

CONSTITUINTES QUÍMICOS VOLÁTEIS DAS FLORES E FOLHAS DO PAU-BRASIL (*Caesalpinia echinata*, Lam.)

Claudia M. Rezende*, Vivian F. S. Corrêa, Alexsander V. M. Costa e Bruno C. S. Castro

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CT, Bl. A, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, 21945-970 Rio de Janeiro - RJ

Ruy J. V. Alves

Departamento de Botânica, Herbário, Museu Nacional, Quinta da Boa Vista, s/n, Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 9/5/03; aceito em 2/10/03

VOLATILE CONSTITUENTS FROM BRAZIL-WOOD FLOWERS AND LEAVES (*Caesalpinia echinata*, Lam.). The volatile constituents obtained from a static cryogenic headspace of *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae) showed *E*- β -ocimene as the major compound (57.2%), beside other monoterpenes, C_6 derivatives like n-hexanal and (*E*)-2-hexenal and nitrogen compounds such as indole and methyl anthranilate. From the essential oil of the leaves obtained by hydrodistillation in a Clevenger apparatus, (*E*)-3-hexen-1-ol was identified as the major constituent while phenolic compounds were the most representative class of secondary metabolites.

Keywords: volatiles; *Caesalpinia echinata*; Leguminosae.

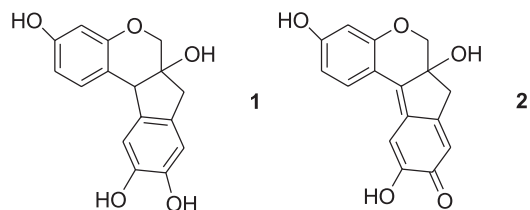
INTRODUÇÃO

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) é uma árvore nativa das partes mais secas da floresta pluvial atlântica, ocorrendo desde o Rio de Janeiro, ao sul, até o Ceará, e possuindo maior abundância no sul do estado da Bahia. O porte dos exemplares atuais é de 10-12 m de altura, tendo sido registrados indivíduos com 30 m nos tempos da colonização portuguesa. Possui tronco de 40 a 70 cm de diâmetro. Sua copa é irregular; os ramos mais novos e as cascas de espécimes mais jovens são repletos de acúleos. Seu cerne, muito duro e pesado, varia de coloração castanho alaranjado ao vermelho escuro e foi alvo da primeira grande exploração econômica de recurso natural em território brasileiro desde a colonização portuguesa. O alburno é amarelo claro. Suas folhas são compostas, bipinadas, de 10 a 15 cm de comprimento. As flores têm pétalas amarelo-sulfúreas, tendo na pétala dorsal uma mácula vinosa no centro, podendo se estender até as bordas. O odor floral é intenso e agradável. Nas raras populações naturais remanescentes, as árvores florescem com mais de 10 anos de idade, enquanto exemplares cultivados normalmente florescem já com 5-6 anos. A floração, normalmente anual no período de janeiro a fevereiro¹ (ocasionalmente de setembro a outubro²), é freqüentemente espaçada por períodos mais longos. Cada flor fica aberta de um a dois dias. O fruto, que amadurece e se abre um mês após a floração, é um legume que produz de uma a quatro sementes castanhas.

Relatos históricos das primeiras expedições às terras brasileiras descrevem que o pau-brasil disseminava-se amplamente pela costa tropical brasileira, e que densas populações eram facilmente localizadas. Graças à intensa exploração econômica, cujo objetivo era o de atender à indústria tintorial para a obtenção dos cobiçados tons de vermelho³, o pau-brasil tornou-se espécie rara, condição que perdurou quase até o final do século XX. Atualmente o plantio de *C. echinata* é bastante difundido no Brasil, até mesmo integrando projetos de regeneração de áreas degradadas, sendo fácil encontrar mudas da espécie para plantio. Seu crescimento em campo, entretanto, é considerado lento (menor que 2,5 m em 2 anos)².

A primeira espécie do gênero *Caesalpinia* comercializada a partir do século XII, para fins de tingimento, foi a *Cesalpinia sappan*, vinda do oriente. De acordo com documentos genoveses da época, ela era conhecida como *brazilio*, *brazil* ou *brazilleto*, simbolizando o rubro e uma das possíveis fontes da origem do nome brasil^{3,4}.

A popularização do pau-brasil na Europa, a partir do século XVI, deveu-se principalmente às variadas matizes obtidas de seus pigmentos, e não tanto à qualidade de sua pigmentação. Pelo tratamento ácido com vinagre ou fermento, os artesãos obtinham tons de vermelho e pela sua alcalinização com cinzas eram gerados os tons arroxeados. O declínio do comércio do pau brasil deu-se a partir de meados do século XIX com a síntese do primeiro corante artificial em 1856, a malveína, por William H. Perkin. Desde então, seguiu-se uma intensa atividade industrial para a obtenção de corantes artificiais, da qual resultou a síntese da brasilina (1), o pigmento do pau-brasil, por Robert Robinson. A brasilina é o precursor do verdadeiro pigmento conhecido como brasileína (2), de coloração vermelha, que é obtido após a oxidação de (1)⁴.



Este trabalho vem relatar a composição química volátil do extrato de "headspace" estático criogênico das flores do pau-brasil, bem como a do óleo essencial de suas folhas obtido pela técnica de hidrodestilação em Clevenger.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a obtenção de um extrato que reproduzisse o aroma das flores, considerando sua fragilidade e escassez, optou-se pela técnica de "headspace" estático criogênico. Sua análise por cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas mos-

*e-mail: crezende@iq.ufrj.br

trou o *E*-beta-ocimeno (**3**) como constituinte majoritário (57,2%). Outros terpenos minoritários foram observados na composição do extrato, como mirceno, linalol e neo-allo-ocimeno. Foi identificado ainda um grupo de derivados C₆ contendo n-hexanal, (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-3-hexenol e 1-hexanol. Por fim, alguns compostos nitrogenados como o indol e o antranilato de metila foram observados no extrato das flores, como pode ser visto na Tabela 1.

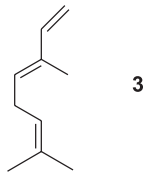


Tabela 1. Constituintes químicos presentes no extrato das flores do pau-brasil (*C. echinata* Lam.) obtido por “headspace”

Pico	Composto	IR _(DB-1) / IR _{ref}	Área %
1	2-metil-butanoato de metila	766/ 765	0,2
2	n-hexanal	782/ 780	0,7
3	(<i>E</i>)-2-hexenal	830/ 832	2,8
4	(<i>Z</i>)-3-hexenol	845/ 847	0,2
5	1-hexanol	856/ 858	0,3
6	acetato de isoamila	859/ 860	0,6
7	cicloexanona	864/ 875	0,6
8	cicloexanol	870/880	0,6
9	mirceno	988/ 986	0,1
10	(<i>E</i>)-β-ocimeno	1040/ 1037	57,2
11	linalol	1093/ 1092	6,9
12*	neo-allo-ocimeno	1122	0,5
13	indol	1307/ 1304	1,6
14	antranilato de metila	1336/ 1332	1,2
15	(<i>Z</i>)-jasmona	1373/ 1378	1,2

*identificado por comparação com a espectroteca de massas Wiley 275; IR_{ref} refere-se aos IR da literatura

Isoprenóides são freqüentemente encontrados na composição do aroma floral de diversas espécies, inclusive como constituintes majoritários. Dentre estes, destaca-se a presença de beta-ocimeno (*E* e *Z*), como pode ser visto nos estudos dos constituintes voláteis de flores de famílias variadas, tais como Amaryllidaceae⁵, Cruciferae⁶, Cucurbitaceae⁷, Lecitidaceae⁸, Leguminosae⁹, Ranunculaceae¹⁰ e Solanaceae¹¹. A maior ocorrência de determinados constituintes químicos, em angiospermas portadoras de flores aromáticas, reforça a presença de sinalizadores químicos específicos no processo de polinização, o que parece ser o caso dos isômeros do ocimeno¹⁰.

Os derivados C₆ lineares encontrados no extrato das flores de pau-brasil são observados, com freqüência, em flores e em partes frescas de diversas espécies vegetais. Sua origem biogenética está associada à degradação enzimática de ácidos graxos insaturados, como os ácidos linoleico e o linolênico, através da formação de seus hidroperóxidos seguida de clivagem¹².

Substâncias nitrogenadas estão presentes em um grande número de flores, e estudos em biologia floral sugerem associações específicas entre a fragrância floral e seus polinizadores. No gênero *Narcissus* (Amaryllidaceae), por exemplo, parece haver dois grupos de associações bem distintas: espécies polinizadas por insetos como borboletas e mariposas liberam fragrâncias preferencialmente ricas em indol combinado com ésteres, enquanto espécies visitadas exclusivamente

por outros insetos que não estes, como abelhas e moscas, exalam fragrâncias sem estes compostos⁵.

O teor de óleo essencial obtido das folhas frescas do pau-brasil é baixo, de acordo com as três amostragens realizadas pela técnica de hidrodestilação de Clevenger. Foi obtido um óleo amarelo claro com odor pouco característico, adocicado e levemente cozido, onde o constituinte químico majoritário foi o (*E*)-3-hexeno-1-ol (30,8%; t_r 10,7 min). O segundo composto com maior área relativa foi o β-ionol (9,0%; t_r 35,9 min). A classe de metabólitos mais bem representada foi a dos compostos fenólicos, perfazendo um total aproximado de 18% em área relativa. Destaca-se a presença da vanilina (3,7%; t_r 28,9 min), 2-metoxi-4-vinilfenol (3,2%; t_r 26,3min) e álcool benzílico (3,0%, 17,0 min) como majoritários, tendo ainda como minoritários os seguintes compostos: benzaldeído, acetofenona, β-feniletanol, salicilato de metila e ácido o-hidroxicinâmico. A vanilina, juntamente com o maltol identificado em 19,5 min, justificam o odor adocicado percebido no óleo. O maltol (3-hidroxi-2-metil-4-pirona) é uma piranona amplamente utilizada como flavorizante em alimentos por seu aroma tipicamente caramelizado. Foram identificados ainda por CGAR-EM alguns monoterpênicos, ácidos carboxílicos e ésteres, os últimos de estrutura relacionada ao álcool insaturado majoritário como o acetato e o butirato de (*Z*)-3-hexenoíla e o ácido (*Z*)-3-hexenoíco.

Derivados fenólicos C₆-C₃ e furanoditerpenos são os metabólitos secundários mais observados em espécies do gênero *Caesalpinia*¹³⁻¹⁶. Estudos etnobotânicos levaram à investigação da atividade farmacológica de algumas destas espécies, onde foi evidenciada a atuação da brasilina (**1**) como inibidor da peroxidação lipídica¹⁷ e como modulador de funções imunológicas¹⁸, propriedades associadas ao poder antioxidante resultante do núcleo catecólico presente.

Este é o primeiro relato da composição química dos constituintes voláteis presentes nas folhas e flores de *Caesalpinia echinata* Lam.. A natureza dos constituintes fixos presentes nas folhas do pau-brasil está sob investigação.

PARTE EXPERIMENTAL

As flores e as folhas de *C. echinata* Lam. foram coletadas a partir de 2 exemplares nas cercanias do Museu Nacional da UFRJ, previamente identificados pelo Dr. R. J. V. Alves, curador do Herbário do Museu Nacional, e depositados no mesmo.

“Headspace” estático criogênico

Dois cachos de flores do pau-brasil (71 g) foram colocados no fundo de um erlenmeyer de 5 L, contendo um dedo frio com gelo seco. Por um período de 12 h, mantendo intervalos de 30 min, a face externa do dedo frio foi raspada e lavada com diclorometano grau espectroscópico para dentro de um bécher. A fração orgânica foi separada, seca sob sulfato de sódio anidro, parcialmente concentrada com N₂ e analisada por CGAR-EM.

Extração do óleo essencial

As folhas frescas do pau-brasil (300 g) foram submetidas a hidrodestilação, por 3 h, em aparelhagem de Clevenger, com três repetições do procedimento de extração. O rendimento médio das extrações foi de 0,006% após a secagem sob sulfato de sódio anidro.

CGAR-EM

As análises dos extratos das flores e folhas do pau-brasil foram realizadas em um sistema cromatográfico Agilent 6890 acoplado a

um espectrômetro de massas Agilent 5973. Condições do detector: ionização por impacto de elétrons a 70 eV, interface a 280 °C, linha de transferência a 280 °C e fonte iônica a 230 °C. Condições de operação do cromatógrafo: injetor no modo “splitless” (tempo de válvula 0,5 min) a 260 °C; gás de arraste He com fluxo de 1 mL/min; programação de aquecimento do forno cromatográfico: 40 °C (0,5 min) seguido de gradiente de temperatura de 5 °C/min até 260 °C (15 min). Coluna capilar DB-1 (J&W): 25,0 m x 0,25 mm x 0,25 µm para o extrato das flores e 25,0 m x 0,25 mm x 1,0 µm para o óleo essencial das folhas. As estruturas das substâncias foram determinadas com base na análise e comparação de seus espectros de massas com a espectroteca Wiley 275, bem como pela comparação de seus índices de retenção com a literatura¹⁹.

Os valores de índice de retenção de Kováts foram calculados baseando-se na injeção de uma mistura de alcanos lineares nas mesmas condições de análise acima descritas.

REFERÊNCIAS

1. Corrêa, M. P.; *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil*, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal: Rio de Janeiro, 1984, vol. 5.
2. Lorenzi, H.; *Árvores brasileiras - Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*, Ed. Plantarum: Nova Odessa, 1992, p. 352.
3. Bueno, E.; *Pau-brasil*, Axis Mundi Editora: São Paulo, 2002.
4. <http://www.sbg.org.br/PN-NET/causo7.htm>, acessada em Março 2004.
5. Dobson, H. E. M.; Arroyo, J.; Bergstrom, G., I.; *Biochem. Syst. Ecol.* **1997**, *25*, 685.
6. Nielsen, J. K.; Jakobsen, H. B.; Friis, P.; Hansen, K.; Moller, J.; Olsen, C. E.; *Phytochemistry* **1995**, *38*, 847.
7. Fernando, L. N.; Grun, I. U.; *Fl. Frag. J.* **2001**, *16*, 289.
8. Andrade, E. H. A.; Zoghbi, M. D. B.; Maia, J. G. S.; *J. Essent. Oil Res.* **2000**, *12*, 163.
9. Porter, A. E. A.; Griffiths, D. W.; Robertson, G. W.; Sexton, R.; *Phytochemistry* **1999**, *51*, 211.
10. Bergstrom, G.; Dobson, H. E. M.; Groth, I.; *Plant Syst. Evol.* **1995**, *195*, 221.
11. Kite, G. C.; Leon, C.; *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1093.
12. Hatanaka, A.; *Phytochemistry* **1993**, *34*, 1201.
13. Nagai, M.; Nagumo, S.; Eguchi, I.; Lee, S. M.; Suzuki, T.; *J. Pharm. Soc. Jp.* **1984**, *104*, 935.
14. Namikoshi, M.; Nakata, H.; Yamada, H.; Nagai, M.; Saitoh, T.; *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 2761.
15. Sengupta, P.; Roy, S.; Das, K. G.; *Chem. Ind.* **1970**, *16*, 534.
16. Peter, S. R.; Tinto, W. F.; McLean, S.; Reynolds, W. F.; Tay, L. L.; Yu, M.; Chan, W. R.; *Magn. Reson. Chem.* **1998**, *36*, 124.
17. Moon, C. K.; Park, K. S.; Kim, S. G.; Won, H. S.; Chung, J. H.; *Drug Chem. Toxicol.* **1992**, *81*.
18. Choi, S. Y.; Moon, C. K.; *Planta Med.* **1997**, *63*, 400.
19. Jennings, W.; Shibamoto, T.; *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Chromatography*, Academic Press: New York, 1980.