



## TÍTULO

### **Variação na composição química dos óleos essenciais extraídos dos troncos e galhos da Candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish) em diferentes etapas de seu desenvolvimento.**

Fábio Wéliton Jorge Lima<sup>1</sup>, Buno Oliveira Lafetá<sup>2</sup>, Ana Maria Dantas-Barros<sup>3</sup>, Ezequias Pessoa de Siqueira<sup>4</sup>, David Lee Nelson<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Minas, Arcos Minas Gerais; <sup>2</sup>Instituto Federal de Minas Campus, São João Evangelista Minas Gerais, <sup>3</sup>Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia; Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil; <sup>4</sup>Departamento de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil; <sup>3</sup>Centro de Pesquisa René Rachou, Belo Horizonte, MG, Brazil

#### **Resumo**

Neste trabalho foi determinada a composição química dos óleos essenciais do tronco e galhos da candeia [*Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish] em diferentes etapas de seu desenvolvimento. Os óleos essenciais foram extraídos por hidro destilação, utilizando o aparelho de Clevenger. Eles foram analisados utilizando um cromatógrafo a gás acoplado ao detector de massa. A elucidação dos constituintes dos óleos foi realizada utilizando a biblioteca NIST e o índice de Kovast. Pela cromatografia acoplado ao detector de massa foi possível identificar os compostos majoritários dos óleos extraídos dos troncos e galhos da Candeia. No tronco os compostos majoritários são: o  $\alpha$ -bisabolol (média próximo a 65,7%) seguido pelo  $\alpha$ -basibolol oxido B (5,0 -18,9%) conforme a etapa de seu desenvolvimento. Já nos galhos  $\alpha$ -bisabolol (68,40 a 52,63%) e o  $\alpha$ -basibolol oxido B (13,77 a 36,67%) também são os compostos majoritários. Nesse trabalho foi utilizado a relação entre o  $\alpha$ -bisabolol e  $\alpha$ -basibolol oxido B a relação entre esses dois constituintes.

Palavras chaves: Candeia, rota biosintética e  $\alpha$ -bisabolol



## 1 INTRODUÇÃO

A *Eremanthus erythopappus* (DC) McLeisch (Asteraceae) (*Vanillosmopsis erythopappa* Schultz-Bip), conhecida popularmente como candeia, é uma planta nativa do Brasil cuja população está distribuída predominantemente em várias regiões de Minas Gerais. Ela também pode ser encontrada em alguns países sul-americanos (PÁDUA, 2016). A candeia é uma planta pioneira que se desenvolve em solos rasos e de baixa fertilidade, a sua predominância é entre 600m e 1200m de altitude (SOUSA, 2003). O grande atrativo econômico da candeia é a exploração do óleo essencial (EO) de seu tronco, rico em alfa-bisabolol (SOUSA, 2003), que é muito utilizado na indústria de cosmético.

Os EOs são também chamados de óleos voláteis ou etéreos. Eles são líquidos aromáticos obtidos a partir de materiais vegetais (brotos, flores, sementes, caule, galhos, cascas, frutos e raízes) que são produzidos e estocados em órgãos especiais das plantas chamados tricomas (NAVARRETE, 2011). Segundo a literatura, os óleos essenciais pertencem as classes dos monoterpenos, sesquiterpenos e seus derivados oxigenados (álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, fenóis, éteres e ésteres).

O OE extraído da candeia é rico em  $\alpha$ -bisabol ( $> 50\%$ ). Sua composição também apresenta algumas lactonas tais como constunolide e eremantina (Baker et al, 1972, Bohlmann et al., 1981; Lima et al., 1985; Vichnewski et al., 1989), mas estes compostos, são os seus constituintes minoritários (Braun et al 2003). O  $\alpha$ -bisabolol, encontrado no OE extraído do tronco da candeia, é um álcool sesquiterpênico não tóxico que é muito utilizado em fragrâncias e preparação de cosméticos (Madhavan, 1999). O OE extraído das folhas da candeia é rico em  $\beta$ -pineno, germacreno D,  $\alpha$ -copaeno,  $\delta$ -cadineno e  $\beta$ -cariofileno (Sousa et al 2008 b), podendo ser um bom substituto para óleos essenciais ricos nestes compostos.

A composição química, quantitativa e qualitativa, dos OEs é muito influenciada pela idade da planta (Letchano et al 2004), parte da planta da qual são extraídos, lugar de crescimento (tipo de solo, tempo de insolação, altitude e regime climático) e o período de coleta. Outro fator que pode influenciar a composição química do OE extraído da planta é o quimiotipo dos indivíduos (fatores genéticos), que influencia nas rotas biosintéticas, que levam a formação de compostos químicos dos OEs e de outras biomoléculas sintetizadas pelas plantas (Martos et al 2011; Brown Junior, 1988; Castro et al., 1999; Castro et al., 2004; Castro et al 2010; Leal et al., 2001).



Os fatores ambientais também podem provocar variação na composição química dos OEs (Tavares et al,2005). Apesar de o tronco da candeia ser muito explorado pela indústria de OE no Brasil, pouco se sabe a respeito da variação da composição química dos OEs extraídos de diferentes partes da planta (tronco, galhos e folhas) e nas diferentes etapas de seu desenvolvimento. Esse trabalho tem como objetivo comparar a composição química dos OEs extraídos de troncos, de galhos e de folhas de candeias da comunidade do Parque Estadual do Rola Moça, localizado na Região Metropolitana de Belo Horizonte, em Minas Gerais.

### **Experimental**

#### **Procedimento de extração do óleo essencial utilizando hidro destilação por arraste a vapor**

A *Eremanthus erythropappus* (Candeia) foi coleta no Parque estadual do Rola moça, próximo a cidade de Belo Horizonte MG, nas coordenadas UTM 20027765 de latitude e 43982432 de longitude, com elevação de 1200 m em relação ao nível do mar. Foram coletadas quatro amostras de materiais vegetais de indivíduos com 7,5 cm, 12,5 cm, 17,5 cm e 22,5 cm de diâmetro de tronco, com medidas determinadas à 1,5 m do solo. Os materiais vegetais – folhas, galhos e tronco – foram coletados no mês de julho, período de inverno no hemisfério Sul, entre 7:00 e 10:30 da manhã. Cada amostra foi composta por 10 indivíduos.

Após a coleta, as amostras foram transportadas para o laboratório em sacos de algodão. As folhas passaram por processo de seleção para a eliminação de exemplares com defeito (folhas secas, picadas por insetos e danificadas) e, em seguida, foram lavadas com água destilada. As folhas frescas selecionadas foram picadas manualmente para reduzir o volume e seu óleo essencial foi extraído por hidro destilação, utilizando o aparelho de Clevenger. Os troncos e galhos frescos da *Eremanthus erythropappus* foram cortados em pequenas lascas e amassados com machadinha para romper as fibras de celulose e facilitar a extração do óleo essencial por hidro destilação, utilizando o aparelho de Clevenger.

#### **Procedimento para análise do óleo essencial utilizando CG/MG**

As análises dos óleos essenciais foram realizadas por injeção direta, utilizando micro seringa de líquido no cromatógrafo a gás da Shimadzu Modelo GC-17-A, acoplado ao detector seletivo de massa da Shimadzu QP5050. Foi utilizada uma coluna DB-5 (5% difenil/95%



dimetil siloxano), comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm e filme de espessura de 0,25  $\mu\text{m}$ ; temperatura inicial 40 °C, temperatura final 250 °C; rampa de aquecimento 4 °C/min; temperatura do injetor 250 °C; temperatura de interface cromatógrafo detector de massa: 250 °C. Foi utilizado Hélio como gás de arraste, com fluxo 1,0 mL/min e split de 1/100.

Os espectros de massa foram obtidos por scanning automático de 5,0 scans  $\text{s}^{-1}$ , com energia de ionização de 70 eV e faixa de massa 40 – 350 m/z. Os picos cromatográficos foram checados quanto a sua homogeneidade e simetria para aperfeiçoar a resolução. A identificação dos componentes foi baseada na comparação dos índices de retenção (IR) dos picos de CG na coluna DB-5 com uma série de n-alcenos (C8-C28) por interpolação linear. O IR foi comparado com o obtido na biblioteca NIST. As fragmentações do espectro massa foi confirmado pelo banco de dados do equipamento e da biblioteca NIST.

## Resultados

As análises por CG/MS das composições químicas dos óleos essenciais do tronco da candeia, em seus diferentes estágios de desenvolvimento, possuem praticamente a mesma composição química de sesquiterpenos conforme mostrado Tabela 1. Comportamento semelhante também foi observado nas amostras de óleos essenciais dos galhos e folhas da candeia (Tabela 2-3), sugerindo que a qualidade dos óleos essenciais é pouco influenciada pelo crescimento das plantas.

Tabela 1: Composições químicas dos óleos essenciais extraídos dos troncos da candeia por hidro destilação em aparelho de Clevenger.

Composto químico	IK	7,5 cm	12,5 cm	17,5 cm	22,5 cm
$\beta$ - pineno	970	-	-	0,75	0,25
$\beta$ – mircerno	991	-	-	0,24	0,22
Oxirano	1009	-	0,71	-	-
1-(4-methylphenyl)-ethanone	1147	-	-	-	-
$\beta$ -copaeno	1403	1,78	0,63	1,85	-
$\beta$ -elemeno	1418	0,29	0,25	0,26	0,30
$\beta$ -cariofileno	1441	3,55	1,10	4,36	0,38
$\alpha$ -cariofileno	1475	0,30	0,35	0,45	0,36



germacreno – D	1500	1,04	0,56	1,13	0,25
$\alpha$ -zingibireno	1514	-	-	-	0,26
Elixeno	1515	0,51	0,50	0,69	0,62
$\beta$ -bisaboleno	1526	2,93	2,77	2,98	3,15
gamma-muuroleno	1530	-	-	-	0,93
$\alpha$ -trans-bergamoteno	1532	1,08	1,13	1,24	1,27
delta-cadineno	1539	1,20	0,58	1,32	0,32
Spatulenol	1584	-	0,15	-	-
$\alpha$ -basibolol oxido B	1651	11,79	4,99	10,34	18,87
$\alpha$ -bisabolol	1676	65,10	76,37	65,16	65,84
$\alpha$ -basibolol oxido A	1732	2,23	0,22	0,27	0,50
acido nonadecanoico	1884	0,20	0,23	0,22	0,20
Eremantina	1913	0,65	1,20	0,41	0,65
Percentagem de compostos identificados	-	92,5	91,4	91,67	94,34

IK índice de Kovast calculado para a coluna DB5,

Os óleos essenciais extraídos dos troncos da candeia são pobres em monoterpenos, mas são ricos em sesquiterpenos (Tabela 1). Os monoterpenos  $\beta$ -pineno (0,75 e 0,25%) e  $\beta$ -mirceno (0,20 e 0,22%) foram identificados apenas em indivíduos com 17,5 e 22,5 cm de diâmetro de tronco (Tabela 1). Foi constatada a relação entre o  $\alpha$ -bisabolol e  $\alpha$ -bisabolol óxido B, ao diminuir a concentração do  $\alpha$ -bisabolol óxido B nos óleos essenciais dos troncos da candeia, a concentração do  $\alpha$ -bisabolol aumenta (Tabela 1).

Nos óleos essenciais extraídos dos galhos essa correlação -  $\alpha$ -bisabolol e  $\alpha$ -bisabolol óxido B - é mais evidente, seguindo uma relação linear, conforme mostrado (Tabela 2). A concentração de  $\alpha$ -bisabolol nos óleos essenciais extraídos dos galhos reduz em indivíduos cuja medida do diâmetro do tronco são maiores (Tabela 2) e a concentração de  $\alpha$ -bisabolol óxido B aumenta nesses indivíduos (Tabela 2). O aumento da concentração do  $\alpha$ -bisabolol óxido B tem relação com a ciclização do  $\alpha$ -bisabolol (Figura 1) (Dewick, 2002). A concentração do sesquiterpeno  $\alpha$ -bisabolol óxido B é superior a concentração do  $\alpha$ -basibolol oxido A,



sugerindo que o equilíbrio reacional é deslocado na direção do  $\alpha$ -bisabolol óxido B, nos óleos essenciais dos troncos e galhos da candeia conforme mostrado (Tabela 1 e 2).

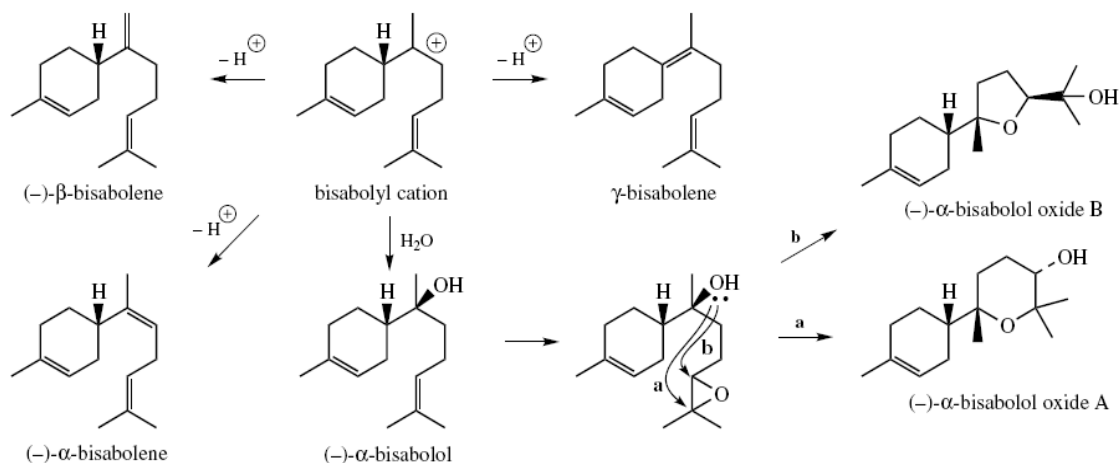


Figura 1: Rota Biosintética do  $\alpha$ -bisabolol para  $\alpha$ -bisabolol óxido B e  $\alpha$ -bisabolol óxido A. (Figura reproduzida do livro do Dewick, 2002)

Tabela 2: |Composição química dos óleos essenciais extraídos dos galhos da candeia por hidro destilação em aparelho de Clevenger.

Composto químico	IK	7,5 cm	12,5 cm	17,5 cm	22,5 cm
		(%)	(%)	(%)	(%)
$\beta$ -pineno	970	-	-	-	0,15
$\beta$ -linanol	1101	-	0,87	-	-
$\alpha$ -terpineol	1197	-	0,34	-	-
$\alpha$ -copaene	1403	0,26	0,45	0,45	0,62
$\beta$ -elemeno	1419	-	0,59	-	0,31
$\beta$ -cariofileno	1444	-	-	0,91	2,78
$\alpha$ -cariofileno	1475	-	-	-	0,33
$\alpha$ -zingibereno	1497	-	0,59	-	-
eremofileno	1498	-	0,58	-	0,34
germacreno D	1501	-	-	0,53	0,93
$\beta$ -eudesmeno	1505	-	-	0,26	0,33
elixeno	1515	-	-	-	0,52



$\beta$ -bisaboleno	1527	3,20	2,48	2,11	4,44
gamma-muuroleno	1531	1,08	0,62	1,05	1,57
delta-candineno	1539	0,17	0,34	0,69	0,59
$\alpha$ -bisaboleno	1556	3,35	2,69	2,14	1,15
Spathulenol	1584	-	-	0,35	-
$\alpha$ -bisabolol oxido B	1651	13,77	14,24	23,04	26,67
$\alpha$ -bisabolol	1678	68,40	68,68	55,91	52,63
$\alpha$ -bisabolol oxido A	1744	2,20	1,90	0,79	1,290
ácido hexadenoico	1884	0,48	0,36	0,21	0,14
Eremantina	1913	0,69	0,69	0,45	1,15
Percentagem de compostos identificados	-	85,55	85,87	86,74	81,88

NI Não identificado nesta amostra

A concentração do  $\beta$ -bisaboleno é baixa tanto nos óleos essenciais extraídos dos troncos (2,93; 2,77; 2,98 e 3,15%) quanto nos galhos (3,20; 2,48; 2,11 e 4,44%) (Tabelas 1-2). Isto pode ter relação com a biossíntese preferencial do  $\alpha$ -bisabolol e  $\alpha$ -bisabolol óxido B, constituintes majoritários dos óleos essenciais dos troncos e galhos da candeia (Figura 1) (Dewick, 2002). Outro composto que foi identificado nas análises dos óleos essenciais dos troncos e galhos da candeia é a lactona eremantina (Tabela 1-2), mas ele aparece em baixa concentração.

## Conclusões

Embora a composição química dos óleos essenciais extraídos dos galhos e troncos da candeia não apresente alteração significativamente durante todas as etapas de seu desenvolvimento, neste trabalho foi possível determinar a rota Biosintética dos óleos essenciais extraídos dos troncos e galhos pela relação entre as concentrações de o  $\alpha$ -bisabolol e  $\alpha$ -bisabolol oxido B. Os óleos essenciais dos galhos da candeia pode ser um substituto de óleos extraídos dos troncos da candeia por ter um teor significativo de  $\alpha$ -bisabolol.

## Bibliografia



Baker, P.M.; Fortes, C.C.; Fortes, E.G.; Gazzinelli, G.; Gilbert, B.; Lopes, J.N.C.; Pellegrino, J.; Tomassini, T.C.B.; Vichnewsky, W. Chemoprophylactic agents in schistosomiasis: eremanthine, costunolide, a-cyclocostunolide and bisabolol. *J. Pharm. Pharmacol.* 1972 (25):853-7

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M.. Biological effects of essential oils. *Rev. Food Chem. Toxicol.* 46, 446–475, 2008..

Bohlmann, F.; Zdero, C.; Robison, H.; King, R. Germacranolides from *Piptolepis ericoides* and *Vanillosmopsis* species. *Phytochemistry.* 1981 (20):731-4.

Braun, N. A. Meier, M., Kohlenberg, B., Hammerschmidt, F., J.. Two new bisabolene oil from the stem wood essential oil of *Vanillosmopsis erythoppapa* Shultz-Bip (asteraceae) *J. Essential Oil Res.* 15: 139-42, 2003.

BROWN JÚNIOR, K. S. Engenharia ecológica: novas perspectivas de seleção e manejo de plantas medicinais. *Acta Amazônica*, v. 18, n. 01, p. 291-303, 1988.

Castro, H. G.; et al Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 09, n. 04, p. 55-61, 2007.

Castro, H. G. et al Divergência genética entre acessos de mentrasto avaliada por características botânico-agronômicas, moleculares e fitoquímicas. *Revista Ceres*, v. 51, n. 294, p.227-241, 2004 a.

**Castro, H. G et al** Evaluation of content and composition of the essential oil of *Cymbopogon nardus* (L.) in different harvest times *Revista Ciência Agronômica*, v. 41, n. 2, p. 308-314, 2010 b.

Dewick, P. M., *Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach.* John Wiley & Sons, 2002



Leal T. C. A. B. *et al.* Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). **Revista Ceres**, v. 48, n. 278, p. 445-453, 2001.

Letchano w., Ward W., Heard B., Heard D.; Essential Oil of *Valeriana officinalis* L. Cultivars and Their Antimicrobial Activity As Influenced by Harvesting Time under Commercial Organic Cultivation. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 3915-3919.

Lima, P.D.D.B.; Garcia, M.; Rabi, J.A . Selective extraction of  $\alpha$ -Methylene- $\gamma$ - Lactones. Reinvestigation of *Vanillosmopsis erythropappa*. *J. Nat. Prod.* 1985 (48):986-8.

Madhavan, B.N., 1999. Final report on the safety assessment of bisabolol. *Int. J. Toxicol.* 18 (Suppl. 3), 33–40.

Pádua, J. Ap. R. *et alia.* **Spatial genetic struture in natural populations of the overexploited tree *Eremanthus erythropappus* (DC) macleish (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology. Biochemi Biochemical Systematic and Ecology*, 66 pp. 307-311. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.04.015>.**

Souza, O.V.S. *et alia.* **Estudo farmacognóstico de galhos de *Vanillosmopsis erythropappa* Schult. Bip. – Asteraceae.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13 pp. 50-53. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2003000300019>

Sousa O. V. Silvério M. S., Del-Vechio-Vieira G., Matheus F. C., Yamamoto C. H., Alves M. S.; Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the assential oil from *Eremanthus erythropappus* leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.60; 771-7, 2008 a.

Sousa O. V., Dutra R. C., Yamamoto C. H. & Pimenta D. S.. Estudo comparativo da composição química e da atividade biológica dos óleos essenciais das folhas de *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch Chemical composition and biological activity of the essential



oils. comparative study from *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch leaves, *Rev. Bras. Farm.*, 89(2): 113-116, 2008b.

Strobel G., Daisy B. Castillo and Harper J., **Natural Products from Endophytic Microorganisms** *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 257-268

Tavares E. S., Julião L. S., Lopes D., Bizzo H. R., Lages 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. *Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn.* 15(1) 2005

Vichnewski, W.; Takahashi, A.M.; Nasi, A .M.T.; Rodrigues, D .C.; Gonçalves, G.; Dias, D. A.; Lopes, J.N.C.; Goedken, V.L.; Gutiérrez, A.B.; Herz, W. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Eremanthus seidelii*, *E. goyazensis* and *Vanillosmopsis erythropappa*. *Phytochemistry.* 1989 (28):1441.51.

Viuda-Martos M., Mohamady M. A., Fernández-Lopez J., Abd ElRazid K. A., Omer E. A., In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants *Food Control* 22 (2011) 1715e1722