Head Space - Solid Phase Micro Extraction*), o equipamento utilizado foi o primeiro citado. Foi usado o modo de injeção *splitless* com fibra PDMS-100 (polidimetilsiloxano).

As análises de Ressonância Magnética Nuclear foram feitas no espectrômetro Varian INOVA–500 operando a 499,88 MHz para ^1H e 75,45 MHz para ^{13}C e no espectrômetro Gemini operando a 75 MHz para a análise de ^{13}C da amostra de 1-nitro-2-feniletano. As amostras foram solubilizadas em CDCl_3 .

As extrações por arraste a vapor foram realizadas num extrator Marconi 20 L – aço inox 306.

As placas para cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) foram preparadas no próprio laboratório com espessura de 1 mm de sílica de placa da marca Merck sobre lâmina de vidro.

A sílica gel usada nas colunas cromatográficas é da marca Merck e possuem tamanho de partícula 0,063 – 0,200 mm e 70 – 230 mesh ASTM.

As placas para cromatografia em camada delgada (CCD) utilizadas foram da marca Merck, com refletância para luz ultravioleta 254 nm com diferentes combinações dos solventes: acetato de etila, clorofórmio, diclorometano, hexano, metanol e tolueno. A visualização dos compostos foi verificada pela irradiação da luz ultravioleta no comprimento onda 254 nm, seguida da pulverização com vanilina e ácido sulfúrico 5 % em etanol (revelador de terpenóides, fenóis, etc.)⁷² seguida de aquecimento em placa elétrica.

A avaliação dos cromatogramas foi feita através da comparação dos espectros de massas apresentados pela biblioteca Wiley do equipamento e dos índices de retenção calculados com os dados da literatura⁷³. Para a determinação do índice de retenção de cada substância foi usada uma série homóloga de hidrocarbonetos (C9- C20).

4.1. Material botânico

O óleo essencial bruto da madeira da *A. canelilla* e o óleo essencial da madeira de *A. rosaeodora* foram doados pelo produtor Sr. Raul Alencar de Manaus, Amazonas.

O óleo essencial das folhas de *A. rosaeodora* foi obtido num experimento piloto realizado na região de Presidente Figueiredo, Amazonas, pela Sra. Maria Emília Andrade, também produtora de óleo essencial.

As amostras de *A. suaveolens* e as folhas *A. canelilla* foram obtidas no mercado municipal Ver-o-Pêso em Belém, Pará.

As folhas de *L. alba* foram colhidas no campo do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) e no jardim da residência do Professor Lauro E. S. Barata em Campinas, São Paulo.

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* foi doado pelo Dr. Nilson Maia do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), São Paulo e representa uma amostra da empresa Linax.

4.2. Extração do óleo essencial de *Aeollanthus suaveolens*

O óleo essencial de *A. suaveolens* obtido por arraste a vapor de 1386,5 g de partes aéreas frescas, durante 2 h e 30 min, apresentou a massa de 0,306 g, que corresponde a 0,022 % de rendimento e foi analisado por CG-EM.

4.3. Extração do resíduo de *A. suaveolens*

16,3 g do resíduo seco da extração de *A. suaveolens* por arraste a vapor foi submetido à extração à temperatura ambiente com diclorometano por 24 h, resultando em 0,74 g de extrato (4,5 % da massa inicial).

4.4. Extração das partes aéreas de *A. suaveolens* com solvente

Para extração das partes aéreas de *A. suaveolens* utilizou-se um equipamento de *Soxhlet*, que utiliza refluxo de solvente o que torna a técnica econômica e ambientalmente correta.

33,6 g de partes aéreas secas ao ar foram extraídas com diclorometano por 24 h, num equipamento de *Soxhlet*. Após esse período o solvente foi evaporado em evaporador rotatório e o extrato foi obtido com 7,6 % de rendimento (2,55 g).

Esse procedimento foi repetido para outra amostra (78,3 g) mudando o solvente para hexano, apresentando agora o rendimento de 2,8 % (2,17 g).

4.5. Isolamento da massóia lactona do extrato hexânico de *A. suaveolens*

Para o isolamento da massóia lactona, o extrato hexânico seco (sem solvente – 4.4) passou por três processos:

4.5.1. Eliminação de clorofila

À 1 g do extrato hexânico seco de cor verde, obtido no item 4.4 foi adicionado 30 mL de metanol. Depois de agitada, essa mistura, filtrada em papel de filtro. O resíduo da filtração foi abandonado e ao filtrado foi adicionado água destilada até turvar (a relação metanol:água ficou próxima de 7:3), posteriormente foi realizada uma filtração em celite de granulometria 0,01 – 0,04 mm da marca Merck. Novamente o resíduo foi

descartado e o filtrado extraído com diclorometano (3 x 30 mL). O solvente foi evaporado em rota-evaporador, o extrato hexânico sem clorofila, de coloração amarelada, foi pesado, apresentando a massa de 0,23 g que corresponde a 23 % da massa inicial e analisado em CG-EM.

4.5.2. Coluna cromatográfica

O extrato obtido no item 4.5.1 foi submetido à coluna de filtração, utilizando 10 g sílica gel, 0,20 g de amostra e os eluentes hexano e acetato de etila. Foram retiradas alíquotas de 20 mL e seis novas frações foram agrupadas de acordo com as semelhanças de R_F observadas por CCD (Tabela 1).

Tab. 1. Eluentes, volumes usados e frações da coluna cromatográfica para isolamento da massóia lactona

Eluentes (proporção)	Volume (mL)	Frações Reunidas	Massa (mg)	Massa %
Hexano	80	1	7,8	3,9
Hexano: AcOEt (7:3)	20	2	5,8	2,9
	20	3	130,2	65,1
	40	4	29,8	14,9
Hexano: AcOEt(4:6)	40	5	16,5	8,3
	40	6	8,8	4,4
AcOE	90			

As seis frações foram analisadas por CG-EM.

4.5.3. Cromatografia em camada delgada preparativa

A fração 3 (Tab. 1) que continha a massóia lactona foi submetida a cromatografia em camada delgada preparativa com 5 % de nitrato de prata, mantida no escuro, com eluente hexano:acetato de etila 8:2. A fração apresentou quatro faixas, que foram coletadas da placa e extraídas com clorofórmio: metanol 95:5. Essa mistura foi filtrada, o solvente evaporado em rota-evaporador. A análise de CG-EM indicou que na segunda fração, a massóia lactona foi isolada. A análise por RMN de ^1H e ^{13}C (Figuras 8 e 9) confirmou que se trata da massóia lactona.

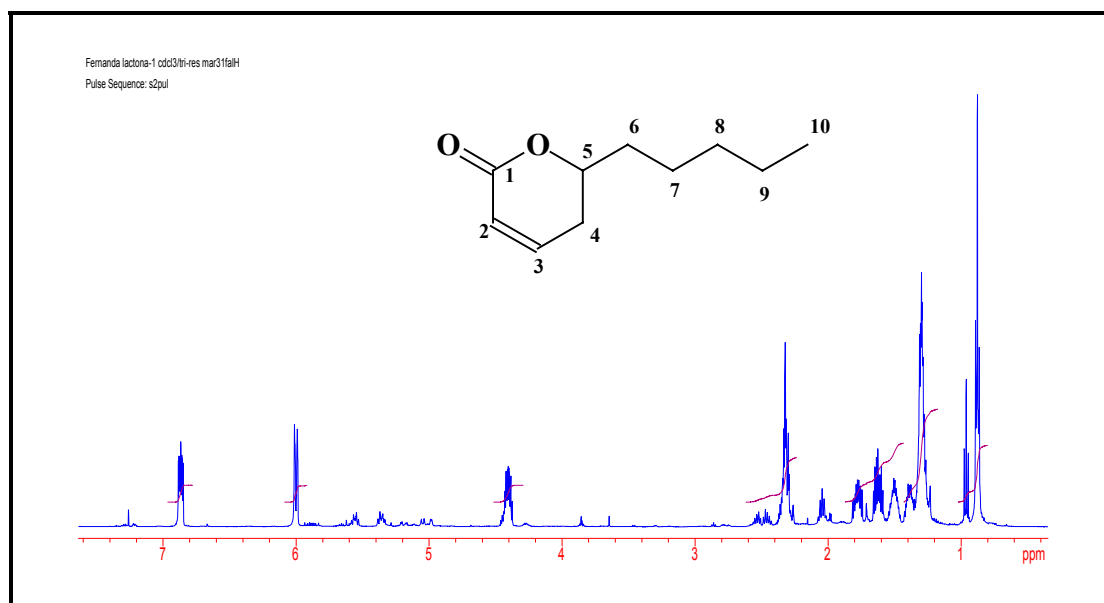


Fig. 9. Espectro de RMN de ^1H da massóia lactona isolada de *A. suaveolens*

RMN de ^1H (500 MHz): δ 0,92 (3H, t, $^3J=6,6\text{Hz}$, H-10); 1,24 – 1,83 (8H, m, H-6, 7, 8, 9); 2,27 – 2,37 (2H, m, H-4); 4,39 – 4,45 (1H, m, H-5); 6,01 (1H, dt, $^3J=9,9\text{Hz}$, $^4J=1,5\text{Hz}$, H-2); 6,86 – 6,90 (1H, m, H-3).

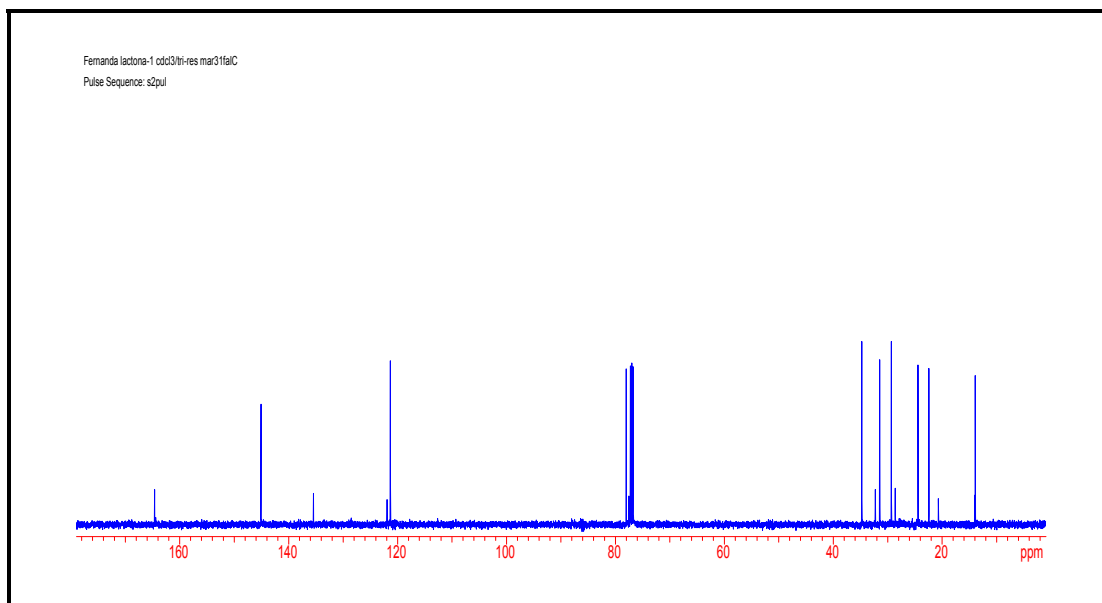


Fig. 10. Espectro de RMN de ^{13}C da massa lactona isolada de *A. suaveolens*

RMN de ^{13}C (125 MHz): δ 13,9 (CH_3 , C-10); 22,4 (CH_2 , C-9); 24,4 (CH_2 , C-7); 29,3 (CH_2 , C-8); 31,5 (CH_2 , C-6); 34,8 (CH_2 , C-4); 80,0 (CH , C-5); 121,3 (CH , C-2); 145,0 (CH , C-3); 164,5 (C_0 , C-3).

4.6. Constituintes voláteis de *Aeollanthus suaveolens* extraídos por Microextração em Fase Sólida (SPME)

As análises dos constituintes voláteis extraídos por Microextração em Fase Sólida foram feitas no modo *headspace* (HS-SPME) para quatro amostras de *A. suaveolens*: partes aéreas frescas, secas, óleo essencial e resíduo da extração do óleo essencial. 200 mg de cada amostra e 15 mL de solução aquosa saturada de cloreto de sódio foram acondicionadas em frascos de 25 mL lacrados com septo de teflon/silicone e magneticamente

agitados a 1.200 rpm por 15 minutos a 55 °C para o pré-equilíbrio amostra/*headspace*. Após esse período, a fibra foi exposta por 20 minutos, os analitos extraídos foram imediatamente dessorvidos e analisados por CG-EM. Estas foram realizadas em colaboração com o laboratório do Prof. Dr. Fábio Augusto do Instituto de Química – UNICAMP.

4.7. Obtenção da massa lactona

A massa lactona, além de ter sido isolada do extrato hexânico da planta (descrito em 4.5) também foi obtida por uma reação de eliminação α,β a carbonila da δ -decalactona comercial. À uma solução de diisopropilamina (0,36 mL, 2,36 mmol) em THF anidro (10,0 mL) foi adicionado a -78 °C e sob uma atmosfera de argônio, 1,20 mL (2,36 mmol) de uma solução de n-butil-lítio (2,35 M em n-hexano). À esta solução de LDA formada (2,36 mmol), foi adicionada uma solução da δ -decalactona (0,200 g, 1,18 mmol) em THF anidro (1,2 mL). A mistura foi mantida sob agitação por 0,5h a -78 °C, quando então adicionou-se uma solução de PhSeCl (0,452 g, 2,36 mmol) em THF (1,2 mL). A reação foi mantida sob agitação a -78 °C por 4 h (a cada 1 h a reação foi monitorada por CG-EM). Após este período, adicionou-se 10 mL de uma solução aquosa saturada de NH_4Cl . A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 10 mL) e as fases orgânicas combinadas foram secas com MgSO_4 anidro, filtradas e concentradas em evaporador rotatório. O resíduo obtido foi dissolvido em diclorometano (30 mL) e à esta solução adicionou-se, à 0 °C, piridina (2 mL) e H_2O_2 (solução 30 % aquosa, 8mL). Esta mistura bifásica foi agitada por 1,5 h a 0 °C quando então adicionou-se uma solução aquosa de Na_2CO_3

(10 %, 20 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com água (10 mL) e solução aquosa saturada de NaCl (10 mL), seca com MgSO₄ anidro, filtradas, concentradas em evaporador rotatório e avaliadas por CG-EM.

O óleo resultante foi purificado por coluna cromatográfica com sílica gel, usando o eluente hexano:acetato de etila 8:2. Foram retiradas três alíquotas de 50 mL que foram analisadas por CG-EM, sendo que apenas a primeira fração continha a massóia lactona e para seu isolamento, essa fração foi submetida a CCDP em placa preparada como descrito no item 4.5.3. As subfrações foram analisadas por CG-EM. Análises de RMN ¹H e ¹³C foram realizadas com a subfração que apresentava a massóia lactona isolada e com a δ-decalactona, material de partida, (Figuras 11 e 12; 13 e 14, respectivamente), para confirmação do isolamento da massóia lactona e da reação.

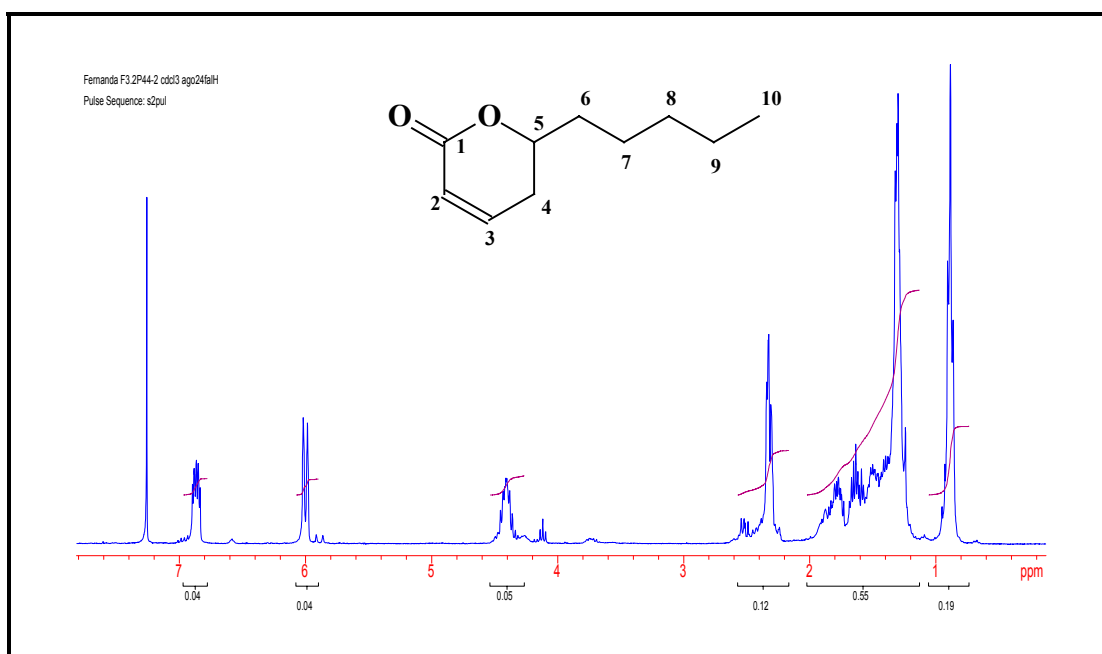


Fig. 11. Espectro de RMN de ¹H da massóia lactona sintetizada

RMN de ^1H (500 MHz): δ 0,92 (3H, t, $^3\text{J}= 6,6\text{Hz}$, H-10); 1,22 – 1,96 (9H, m, H-6, 7, 8, 9); 2,25 – 2,39 (2H, m, H-4); 4,37 – 4,44 (1H, m H-5); 6,01 (1H, d, $^3\text{J}= 9,9\text{Hz}$, H-2), 6,85 – 6,89 (1H, m, H-3).

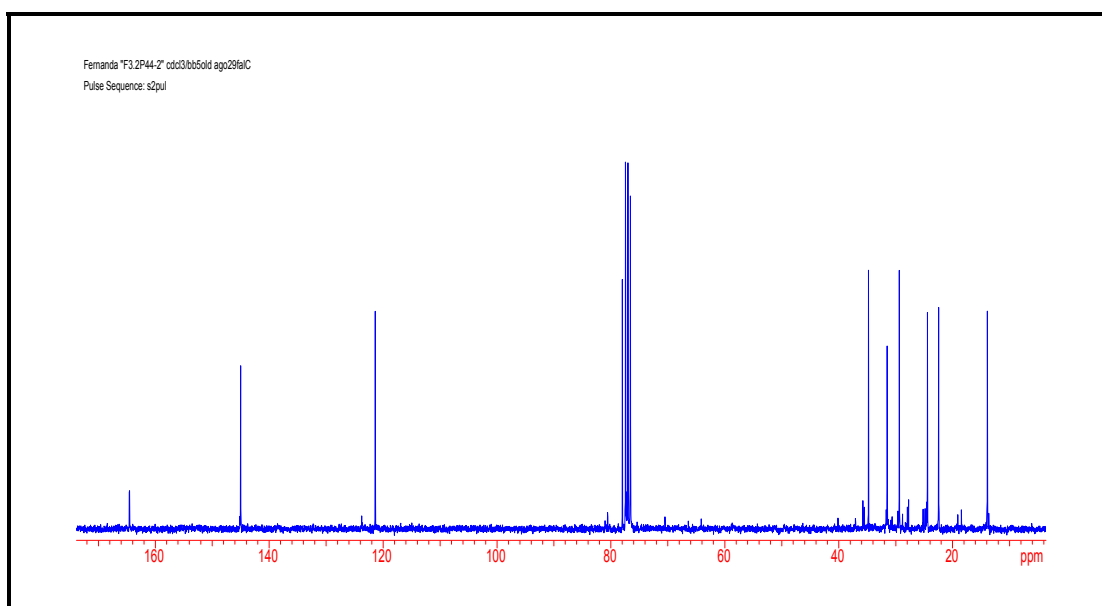


Fig. 12. Espectro de RMN de ^{13}C da massa lactona sintetizada

RMN de ^{13}C (500 MHz): δ 13,9 (CH_3 , C-10), 22,4 (CH_2 , C-9), 24,4 (CH_2 , C-7), 29,3 (CH_2 , C-8), 31,5 (CH_2 , C-6), 34,8 (CH_2 , C-4), 77,9 (CH , C-5), 121,4 (CH , C-2), 145,0 (CH , C-3), 164,5 (C_0 , C-1).

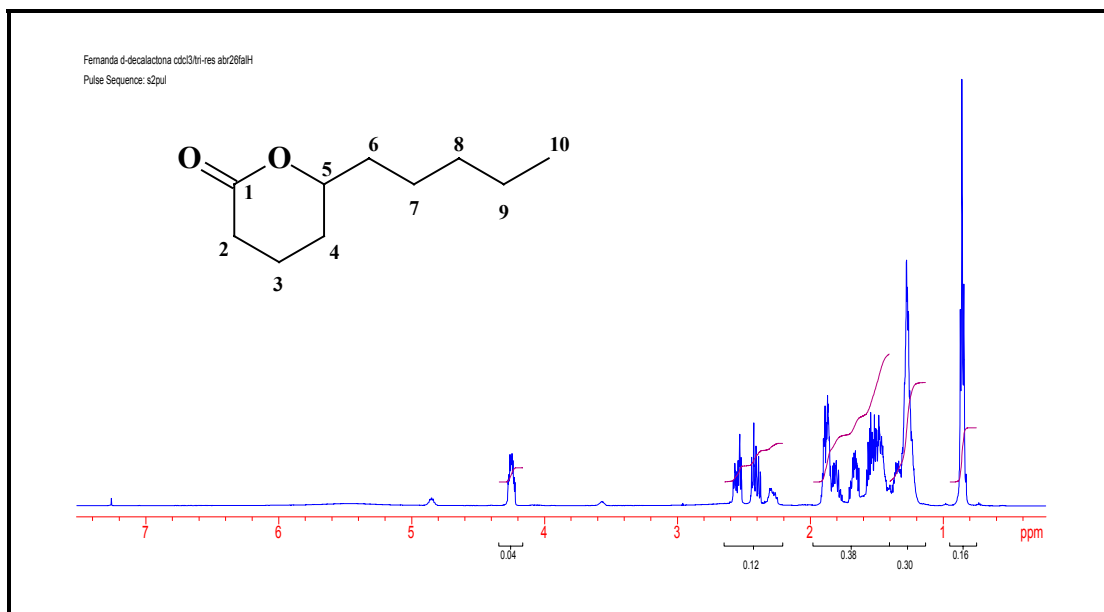


Fig. 13. Espectro de RMN de ^1H da δ -decalactona

RMN de ^1H (500 MHz): δ 0,87 (3H, t, $^3J= 7,0\text{Hz}$, H-10); 1,24 – 1,84 (8H, m H-6, 7, 8, 9); 1,86 -1,92 (2H, m, H-4); 2,38 – 2,45 (2H, m, H-3); 2,53 -2,59 (2H, m, H-2); 4,23 – 4,29 (1H, m, H-5).

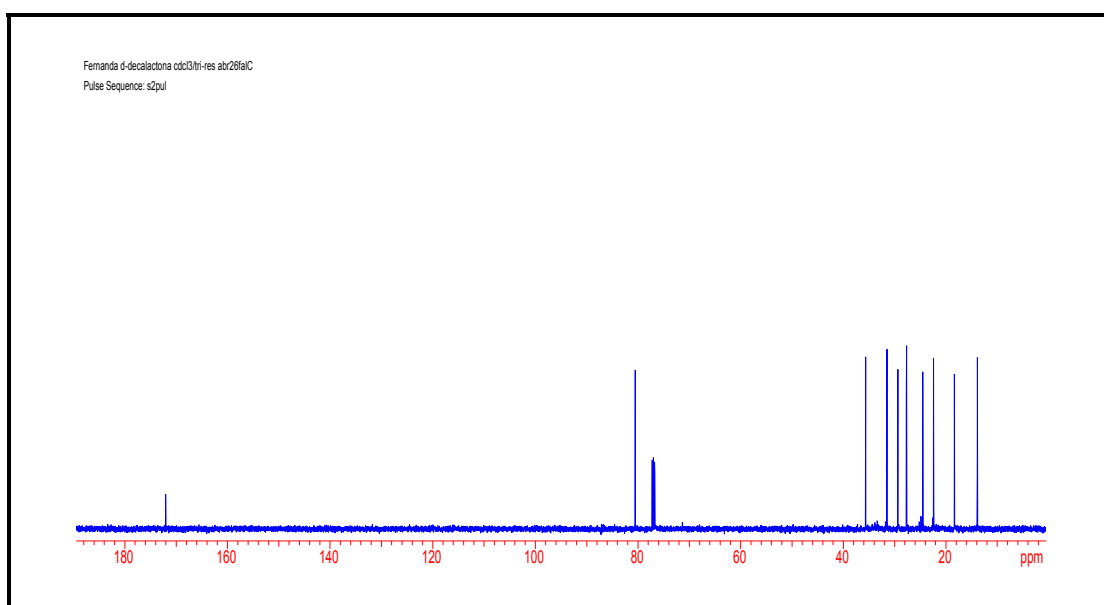


Fig. 14. Espectro de RMN de ^{13}C da δ -decalactona

RMN de ^{13}C (500 MHz): δ 13,9 (CH₂, C-10); 18,4 (CH₂, C-3); 22,4 (CH₂, C-9); 24,5 (CH₂, C-7); 27,7 (CH₂, C-4); 29,4 (CH₂, C-8); 31,5 (CH₂, C-6); 35,7 (CH₂, C-2); 80,6 (CH, C-5); 172,0 (C₀, C-1).

4.8. Fracionamento do óleo essencial da madeira de *A. canelilla* por extração ácido-base, cromatografia em coluna e cromatografia em camada delgada preparativa

As condições utilizadas para o fracionamento do óleo por extração ácido-base estão na Figura 15.

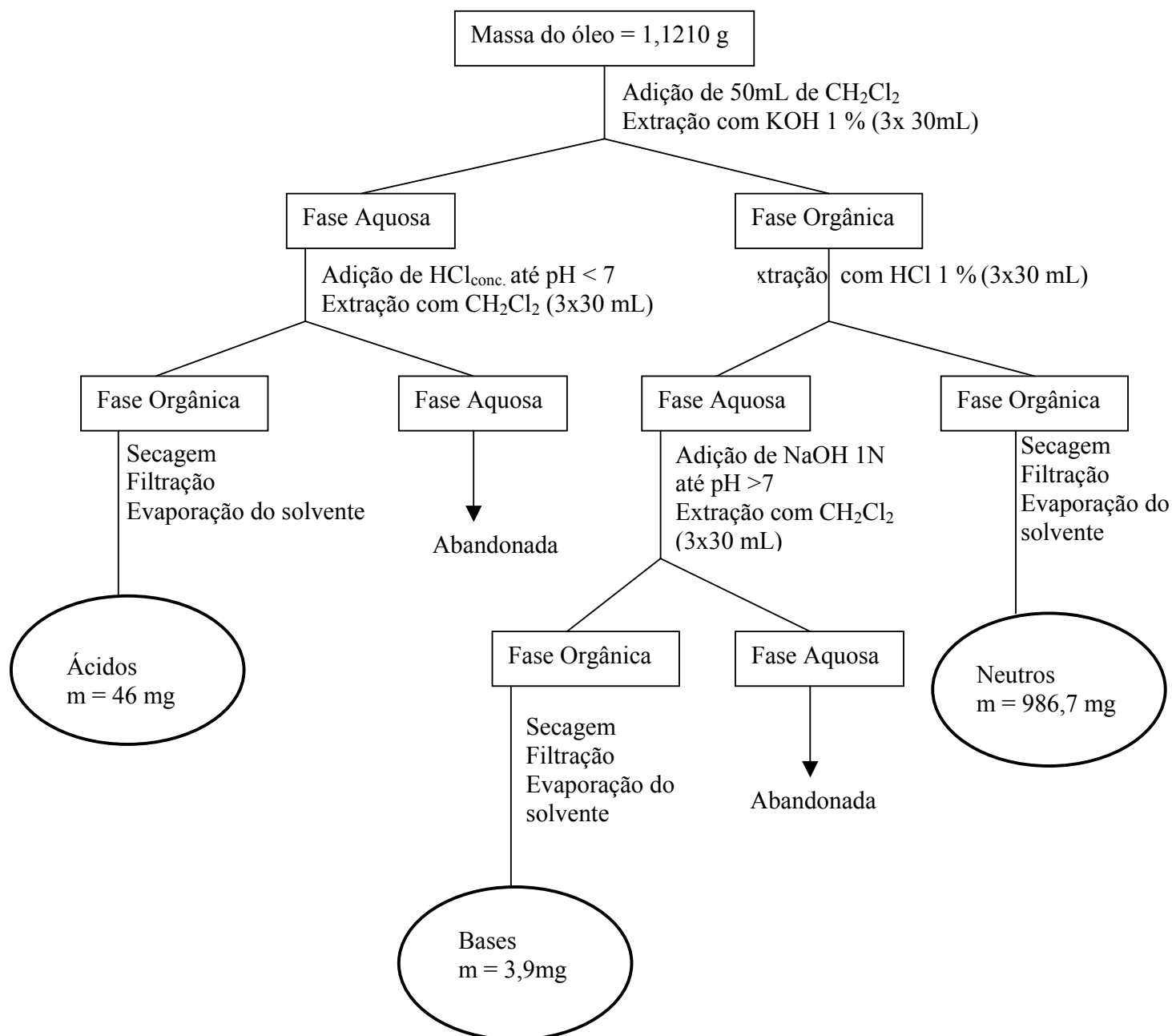


Fig. 15. Fluxograma de extração ácido-base do óleo essencial bruto da madeira de *A. canelilla*.

A secagem de cada fração foi feita com $MgSO_4$ anidro, a filtração com papel de filtro e a evaporação do solvente em rota-evaporador. As três frações (ácidos, bases e neutros) foram submetidas à CG-EM.

Para purificação de 1-nitro-2-feniletano, uma coluna cromatográfica foi feita com 30 g sílica gel e 0,98 g dos compostos neutros (relação sílica: amostra = aproximadamente 30:1). Foram usados os eluentes: hexano, acetato de etila e metanol em gradiente de polaridade. Retiraram-se alíquotas de 10 mL e com o auxílio de CCD, de acordo com a semelhança de R_F , foram agrupadas em seis frações (Tabela 2)

Tab. 2. Eluentes, volumes usados e frações da coluna cromatográfica para isolamento de 1-nitro-2-feniletano e metileugenol.

Eluentes (proporção)	Volume (mL)	Frações reunidas	Massa (mg)	massa %
Hexano: AcOEt (99:1)	30	1	0,8	0,1
Hexano: AcOEt (98:2)	30			
Hexano: AcOEt (95:5)	30	2	1,1	0,1
Hexano: AcOEt (85:15)	30			
Hexano: AcOEt (7:3)	30	3	463,0	47
Hexano: AcOEt (3:7)	30			
AcOEt	60	4	236,6	24
AcOEt: metanol (97:3)	30	5	4,8	0,5
AcOEt: metanol (95:5)	60	6	5,3	0,5

As seis frações foram analisadas por CCD e por CG-EM, onde 70 % dos componentes foram coletados nas frações 3 e 4, que concentraram as substâncias 1-nitro-2-feniletano e metileugenol, por isso foram submetidas a cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP). O eluente usado foi tolueno: acetato de etila 9:1. A visualização foi feita através da irradiação da

luz ultravioleta no comprimento de onda 254 nm. As regiões de sílica contendo as subfrações foram retiradas das placas e as amostras solubilizadas com clorofórmio: metanol 95:5. Cada mistura foi filtrada, o solvente evaporado em rota-evaporador.

Após esta separação, as subfrações foram analisadas por CG-EM. Os cromatogramas indicaram duas substâncias isoladas: 1-nitro-2-feniletano nas subfrações 1 das placas 1 e 2, metileugenol nas subfrações 2 das duas placas. O isolamento das mesmas foi confirmado por RMN de ^1H e ^{13}C (Figuras 16, 17, 18,19).

Para o isolamento do 1-nitro-2-feniletano das folhas de *A. canelilla*, seu óleo essencial foi submetido à CCDP nas mesmas condições usadas para o isolamento do 1-nitro-2-feniletano do o.e. da madeira, descritas a cima. As frações da CCDP foram avaliadas por CCD e para facilitar a identificação do composto de interesses utilizou-se o padrão isolado do o.e. da madeira, que indicou que o 1-nitro-2-feniletano foi realmente isolado. A fração correspondente ao composto isolado foi analisada por CG-EM, RMN de ^1H e ^{13}C e IV (Anexo A).

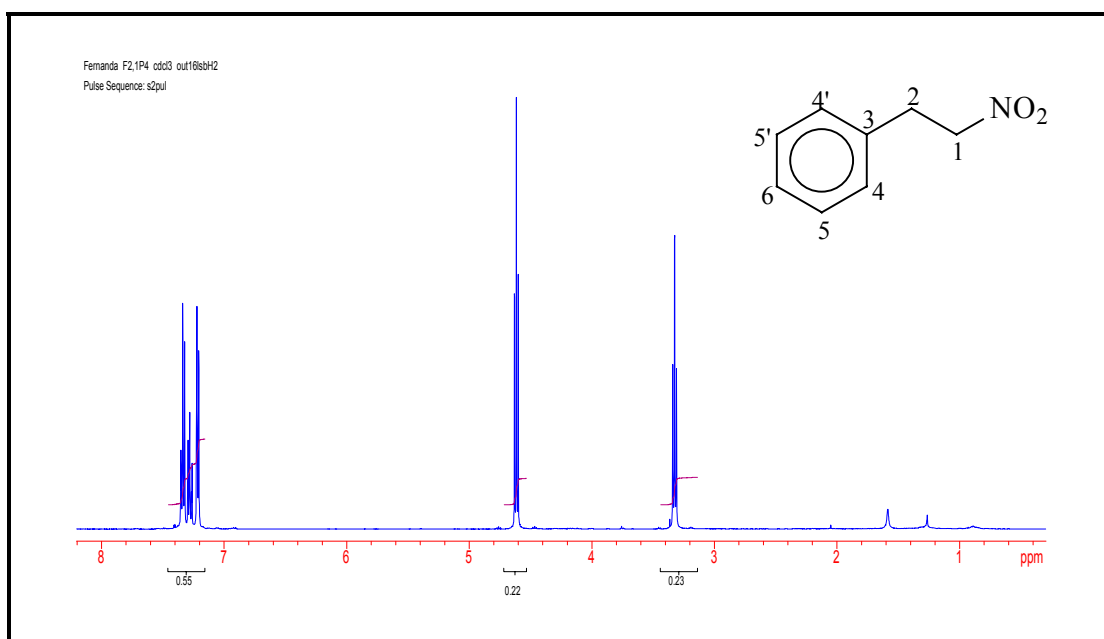


Fig. 16. Espectro de RMN de ^1H do 1-nitro-2-feniletano

RMN de ^1H (500 MHz): δ 3,35 (2H, t, $^3J=6,9$ Hz, H-2); 4,63 (2H, t, $^3J=6,9$ Hz, H-1); 7,23 (2H, dd, $^3J=7,4$ Hz, $^3J=2,7$ Hz, H-5 e H-5'); 7,30 (1H, tt, $^3J=7,4$ Hz, $^3J=2,6$ Hz, H-6); 7,35 (2H, t, $J=7,4$ Hz, H-4 e H-4').

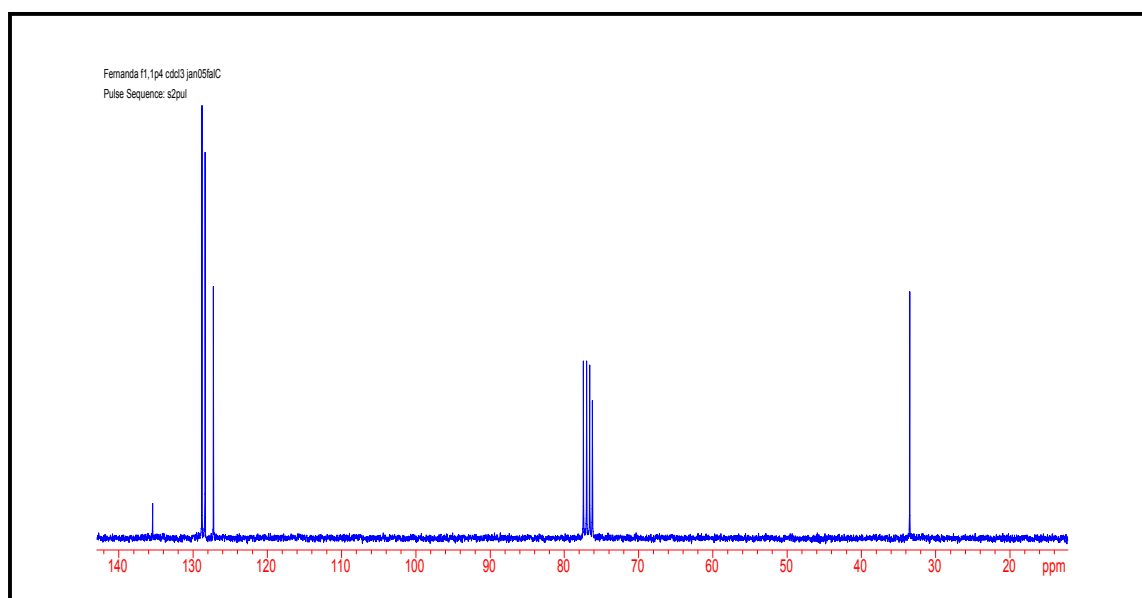


Fig. 17. Espectro de ^{13}C do 1-nitro-2-feniletano

RMN de ^{13}C (75 MHz): δ 32,5 (CH_2 , C-2); 75,2 (CH_2 , C-1); 126,3 (CH , C-6); 127,4 (CH , C-4, C-8); 127,8 (CH , C-5, C-7); 134,5 (C_0 , C-3).

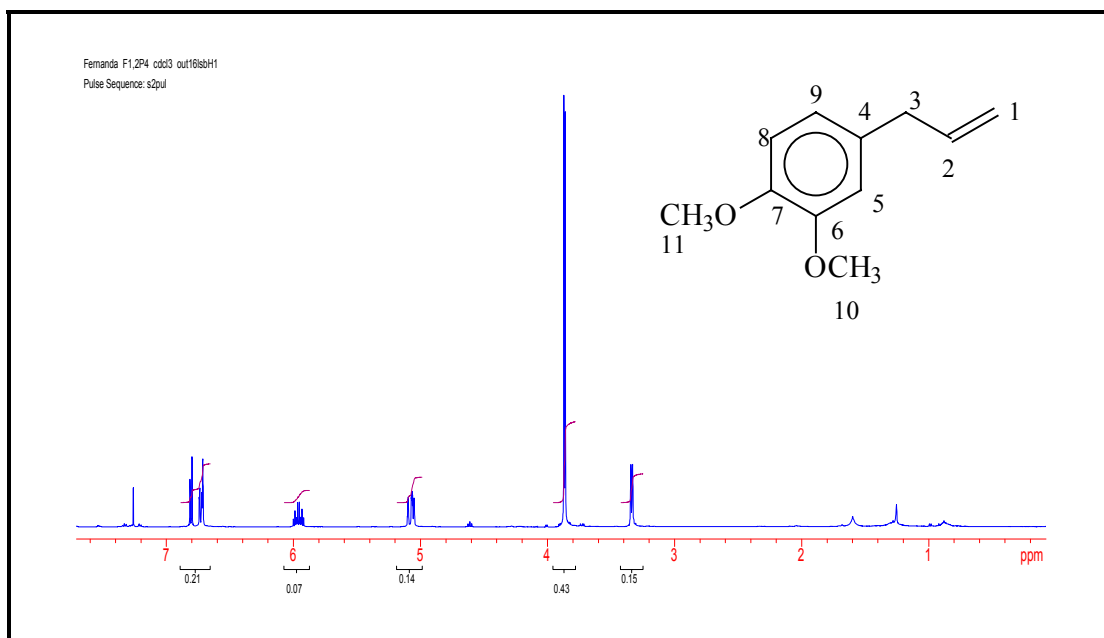


Fig. 18. Espectro de RMN de ^1H do metileugenol

RMN de ^1H (500 MHz): δ 3,34 (2H, d, $^3J=6,1\text{Hz}$, H-3); 3,85 (3H, s, H-11); 3,87 (3H, s, H-10); 5,02 – 5,11 (2H, m, H-1); 5,95 – 6,02 (1H, m, H-2); 6,68 – 6,71 (1H, m, H-9); 6,72 (1H, s, H-5); 6,80 (1H, d, $^3J=6,80\text{Hz}$, H-8).

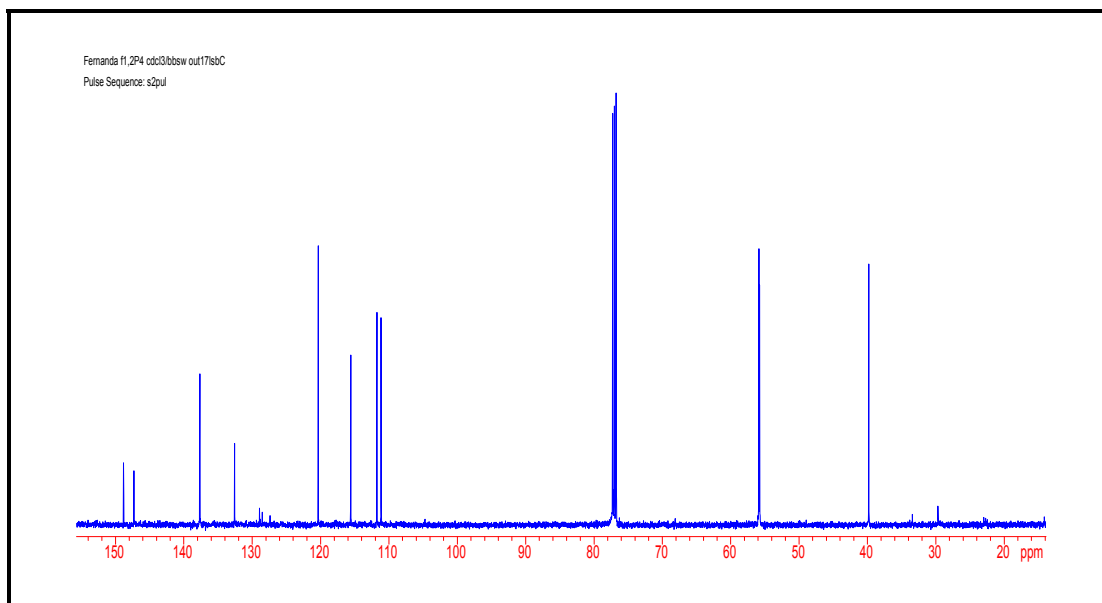


Fig. 19. Espectro de RMN de ^{13}C do metileugenol

RMN de ^{13}C (125 MHz): δ 40,1 (CH_2 , C-3); 56,1 (CH_3 , C-10, C-11); 111,2 (CH , C-8); 111,8 (CH , C-9); 115,6 (CH_2 , C-1); 120,3 (CH , C-2); 132,6 (C_0 , C-4); 137,7 (CH , C-5); 147,3 (C_0 , C-7); 148,8 (C_0 , C-6).

4.9. Destilação do óleo essencial bruto da madeira de *A. canelilla*

A destilação de 31,0 g do óleo essencial bruto foi realizada sob vácuo de 3,3 mmHg com coluna de fracionamento de 13,5 cm. Foi usado um banho de silicone e o intervalo da temperatura de destilação foi 110-112 °C. O óleo foi fracionado em duas amostras e a fração não destilada foi denominada resíduo. A primeira chamada “cabeça de destilação” com massa de 0,43 g corresponde a 1,4 % da massa inicial do óleo e a segunda,

óleo destilado com 29,3 g referentes a 94,6 %. O óleo bruto e as duas amostras foram analisados por CCD e por CG-EM.

4.10. Redestilação do óleo essencial da madeira de *A. canelilla*

Para redestilação do óleo destilado, descrito no item 4.9., utilizou-se 26,0 g do óleo destilado, vácuo de 3 mmHg e coluna de fracionamento de 13,5 cm. O mesmo foi fracionado em duas alíquotas e resíduo. A primeira, “cabeça de destilação”, foi retirada na faixa de temperatura de 68 – 70 °C, massa = 1,27 g (4,9 %) e a segunda, óleo redestilado foi retirada na faixa de temperatura de 72 – 74 °C, massa = 23,6 g (90,7 %). O óleo redestilado foi analisado por CCD e por CG-EM.

4.11. Hidrodestilação do óleo essencial bruto da madeira de *A. canelilla*

Foi realizado a hidrodestilação de 33 g de óleo essencial bruto da madeira por 19 h e 30 min. A primeira alíquota foi retirada após 6 h e as demais, a cada 1 h e 30 min, totalizando 10 frações hidrodestilada e um resíduo (fração não hidrodestilada). O óleo foi extraído de cada porção com diclorometano (3 x 30 mL), seco com MgSO₄ anidro e o solvente evaporado em rota-evaporador. As frações foram pesadas (Tabela 3) e analisadas por CCD, utilizando como eluente hexano: acetato de etila 8:2, e por CG-EM.

Tab. 3. Frações da hidrodestilação do o.e. de *A. canelilla*

Nº da fração	Massa (g)
1	14,7928
2	4,6161
3	2,7768
4	3,8547
5	3,3783
6	1,7647
7	0,7153
8	0,1935
9	0,1722
10	0,042
Resíduo	0,4121

4.12. Extração e análise do óleo essencial das folhas de *A. canelilla*

A extração de 900 g de folhas de *A. canelilla* foi realizada por arraste a vapor durante 2 h e 30 min, obtendo 1,35 g de óleo (1,7 % de rendimento). O óleo essencial foi submetido à CG-EM.

4.13. Quantificação de 1-nitro-2-feniletano no óleo essencial da madeira e folhas de *A. canelilla* e frações

A quantificação de 1-nitro-2-feniletano foi feita em cinco amostras:

A- óleo essencial bruto da madeira

B- fração obtida por destilação fracionada do o. e. bruto da madeira

C- amostra obtido através redestilação: destilação fracionada de óleo destilado(B) - madeira

D- fração obtido por hidrodestilação do o. e. bruto da madeira

E- óleo essencial obtido por arraste à vapor – folhas

4.14. Extração das folhas de *A. canelilla* com diclorometano

56,1 g de folhas de *A. canelilla* foram submetidas à extração com diclorometano num equipamento de *Soxhlet* por 18 h. Após esse período, o extrato foi obtido com 1,4 % de rendimento (0,77 g).

4.15. Ensaios biológicos

Os ensaios foram realizados pela Prof^a Dr^a Angélica Zaninelli Schreiber da Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP.

Foi utilizada a técnica de difusão com discos utilizando como base a norma do *NCCLS (Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6])* que permite a determinação do halo de inibição de crescimento para as substâncias em estudo.

4.15.1. Amostras e microorganismos avaliados

As amostras foram dissolvidas em DMSO e estão descrita abaixo :

- O.e. hidrodestilado de *A. canelilla* – madeira
- Extrato CH₂Cl₂ de *A. canelilla* – folhas

- Extrato CH₂Cl₂ de *A. suaveolens* – partes aéreas
- Extrato CH₂Cl₂ do resíduo da extração com arraste a vapor de *A. suaveolens*

Os microorganismos avaliados foram:

- *Candida albicans*
- *Candida krusei*
- *Candida parapsilosis*
- *Staphylococcus aureus* (S)
- *Staphylococcus aureus* (R)
- *Staphylococcus hominis*

4.15.2. Preparação do inóculo

Pelo menos de três a cinco colônias, bem isoladas, do mesmo tipo morfológico foram selecionadas da placa de ágar. A superfície de cada colônia foi tocada com uma alça, e os microorganismos foram transferidos para um tubo contendo 4-5 mL de salina 0,8 %. Ajustou-se a turbidez da cultura em crescimento com solução salina estéril ou caldo, de modo a obter uma turbidez óptica comparável à da solução padrão de McFarland a 0,5. Isso resulta numa suspensão contendo aproximadamente de 1 a 2 x 10⁸ UFC/mL.

4.15.3. Preparação dos discos

Foram utilizados discos de papel de filtro estéreis (CEFAR), comercialmente disponíveis com peso de 30 ± 4 mg/cm², com capacidade

para absorver de 2 a 3 vezes o seu peso em água e diâmetro de 6,35mm. A cada disco foram adicionados 20 µl de extrato. Acondicionados em placas de Petri estéreis foram incubados em estufa até completa secagem, depois mantidos entre 2-8 °C até o momento do teste.

4.15.4. Meio de cultura

O ágar Müeller-Hinton foi preparado a partir de uma base desidratada (Oxoid) conforme as instruções do fabricante. O meio recém preparado e resfriado foi depositado em placas de Petri estéreis descartáveis de fundo chato, numa superfície horizontal, para garantir uma profundidade uniforme de aproximadamente 4 mm. O que corresponde a 25-30 mL de meio para placas com diâmetro de 100 mm. O meio ágar foi esfriar a temperatura ambiente e armazenadas em geladeira (de 2 a 8 °C), por até 7 dias.

4.15.5. Inoculação das placas de teste

Em condições ideais, mergulhou-se um *swab* de algodão estéril na suspensão ajustada, até 15 minutos após ajuste da turbidez da suspensão de inóculo. O *swab* foi girado várias vezes e apertado firmemente contra a parede interna do tubo, cima do nível do líquido para retirada de qualquer excesso de inóculo no *swab*. A superfície seca da placa de ágar Müeller-Hinton foi inoculada passando-se o *swab* em toda a superfície estéril do ágar. Repetiu-se o procedimento esfregando outras duas vezes, girando a placa aproximadamente 60° cada vez, a fim de assegurar a distribuição uniforme do inóculo. Como passo final, passou-se um *swab* na margem da

placa de ágar. A tampa foi deixada entreaberta de três a cinco minutos, de maneira a permitir que qualquer excesso de umidade fosse absorvido antes de se aplicar os discos impregnados com os extratos.

4.15.6. Aplicação de discos a placas de ágar inoculadas

Cada disco foi pressionado de encontro à placa, de maneira a assegurar contato completo com a superfície de ágar. Os discos foram distribuídos por igual, de maneira que a distância de centro para centro não excedesse 24 mm.

4.15.7. Leitura das placas e interpretação dos resultados

Após 16-18 horas de incubação, examinou-se cada placa. Se a placa foi satisfatoriamente semeada, e o inóculo era correto, os halos de inibição resultantes eram uniformemente circulares e havia um tapete confluyente de crescimento. Os diâmetros dos halos de inibição total (julgadas a olho nu) foram mensurados, incluindo o diâmetro do disco. Os halos foram medidos em milímetros usando uma régua, que é encostada na parte de trás da placa de Petri invertida.

4.16. Extração do óleo essencial de *Lippia alba*

As amostras coletadas do jardim da residência do Prof. Lauro E. S. Barata (A), às 10 horas, em diferentes épocas, passaram por hidrodestilação num sistema Clevenger, durante 2 h. Cada amostra de óleo essencial foi extraída com diclorometano (3 x 30 mL), seca com MgSO₄ anidro, filtrada, o solvente evaporado em rota-evaporador e o óleo analisado por CG-EM. Datas, observações das coletas e rendimentos das extrações estão na Tabela 4.

Tab. 4. Datas, observações das coletas e rendimentos das extrações de *L. alba*

Coleta	Data da coleta	Rendimento da extração do óleo	Observações
1	08/09/05	0,32 %	Planta sem flores
2	10/10/05	0,76 %	Planta com flores
3	12/12/05	0,45 %	Planta com poucas flores
4	11/01/06	0,35 %	Planta sem flores
5	13/03/06	0,32 %	Planta sem flores
6	18/04/06	0,33 %	Planta sem flores

O óleo essencial da amostra fornecida pelo CPQBA - UNICAMP (B) foi obtido através de 222,4 g de folhas extraídas por arraste a vapor,

apresentando 0,084 % de rendimento (0,19 g de óleo). Os constituintes foram analisados por CG-EM.

4.17. Microextração em Fase Sólida de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O basilicum*

As amostras analisadas foram:

- Amostra 1: Flores de *Lippia alba*
- Amostra 2: Óleo essencial de folhas de *Lippia alba* (A)
- Amostra 3: Óleo essencial de folhas de *Lippia alba* (B)
- Amostra 4: Óleo essencial de folhas de *Aniba rosaeodora*
- Amostra 5: Óleo essencial de madeira de *Aniba rosaeodora*
- Amostra 6: Óleo essencial de folhas de *Ocimum basilicum*

A amostra de flores ficou confinada em frasco de 14 mL, por 10 minutos em pré-equilíbrio seguido de 10 minutos de extração. As amostras de óleo essencial ficaram confinadas por 15 minutos em pré-equilíbrio e 30 segundos de extração. Para todas as análises foram usadas 50 mg de amostra. Os analitos foram extraídos por uma fibra de PDMS – 100 e submetidos à CG-EM para dessorção.

4.18. Avaliação dos enantiômeros de linalol nos óleos essenciais de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum*

Avaliação dos enantiômeros de linalol foi feita no equipamento de CG-EM com uma coluna HP-chiral β (β ciclo dextrina em 35 % fenil – metilpolisiloxano) com comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm

e filme com espessura de 0,25 μm e para definição dos enantiômeros realizou-se a injeção dos óleos essenciais de *A. rosaeodora* - madeira e folhas, *L. alba* - folhas e *O. basilicum* – folhas com o padrão de (-)linalol.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Constituintes voláteis do óleo essencial de *A. suaveolens*

O óleo essencial de *A. suaveolens* possui forte odor adocicado, é usado no combate a algumas doenças e tem atividades antimicrobiana e anticonvulsivante comprovadas, conforme descritos em 2.1.

Nesse estudo o o.e. utilizado foi obtido por arraste a vapor das partes aéreas frescas de *A. suaveolens* e analisado por CG-EM, para a avaliação da sua composição química. A identificação dos constituintes foi feita a partir da comparação do índice de retenção e dos espectros de massas da biblioteca Wiley. Foram identificados um monoterpreno, três sesquiterpenos e uma lactona. Tais constituintes estão nas Figuras 20 e 21 e na Tabela 5.

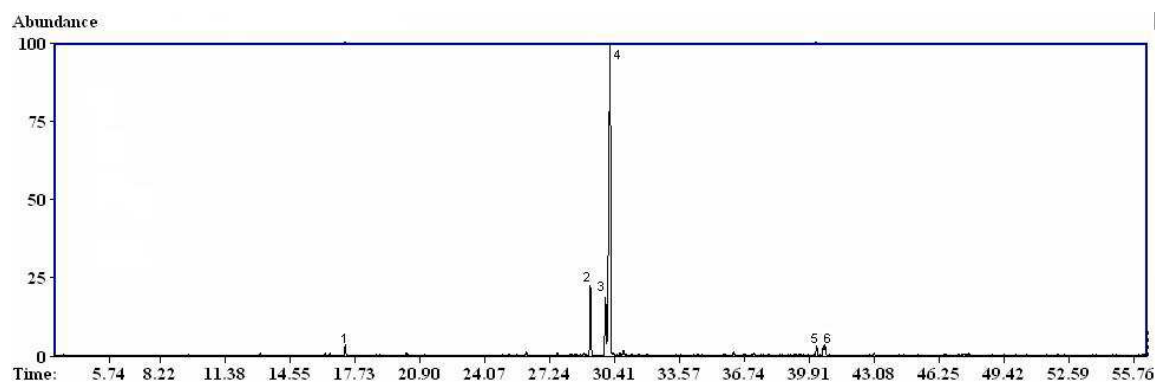


Fig. 20. Cromatograma do o. e. de *A. suaveolens*

Tab. 5. Constituintes do óleo essencial de *A. suaveolens* e área percentual relativa dos picos no cromatograma

Nº	Índice de retenção	Constituintes	Área percentual relativa
1	1179	α - terpineol	1,7
2	1460	trans - β - farneseno	10,5
3	1479	não identificado	10,6
4	1488	massoia lactona	72,1
5	1495	β - selineno	1,6
6	1504	cis- α -bisaboleno	3,5

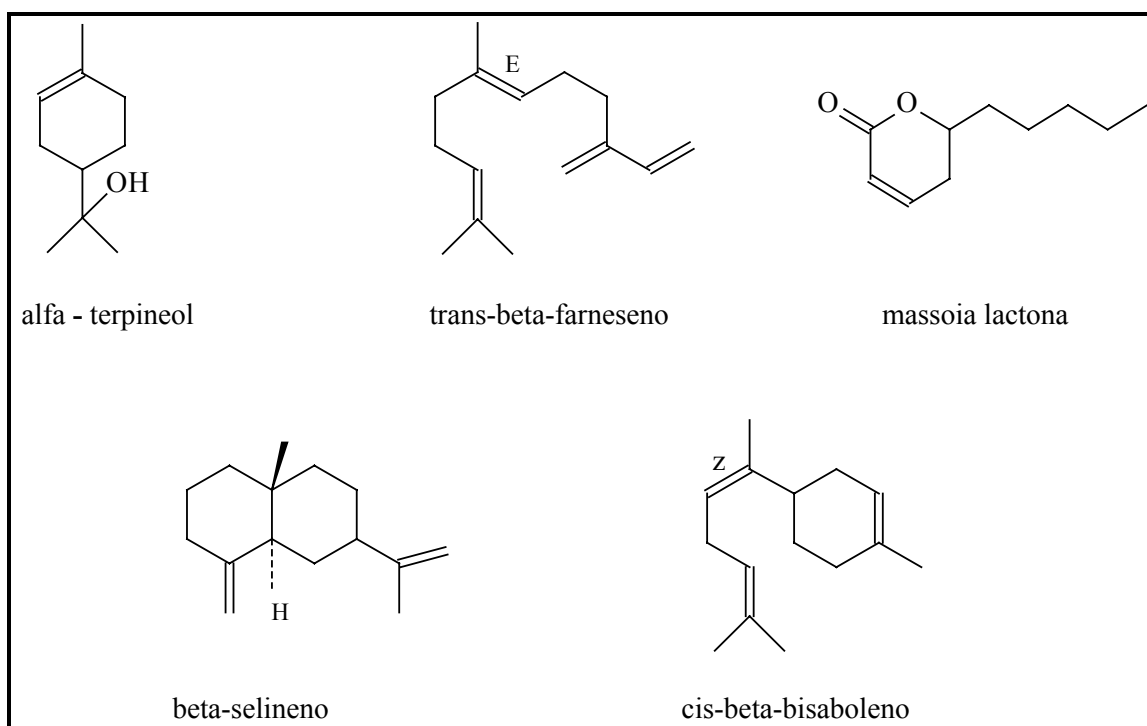


Fig. 21. Principais constituintes do óleo essencial de *A. suaveolens*.

5.1.1. Isolamento da massoa lactona

A massoa lactona é o principal constituinte do o.e. de *A. suaveolens* e parece ser uma substância importante no aroma dessa planta, por isso, o interesse em realizar seu isolamento.

O isolamento da massoa lactona foi feito a partir do extrato hexânico seco. Esse material foi obtido por extração de partes aéreas secas de *A. suaveolens* em aparelho de *Soxhlet*, como descrito em 4.4.

O extrato passou por três fracionamentos. No primeiro, eliminação de clorofila, utilizou-se uma proporção entre metanol e água ideal para precipitação de clorofilas e posteriormente realizou-se uma filtração das mesmas, conforme item 4.5.1. Desse procedimento observou-se que o extrato que inicialmente era verde ficou amarelado, o que sugere que as clorofilas foram retiradas. A análise de CG-EM mostrou que a lactona se concentrou nessa amostra. O extrato resultante da eliminação de clorofilas passou por um segundo fracionamento constituído de uma coluna cromatográfica que usou como eluente hexano e acetato de etila num gradiente de polaridade, como descrito em 4.5.2 e na Tabela 1, e possibilitou a concentração da massoa lactona em uma das frações. Essa última fração foi submetida à CCDP com 5 % de nitrato de prata, mantida no escuro, foi necessário utilizar nitrato de prata na placa para possibilitar a separação da massoa lactona da δ -decalactona, como descrito em 4.5.3. O isolamento da massoa lactona em uma das frações da CCDP foi indicado pela análise de CG-EM e confirmado por RMN de ^1H e ^{13}C . Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C da amostra são confirmados pela literatura⁷⁴.

5.1.2. Constituintes de *A. suaveolens* extraídos por *HS-SPME*

A Microextração em Fase Sólida (*SPME*, do inglês *Solid Phase Microextraction*), é uma técnica adequada para extração de compostos orgânicos voláteis em diferentes matrizes^{75,76}, dessa forma, esse tipo de extração com separação e identificação por CG-EM se torna adequada para avaliar os constituintes voláteis das várias amostras de *A. suaveolens* - planta fresca (1), seca (2), óleo essencial (3) e resíduo da extração do o.e. (4) – que apresentam aroma característico.

Os analitos das quatro amostras citadas foram extraídos por *SPME* através do espaço confinado (*HS-SPME*), como descrito em 4.6, e apresentaram o resultado descrito na Tabela 6, que mostra a identificação de cerca de 94 % das substâncias presentes nas diferentes amostras, sendo 21 terpenos (13 monoterpenos e 8 sesquiterpenos) e 2 lactonas. A substância comum a todas as amostras é o linalol.

A massoia lactona é abundante na planta fresca, seca e no resíduo da extração do o.e. e parece ser a substância que dá a característica ao aroma de *A. suaveolens*. Apesar de ter cheiro agradável, essa lactona não é utilizada em fragrância, pois existe uma preocupação quanto a sua toxicidade, embora não existam estudos indicando seu limite de tolerância^{77,78}, por isso o óleo de *A. suaveolens* deve ser manipulado com alguns cuidados.⁷⁹

Tab. 6. Constituintes voláteis de *A. suaveolens* fresca (1), seca (2), óleo essencial (3) e resíduo da extração do o.e. (4) extraídos por *HS-SPME* e área percentual relativa dos picos no cromatograma

Constituintes	IR	1	2	3	4
mirreno	984	1,0	1,6	1,1	-
1,8-cineol	1020	1,4	2,0	-	-
(E)- β -ocimeno	1043	1,2	1,0	-	-
cis-óxido de linalila	1063	-	-	2,7	-
linalol	1090	23,6	21,1	6,2	1,3
borneol	1155	-	1,0	-	-
α -terpineol	1179	1,7	1,6	-	-
acetato de linalila	1255	3,4	17,4	21,2	-
acetato de neo tujil	1264	14,5	-	-	-
acetato de bornila	1284	0,5	1,4	4,6	-
formato de geranil	1294	0,6	-	1,5	-
neo iso acetato de di-hidrocarvil	1357	-	-	2,9	-
acetato de geranil	1384	-	-	12,7	-
α -santaleno	1428	5,1	-	-	-
trans- α -bergamota	1442	3,0	2,4	-	-
epi- β -santaleno	1445	-	3,5	21,1	-
(E)- β -farneseno	1463	-	20,1	-	5,2
β -santaleno	1464	-	-	-	1,2
ar-curcumeno	1493	-	-	6,0	-
massoia lactona	1494	13,0	16,4	-	82,3
(E,E) α -farneseno	1498	-	-	6,9	-
β -bisaboleno	1499	29,5	-	-	-
δ -decalactona	1503	1,1	0,5	-	9,2
Total		99,6	90,0	88,4	99,2

5.1.3. Obtenção da massóia lactona

Em Química de Produtos Naturais é comum realizar a inter-transformação de moléculas de mesma família para corroborar a identificação das mesmas. Nesse trabalho realizou-se a transformação da δ -decalactona, uma lactona comercial que também está presente na planta em estudo, na massóia lactona, constituinte majoritário do óleo essencial de *A. suaveolens*. Para isso utilizou-se a eliminação α,β a carbonila de lactona, como descrito em 4.7. Essa transformação está mostrada na Figura 22.

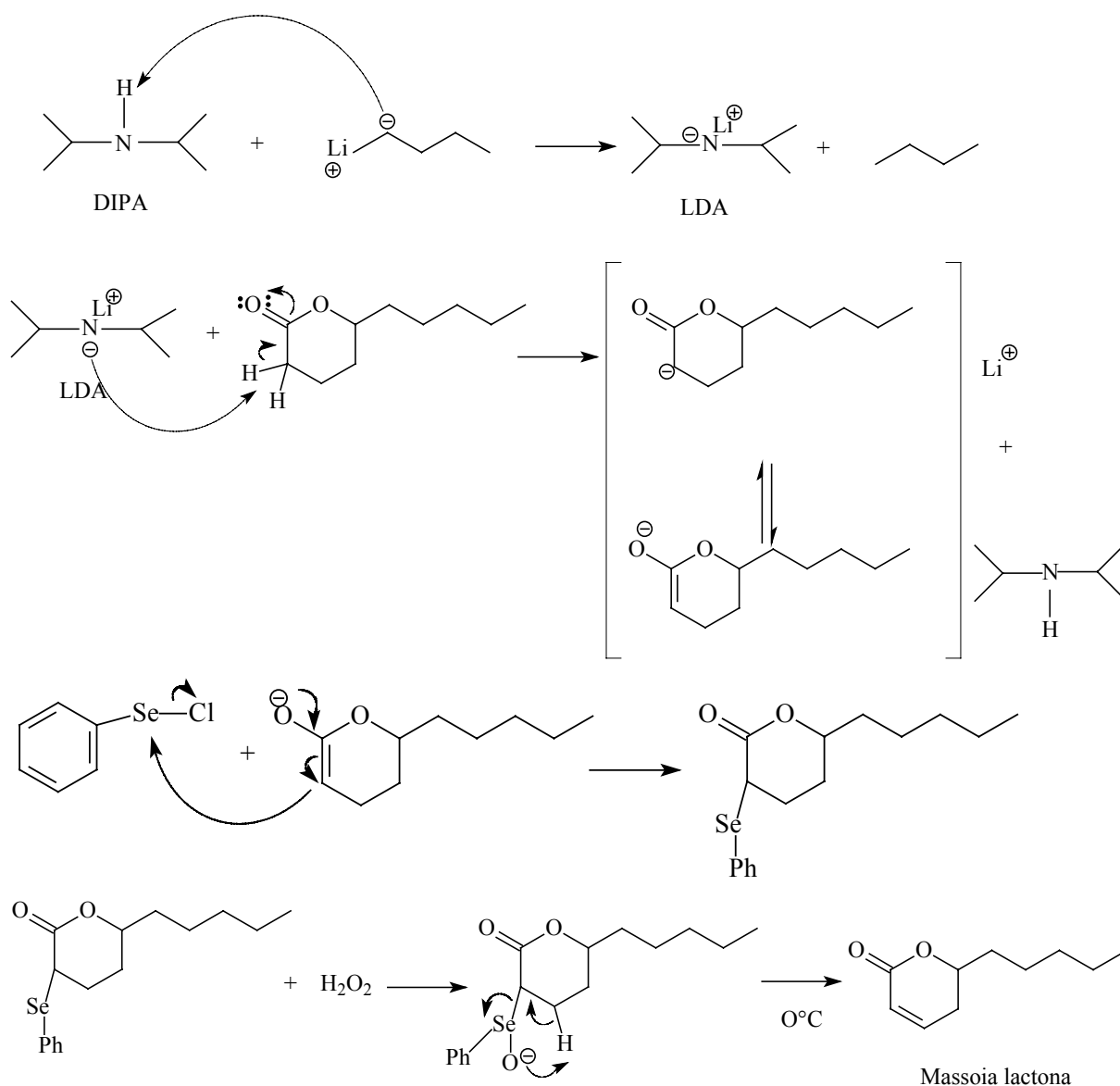


Fig. 22. Obtenção da massoia lactona.

A mistura reacional passou por um tratamento para o isolamento do produto majoritário da reação. O óleo resultante da reação foi submetido a uma coluna de purificação de sílica utilizando-se o eluente hexano:acetato de etila 8:2. Três alíquotas de 50 mL foram retiradas e analisadas por CG-

EM. Com a fração que continha a massóia lactona foi realizada uma placa cromatográfica preparativa, utilizando-se o mesmo eluente (hexano:acetato de etila 8:2), tendo sido assim possível isolar a massóia lactona de uma das frações, que foi identificada por CG-EM, RMN de ^1H e ^{13}C . Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C são confirmados pela literatura⁷⁴.

Apesar de a reação ser rápida e simples apresenta a desvantagem de usar como reagente o PhSeCl, substância que é altamente tóxica e corrosiva.

5.2. Constituintes voláteis do óleo essencial de *Aniba canelilla*

Neste capítulo trataremos da composição química do o.e. das folhas e da madeira de *A. canelilla*. O óleo essencial bruto da madeira da *A. canelilla* foi submetido aos processos de destilação fracionada, redestilação e hidrodestilação. O óleo essencial das folhas e os óleos bruto e processado da madeira foram analisados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM).

O óleo essencial de *A. canelilla* é usado contra várias doenças, conforme descrito em 2.2. Trata-se de um óleo de cor castanho-amarelada que possui aroma de canela. Seus constituintes analisados por CG-EM foram identificados a partir da comparação do índice de retenção (IR) e dos espectros de massas da biblioteca Wiley. As amostras analisadas são relacionadas na Tabela 7. Os cromatogramas das análises das amostras abaixo (A, B, C, D e E) estão mostrados nas Figuras 23, 24, 25, 26, 27 e os principais constituintes descritos na Tabela 8 e na Figura 28.

Tab. 7. Amostras de *A. canelilla* analisada por CG-EM

Amostras	Descrição das amostras de <i>A. canelilla</i>	Figura
A	óleo essencial (o.e.) bruto da madeira	23
B	fração obtida por destilação fracionada do o.e. bruto da madeira	24
C	amostra da destilação da fração B (madeira)	25
D	fração obtida por hidrodestilação do o.e. bruto – madeira	26
E	óleo essencial obtido por arraste a vapor - folhas	27

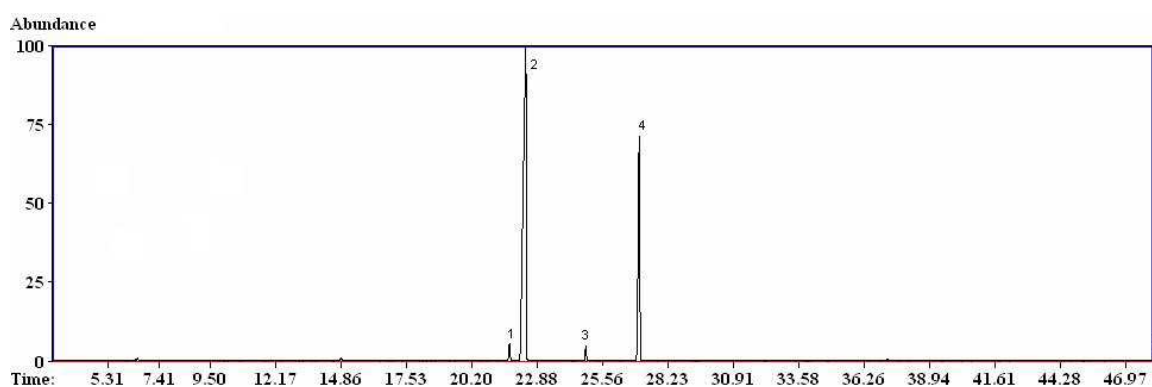


Fig. 23. Cromatograma do o.e. bruto da madeira de *A. canelilla* (A)

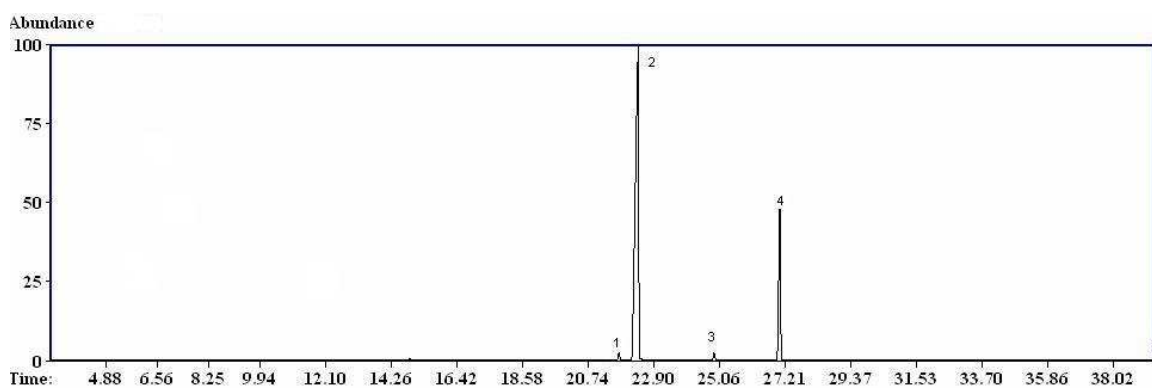


Fig. 24. Cromatograma da fração obtida por destilação fracionada do o.e. bruto da madeira de *A. canelilla* (B)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

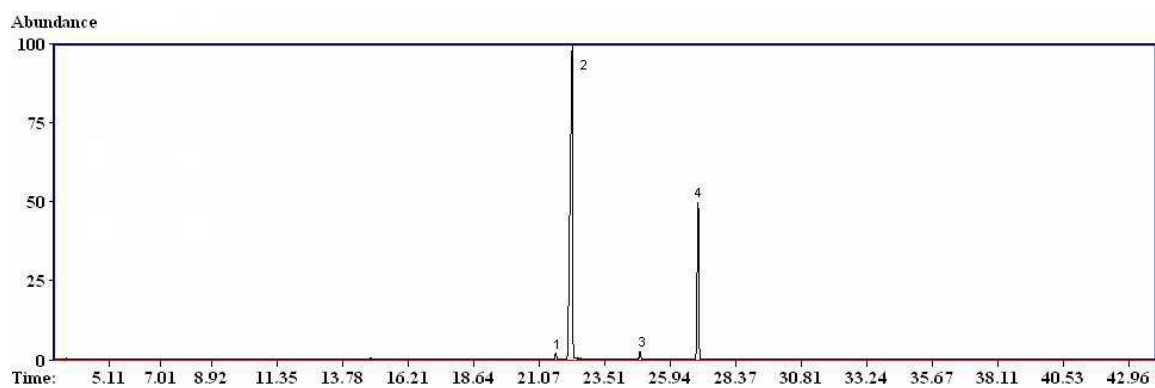


Fig. 25. Cromatograma da alíquota obtida por destilação fracionada da fração B da madeira de *A. canelilla* (C)

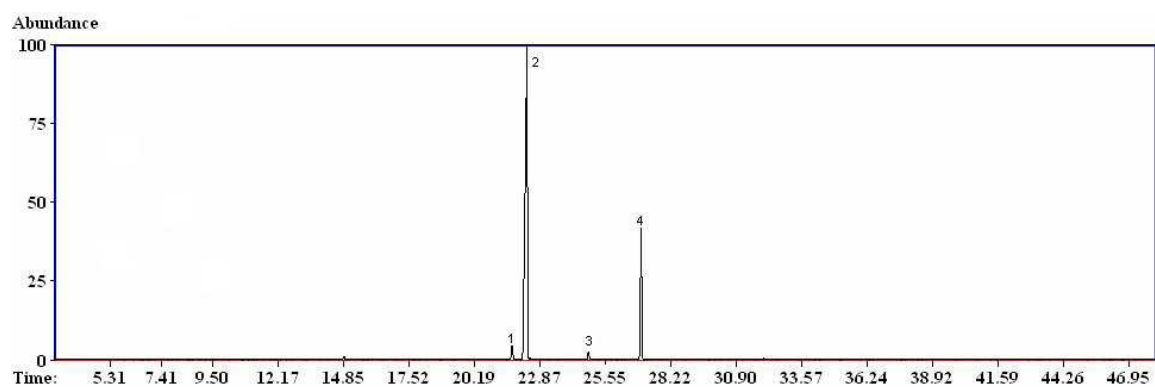


Fig. 26. Cromatograma da fração obtida por hidrodestilação do o.e. bruto da madeira de *A. canelilla* (D)

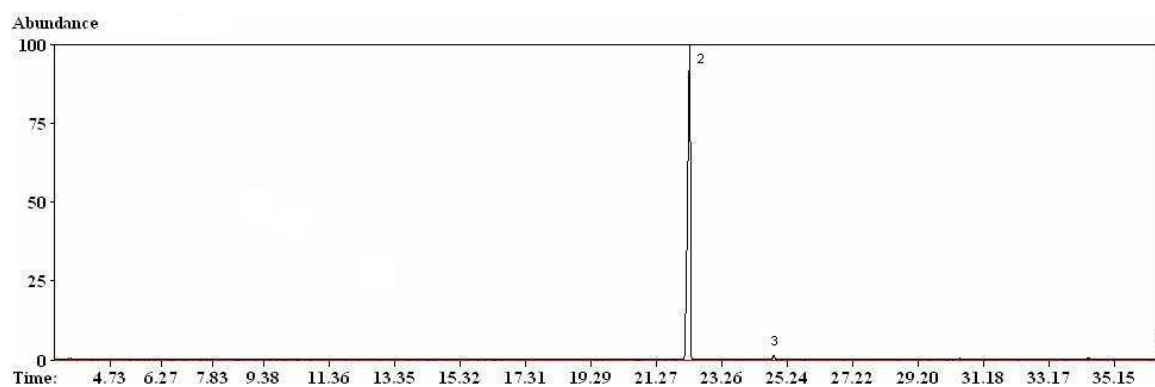


Fig. 27. Cromatograma do o.e. das folhas de *A. canelilla* (E)

Tab. 8. Constituintes do óleo essencial de *A. canelilla* da madeira – bruto (A) e frações B, C, D – e das folhas (E), e área percentual relativa dos picos nos cromatogramas (Fig. 22, 23, 24, 25, 26)

Pico nº	IR	Constituintes	A	B	C	D	E
1	1275	safrol	1,7	0,9	0,8	2,3	-
2	1307	1-nitro -2-feniletano	68,8	72,4	75,2	76,6	99,1
3	1358	eugenol	1,4	1,0	1,1	1,1	0,9
4	1409	metileugenol	28,1	25,7	22,9	20,0	-

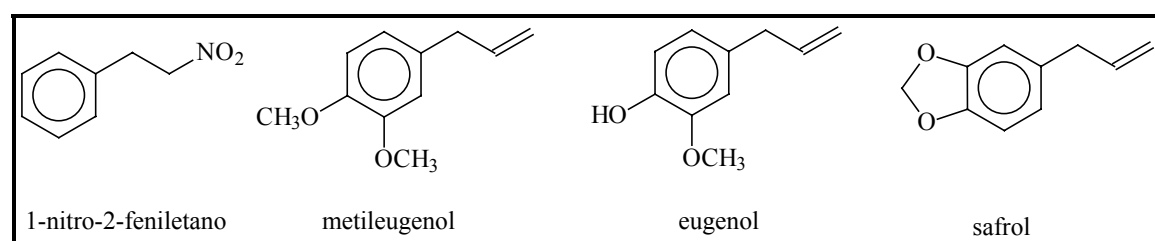


Fig. 28. Principais constituintes do óleo essencial da madeira de *A. canelilla*.

Os cromatogramas indicam quatro constituintes do o.e. de *A. canelilla*: 1-nitro-2-feniletano, metileugenol, eugenol e safrol.

O aroma de canela é dado pelo 1-nitro-2-feniletano, seu principal constituinte. Este composto é raro na natureza e foi o primeiro composto orgânico a ser isolado de planta que possui grupo nitro como única função.⁸⁰ Esse nitrocomposto é derivado da fenilalanina. Além da *A. canelilla* esse composto também é tido como principal fragrância nos frutos de *Dennettia tripetala*, nas flores de *Stephanotis floribunda* e na árvore *Ocotea pretiosa*.⁸¹

O metileugenol também é encontrado no o.e. de *Ocimum campechianum* MILL (alfavaca)⁸² e de *Laurus nobilis* L. (louro).⁸³

O eugenol é um fenilpropanóide formado a partir da redução da cadeia lateral do ácido cinâmico, é uma substância comum em óleos essenciais, como nas espécies: *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et L.M.Perry, *Ocimum campechianum* MILL (alfavaca) e *Eugenia caryophyllata* (cravo). É empregado em produtos de higiene oral, tem atividade anestésica local e atividade anti-séptica.⁸⁴

Safrol é um dos componentes de maior abundância dentre os óleos essenciais brasileiros ocorrendo no o.e. *Ocotea odorata* sassafrás⁸⁵, *Cinnamomum camphora* e em espécies de *Piper*⁸⁶. Esse derivado alil-benzênico oxigenado é usado como matéria-prima em síntese de fármacos.¹

Nossas experiências demonstraram que os quatro principais componentes do óleo essencial da madeira de *A. canelilla* se mantêm após os processos de destilação, redestilação e hidrodestilação, apresentando apenas variação da área percentual relativa de seus picos no cromatograma. Já no óleo essencial das folhas, apenas 1-nitro-2-feniletano e eugenol estão presentes. Com as análises de CG-EM pudemos confirmar os dados da literatura²⁴ sobre a composição química do o.e. de *A. canelilla*.

Considerando que o componente majoritário dos óleos das folhas e da madeira é o 1-nitro-2-feniletano, o o.e. das folhas é mais interessante, pois sua extração é menos predatória e ecologicamente correta.

5.2.1. Quantificação de 1-nitro-2-feniletano no óleo essencial de *A. canelilla*

O 1-nitro-2-feniletano é o componente de maior destaque nesse óleo, pois é o composto majoritário e é uma molécula rara em óleos essenciais. Visando isolar e quantificar essa substância foi realizada a quantificação da mesma nas amostras do o.e.: A, B, C, D e E (Tab. 7) usando cromatografia gasosa com detector de ionização de chama. A concentração do 1-nitro-2-feniletano em cada amostra está na Tabela 9.

Tab. 9. Concentração (%) de 1-nitro-2-feniletano (m/m) nos óleos essenciais de *A. canelilla*.

Amostra	A	B	C	D	E
% 1-nitro-2-feniletano	75,2	78,6	98,5	80,5	90,1

O resultado desse experimento mostra que o o.e. das folhas (E) apresenta maior concentração de 1-nitro-2-feniletano que o o.e. da madeira e suas frações, e que é possível elevar consideravelmente a concentração 1-nitro-2-feniletano no óleo essencial da madeira de *A. canelilla*, de 78,6 para 98,5 %, via redestilação.

5.2.2. Variação dos constituintes voláteis do óleo essencial da madeira de *A. canelilla* no processo de hidrodestilação

A amostra de óleo bruto trabalhada tinha cor marrom escuro, embora óleo essencial tenha cor castanho-amarelada, por isso, realizou-se uma hidrodestilação do óleo bruto para verificar se era possível uma purificação do mesmo. Dez frações foram retiradas durante a hidrodestilação do o.e. de *A. canelilla*. A fração 1 corresponde à alíquota retirada após 6 h e, as subsequentes, a cada 1 h e 30 min. A variação dos constituintes voláteis nessas frações de hidrodestilação pode ser observada na Tabela 10 e na Figura 29.

Tab. 10. Constituintes do óleo essencial hidrodestilado da madeira de *A. canelilla* e área percentual relativa dos picos no cromatograma

Constituintes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1-nitro-2-feniletano	73,0	70,6	84,7	79,0	83,8	76,4	80,5	68,7	61,5	43,5
metil eugenol	19,2	19,4	15,3	20,0	16,2	22,8	19,6	31,4	35,7	34,3
eugenol	1,5	1,4	0,8	1,1	0,7	0,9	-	-	-	-
safrol	3,7	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-

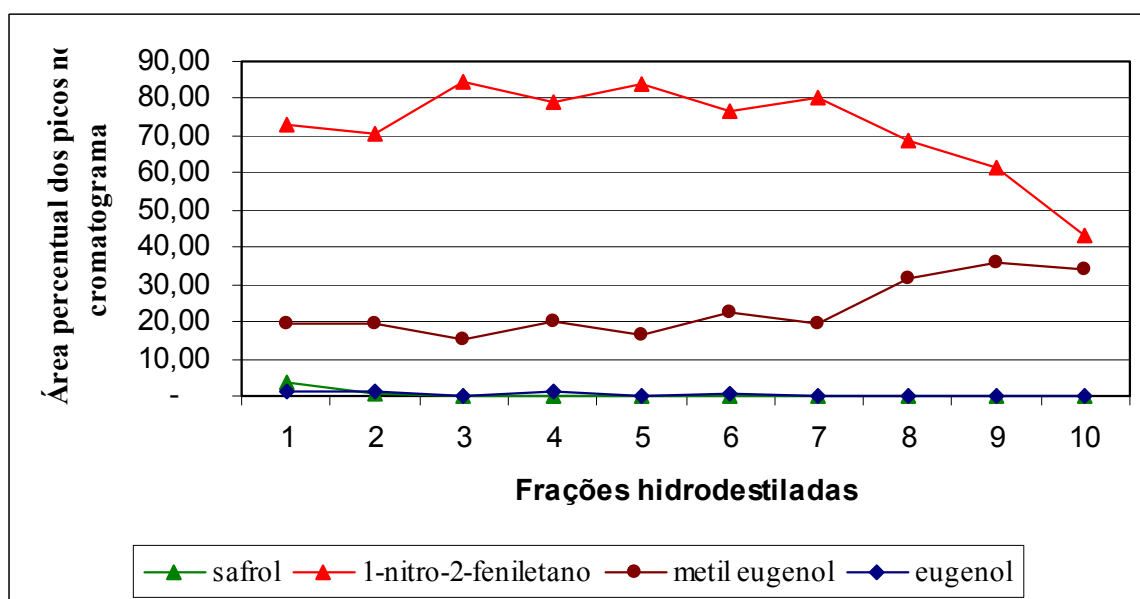


Fig. 29. Variação percentual dos principais componentes do óleo essencial de *A. canelilla* em frações hidrodestiladas.

Comparando o comportamento dos dois componentes majoritários do o.e. de *A. canelilla* observa-se que 1-nitro-2-feniletano possui maiores áreas percentuais relativas no cromatograma nas primeiras frações e que a partir da fração 8 nota-se uma significativa diminuição, enquanto o metileugenol apresenta comportamento inverso, a partir da fração 8 observa-se um incremento na composição química de sua extração. Eugenol está presente até a 6ª fração e não apresenta variação significativa. Safrol aparece apenas nas duas primeiras frações da hidrodestilação.

5.2.3. Isolamento de 1-nitro-2-feniletano e de metileugenol

Para o isolamento dos dois componentes majoritários do o.e. da madeira: 1-nitro-2-feniletano e metileugenol, o óleo essencial bruto da madeira de *A.*

canelilla passou por extração ácido – base, cromatografia em coluna, Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) e as respectivas frações analisadas por CCD, CG-EM, Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN de ^{13}C), como descrito no item 4.8.

A extração ácido-base (Fig. 15) normalmente permite a separação de ácidos orgânicos, bases orgânicas e compostos neutros. As frações foram avaliadas por CCD quando observamos uma mancha na fração de ácidos que não está presente nas demais frações. Essa substância é um componente minoritário, considerando que a fração de ácidos representa apenas 4 % em massa do óleo inicial. Essa extração não foi adequada para esse óleo, pois o 1-nitro-2-feniletano e o metileugenol estavam presentes em todas as frações, mas mostraram-se mais concentrados na fração de compostos neutros (que corresponde a cerca de 90 % da massa inicial do óleo). A fração de bases é responsável por 1 % da massa, dessa forma notamos que cerca de 5 % do óleo foi perdido durante o fracionamento. A análise de CG-EM confirmou que 1-nitro-2-feniletano e metileugenol são mais abundantes na fração de compostos neutros. Dessa forma, a mesma foi purificada em Cromatografia em coluna (Tab. 2) e as frações que concentraram esses dois componentes passaram por CCDP. O isolamento de 1-nitro-2-feniletano e metileugenol foi indicado pela análise das frações da CCDP por CG-EM e as substâncias caracterizadas por RMN de ^1H e ^{13}C .

O 1-nitro-2-feniletano também foi isolado do óleo essencial das folhas de *A. canelilla*. Como está presente em alta concentração nesse óleo – 90,1 % (Tab. 9), o mesmo foi submetido diretamente à CCDP. Para facilitar a identificação do 1-nitro-2-feniletano na CCD das frações da CCDP utilizou-se o padrão isolado do o.e. da madeira, que indicou que o 1-

nitro-2-feniletano foi realmente isolado. A fração correspondente ao composto isolado foi analisada por CG-EM, RMN de ^1H e ^{13}C . Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C para 1-nitro-2-feniletano⁸¹ e metileugenol⁸⁷ foram confirmados com a literatura.

5.3. Ensaio biológico com amostras de *Aeollanthus suaveolens* e *Aniba canelilla*.

A literatura descreve usos populares das espécies *A. suaveolens* e *A. canelilla* no combate a várias doenças (2.1 e 2.2). A atividade do o.e. de *A. suaveolens* frente aos microorganismos *S. setubal*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Cryptococcus neoformans* foi comprovada. O o.e. de *A. canelilla* teve sua atividade comprovada apenas contra *Candida albicans*. Por apresentar resultados positivos frente aos microorganismos citados, amostras de *A. suaveolens* e *A. canelilla*, descritas na Tabela 11, passaram por um ensaio biológico utilizando a técnica de difusão com discos para os microorganismos da Tabela 12 (como descrito em 4.15).

Tab. 11. Óleo essencial e extratos testados no ensaio biológico

Nº da Amostra	Amostra	Concentração (mg/mL)
1	O.e. hidrodestilado de <i>A. canelilla</i> – madeira	50
2	Extrato CH_2Cl_2 de <i>A. canelilla</i> – folhas	25
3	Extrato CH_2Cl_2 de <i>A. suaveolens</i>	50
4	Extrato CH_2Cl_2 do resíduo da extração com arraste a vapor de <i>A. suaveolens</i>	50

Para os testes realizados avaliados são considerados os melhores resultados as amostras nas quais são observados os maiores diâmetros de halo de inibição de crescimento. Dessa forma, observou-se que o óleo essencial de *A. canelilla* apresentou atividades antibacteriana e antifúngica para os seis primeiros microorganismos (halos entre 12 a 25 mm), sendo o melhor resultado frente a *Candida krusei* (halo maior que 25 mm). Os extratos diclorometano de *A. canelilla* e *A. suaveolens* apresentam apenas atividade frente a *Candida krusei* (halos maiores que 25 mm) como mostra a Tabela 12.

Tab. 12. Teste preliminar de atividade do o.e. e dos extratos realizado pela técnica de difusão com discos.

Microorganismo	Meio	Diâmetros de halo obtidos com os extratos (mm) (Tab. 11)			
		1	2	3	4
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	RPMI	18	0	0	0
<i>Candida albicans</i> ATCC 76615	RPMI	18	0	0	0
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258*	RPMI	> 25	>25	>25	>25
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	RPMI	25	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (S)	Mueller-Hinton	12	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (R)	Mueller-Hinton	15	0	0	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	Mueller-Hinton	0	0	0	0

* Cepa resistente ao antifúngico fluconazol.

 • Valores promissores

5.4. Constituintes voláteis do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* das folhas e da madeira

O óleo essencial das folhas de *A. rosaeodora* foi introduzido nesse trabalho devido a dados de análise anteriores feitas pelo nosso grupo de pesquisa que indicavam o mesmo como uma possível fonte de linalol e por apresentar a vantagem de ser ecologicamente viável, tendo em vista que para a obtenção do óleo da madeira é necessária a poda da árvore e para o óleo das folhas não. Dessa forma um estudo da composição química desses óleos foi feito para avaliar se o o.e. das folhas pode substituir o o.e. da madeira de *A. rosaeodora*.

Os óleos essenciais das folhas e da madeira de *A. rosaeodora* foram analisados por CG-EM e comparados com a literatura³³. O resultado da análise pode ser observado nas Figuras 30 (cromatograma do o.e. das folhas) e 31 (cromatograma do o.e. da madeira) e na Tabela 13 (constituintes majoritários). A Figura 32 mostra seus principais constituintes.

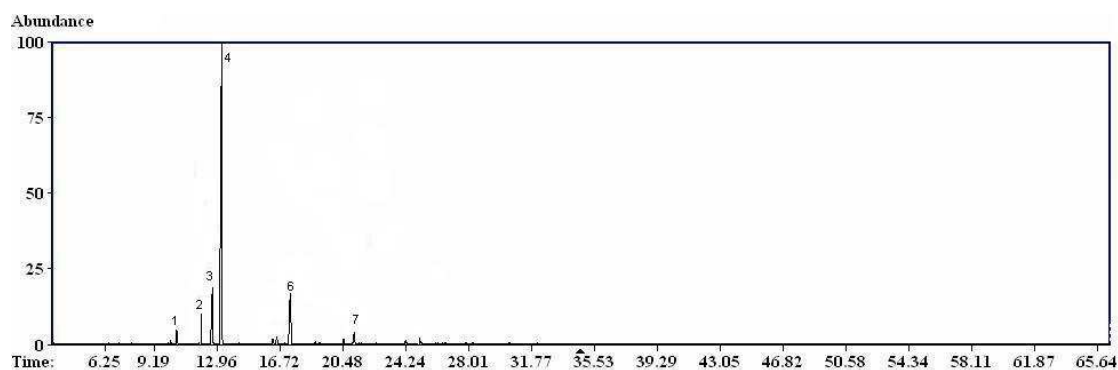


Fig. 30. Cromatograma do o. e. das folhas de *A. rosaeodora*

RESULTADOS E DISCUSSÃO

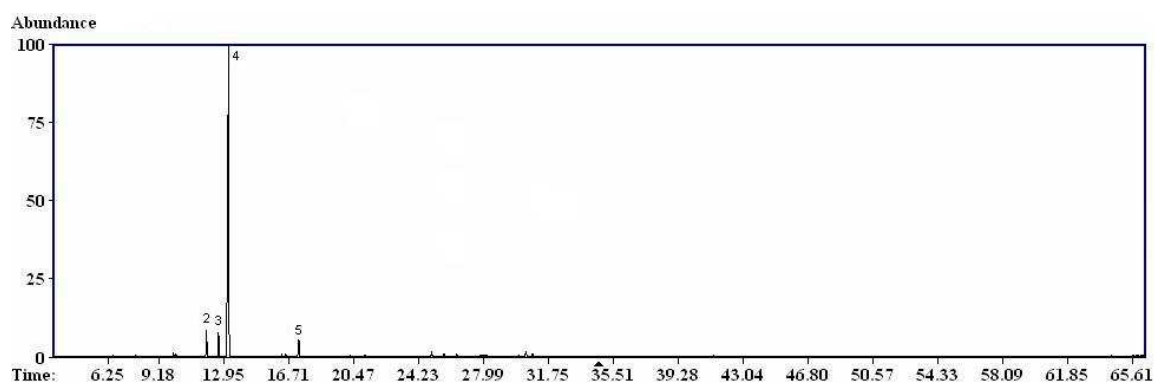


Fig. 31. Cromatograma do o. e. da madeira de *A. rosaeodora*

Tab. 13. Constituintes do óleo essencial da madeira e folhas de *A. rosaeodora* e área percentual relativa dos picos no cromatograma

N	IR	Constituintes	o.e. folha	o.e. madeira
1	1029	2(3H)-furanona	1,3	-
2	1072	cis-óxido de linalila	7,7	4,9
3	1083	trans- óxido de linalila	5,6	4,5
4	1091	linalol	77,5	86,5
5	1185	A-terpineol	-	4,1
6	1186	3,7-dimetil-1,5-octadien-3,7-diol	5,5	-
7	1274	3,7-dimetil-1,5-octadien-3,6-diol	2,2	-

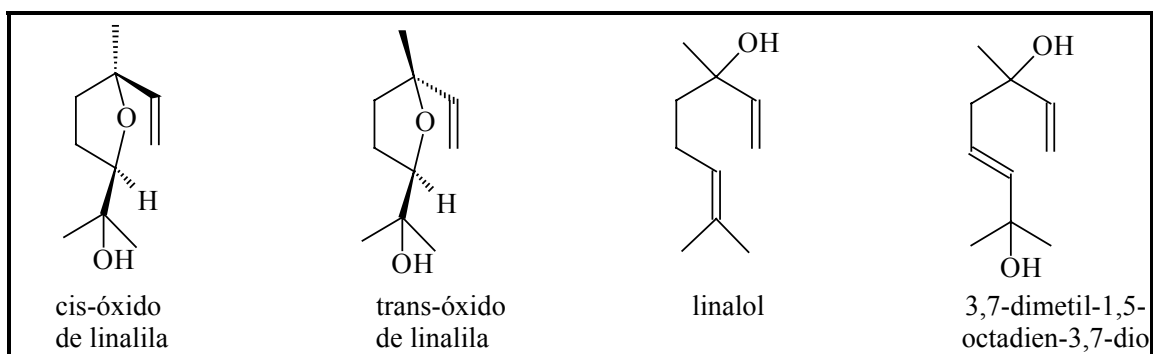


Fig. 32. Principais constituintes do óleo essencial de *A. rosaeodora*

Os dados da literatura³³ usados para comparação com os da nossa análise estão na Tabela 14. Os constituintes do o.e. das folhas que apresentam área relativa menor que 0,5 % no cromatograma foram excluídos dessa tabela.

Tab. 14. Constituintes do óleo essencial da madeira e folhas de *A. rosaeodora* e área percentual relativa dos picos no cromatograma³³

Constituinte	o.e. folha	o.e. madeira
α -pineno	0,97	0,14
cis-óxido de linalila	0,88	2,21
trans- óxido de linalila	1,19	2,43
linalol	81,45	85,00
α -copaeno	1,12	1,19
β -selineno	1,65	0,71
α -selineno	1,39	0,35
espatulenol	1,27	0,05

Os óleos essenciais das folhas e da madeira de *A. rosaeodora* são constituídos basicamente por monoterpenos oxigenados, sendo o linalol o

principal constituinte tanto no o.e. das folhas quanto no o.e. da madeira, esses dados são confirmados pela literatura³³. O componente 3,7-dimetil-1,5-octadien-3,7-diol, que difere do linalol por uma apresentar uma hidroxila a mais, é a maior diferença entre os dados obtidos na análise do o.e. das folhas e os dados da referência. Isso porque esse componente não aparece na referência citada e apresenta significativa área percentual relativa dos picos no cromatograma da nossa análise (Tab. 13).

5.5. Constituintes voláteis do óleo essencial de *Lippia alba*

O óleo essencial das folhas de *L. alba* foi analisado por CG-EM e seus constituintes comparados com os encontrados na literatura. Para essa comparação utilizaram-se duas referências. A primeira³⁶ apresenta a composição: linalol (69,3 %), 1,8 cineol + limoneno (4,6 %), germacreno D (4,2 %), SS- cariofileno (3,6 %) e germacreno D-4-ol (2,7 %). A segunda referência³⁷ apresenta a composição: linalol (78,9 %), 1,8 cineol (6,5 %), germacreno – D (3,5 %), β - cariofileno (2,7 %) e α - terpineol (2 %).

Nosso resultado é mostrado na Figura 33 e na Tabela 15 que indicam a composição do o.e. de *L. alba*, e a Figura 34, as estruturas dos principais constituintes.

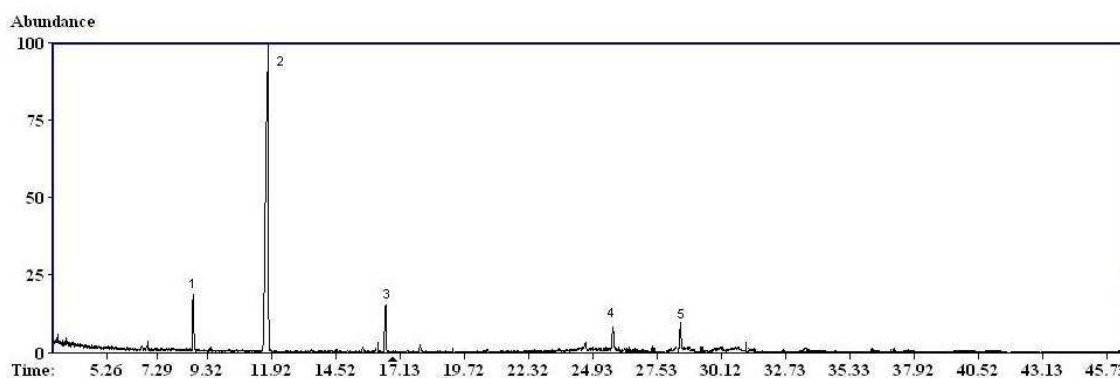


Fig. 33. Cromatograma do o. e. de *L. alba*

Tab. 15. Constituintes do óleo essencial de *L. alba* e área percentual relativa dos picos no cromatograma

Nº	IR	Constituintes	Área % relativa
1	1030	1,8-cineol	5,3
2	1090	linalol	83,4
3	1232	pulegona	5,2
4	1423	β -cariofileno	2,6
5	1484	germacreno-d	3,5

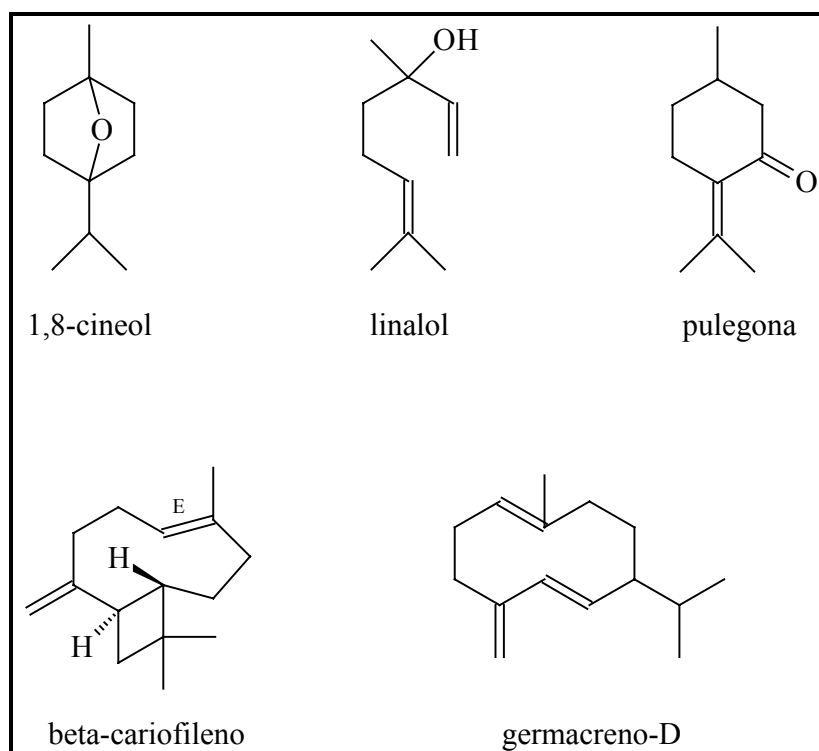


Fig. 34. Principais constituintes do óleo essencial de *L. alba*

Nossa análise identificou três monoterpenos e dois sesquiterpenos, comparando o resultado dessa análise com as referências citadas a cima (^{36,37}), confirmamos a presença dos compostos majoritários: linalol, 1,8-cineol, germacreno-D e β -cariofileno.

O único composto presente no o.e. analisado por nós que difere dos das referências (^{36,37}) é a pulegona. Não encontramos em nossa análise os compostos limoneno³², germacreno D-4-ol³⁶ e α -terpineol (2 %).³⁷

5.5.1. Variação sazonal de linalol no óleo essencial de *Lippia alba*

Considerando a *Lippia alba* como um possível substituinte de *A. rosaeodora*, devido à concentração de linalol no seu óleo essencial, um estudo de sazonalidade foi feito para verificar se há uma época do ano em que a *L. alba* produz mais óleo essencial, bem como maior quantidade de linalol.

Os óleos essenciais das folhas de *L. alba* obtidos por hidrodestilação foram analisados por CG-EM e os resultados estão na Tabela 16.

Tab. 16. Análise comparativa de linalol em diferentes amostras de *L. alba*.

Coleta	Data da coleta	Rendimento da extração do óleo	Observações	Área relativa (%) - linalol
1 ^a	08/09/05	0,32 %	Planta sem flores	75
2 ^a	10/10/05	0,76 %	Planta com flores	0
3 ^a	12/12/05	0,45 %	Planta com poucas flores	83
4 ^a	11/01/06	0,35 %	Planta sem flores	49
5 ^a	13/03/06	0,32 %	Planta sem flores	82
6 ^a	18/04/06	0,33 %	Planta sem flores	45

Analisando o rendimento das extrações do o.e. das folhas de *L. alba* observa-se que nas coletas em que a planta apresentava flores o rendimento

da extração foi maior. Nas coletas de amostras das flores quando a planta estava sem flores (1^a, 4^a, 5^a e 6^a) houve pouca variação: de 0,32 a 0,35 %. Quando a planta apresentava poucas flores (3^a) seu rendimento (0,45 %) chegou próximo daquele do período em que a planta estava sem flores e na 2^a coleta da planta, quando com flores o rendimento (0,76 %) ficou acima do dobro do período em que estava sem flores. Adicionalmente, nessa coleta o linalol não estava presente no óleo essencial.

5.6. Constituintes voláteis do óleo essencial de *Ocimum basilicum*

O óleo essencial de *O. basilicum* foi analisado por CG-EM e seus constituintes comparados com os encontrados na literatura.^{51,88} O resultado encontrado está na Figura 35 (cromatograma) e Tabela 17 (composição química). A Figura 36 mostra seus principais constituintes.

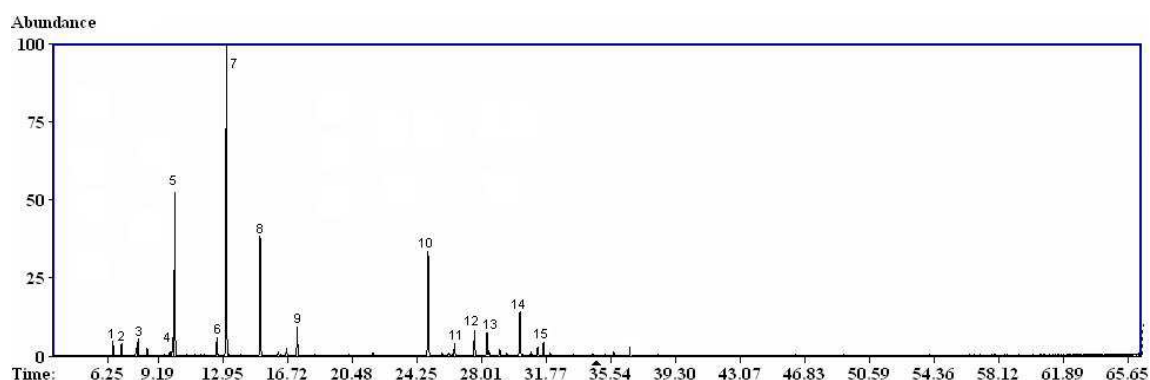


Fig. 35. Cromatograma do o. e. de *O. basilicum*

Tab. 17. Constituintes do óleo essencial de *O. basilicum* e área percentual relativa dos picos no cromatograma

Nº	IR	Constituintes	Área % relativa
1	937	α -pineno	1,3
2	949	canfeno	0,9
3	975	β -pineno	1,5
4	1031	limoneno	1,6
5	1030	1,8-cineol	14,8
6	1077	fenchona	1,8
7	1090	linalol	33,8
8	1135	canfora	13,1
9	1185	propionato de linalila	3,2
10	1391	isoeugenol	11,8
11	1396	β -elemeno	1,3
12	1423	β -cariofileno	2,8
13	1440	Z- β -farneseno	2,6
14	1484	germacreno-D	4,9
15	1516	calareno	1,9

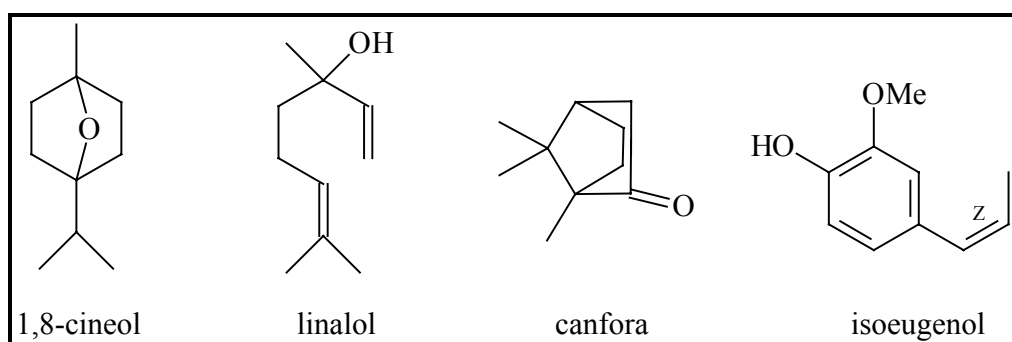


Fig. 36. Principais constituintes do óleo essencial de *O. basilicum*

A nossa análise do óleo essencial de *O. basilicum* confirmou que o linalol é o constituinte majoritário, principal motivo da sugestão de autores para que esse óleo seja um substituto do o.e. da madeira de *A. rosaeodora*.

Além do linalol, outros constituintes do óleo essencial de *O. basilicum* analisado, 1,8-cineol e cariofileno, foram confirmados pela literatura^{53,88}, porém o isoeugenol, que apresenta significativa área relativa no cromatograma (11,8 %), e outros compostos de menores contribuições não são encontrados na literatura.

5.7. Análise comparativa de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum*

A análise comparativa dos óleos essenciais das folhas e da madeira de *A. rosaeodora*, das folhas de *L. alba* e das folhas de *O. basilicum* foi realizada para avaliar as possibilidades de substituição do o.e. da madeira de *A. rosaeodora* pelos óleos essenciais mencionados a cima, citadas na literatura^{27,28}.

5.7.1 Constituintes voláteis de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum* extraídos por Microextração em Fase Sólida.

Além de analisar os óleos essenciais de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum* extraídos por arraste a vapor e hidrodestilação, analisamos por CG-EM os constituintes voláteis de diferentes amostras dessas plantas extraídos por Microextração em Fase Sólida em espaço confinado (HS-SPME).

As condições de análise estão descritas em 4.17 e as amostras analisadas foram:

- Amostra 1: Flores de *Lippia alba*
- Amostra 2: Óleo essencial de folhas de *Lippia alba* (A)
- Amostra 3: Óleo essencial de folhas de *Lippia alba* (B)
- Amostra 4: Óleo essencial de folhas de *Aniba rosaeodora*
- Amostra 5: Óleo essencial de madeira de *Aniba rosaeodora*
- Amostra 6: Óleo essencial de folhas de *Ocimum basilicum*

Os principais constituintes das amostras extraídos por *HS-SPME* estão na Tabela 18.

Observamos que *HS-SPME* é uma técnica de extração que fornece informações complementares aos resultados da injeção do o.e. em CG-EM, para identificação dos constituintes de óleos essenciais. Isso porque essa técnica concentra os analitos que possuem maior volatilidade e afinidade pela fibra, fazendo com que compostos voláteis presentes em pequenas quantidades não detectáveis por métodos convencionais, sejam detectados. Nesse experimento usamos uma fibra de PDMS que é apolar, dessa forma concentramos analitos apolares. Podemos exemplificar esse resultado através de uma comparação da injeção do o.e. de *O. basilicum* com a análise feita a partir de *HS-SPME*. A Tabela 19 mostra esses dados.

Tab. 18. Constituintes voláteis de amostras de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum* analisados por *HS-SPME-CG* EM e área percentual relativa dos picos no cromatograma

Constituinte	IR	1	2	3	4	5	6
cis-hexen-3-ol	867	-	2,4	0,8	-	-	-
α -pineno	937	-	-	0,4	0,3	3,0	9,6
canfeno	948	-	-	-	-	-	6,0
sabineno	968	4,9	-	9,3	-	-	8,0
β -pineno	973	-	-	-	-	2,8	3,4
mirreno	984	-	-	4,2	-	-	5,4
α -terpineno	1019	-	-	0,4	-	-	0,8
limoneno	1022	-	-	-	2,3	7,2	-
1,8-cineol	1028	25,5	21,2	14,1	1,8	-	26,7
trans- β -ocimeno	1041	-	-	8,0	-	-	1,6
γ -terpineno	1052	-	-	0,3	-	-	1,1
cis-óxido de linalila	1063	-	17,4	-	28,2	-	-
p-cimeno	1080	-	1,8	-	-	-	-
linalol	1089	54,3	39,7	46,9	60,8	77,6	18,4
cânfora	1136	-	-	-	-	-	9,2
α -terpineol	1179	-	-	0,4	0,7	2,9	1,9
geranial	1261	-	-	0,9	-	-	-
z-citral	1301	-	-	0,8	-	-	-
eugenol	1353	-	-	-	-	-	0,6
α -copaeno	1371	-	-	-	-	1,2	-
β -elemeno	1389	-	-	0,9	-	0,6	-
α -gurjuneno	1406	-	-	-	-	-	-
β -cariofileno	1419	-	-	2,7	-	-	-
γ -elemeno	1428	-	-	0,3	-	-	-
germacreno-D	1488	3,2	-	1,9	-	-	0,4
Total		87,9	82,5	92,3	94,1	99,0	93,1

Tab. 19. Comparação dos constituintes do o.e. de *O. basilicum* por injeção do o.e. e por *HS-SPME*

Constituintes	Injeção por <i>HS-SPME</i>	Injeção direta do o.e.
α -pineno	9,6	1,3
canfeno	6,0	0,9
sabineno	8,0	-
β -pineno	3,4	1,5
mirceno	5,4	-
α -terpineno	0,8	-
limoneno	-	1,6
1,8-cineol	26,7	14,8
trans- β -ocimeno	1,6	-
γ -terpineno	1,1	-
fenchona	-	1,8
linalol	18,4	33,8
cânfora	9,2	13,1
α -terpineol	1,9	-
propionato de linalila	-	3,2
eugenol	0,6	-
isoeugenol	-	11,8
β -elemeno	-	1,3
β -cariofileno	-	2,8
Z- β -farneseno	-	2,6
germacreno-D	0,4	4,9
calareno	-	1,9

Observamos que os compostos α -pineno, canfeno, β -pineno que são mais apolares e voláteis apresentaram maior área percentual relativa no cromatograma na análise por *HS-SPME-CG-EM*, enquanto compostos mais polares, como o linalol, tiveram menor área percentual relativa nessa análise. Além da volatilidade e polaridade dos compostos, um outro fator a ser considerado é a sua concentração no o.e., fato que explica a presença de alguns compostos apenas na análise de *HS-SPME* (por exemplo sabineno) e ausência de outros (por exemplo β -elemeno).

5.7.2. Avaliação dos enantiômeros de linalol nos óleos essenciais de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum*

Realizamos um estudo da quiralidade do linalol presente nos o.e. de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum* (ANEXO B). A Tabela 20 indica a variação de enantiômeros do linalol nesses óleos e a Figura 37 os enantiômeros.

Tab. 20. Enantiômeros do linalol nos o.e. de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum*

Óleo essencial	(-) Linalol %	(+) Linalol %
<i>L. alba</i> (A)	-	100
<i>L. alba</i> (B)	-	100
<i>A. rosaeodora</i> folhas	20	80
<i>A. rosaeodora</i> madeira	40	60
<i>O. basilicum</i>	100	-

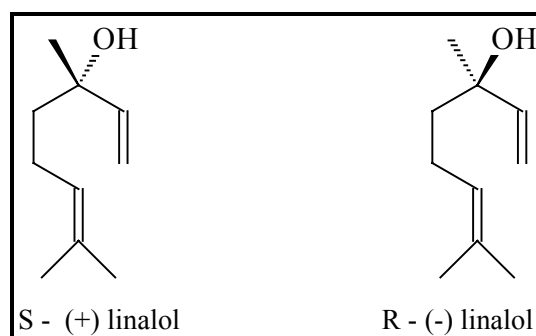


Fig. 37. Enantiômeros do linalol

Com a análise dos o.e. de *A. rosaeodora*, *L. alba* e *O. basilicum* por CG-EM em coluna quiral, descrito em 4.18, observamos que o o.e. das amostras de *L. alba* (A e B) só possuem o (+) linalol, confirmando o que foi citado na literatura³⁹, enquanto o o.e. de *O. basilicum* apresenta apenas o (-) linalol. A análise olfativa dos enantiômeros do linalol mostra que eles são significativamente diferentes, o (-) linalol é descrito como amadeirado, floral, lavanda, notas frescas enquanto o (+) linalol como doce, cítrico e herbáceos.³³ Nas amostras dos o.e. de *A. rosaeodora* observamos uma combinação de (-) linalol e (+) linalol, na proporção 2:8 nas folhas e 4:6 na madeira. Dessa forma, concluímos que o odor do óleo das folhas de *A. rosaeodora* se aproxima mais do odor do o.e. da madeira que os demais o.e. analisados neste trabalho, por apresentar uma combinação dos enantiômeros, mesmo que numa proporção diferente.

5.7.3. Análise dos óleos essenciais de *L. alba*, *O. basilicum* e das folhas de *A. rosaeodora* comparando com o óleo essencial da madeira de *A. rosaeodora*

A espécie *A. rosaeodora*, produtora do o.e. comercial, chamado de óleo de pau-rosa (*rosewood oil*), está em perigo de extinção. Diversos autores preocupados com a destruição e quase erradicação da espécie têm apontado caminhos para uma possível substituição do óleo essencial. Nosso grupo de pesquisa analisou^{33, 89} fontes alternativas para o linalol oriunda das folhas de *A. rosaeodora*. Os o.e. de *L. alba* e *O. basilicum* são citados na literatura como possíveis substitutos do o.e. da madeira de *A. rosaeodora* por apresentar altas concentrações de linalol, 60 %³⁹ e 31 %³¹ respectivamente, e pela facilidade de cultivo dessas duas plantas. Sendo assim, esse trabalho avalia a viabilidade dessa substituição.

A análise sensorial da fragrância dos óleos essenciais leva em consideração três fatores: a composição enantiomérica do linalol, a concentração de linalol nos óleos essenciais e as substâncias minoritárias presentes nos óleos. Estes fatores dão às fragrâncias uma complexidade que as fazem únicas.

Utilizando uma coluna quiral constatamos que o óleo essencial da madeira de *A. rosaeodora* possui uma mistura dos enantiômeros de linalol na proporção de, aproximadamente, 40 % do (-) linalol e 60 % do (+) linalol (Tab. 20).

A análise do óleo essencial de *L. alba* mostrou que além de apresentar somente o enantiômero (+) linalol, este possui substâncias minoritárias que influenciam na sua fragrância, como por exemplo o 1,8-

cineol que apresenta um odor característico de cânfora. Considerando os critérios descritos acima podemos dizer que o óleo essencial de *L. alba* não poderia substituir o óleo essencial da madeira de *A. rosaeodora*.

Já na análise do óleo essencial de *O. basilicum* observa-se somente o enantiômeros levógiro (-) linalol. Além disso, a presença de outras substâncias tais como eugenol (cravo), germacreno-D, 1,8 cineol e cânfora, confere ao óleo um caráter olfativo medicamentoso, muito diferente da fragrância do o.e. de *A. rosaeodora*. Dessa forma podemos dizer que o óleo de *O. basilicum* também não poderia substituir o óleo da madeira de *A. rosaeodora*.

Na análise quiral do óleo essencial das folhas de *A. rosaeodora* observa-se que, assim como no óleo da madeira, existe uma composição dos enantiômeros, mas neste caso ela é de 20 % para o (-) linalol e 80 % para (+) linalol em média. Através desse estudo conclui-se que como o o.e. das folhas de *A. rosaeodora* possui o perfil muito mais semelhante ao do o.e. da madeira, esse óleo torna-se a fonte mais promissora para a sua substituição ou uso equivalente.

6. CONCLUSÕES

- ✓ Caracterizamos quimicamente por CG-MS os óleos essenciais das espécies *Aeollanthus suaveolens*, *Aniba canelilla*, *Aniba rosaeodora*, *Lippia alba* e *Ocimum basilicum*.
- ✓ Comparando as técnica de *HS-SPME* com a injeção direta de o.e. observamos que *HS-SPME* não apresenta o mesmo sinal da injeção de o.e. e apesar de ser mais rápida e prática, essa técnica é menos representativa por usar menor quantidade de amostra.
- ✓ Consideramos a técnica de extração *HS-SPME* complementar a injeção do o.e. em CG-EM para identificação dos componentes de óleos essenciais.
- ✓ Isolamos o metileugenol do óleo essencial da madeira de *A. canelilla* e 1-nitro-2-feniletano do óleo essencial da madeira e das folhas.
- ✓ Isolamos a massóia lactona a partir do extrato hexânico de *A. suaveolens*.
- ✓ Obtivemos a massóia lactona a partir da δ -decalactona através de uma eliminação α,β a carbonila, por uma rota diferente da literatura.
- ✓ Considerando a análise sensorial, composição de enantiômeros de linalol e substâncias minoritárias concluimos que os óleos de *L. alba* e *O. basilicum* não são adequados para substituição do o.e. da madeira e *A. rosaeodora*. Dentre os óleos estudados a opção mais promissora é óleo essencial das folhas de *A. rosaeodora*.
- ✓ Os ensaios biológicos mostraram que o óleo essencial da madeira de *A. canelilla* apresentou atividades frente aos microorganismos *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*,

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus hominis*, enquanto os extratos diclorometânicos de *A. canelilla* e *A. suaveolens* apresentam apenas atividade frente a *Candida krusei*.

- ✓ O estudo sazonal de *L. alba* mostrou que a área percentual relativa de linalol variou significativamente e o rendimento do óleo essencial das folhas é maior no período em que a planta apresenta flores, porém nessa coleta o linalol não estava presente. Esse fato não pôde ser confirmado porque o indivíduo de *L. alba* estudado não floresceu depois dessa análise.

7. REFERÊNCIAS

1. GARCIA, E. S.; SILVA, A. C. P.; GILBERT, B.; CORRÊA, C. B. V.; CAVALHEIRO, M. V. S.; SANTOS, R. R.; TOMASINI, T. Fitoterápicos. Campinas: André Tosello, 17, 1996.
2. NISBET, L. J.; MOORE, M. Will natural products remain an important source of drug research for the future? *Current Opinion in Biotechnology*, 708-712, 1997.
3. SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia da planta ao medicamento. 5ª edição. Editora da UFSC, 2003.
4. Disponível em: <acon.com.br/siteabihpec/dadosdomercado_dados_mercado.php>. Acesso em 20 jan. 2007.
5. BARATA, L. E. S.; QUADROS, C. R. New essential oils from Brazilian biodiversity: Science and Markets. The rosewood experiment, Centifolia, 6th Int. Congress on Perfumery and Natural raw material, França, 2006.
6. CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L. D. Aromas, insetos e plantas. *Ciência Hoje*, v.4 (23), 54-63, 1986.
7. HARBONE, J. B. Introduction to Ecological biochemistry. 4.ed. London: Academic, 1993.
8. Estudo de mercado de matéria-prima: corantes naturais (cosméticos, indústria de alimentos), conservantes e aromatizantes, bio-inseticidas e óleos vegetais e essenciais (cosméticos e oleoquímica). Disponível em: <<http://www.genamaz.org.br/estudocosmetico01.html>> Acesso em: 25 set. 2006.
9. Disponível em: <www.bccresearch.com/editors/RB-191.html> Acesso em: 15 out. 2005.
10. OLIVEIRA, A. S. C.; COSTA, L. M. L.; ZOGHBI, M. G. B.; CONCEIÇÃO, C. C. C.; MOTA, M. G. C. Rendimentos dos principais componentes químicos do óleo essencial de *Aeollanthus suaveolens* (Mart ex K. Spreng) em diferentes partes vegetativas. In: XVIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, p.513, 16 a 19 de novembro, Manaus - AM, 2004.
11. TUCKER, A. O.; MACIARELLO, M. J.; ALKIRE, B. H. Essential oil of *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng. (Lamiaceae). *J. Essent. Oil Res.*, v. 13, 198-199, 2001.

12. MAIA, J. G. S.; ZOHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A. Essential oils of *Aeollanthus suaveolens* Mart.ex Spreng. *J. Essent. Oil Res.*, v. 15, 86-87, 2003.
13. SILVA, U. F.; SIMIONATTO, E.; PORTO, C.; STUKER, C. Z.; DALCOL, I. I.; MOREL A. F. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de *Aeollanthus suaveolens*. In: XVIII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, p.226, 16 a 19 de novembro, Manaus - AM, 2004.
14. COELHO, G. P. S.; GAIESK, F.; ELISABETSKY, E. Avaliação da atividade anticonvulsivante de lactonas do óleo essencial de *Aeollanthus suaveolens* Mart ex Spreng. In: XIV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, p.120, 17 a 20 de setembro, Florianópolis - SC, 1996.
15. SOUZA, G. P. C.; ELISABETSKY, E.; NUNES, D. S.; RABELO, S. K. L.; SILVA, M. N. Anticonvulsant properties of γ - decalactona in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 58, 175-181, 1997.
16. LOTUFO, L. V. C.; LUCENA, D. F.; ANDRADE NETO, M.; BEZERRA, J. N. S.; LEAL, L. K. A. M.; SOUSA, F. C. F; VIANA, G. S. B. Analgesic, antiinflammatory and central depressor effects of the hydroalcoholic extract and fractions from *Aeollanthus suaveolens*. *Biol. Pharm. Bull.*, v. 27 (6) 821-824, 2004.
17. MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. Medicinal plants of Brazil. Estados Unidos. Reference Publications, 2000.
18. MAIA, J. G. S.; ZOHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A. Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais. Museu Paraense Emílio Goeldi. Belém, 2000.
19. SILVA, M.F. Nomes vulgares de plantas amazônicas. INPA, Manaus, 1977.
20. TAYLOR, I. Rosewood (*Aniba canelilla*, *Aniba roseadora* *Technical Report*). Raintree Nutr., 1969.Inc.Disponível em: <<http://www.raintree.com/rosewood.htm>> Acesso em: 12 dez 2005.
21. MORS, W. B; RIZZINI, C. T. Botânica econômica brasileira. Âmbito Cultural, 1995.
22. MAIA, J. G. S.; TAVEIRA, F. S. N.; ZOHBI, M. G. B.; SANTOS, A. S.; LUZ, A. I. R. Óleo essencial de casca-preciosa. XIV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, p.197, 17 a 20 de setembro, Florianópolis - SC, 1996.
23. LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Mediciniais no Brasil. Nova Odessa, SP. Instituto Plantarum, 2002.

24. GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Essential oil of the bark and the wood of *Aniba canelilla*. *Bol. Inst. Quim. Agr.*, 60, 17-20, 1960.
25. TAVEIRA, F. S. N.; LIMA, W. M.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Seasonal essential oil variation of *Aniba canelilla*. *Biochem. Syst. Ecol.* v.31 (1), 69-75, 2003.
26. OGER, J. M.; DUVAL, O.; RICHOMME, P.; BRUNETON, J.; GUINAUDEAU, H. (R)- (+)- Noranicanine a new type of trioxxygenated benzyloquinoline isolation and synthesis. *Heterocycles*, v.34, n.1, 17-20, 1992.
27. CHAPMAN & HALL. Versão 7.2, 1982 - 2004.
28. OGER, J. M., FARDEAU, A.; RICHOMME, P.; GUINAUDEAU, H.; FOURNET, A. Novel isoquinoline alkaloids from bolivian laureaceae: *Aniba canelilla* H. B. K. *Can. J. Chem.*, 71(8), 1128-11353, 1994.
29. MAIA, J. G. S.; SOUZA, P. J. C; FONTES JÚNIOR, E. A.; SANTOS, A. M. S. Volatile compounds and antispasmodic activity of the stem bark oil of *Aniba canelilla*. XII Congresso Ítalo-Latino-Americano de Etnomedicina “Nuno Álvares Pereira”, p.273. Rio de Janeiro, 2003.
30. OGER, J. M.; RICHOMME, P.; GUINAUDEAU, H.; BOUCHARA, J. P.; FOURNET, A. *Aniba canelilla* (H. B. K) Mez essential oil: analysis of chemical constituents, fungistatic properties. *J. Essent. Oil Res.*, v. 6(5), 493-497, 1994.
31. ERENO, D. Perfume de manjeriçao. Revista FAPESP. Fev. 2006. Disponível em: <[http://www.fapesp.Br/materia.php?data\[id_materia\]=2267](http://www.fapesp.Br/materia.php?data[id_materia]=2267)> Acesso em 15mar. 2006.
32. MAIA, N. B., BOVI, O. A.; PERECIN, M. B.; MARQUES, M. O. M.; GRANJA, N. P. News crops with potential to produce essential oil with high linalool content helping preserved rosewood – an endangered amazon species. *Acta Hort.* 629, 2004.
33. ZELLNER, B. D`A.; PRESTI, M. L.; BARATA, L. E. S.; DUGO, P.; DUGO, G.; MONDELLO, L. Evaluation of leaf-derived extracts as an environmentally sustainable source of essential oils by using gas chromatography – mass spectrometry and enantioselective gas chromatography – olfactometry. *Anal. Chem.* 78, 883-890, 2006.
34. GLIBERT, B.; FERREIRA, J. L. P.; ALVES, L. F. Monografias de plantas medicinais brasileiras e aclimadas. Curitiba: Abifito, 2005.

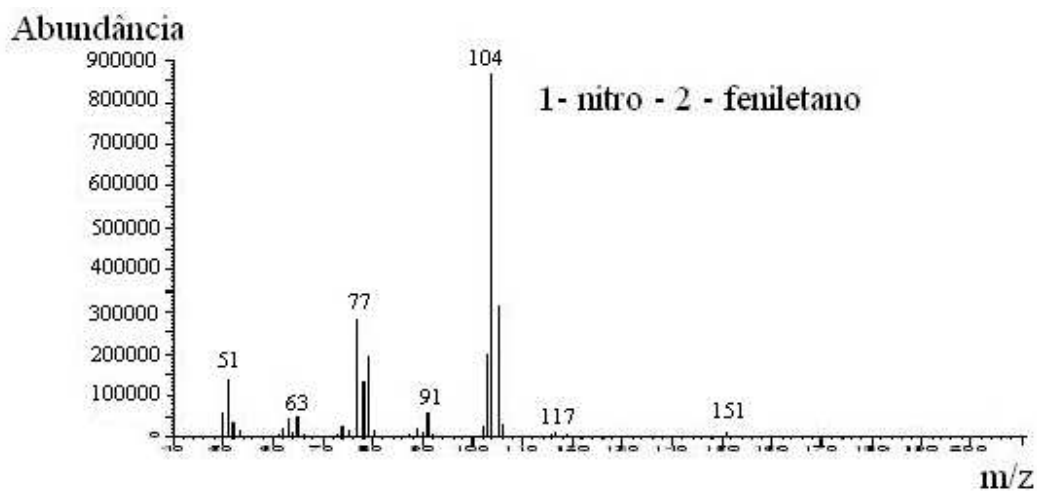
35. TAVARES, E. S.; JULIÃO, L. S.; LOPES, D.; BIZZO, H. R.; LAGE, C. L. S.; LEITÃO, S. G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. *Brazilian Journal of Pharmacology*, 15(1), 1-5, 2005.
36. MALLAVARAPU, G. R.; BAHL, J. R.; BANSAL, R. P.; GARG, S. N.; RAMESH, S.; KUMAR, S. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*. 22 (1B), 765-767. 2000.
37. FRIGHETTO, N.; DE OLIVEIRA, J. G.; SIANI, A. C.; DAS CHAGAS, K. C. *Lippia alba* Mill N. E. Br. (Verbenaceae) as a source of linalool . *J. Essent. Oil Res.*, 10(5), 578-580, 1998.
38. SIANI, A. C.; TAPPIN, M. R. R.; RAMOS, M. F. S.; MAZZEL, J. L.; RAMOS, M. C. K. V.; AQUINO NETO, F. R.; FRIGHETTO, N. Linalool from *Lippia alba*: Study of the reproducibility of the essential oil profile and the enantiomeric purity. *J. Agric. Food Chem.*, v. 50, n. 12, 3518-3521, 2002.
39. HUMBERTO, R.; LAGE, CELSO L. S.; LEITÃO, SUZANA G. Kinetin enhanced linalool production by in vitro plantlets of *Lippia alba*. *J. Essent. Oil Res.*, v. 16 (5), 405-408, 2004.
40. MOLICA, J. Apenas duas gotas de erva-cidreira. *Ciência Hoje On-line*. nov.2005. Disponível em: <<http://www.ciencia.org.br>> Acesso em 28 dez 2005.
41. SING, S. P.; RAO, G. P.; UPADHYAYA, P. P.. Fungitoxicity of essential oils of some aromatic plants against sugarcane pathogens. *Sugar Cane*. 2, 14-17, 1998
42. ALEA, J. A. P.; LUIS, A. G. O.; PÉREZ, A. R.; JORGE M. R.; BALUJA, R. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) n. e. Brown. *Rev Cubana Farm* v.30, n.1, 1996.
43. VERMA, N.; TRIPATHI, A. K.; PRAJAPATI, V.; BAHAL, J. R.; BANSAL, R. P.; KHANUJA, S. P. S.; KUMAR, S. et al.. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*. 22/4A-23/1A, 117-119, 2001.
44. RUSSO, S.; BADO, S. G.; CLEMENTE, S. Actividad insecticida de compuestos de origen vegetal. Suplemento *Campo y Familia*. jan. 2005. Disponível em: <<http://www.laopinion-rafaela.com.ar/opinion/2005/01/06/p510607.htm>> Acesso em: 14 jun 2005

45. SOUZA, S. A. M. Biotestes na avaliação de fitotoxicidade de extratos aquosos de plantas medicinais nativas do Rio Grande do Sul, Monografia, Universidade Federal do Pará, 2005.
46. HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ D. A. G.; NAKAMURA C. V.; DIAS FILHO B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 97(7), 1027-1031, 2002.
47. FRÖHNER, C. R. A.; SINCERO, T. C. M.; SILVA, A. C.; SAVI, L. A.; GAIDO, C. M.; BETTEGA, J. M. R.; MANCINI, M.; ALMEIDA, M. T. R.; BARBOSA, R. A.; FARIAS, M. R.; BARARDI, C. R. M.; SIMÕES, C. M. O. Antiviral evaluation of plants from Brazilian atlantic tropical forest. *Fitoterapia* 76, 374-378, 2005.
48. PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; VILLAR, Á. Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown (Verbenaceae). *II Farmaco*. 56, 501-504, 2001.
49. ZETOLA, M.; LIMA, T. C. M.; SONAGLIO, D.; GONZALEZ, O. G.; LIMBERGER, R. P.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. CNS activities of liquid and spray-dried extracts from *Lippia alba*-Verbenaceae (Brazilian false melissa). *J. Ethnopharm.* 82 (2-3), 207-15, 2002.
50. SUGIMOTO, M.; HIRAYAMA, Y.; HAKAMADA, Y. Natural antioxidants obtained from plants. JP 11050050, 06 ago. de 1997, 23 fev. 1999.
51. FERNANDES, P. C.; FACANALI, R.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; MARQUES, M. O. M. Cultivo de manjerição em hidroponia e em diferentes substratos sob ambiente protegido. *Hortic. Bras.*, v.22 (2), Brasília, 2004.
52. Dados fornecidos pelo Dr. Nilson Maia do Instituto Agrônômico de Campinas, 2007.
53. LAWRENCE, B.M, *Perf. & Flav.*, 14, 45-51, 1989.
54. WORWOOD, V. A. *The Fragrant Pharmacy*. Toronto: Bantam Books, 1990.
55. DAVIS, P. *Aromatherapy: A-Z*. United Kingdom: Saffron Walden, 1988.
56. TISSERAND, R.; BALACS, T. *Essential Oil Safety*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1995.

57. TELCI, I.; BAYRAM, E.; YILMAZ, G.; AVCI, B. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum L.*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34 (6), 489-497, 2006.
58. CHANG, X.; ALDERSON, P. G.; WRIGHT, C. J. Effect of temperature integration on the growth and volatile oil content of basil (*Ocimum basilicum L.*). *J. Hort. Sci.*, 80 (5), 593-598, 2005.
59. ARAGO, P. V. F.; PAULA, J. P.; BITTENCOURT, J. M.; ZARPELLON, V.; CHECCHIA, L. E. A. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de *Ocimum selloibenth* (LAMIACEAE). Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde, Ponta Grossa, 10 (3/4): 59-63, set./dez, 2004.
60. SILVA, M. G. V.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; PESSOA, M. N. G.; FEITOSA, V. S.; MARQUES, M. O. M. Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos através de várias técnicas e avaliação da atividade antifúngica de *Ocimum basilicum*. In: 23a. Reunião Anual da SBQ, Poços de Caldas, MG, 2000
61. KANUJA, S. P. S., LAL, R. K.; AGNIHOTRI, A. K.; SHASANY, A. K.; NAQVI, A. A.; DWIVEDI, S.; MISRA, H. O.; DHAWAN, O. P.; KALRA, A.; SINGH, A.; BAHL, J. R.; SINGH, S.; PATRA, D. D.; AGARWAL, S.; DAROKAR, M. P.; GUPTA, A. K., G., MOTILAL; CHANDRA, R. Distinct type cultivar of *Ocimum basilicum* “Cim-saumya”. US 20060311957, 06 ago. 2004.
62. BOZIN, BILJANA; MIMICA- DUKIC, NEDA; SIMIN, NATASA; ANACKOV, GORAN. *J. Agric. Food Chem.*, 54 (5), 1822-1828, 2006.
63. OPALCHENOVA, G.; OBRESHKOVA, D. Comparative studies on the activity of basil – an essential oil from *Ocimum basilicum* – against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by different test. *J. Microbiol. Methods*, 54 (1), 105-110, 2003.
64. OXENHAM, S. K.; SVOBODA, K. P.; WALTERS, D. R. Antifungal activity of the essential oil of basil (*Ocimum basilicum L.*). *Journal of phytopathology*, 153 (3), 174-180, 2005.
65. DUBE, S.; UPADHYAY, P. D.; TRIPATHI, S. C. Antifungal, physicochemical, and insect- repelling activity of the essential oil of *Ocimum basilicum*. *Can. J. Bot.*, 67 (7), 2085-2087, 1989.
66. LEE, S.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. *Food chemistry*, 91 (1), 131-137, 2005.

67. KIM, H.; CHEN, F.; WANG, X.; RAJAPAKSE, N. C. Effect of methyl jasmonate on secondary metabolites of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 54 (6), 2327-2332, 2006.
68. CHIANG, L.; NG, L.; CHENG, P.; CHIANG, W.; LIN, C. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 32 (10), 811-816, 2005.
69. AKHTAR, M. S.; AKHTAR, A. H.; KHAN, M. A. Antiulcerogenic effect of *Ocimum basilicum* extracts, volatile oils and flavonoid glycosides in albino rats. *Int. J. Pharm.*, 30 (2), 97-104, 1992.
70. SILVA, F.; SANTOS, R. H. S.; ANDRADE, N. J.; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; LIMA, R. R.; PASSARINHO, R. V. M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. *Pesq. Agrop. Bras.* Brasília. v. 40, n.4, 323-328, 2005.
71. S. VEERANJANEYULU, K.; RAMA DAS, V. S. Heavy metal tolerance in *Ocimum basilicum* var. *purpurascens* Benth. I. subcellular distribution of zinc, copper, cobalt, and nickel in leaves and roots. *J. Biol. Sci.*, 48, (1), 109-114, 1982.
72. WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E. M.; Plant drug analysis – A thin chromatography atlas. Berlin, 1983.
73. ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured publishing, Carol Srem, II, 1995.
74. PIRKLE, W. H.; ADAMS, P. E. Enantiomerically pure lactones. 3. Synthesis of and stereospecific conjugate additions to α,β -unsaturated lactones. *J. Org. Chem.* 45, 4117-4121. 1980.
75. ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. Solid Phase Microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers *Anal. Chem.*, vol. 62 (19), 2145-2148, 1990.
76. ZHANG, Z., YANG, M., PAWLISZYN, J. Solid Phase Microextraction. *Anal. Chem.*, 66 (17), 844-853, 1994.
77. International Fragrance Association, amendments to the IFRA guidelines. *Perf & Flav*, 19(6), 75-76, 1994.
78. TISSERAND, R.; BALACS, T. *Essential Oil Safety*. Churchill Livingstone, Edinburgh. 1995.
79. TUCKER, A. O.; MACIARELLO, M. J.; ALKIRE, B. H. Essential Oil of *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng. (Lamiaceae), *J. Essent. Oil Res.*, 13, 198-199, 2001.
80. GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Occurrence of 1-nitro-2-phenylethane in *Ocotea pretiosa* and *Aniba canelilla*. *J. Org. Chem.* . V.24. p. 2070-2071, 1959.

81. INNOCENTINI, A. P. Extração e caracterização analítica do óleo essencial da espécie *Aniba canelilla*, visando o isolamento do composto majoritário, 1-nitro-2-feniletano, e seu estudo toxicológico. São Carlos. IQSC, 2000.
82. ZOGHBI, M. G. B.; OLIVEIRA, J.; ANDRADE, E. H. A.; TRIGO, J. R.; FONSECA, R. C. M. Variação na composição química dos óleos essenciais de *Ocimum campechianum* Mill e *O. gratissimum* L. comercializados no Pará. III Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais, p.47, 8 a 10 de novembro, Campinas – SP, 2005.
83. LOPES, D.; BIZZO, H. R.; KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L. Avaliação da qualidade do óleo essencial de louro (*Laurus nobilis* L.) extraído de exemplares cultivados no Brasil. III Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais, p.99, 8 a 10 de novembro, Campinas – SP, 2005.
84. MANN, J. Secondary Metabolism. 4. ed. Oxford: Clarendon, 1987.
85. BIESKI, I. G. C.; LEÃO, M. G.; VOLCE, A. S.; MACEDO, M.; NUNES, J. R. S. Plantas medicinais aromáticas ricas em óleos essenciais, utilizadas pelos usuários do SUS no PSF Ribeirão da Ponte em Cuiabá/MT. III Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais, p.135,8 a 10 de novembro, Campinas – SP, 2005.
86. MAIA, J. G. S.; SILVA, M. I.; LUIZ, A. I. R.; ZOGHBI, M. G. B.; RAMOS, L. S. Espécies de *Piper* da Amazônia ricas em safrol. *Química Nova*, v. 10, 200-2004, 187.
87. MIYAZAWA, M. Supression of chemical mutagen-induced sos response by allylbenzen from asiatarum heterotropoides in the *Salmonella typhimurium* ta1535/PSK1002 UMU test. *Natural Product Research*, Vol.19, n.1, 29-36, 2005.
88. ISMAIL, M. Central properties and chemical composition of *Ocimum basilicum* essential oil. *Pharm. Biol.*, 44(8), 619-626, 2006.
89. BARATA, L. E. S.; MAY, P. H. Rosewood exploitation in the Brazilian amazon: options for sustainable production. *Economic Botany*, V.58 (2), 257-265, 2004.

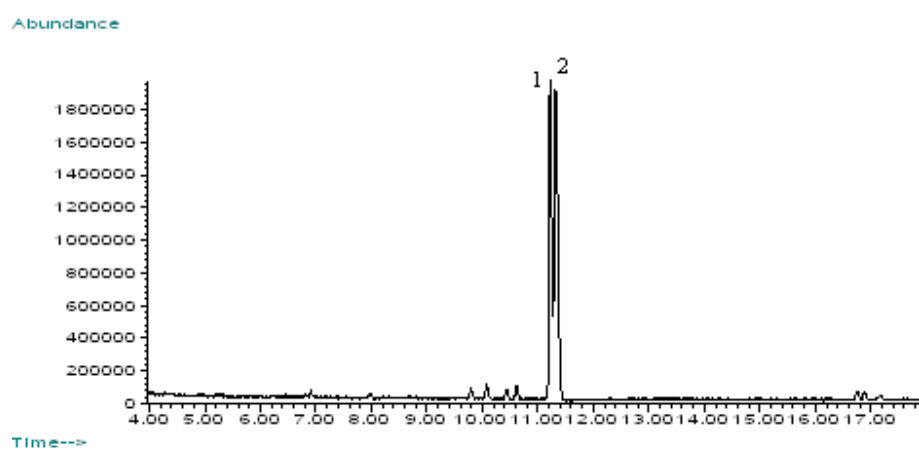
Anexo A – Dados do composto 1-nitro-2-feniletano

Espectro de Massas do 1-nitro-2-feniletano

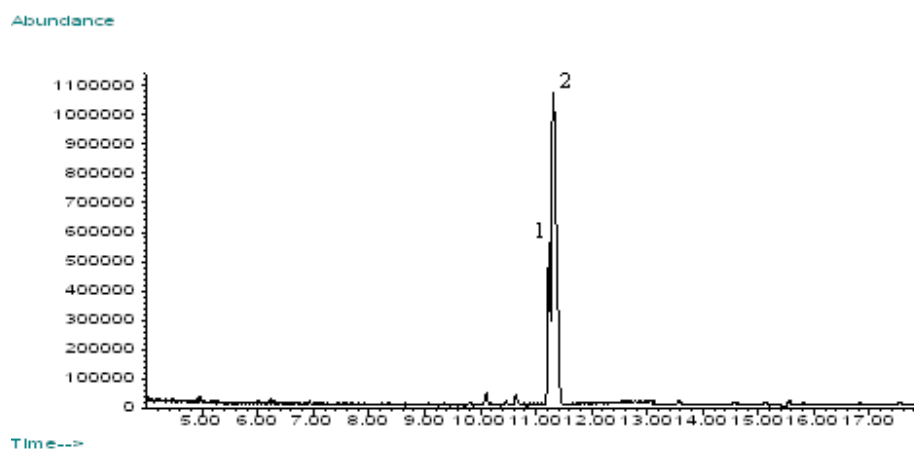
Espectro de Infravermelho do 1-nitro-2-feniletano

Anexo B – Enantiômeros do linalol nos o.e. de *Aniba rosaeodora* (madeira e folhas), *Lippia alba* e *O. basilicum*

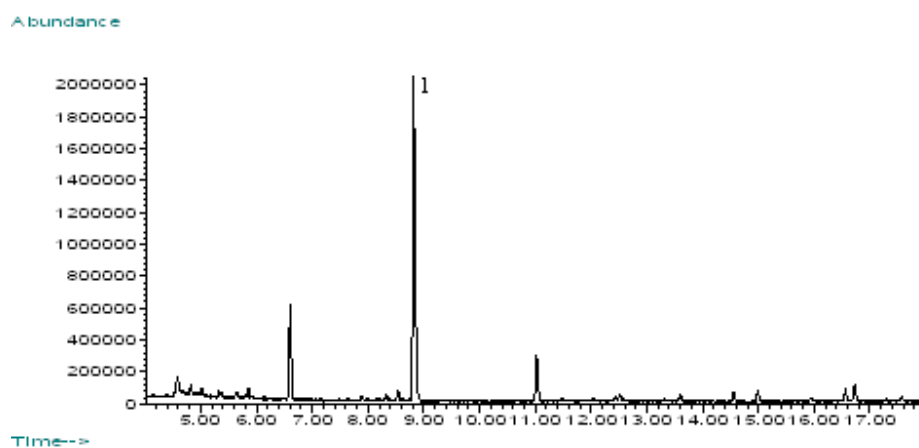
O pico 1 corresponde ao R - (-) linalol e o 2 corresponde ao S - (+) linalol.



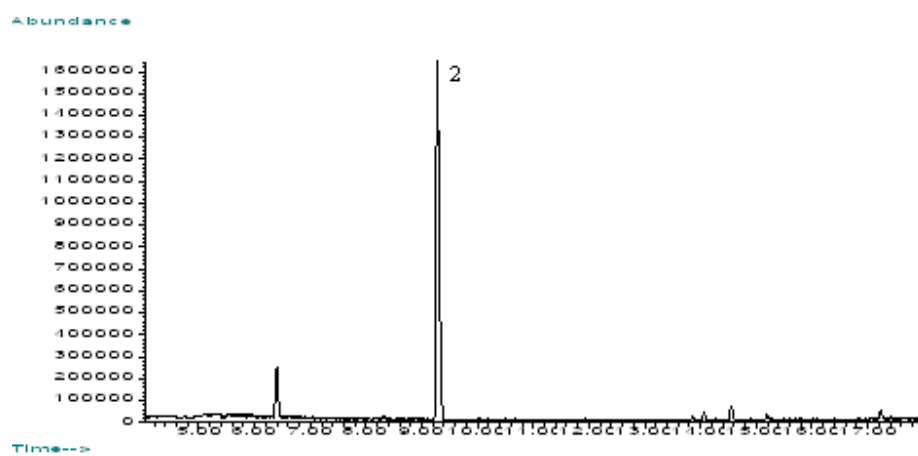
Cromatograma do o.e. da madeira de *A. rosaeodora*



Cromatograma do o.e. das folhas de *A. rosaeodora*



Cromatograma do o.e. de *O. basilicum*



Cromatograma do o.e. de *Lippia alba*