

ALFREDO P. GOUVEIA

MARIA GABRIELA S. FIGUEIREDO

ABÍLIO M. SILVA

A. J. A. DE GOUVEIA

Laboratório Químico da Faculdade de Ciências e Tecnologia  
Universidade de Coimbra  
Portugal



## ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *HETEROPYXIS natalensis* HARV.

Folhas secas e moídas de *Heteropyxis natalensis* Harv. proveniente de Moçambique, amostra a da Namaacha (colheita em Janeiro), amostra b de Boane (colheita em Junho) foram destiladas por arrasto de vapor (rendimento 0,24 %). O estudo analítico fez-se por cromatografia em fase gasosa. Por este método e ainda por espectrofotometria I. V. e espectrografia de massa identificaram-se os seguintes componentes:  $\alpha$ -pineno, benzaldeído,  $\beta$ -pineno limoneno, cineol, óxido de linalol, linalol,  $\alpha$ -terpineol, geraniol, nerol, cinamato de metilo, sesquiterpeno PM = 204, cariofileno,  $\beta$ -selineno, nerolidol, ledol (?), ftalato de butilo e palmitato de metilo. Há a destacar na amostra a a elevada percentagem de linalol (20 %); na amostra b verifica-se um nítido aumento no teor de cineol (de 0,9 a 4,4 %) e uma diminuição na percentagem de linalol (de 20 a 4,4 %).

## 1 — INTRODUÇÃO

Iniciámos o estudo químico de *Heteropyxis natalensis* Harv., proveniente da Namaacha e Boane, estado de Moçambique, que nos foi enviada pelo Laboratório de Botânica da Universidade de Lourenço Marques.

Do género *Heteropyxis* são conhecidas três espécies: *H. dehniae* Suesseng., *H. canescens* Oliv. (*H. transvaalensis* Schinz) e *H. natalensis* Harv., todas localizadas no sudeste de África (1).

*Heteropyxis natalensis* distribui-se pela Rodésia, Moçambique, Transvaal, Suazilândia e Natal, vivendo nas savanas e florestas ribeirinhas, em zonas cuja altitude vai desde os 100 metros até aos 2500 metros (Suazilândia). Pode ocorrer sob a forma de arbusto com cerca de 2 m de altura ou de árvore com porte até 15 m. As folhas são de um verde pálido, alternas, lanceoladas, apresentando bolsas secretórias. As flores, pequenas, com coloração desde o branco ao amarelo esverdeado, são muito aromáticas e encontram-se dispostas em panículas terminais e ramosas.

O problema da posição sistemática do género *Heteropyxis* tem sido muito discutido. Primitivamente esteve incluído na família das *Lythraceae* (2). STERN e BRIZICKY, após um estudo anatómico pormenorizado, efectuaram a comparação do género *Heteropyxis* com as *Lythraceae*, *Rhamnaceae*, *Myrsinaceae*, *Rutaceae* e *Myrtaceae*, chegando à conclusão que o género deve ser incluído nas *Myrtaceae*, como um sub-tipo das *Leptospermeae* (3). Posteriormente WEBERLING, em 1963, e FERNANDES, em 1971 atribuem-lhe a mesma posição (4) e (1).

Como não existem trabalhos fitoquímicos referentes a qualquer uma das espécies citadas, tem este estudo a finalidade, além de determinar a composição do óleo essencial das folhas, de contribuir sob o ponto de vista químico, para o esclarecimento ou confirmação da posição sistemática do género *Heteropyxis*.

## 2 — EQUIPAMENTO

### 2.1 — CROMATOGRAFIA GASOSA

Cromatógrafo Perkin Elmer modelo 900 (detectores de ionização de chama, condutibilidade térmica e captura de electrões) com acessório preparativo e programador «Trigger-Level».

Integrador Infotronics CRS-101

Gerador electrolítico do hidrogénio ultra puro  
— Elhygen-R.

Célula difusora de hélio ETI — mod. SLM-1 A

Colunas experimentadas

15 % de Apiezon L em Chromosorb P (80-100 mesh)

5 % de Carbowax 20 M em Chromosorb W (80-100 mesh)

20 % DEGS (HMDS) em Chromosorb W (100-120 mesh)

20 % DEGS (HMDS) em Supelcoport (80-100 mesh)

3 % SE 30 em Chromosorb W (100-120 mesh)

3 % SE 30 em Supelcoport (100-120 mesh)

3 % SE 30 em Anakrom (70-100 mesh)

Porapak Q (80-100 mesh)

## 2.2 — ESPECTROMETRIA DE INFRA-VERMELHO

Espectrómetro de I. V. Perkin Elmer, modelo 21

## 2.3 — ESPECTROMETRIA DE MASSA

Espectrómetro de massa Aerograph CH 7

Tabela II

Composto	% v/v		Métodos de identificação		
	Amostra a	Amostra b	C. G.	I. V.	E. M.
$\alpha$ -Pino	0,3	1,5	+		+
Benzaldeído	< 0,2	< 0,2	+		+
$\beta$ -Pino	0,9	1,3	+		+
Limono	1	11	+		+
Cineol	0,9	4,4	+		
Óxido de linalol	0,2	0,8			+
Linalol	20	4,4	+	+	+
$\alpha$ -Terpineol	1,9	1	+		+
Geraniol	0,9	0,5	+		+
Nerol	0,8	0,5	+		+
Cinamato de metilo	1	0,2	+		+
Sexquiterpeno PM = 204					+
Cariofileno	3,3	2,8	+	+	+
$\beta$ -Selineno	2,7	2,6			+
Nerolidol	3,6	3,5	+		+
Ledol (?)					+
Ftalato de butilo	0,5	0,5			+
Palmitato de metilo	0,7	0,7	+		+

## 3 — PARTE EXPERIMENTAL

Material: — folhas secas no Laboratório de Botânica da Universidade de Lourenço Marques, (à sombra e à temperatura ambiente) da planta *Heteropyxis natalensis*, colhidas em Moçambique. Dispusemos

Tabela I

Propriedades físicas	Óleo essencial da planta <i>Heteropyxis natalensis</i>	
	Amostra a	Amostra b
Densidade — $d_4^{20}$	0,908	0,898
Índice de refração — $n_D^{20}$	1,491	1,487
Rotação específica — $[\alpha]_D^{20}$	-2,6	-9,25

para o estudo de dois lotes de folhas provenientes de locais distanciados cerca de 50 km e colhidos em estações do ano diferentes.

A amostra *a* corresponde a uma colheita feita na Namaacha no mês de Janeiro e o material da amostra *b* foi recolhido em Boane no mês de Junho.

*Concentração dos componentes Voláteis* — as folhas secas foram moídas em moinho mecânico com peneiros de 1 mm e, em seguida, sujeitas a uma extracção por destilação com arraste de vapor (1 kg de folhas em pó destilado em balão de 12 litros durante 6 horas). A fase sobrenadante foi separada por decantação e, posteriormente, seca sobre sulfato de sódio anidro. A fase aquosa era novamente introduzida no balão de destilação. A partir dos dois lotes acima referidos obtivemos duas amostras de óleo essencial que designamos por amostra *a* e *b* e que correspondem à primeira e segunda colheitas, respectivamente.

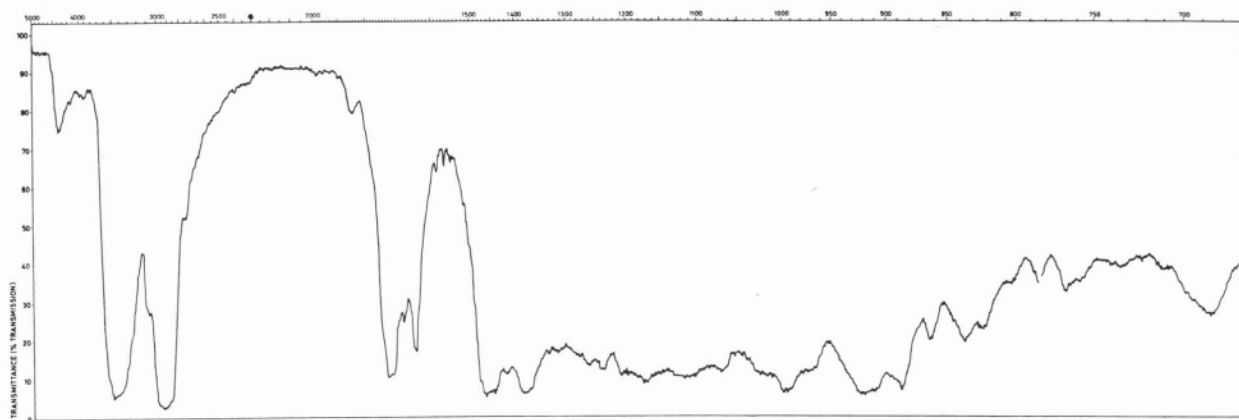


Fig. 1 — Espectro I. V. (amostra a)

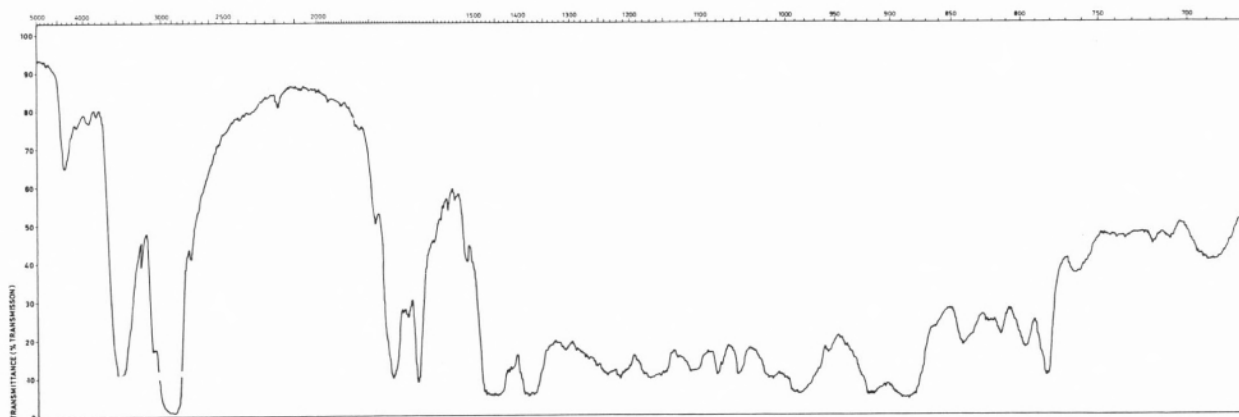


Fig. 2 — Espectro I. V. (amostra b)

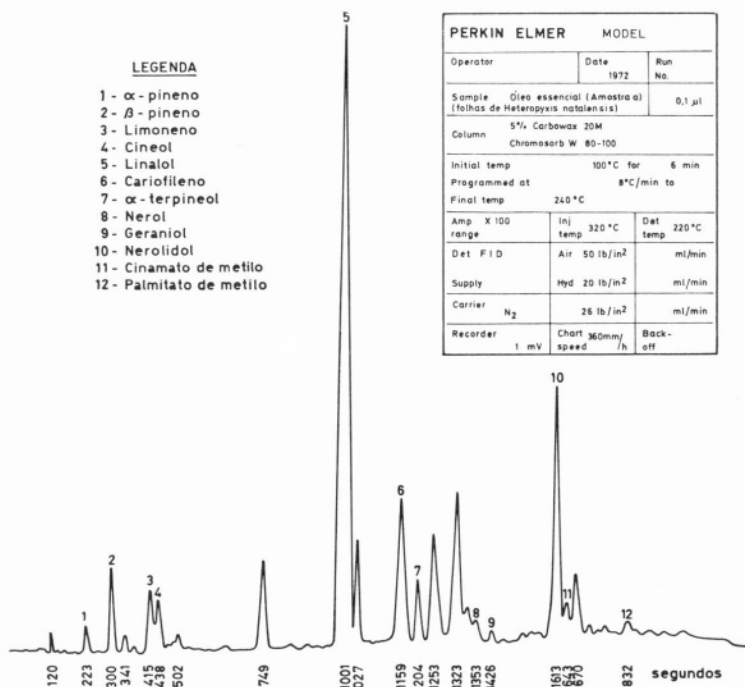


Fig. 3 — Cromatografia gás-líquido (amostra a)

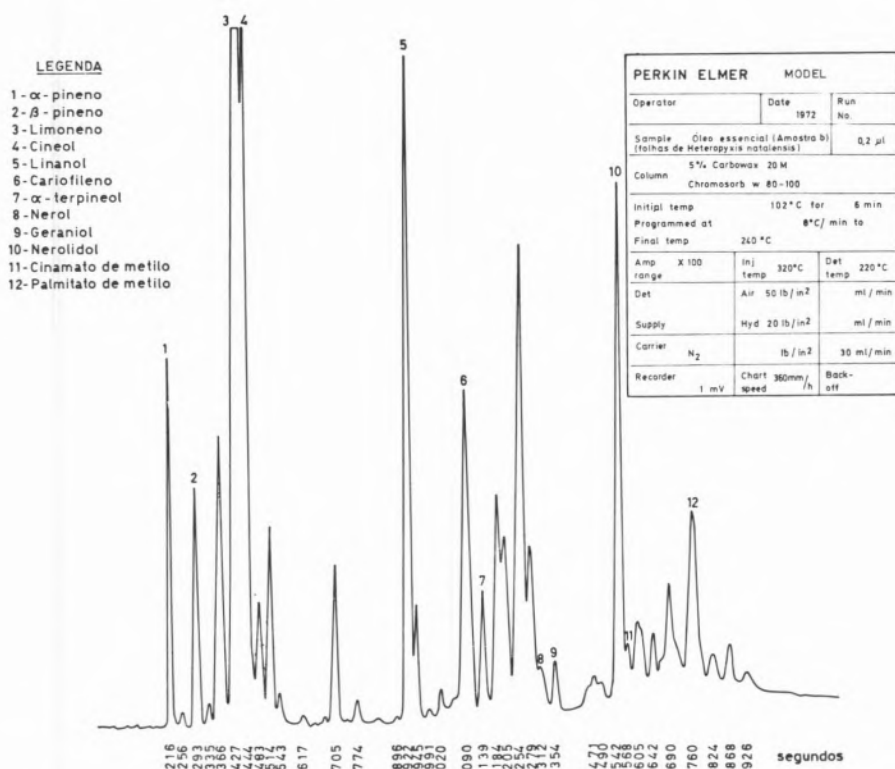


Fig. 4 — Cromatografia gás-líquido (amostra b)

É de notar que o rendimento da extração do óleo foi, em ambos os casos de 0,24 %.

Na tabela I estão expressas algumas das propriedades físicas das amostras citadas.

As figs. 1 e 2 correspondem aos espectros no infra-vermelho (a técnica utilizada na obtenção destes espectros foi análoga à referida para o caso do linalol e cariofileno) do óleo essencial obtido a partir do material da primeira e segunda colheitas, respectivamente.

#### 4 — ESTUDO ANALÍTICO

O processo de análise que usámos, aplicado directamente às duas amostras de óleo após a sua secagem sobre sulfato de sódio anidro, foi o de cromatografia gás-líquido com detectores de ionização de chama.

Experimentámos as colunas atrás mencionadas e, entre elas, seleccionámos, por corresponderem a uma melhor resolução, as seguintes:

A — Coluna de aço com 4 m de comprimento por 1/8 de polegada de diâmetro interno, com enchimento de 5 % Carbowax 20 M em Chromosorb W, 80-100 mesh; a temperatura foi programada entre 102 e 240°C, com seis minutos à temperatura inicial, seguindo-se um aumento de temperatura de 8°C/min.; como gás transportador utilizou-se o azoto R com fluxo de 30 cm<sup>3</sup>/min. (figs. 3 e 4).

B — Coluna de aço com as mesmas dimensões da anterior e enchimento de 20 % DEGS em Supelcoport, 100-120 mesh; temperatura programada entre 70 e 200°C com 4 minutos à temperatura inicial, seguindo-se um aumento de temperatura de 5°C/min.; o gás transportador foi o azoto R com fluxo de 25 cm<sup>3</sup>/min. (figs. 5 e 6).

C — Coluna idêntica às anteriores mas com enchimento de 3 % SE 30 em Supelcoport, 100-120 mesh, temperatura programada entre 75 e 240°C, com 4 minutos à temperatura inicial, seguindo-se um aumento de temperatura de 4°C/min.; usou-se o azoto R como gás transportador com uma pressão de entrada de 26 libras/polegada<sup>2</sup> (figs. 7 e 8).

Se observarmos os vários cromatogramas obtidos, verificamos a existência, nas duas amostras de óleo, de elevado número de componentes (da ordem dos 40), aos quais correspondem bandas com áreas relativas muito diferentes.

Iniciámos a sua identificação aplicando o método dos tempos de retenção. Dispusemos, para esse efeito, de compostos que habitualmente entram na composição de óleos deste tipo, como sejam: monoterpenos, álcoois monoterpenoides, ésteres de álcoois monoterpenoides, sesquiterpenos, etc. Algumas destas amostras, que não se encontravam em grau de pureza conveniente para este tipo de trabalho, foram por nós purificadas com auxílio do acessório preparativo do cromatógrafo. As colunas utilizadas nesta primeira fase do trabalho foram as de Carbowax 20 M, DEGS e SE 30 atrás mencionadas, com variação de temperatura e fluxo. Entre os componentes que existem em elevada concentração nas amostras de óleo e que

ainda não tinham sido identificados pelo processo anteriormente descrito isolámos dois, por cromatografia preparativa. As duas fracções recolhidas foram estudadas por espectrometria de infra-vermelho, sendo a técnica utilizada a seguinte: prepararam-se duas pastilhas com 150 mg de brometo de potássio entre as quais se depositou cuidadosamente uma gota de cada uma das fracções, traçando o espectro em seguida. Por observação atenta dos espectros de infra-vermelho obtidos (figs. 9 e 10), verificámos tratar-se de fracções com grau de pureza apreciável que identificámos como linalol e cariofileno (5).

Para confirmação dos compostos já identificados e numa tentativa de identificação de outros, recorremos à espectrometria de massa associada à cromatografia gasosa. Enviámos uma das amostras (a) do óleo essencial para a Varian International AG (Zurique — Suíça), juntamente com as características da coluna e programação (tipo C) que nos

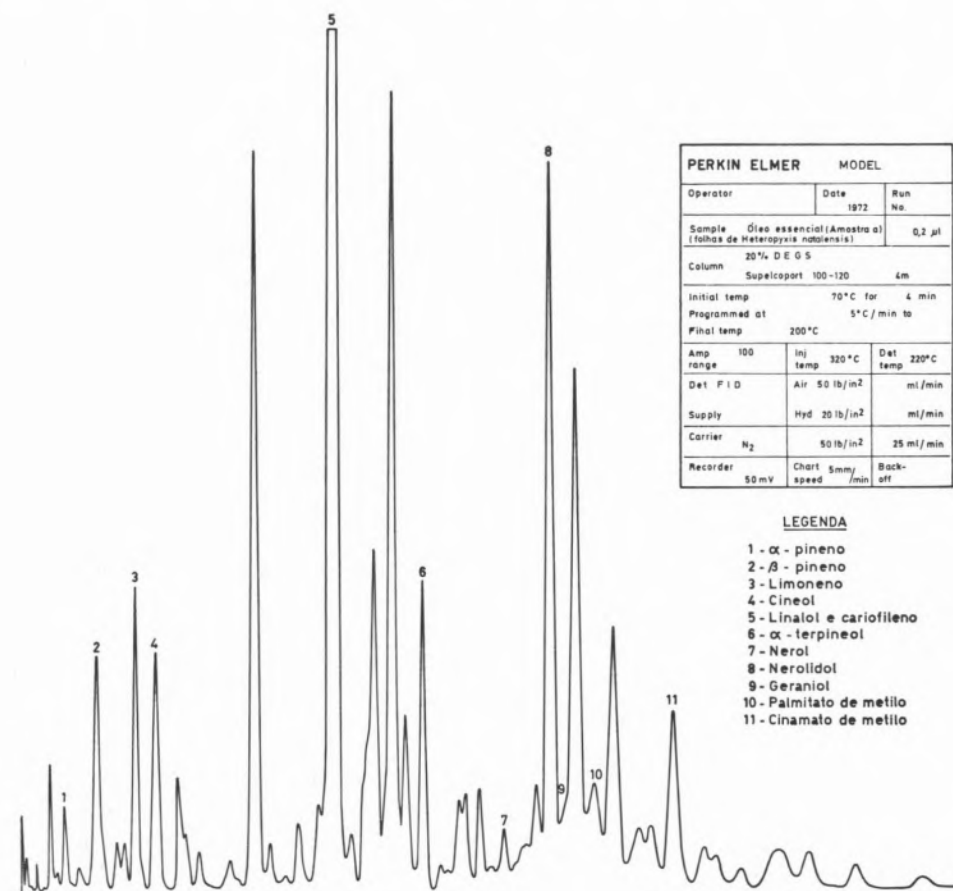


Fig. 5 — Cromatografia gás-líquido (amostra a)

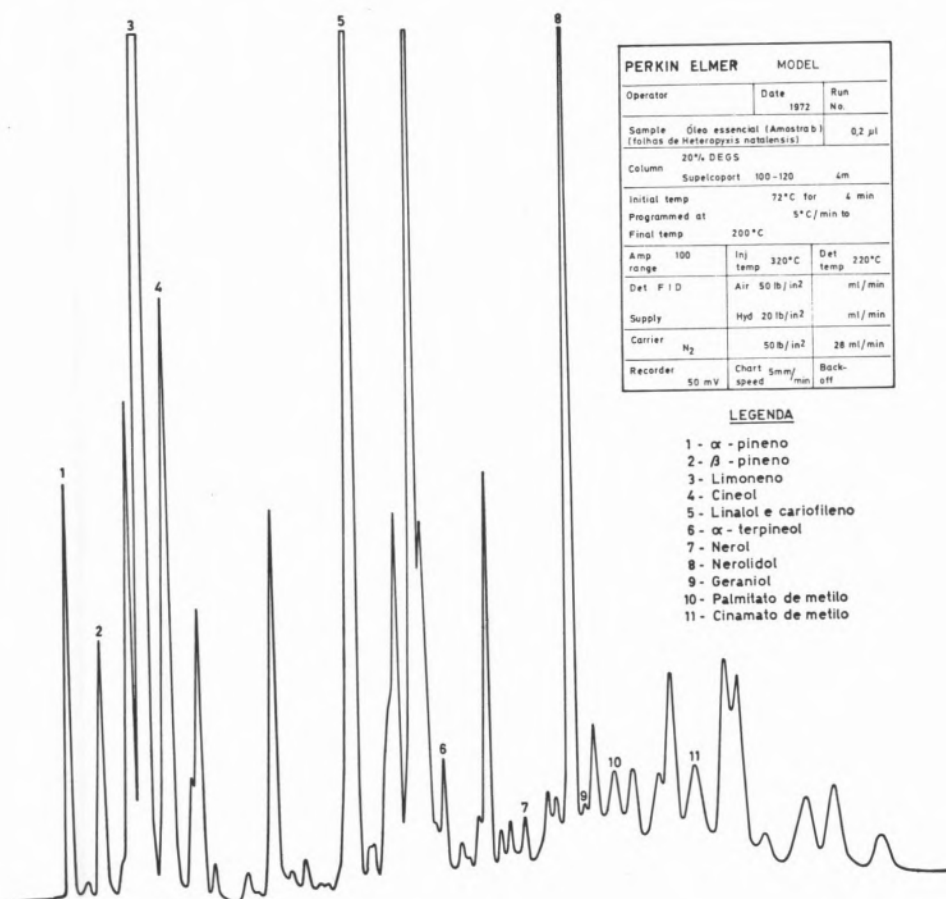


Fig. 6 — Cromatografia gás-líquido (amostra b)

parecem corresponder à melhor resolução; assim obtivemos os espectros de massa correspondentes a 42 dos componentes da amostra enviada. As condições em que estes espectros foram tirados são as seguintes: espectrómetro de massa Aero-graph CH 7, voltagem de aceleração 3 kV, energia  $E = 70$  eV, temperatura da fonte 160°C. Estes espectros permitiram-nos a confirmação dos compostos já identificados e identificar outros conforme se refere na tabela II.

Na análise quantitativa das amostras de óleo utilizámos, fundamentalmente, a coluna tipo A e o método de aferição interna.

Por não possuímos amostras-padrão, não foi possível a aplicação deste método aos compostos óxido de linalol, β-selineno e ftalato de butilo, pelo que o cálculo das áreas dos respectivos picos foi feita por comparação, utilizando a coluna tipo C.

As áreas dos diferentes picos foram calculadas usando o Integrador Infotronics associado ao cromatógrafo.

## 5 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por observação da tabela I verificámos que as propriedades físicas das duas amostras (*a* e *b*) do óleo essencial apresentam valores muito semelhantes, com excepção da rotação específica cujos valores diferem apreciavelmente.

No que respeita à tabela II, há a assinalar a identificação de compostos dos seguintes tipos: mono-terpenos, álcoois monoterpénoides, sesquiterpenos, álcoois sesquiterpenoides e ésteres.

Todos eles foram identificados pelo método dos tempos de retenção, excepto o óxido de linalol, o β-selineno, o ledol e o ftalato de butilo por não



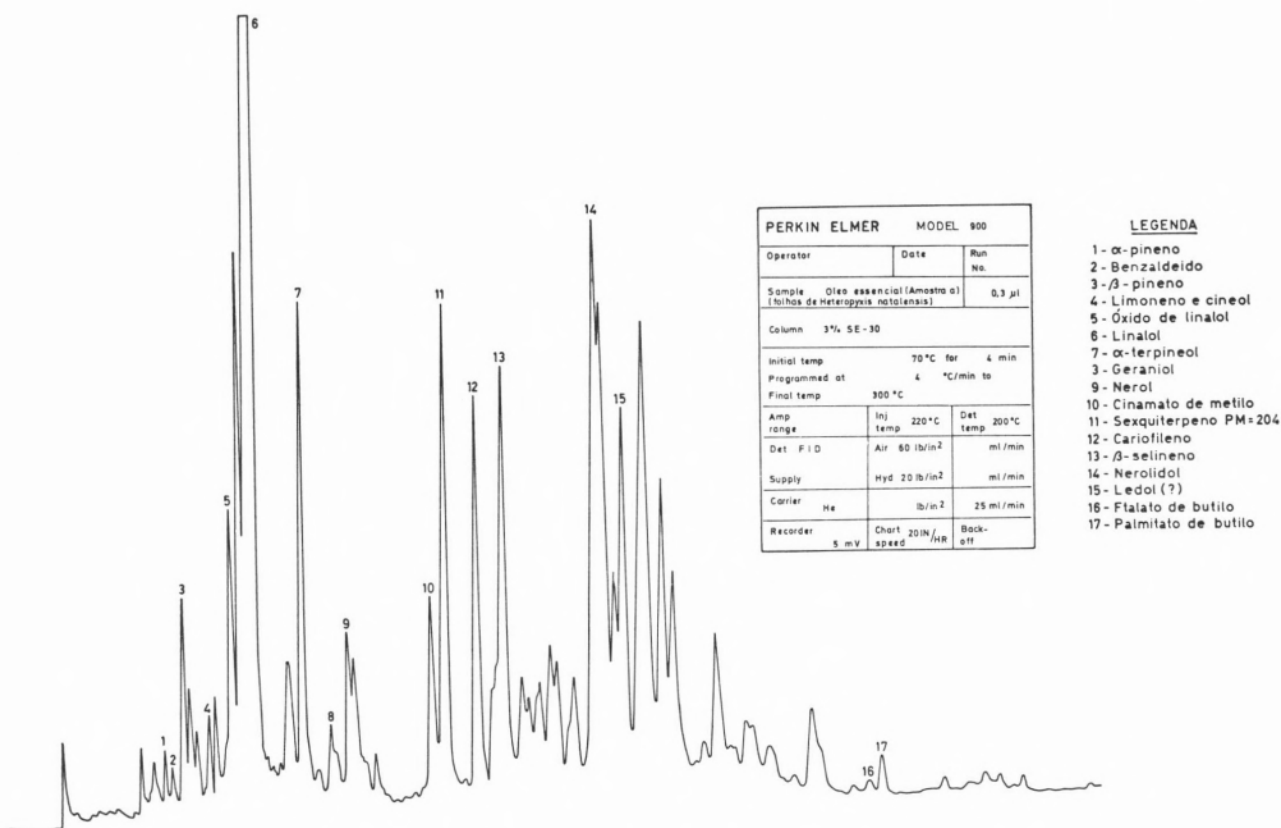


Fig. 7 — Cromatografia gás-líquido (amostra a)

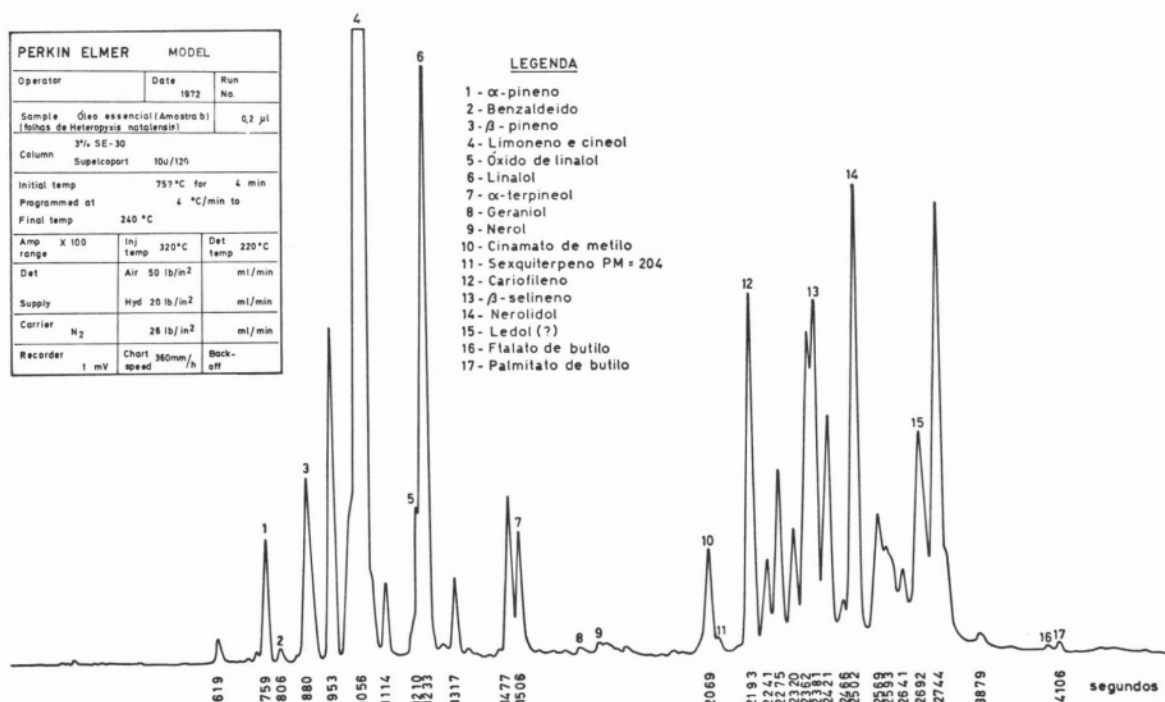


Fig. 8 — Cromatografia gás-líquido (amostra b)

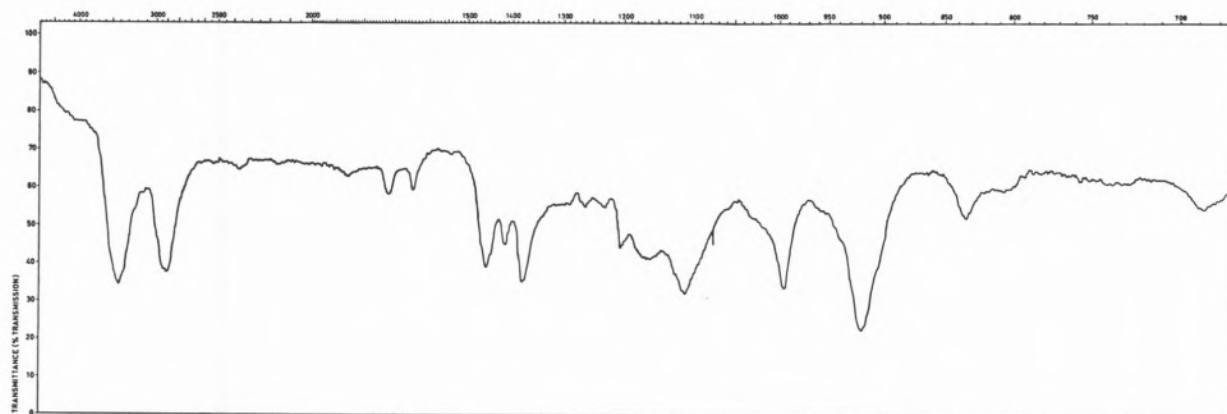


Fig. 9 — Espectro I. V. (linalol)

termos conseguido obter amostras destes produtos para os ensaios.

Os espectros de massa permitiram-nos a identificação dos compostos atrás citados, bem como de todos os outros, com duas excepções: o cineol por a coluna de SE 30 não o separar eficazmente do limoneno, e o ledol em cujo espectro se verificam algumas anomalias, o que nos levou a pôr reservas na sua identificação. Por espectrometria de massa também concluímos que os picos compreendidos entre os números 11 e 14, exclusivé, (figs. 7 e 8), correspondem a sesquiterpenos de peso molecular 204, embora só nos fosse possível confirmar o cariofileno e identificar o  $\beta$ -selineno.

Recorremos à espectrometria de infra-vermelho no caso do linalol e cariofileno.

Embora, sob o ponto de vista qualitativo os compostos identificados sejam os mesmos nas duas amostras, há que destacar diferenças apreciáveis no aspecto quantitativo. Assim a maior diferença corresponde à abundância do limoneno que é de 11 % na amostra *b* e somente de 1 % na amostra *a*; segue-se o linalol com 20 % na amostra *a* e 4,4 % na amostra *b*; e finalmente o cineol apresenta um valor de 0,9 % na amostra *a* e 4,4 % na amostra *b*; as variações são pouco significativas nos restantes compostos identificados. Há a assinalar a elevada percentagem de linalol na amostra *a* que atinge o valor de 20 %.

As variações encontradas nas propriedades físicas e composições quantitativas das duas amostras da planta só poderão estar relacionadas com o facto

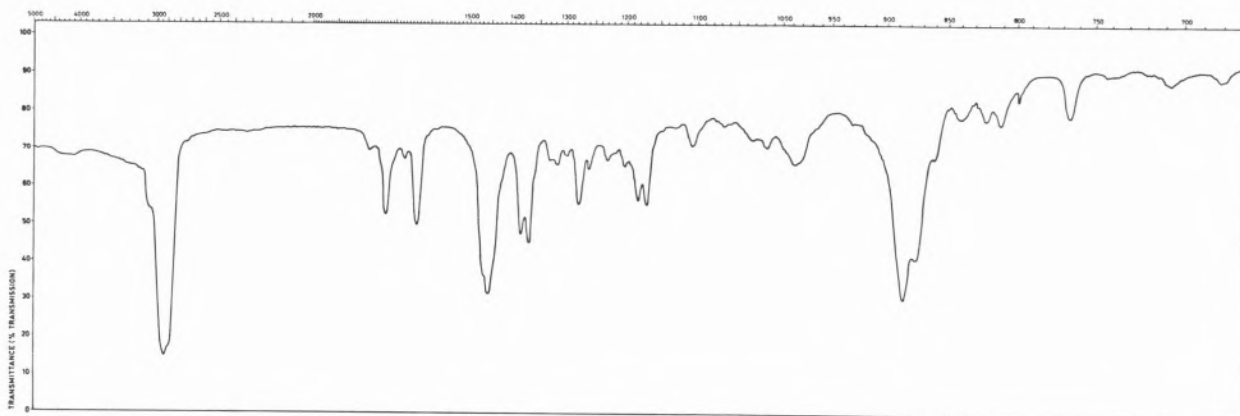


Fig. 10 — Espectro I. V. (cariofileno)



de elas terem sido recolhidas em épocas e locais diferentes.

Para confirmação desta hipótese vamos continuar o estudo quantitativo do óleo essencial de *Heteropyxis natalensis*, obtido a partir das folhas, fazendo variar a época da colheita ao longo do ano, bem como estudar a composição do óleo obtido a partir das flores.

Será este o tema do aditamento ao presente trabalho que publicaremos em breve.

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Doutor Abílio Fernandes o interesse que mostrou por este trabalho e ao Prof. Doutor José Ernesto de Mesquita Rodrigues todo o trabalho de colheita e envio de material.

Agradecemos à Varian International AG (Zurique) os espectros de massa que graciosamente nos forneceu.

### BIBLIOGRAFIA

1. Fernandes, A., *Mitt Bot. Staatssaml. Munchen*, **10**, 207 (1971).
2. Hegnauer, R., «Chemotaxonomie der Pflanzen», Birkhauser Verlag, Basel, 1966, p. 249.
3. Stern e Brizicky — *Bull. Torrey Bot. Club*, **85**, 111 (1958).
4. Weberling, F., *Bot. Jahrb.*, **82**, 119 (1963).
5. Bellanato, J. e Hidalgo, A., «Infrared Analysis of Essential Oils», Heyden & Son Ltd., London, 1971.
6. Thomas, A. F. e Wilhalm, B., *Helv. Chim. Acta*, **47**, 475 (1964).
7. Hicl, H. C., Reed, R. I. e Lopes, M. T. R., *J. Chem. Soc.* 93 (1968).
8. Willhalm, B., Thomas, A. F. e Stoll, M., *Acta Chem. Scand.*, **18**, 1573 (1964).
9. Von Sydow, E., *Acta Chem. Scand.*, **18**, 1099 (1964).
10. Andersson, J. e Von Sydow, E., *Acta Chem. Scand.*, **18**, 1105 (1964).
11. Von Sydow, E., *Acta Chem. Scand.*, **19**, 2083 (1965).
12. Von Sydow, E., *Acta Chem. Scand.*, **17**, 2504 (1963).
13. Ryhage, R. e Von Sydow, E., *Acta Chem. Scand.*, **17**, 2025 (1963).
14. «Mass Spectral Data Sheets», Mass Spectrometry Data Centre, A. W. R. E., Aldermaston Berks.

### ABSTRACT

Grinded dry leaves of *Heteropyxis natalensis* Harv. coming from Mozambique (sample a from Namaacha, gathered in January, sample b from Boane, in June) were submitted to steam distillation (yielding 0,24 %). The analytical study of this oil was done by gas phase chromatography. By this method and also by I. R. and mass spectroscopy the following substances were identified:  $\alpha$ -pinene, benzaldehyde,  $\beta$ -pinene, limonene, cineole, linalol oxide, linalol, terpineol, geraniol, nerol, methyl cinnamate, sesquiterpene MW = 204, caryophyllene,  $\beta$ -selinene, nerolidol, ledol (?), butylphthalate and methyl palmitate. In sample a we should mention the high percentage of linalol (20 %); in sample b there is a marked increase in the yield of cineol (0,9 to 4,4 %) and decrease of the percentage of linalol (20 to 4,4 %).