



# Composição volátil das folhas de *Eugenia racemulosa* O. Berg. (Myrtaceae)

## Volatile composition from leaves of *Eugenia racemulosa* O. Berg. (Myrtaceae)

Recebido em 17/11/2009

Aceito em 25/03/2011

 Leonardo Martins Senna<sup>1</sup>, Gilson Roberto de Souza<sup>2</sup>, Humberto Ribeiro Bizzo<sup>3</sup>, Davyson de Lima Moreira<sup>4\*</sup>
<sup>1</sup> Faculdade de Farmácia, Centro Universitário de Barra Mansa, R. Vereador Pinho de Carvalho, 267, Centro, CEP. 2730-550, Barra Mansa/RJ, Brasil

<sup>2</sup> Faculdade de Biologia, Centro Universitário Geraldo di Biase, Fundação Educacional Rosemar Pimentel, Av. Governador Luiz Monteiro, 81, Aterrado, Volta Redonda/RJ, Brasil

<sup>3</sup> Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, Av. das Américas, 29501 - Laboratório de Óleos Essenciais Guaratiba, 23020-470 - Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>4</sup> Departamento de Produtos Naturais, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, R. Sizenando Nabuco, 100, Manguinhos, CEP. 21041-250, Rio de Janeiro/RJ, Brasil

### RESUMO

Folhas de *Eugenia racemulosa* O. Berg. (180g) foram coletadas no campus do Centro Universitário de Barra Mansa e submetidas à extração do óleo essencial por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger modificado. A composição volátil foi analisada por CG-DIC e por CG-EM e a identificação das substâncias foi feita por comparação dos espectros de massas e Índice de Retenção com registros da literatura. O rendimento do óleo essencial foi estimado em 0,33% (p/v). Foi possível a identificação de 13 substâncias diferentes, com 85,26% dos constituintes identificados, sendo a grande maioria de sesquiterpenos e apenas um monoterpeno, em baixo teor na mistura (limoneno, 0,37%). O constituinte majoritário da fração volátil foi identificado como  $\alpha$ -cadinol (79,48%). Além deste sesquiterpeno oxigenado foi identificado, ainda, o espatulenol (1,70%). Todos os demais sesquiterpenos presentes no óleo são não-oxigenados, incluindo (*E*)-cariofileno (1,19%) e lepidozeno (0,78%). Nova coleta para avaliação da composição volátil foi realizada no mês seguinte e, novamente, o  $\alpha$ -cadinol foi identificado como o constituinte majoritário (77,25%). O óleo essencial de *E. racemulosa*, estudado pela primeira vez, revelou a presença do  $\alpha$ -cadinol em grande concentração, por isso, essa planta pode ser uma importante fonte para obtenção desse sesquiterpeno oxigenado que possui interessantes propriedades fungicidas.

**Palavras-chave:** Myrtaceae, *Eugenia racemulosa*, Óleo Essencial, Sesquiterpenos, Cadinol

### ABSTRACT

Leaves of *Eugenia racemulosa* O. Berg. (180g) were collected in the Campus of Centro Universitário de Barra Mansa, Rio de Janeiro State, and were submitted to hydrodistillation on Clevenger apparatus to essential oil extraction. The volatile composition was analysed using GC-FID and GC-MS and the compounds identification was performed by comparison of mass spectra and retention indices with those from literature records. The essential oil yielding was evaluated in about 0.33% (w/v). It was possible to identify 13 different compounds in the volatile fraction, comprising 85.26% of the mixture. Sesquiterpenes were identified as the main fraction of the oil and only one monoterpene was found (limonene, 0.37%). The main compound was identified as  $\alpha$ -cadinol and in high amounts (79.48%). The non-oxygenated fraction revealed more diversified however in less amounts. Leaves from *E. racemulosa* were collected anew to proceed with the oil extraction. The essential oil analysis revealed  $\alpha$ -cadinol as the major compound (77.25%). The *E. racemulosa* essential oil has been studied for the first time and the results presented in this paper showed the oxygenated sesquiterpene cadinol in high amounts. For this meaning this essential oil can be an important source of cadinol, an antifungal sesquiterpene.

**Keywords:** Myrtaceae, *Eugenia racemulosa*, Essential oil, Sesquiterpenes, Cadinol

\* **Contato:** Davyson de Lima Moreira, Departamento de Produtos Naturais, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, R. Sizenando Nabuco, 100, Manguinhos, CEP: 21041-250, Tel. 55-21-39772492/ 2477, Rio de Janeiro, RJ, e-mail: dmoreira@far.fiocruz.b

## INTRODUÇÃO

O Dentre as diversas famílias de Angiospermae ricas em óleos essenciais, destaca-se a família Myrtaceae, composta por mais de 140 gêneros e 3500 a 5800 espécies de arbustos e árvores verdes durante todo o ano e que se distribuem em áreas temperadas, subtropicais e tropicais (Landrum *et al.*, 1997; Auricchio *et al.*, 2003). No Brasil, a família Myrtaceae conta com cerca de 20 gêneros e 1000 espécies, sendo um terço dessas pertencentes ao gênero *Eugenia* L. (Johnson *et al.*, 1984; Lughadha *et al.*, 2000; Wilson, 2001) que tem distribuição neotropical e é o mais representativo da família, ocorrendo em área que vai do México à Argentina. (Johnson *et al.*, 1984; Landrum *et al.*, 1997). O gênero *Eugenia* encontra-se bem representado nas diversas formações de vegetação do Brasil, sendo que muitas de suas espécies são ricas em óleo essencial, tais como *Eugenia uniflora* L. (pitanga), cuja fração volátil dos frutos é abundante em *trans*- $\alpha$ -ocimeno (Oliveira *et al.*, 2006). Algumas espécies de *Eugenia* são também importantes fontes de frutos silvestres comestíveis, por exemplo, *E. involucrata* DC. (cereja-do-mato), *E. pyriformis* Cambess. (uvaia), *E. neosilvestres* Sobral (grumixama), *E. divaricata* Benth (camu-camu), *E. uniflora* L. (pitanga) e *Eugenia jambolana* Lam. (jambolão) (Lorenzi, 2008; Romagnolo *et al.*, 2006). Espécies de Myrtaceae são usadas na medicinal tradicional brasileira desde longa data para o tratamento de diarreia e verminoses (*E. uniflora* L., *Psidium guajava* L.), problemas gastro-intestinais (*Syzygium aromaticum* Merr. & L.M. Perry), infecções do aparelho respiratório (*Eucalyptus globulus* Labill.), cicatrizante e anti-séptico bucal (*Psidium guineense* Sw.) e diabetes (*E. jambolana* Lam. e *E. puniceifolia* DC.) (Adebajo, 1989; Di Stasi *et al.*, 2002; Grover *et al.*, 2000; Lorenzi, 2000; Pepato *et al.*, 2005). Diversas ações biológicas e farmacológicas são descritas na literatura para espécies de Myrtaceae, como por exemplo, ação colinérgica em receptores nicotínicos (Granjero *et al.*, 2006), ação antioxidante (Kade *et al.*, 2008), ação antiparasitária (Fichi *et al.*, 2007), ação antimicrobiana (Fadéyi & Akpan, 1989), ação analgésica (Ávila-Penha *et al.*, 2007), ação hipoglicemiante e antilipidogênica (Ravi *et al.*, 2005).

A espécie *Eugenia racemulosa* O. Berg. é conhecida popularmente no Sudeste do Brasil como cambuí. Essa espécie pertence à tribo Myrteae DC. e subtribo Eugenoideae O. Berg. (Berg, 1858), ocorrendo naturalmente no Campus do Centro Universitário de Barra Mansa (UBM), Barra Mansa/ RJ.

Os estudos biológicos e farmacológicos prévios realizados com extratos e frações voláteis de espécies de Myrtaceae, a grande diversidade de substâncias já isoladas para outras espécies dessa família, a abundante ocorrência do cambuí no campus do UBM, além do ineditismo químico e farmacológico da espécie *E. racemulosa* estimularam o estudo de sua composição volátil, descrito neste trabalho pela primeira vez.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material Vegetal

Folhas frescas (180g) de uma espécie de porte arbóreo da família Myrtaceae foram coletadas em agosto e setembro de 2007 no campus do Centro Universitário de Barra Mansa (UBM). O material vegetal foi identificado como *Eugenia racemulosa* O. Berg. (Myrtaceae) pelo botânico taxonomista Gilson Roberto de Souza e amostras foram depositadas como exsiccatas no Herbário do Centro Universitário Geraldo di Biase, Volta Redonda/ RJ (UGB) sob o número de identificação 01/580/A/008. A literatura científica especializada mostra a total ausência de estudos químicos e farmacológicos para esta espécie.

### Extração do Óleo Essencial

Aproximadamente 100g de folhas frescas foram trituradas e submetidas à extração do óleo essencial por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger modificado. O hidrolato foi recolhido nos primeiros 30 minutos e após duas horas de extração. O óleo essencial foi obtido puro e seco com sulfato de sódio anidro, sendo acondicionado sob refrigeração em frasco âmbar e ao abrigo da luz. O óleo essencial foi dissolvido em diclorometano previamente às análises por cromatografia com fase gasosa.

### Análise dos Componentes Voláteis

A composição volátil foi analisada por CG-DIC e por CG-EM (EMBRAPA – Agroindústria de Alimentos – Guaratiba, Rio de Janeiro/ RJ; Departamento de Produtos Naturais, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro) e a identificação das substâncias foi feita por comparação dos espectros de massas e Índice de Retenção calculados (IRc) com registros de banco de dados e da literatura (Adams, 2007). As análises por CG-DIC foram feitas em equipamento Agilent 6890N, equipado com detector de ionização por chama, coluna capilar HP5ms (30m x 0,32mm x 0,25 $\mu$ m), utilizando-se hidrogênio como gás carreador, a um fluxo de 1,5ml.min<sup>-1</sup>. As análises por CG-EM foram feitas em um cromatógrafo Agilent 5973N, equipado com um detector de massas do tipo quadrupolo, com uma coluna capilar HP5MS (30m x 0,25mm x 0,25 $\mu$ m), utilizando-se hélio como gás carreador a um fluxo de 1,0ml.min<sup>-1</sup>. A programação de temperatura para todas as análises foi de 60°C a 240°C (3°C.min<sup>-1</sup>). Os IRc foram obtidos a partir do tempo de retenção de uma série homóloga de hidrocarbonetos (C8-C22), obtidos nas mesmas condições de análise das amostras (ADAMS, 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento do óleo essencial foi estimado em 0,33% (p/v), a partir de extrações das folhas obtidas de coletas nos meses de agosto e setembro de 2007.

Análises por CG-DIC e por CG-EM possibilitaram a identificação de 13 constituintes diferentes no óleo essencial de *E. racemulosa* coletada em agosto de 2007, com 85,26% das substâncias elucidadas (Tabela 1). As demais substâncias (14,74%) da mistura mostraram tempo de retenção e perfil de fragmentação por espectrometria de massas compatível com ftalatos (contaminantes de solventes), hidrocarbonetos e ésteres de ácidos graxos e, por isso, foram excluídos desta discussão. A fração sesquiterpenoídica foi elucidada como a majoritária, compreendendo 84,89% da mistura. A porção constituída por sesquiterpenos não oxigenados mostrou-se mais diversificada, porém, em reduzido percentual no óleo (9 substâncias diferentes, compreendendo apenas 3,46%). O constituinte majoritário da fração volátil foi identificado como um sesquiterpeno oxigenado, o  $\alpha$ -cadinol (Figura 1, 79,48%; TR=33,23; IRc=1650). Outro sesquiterpeno oxigenado também foi identificado, o espatulenol (TR=31,27; IRKc=1590), compreendendo 1,70% da mistura. Além da elevada concentração do  $\alpha$ -cadinol no óleo essencial de *E. racemulosa* chama atenção, ainda, a ausência de arilpropanóides, como por exemplo, o eugenol, bastante comum no óleo essencial de espécies de Myrtaceae (Fichi *et al.*, 2007), e a baixa ocorrência de monoterpenos. Apenas o limoneno (monoterpeno não oxigenado) foi identificado na mistura, ainda que em baixo teor percentual (0,37%; TR=8,24; IRKc=1030). Nova coleta de folhas de *E. racemulosa* foi realizada no mês de setembro para avaliação do teor de  $\alpha$ -cadinol. A concentração relativa desse sesquiterpeno nessa nova amostra foi de 77,25% (CG-DIC).

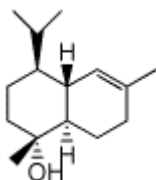


Figura 1.  $\alpha$ -Cadinol

Dados da literatura mostram excelente atividade fungicida para o  $\alpha$ -cadinol. Estudos demonstraram que essa substância foi capaz de inibir o crescimento do fungo *Corioliolus versicolor* em concentração de 100 ppm (Chang *et al.*, 2000). Outro estudo bastante recente mostrou também atividade fungicida contra cepas de *Cladosporium cucumerinum* para o óleo essencial de *Commiphora kua*, que é rico em sesquiterpenos com esqueleto cadinânico, principalmente,  $\alpha$ -cadinol, compreendendo 33% dos componentes voláteis (Ali *et al.*, 2008).

Análises recentes de óleos essenciais de espécies do gênero *Eugenia* mostraram uma composição química distinta daquela obtida para *E. racemulosa*. O óleo essencial de espécies de *Eugenia* estudadas na Costa Rica mostrou componentes majoritários voláteis como alcoóis simples e monoterpenos, tais como, *trans*-2-hexenal para *E. austin-smithii* (33,6%) e *E. cartagensis* (31,2%);  $\alpha$ -pineno para *E. haberi* (29,0%) e *E. zuchowskiae* (28,3%); e em linalool para *E. monteverdensis* (30,4%). Foi possível a identificação dos sesquiterpenos  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno,  $\delta$ -cadineno e *trans*-nerolidol em todos os óleos das sete espécies de *Eugenia* analisadas na Costa Rica, porém em baixa concentração na mistura volátil (Cole *et al.*, 2007). Ainda, os estudos de Cole (2007) mostraram a presença de  $\alpha$ -cadinol em pequena quantidade na fração volátil das espécies de *Eugenia* estudadas, com destaque apenas para *E. monteverdensis* que apresentou um teor dessa substância em torno de 3%. Análise dos componentes voláteis de frutos de *E. uniflora* coletados em Pernambuco (Brasil) revelou a presença de monoterpenos como componentes majoritários: *trans*  $\beta$ -ocimeno (36,2%), *cis*-ocimeno (13,4%),  $\beta$ -ocimene (15,4%) e  $\beta$ -pineno (10,3%) (Oliveira *et al.*, 2006).

## CONCLUSÕES

A composição volátil de *E. racemulosa* difere de outras espécies do gênero e apresenta alta concentração de cadinol e, por isso, essa planta pode ser uma importante

**Tabela 1.** Composição química do óleo essencial de *E. racemulosa*. PM= peso molecular; TR1 = tempo de retenção obtido de CG-DIC; TR2 = tempo de retenção obtido de CG-EM; IRc = índice de retenção de calculado; % = percentagem relativa.

SUBSTÂNCIA	PM	TR1	TR2	IRc	%
<b>Monoterpenos</b>					
Limoneno	136	8,245	7,534	1030	0,37
<b>Sesquiterpenos</b>					
(Z)-Cariofileno	204	23,428	22,319	1405	0,21
(E)-Cariofileno	204	24,576	23,434	1412	1,19
Germacreno D	204	27,210	26,040	1477	0,36
Ledeno (Viridifloreno)	204	27,432	26,240	1485	0,14
Lepidozeno	204	27,844	26,692	1490	0,78
$\gamma$ -Elemeno	204	28,209	27,032	1495	0,25
$\alpha$ -Muuroleno	204	28,305	27,166	1496	0,11
$\delta$ -Cadineno	204	28,992	27,829	1510	0,32
$\gamma$ -Selineno	204	31,467	30,389	1522	0,10
<b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>					
Espatulenol	220	31,266	30,190	1590	1,70
$\alpha$ -cadinol (Figura 1)	222	33,234	32,529	1650	79,48
<b>% TOTAL Identificado</b>					85,26

fonte para obtenção desse sesquiterpeno oxigenado que possui interessantes propriedades fungicidas.

## REFERÊNCIAS

- Adams, RP. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectrometry. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007. 804p.
- Adebajo C, Oloki KJ, Aladesanmi AJ. Antimicrobial activity of the leaf and extract of *Eugenia uniflora*. *Phytotherapy Research* 36: 258-259, 1989.
- Ali N, Wurster M, Arnold N, Lindequist U, Wessjohan L. Essential oil composition from oleogum resin of *Soqotraen Commiphora* kua. *Records of Natural Products* 2-3: 70-75, 2008.
- Auricchio MT & Bacchi EM. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga). *Revisão. Revista do Instituto Adolfo Lutz* 62(1): 55-61, 2003.
- Ávila-Peña D, Peña N, Quintero L, Suárez-Roca H. Antinociceptive activity of *Syzygium jambos* leaves extract on rats. *Journal of Ethnopharmacology* 112(2): 380-385, 2007.
- Berg O. Myrtaceae. In: C. F.P. Martius. *Flora Brasiliensis*, 14(1): 304, 1858.
- Chang S, Wang S, Wu C, Chen P, Kuo Y. Comparison of the antifungal activity of cadinane skeletal sesquiterpenoids from *Taiwania* (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) heartwood. *Holzforchung* 54(3): 241-245, 2000.
- Cole RA, Haber WA, Setzer WN. Chemical composition of essential oils of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica. *Biochemical Systematics and Ecology* 35(12): 877-886, 2007.
- Di Stasi LC, Hiruma-Lima CA. Plantas Mediciniais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2. ed. São Paulo: UNESP, 2002. 326p.
- Fadeyi MO, Akpan UE. Antibacterial activities of the leaf extracts of *Eugenia uniflora* Linn. (synonym *Stenocalyx michelli* Linn.) Myrtaceae. *Phytotherapy Research* 3(4): 154-155, 1989.
- Fichi G, Flamini G, Giovanelli F, Otranto D, Perrucci S. Efficacy of an essential oil of *Eugenia caryophyllata* against *Psoroptes cuniculi*. *Experimental Parasitology* 115(2): 168-172, 2007.
- Grangeiro MS, Calheiros-Lima AP, Martins MF, Arruda LF, Garcez-do-Carmo L, Santos WC. Pharmacological effects of *Eugenia punicifolia* (Myrtaceae) in cholinergic nicotinic neurotransmission. *Journal of Ethnopharmacology* 108(1): 26-30, 2006.
- Grover JK, Vats V, Rathi SS. Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *Journal of Ethnopharmacology* 73(3): 461-470, 2000.
- Johnson LAS, Briggs BG. Myrtales and Myrtaceae phylogenetic analysis. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 71: 700-756, 1984.
- Kade IJ, Ibukun EO, Nogueira CW, Rocha JBT. Sun-drying diminishes the antioxidative potentials of leaves of *Eugenia uniflora* against formation of thiobarbituric acid reactive substances induced in homogenates of rat brain and liver. *Experimental and Toxicologic Pathology* 60(4-5): 365-371, 2008.
- Landrum LR, Kawasaki ML. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. *Brittonia* 49(4): 508-536, 1997.
- Lorenzi H, Matos FJA. Plantas Mediciniais no Brasil – Nativas e Exóticas. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2008. 1120p.
- Lughadha EN, Snow N. Biology and evolution of the Myrtaceae: a Symposium. *Kew Bulletin* 55: 591-592, 2000.
- Oliveira AL, Lopes RB, Cabral FA, Eberlin MN. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). *Food Chemistry* 99(1): 1-5, 2006.
- Pepato MT, Mori DM, Baviera AM, Harami JB, Vendramini RC, Brunetti IL. Fruit of the jambolan tree (*Eugenia jambolana* Lam.) and experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 96(1-2): 43-48, 2005.
- Ravi K, Rajasekaran S, Subramanian S. Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food and Chemical Toxicology* 43(9): 1433-1439, 2005.
- Romagnolo MP, Souza MC. O gênero *Eugenia* L. (Myrtaceae) na planície de alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil. *Acta Botanica brasílica* 20(3): 529-548, 2006.
- Santoro GF, Cardoso MG, Guimarães LGL, Mendonça LZ, Soares MJ. *Trypanosoma cruzi*: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Experimental Parasitology* 116(3): 283-290, 2007.
- Wilson PG, O'Brien MM, Gadek PA, Quinn CJ. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany* 88: 2013-2025, 2001.