

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ESTUDO QUÍMICO EM RESÍDUOS MADEIREIROS E FLORESTAIS DE ESPÉCIES
SECRETORAS: *Protium tenuifolium* (BURSERACEAE) E *Manilkara huberi*
(SAPOTACEAE)

SAMIRIMI JANUARIO SILVA

MANAUS

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ

SAMIRIMI JANUARIO SILVA

ESTUDO QUÍMICO EM RESÍDUOS MADEIREIROS E FLORESTAIS DE ESPÉCIES
SECRETORAS: *Protium tenuifolium* (BURSERACEAE) E *Manilkara huberi*
(SAPOTACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração em Química Orgânica.

Orientadora: Dr^a. Maria da Paz Lima
Co-orientadora: Dr^a Claudete Catanhede do Nascimento
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

MANAUS

2015

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586e Silva, Samirimi Januario
Estudo químico de resíduos madeireiros e florestais de espécies secretoras: *Protium tenuifolium* (BURCERACEAE) e *Manilkara Huberi* (SAPOTACEAE) / Samirimi Januario Silva. 2015
125 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Dra. Maria da Paz Lima
Coorientadora: Dra. Claudete Catanhede do Nascimento
Dissertação (Mestrado em Química de Prod. Naturais) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. *Protium tenuifolium*. 2. *Manilkara huberi*. 3. Estudo químico . 4. Fitoquímica. I. Lima, Dra. Maria da Paz II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por ter me concedido o dom da vida e ter me abençoado ao colir tantas pessoas boas e amáveis em meu caminho.

À **minha mãe Antônia Silva** e **meu irmão Wellington da Silva** por sempre me ajudarem, me incentivando a crescer e acreditar que posso alcançar meus sonhos.

À **Drª Maria da Paz Lima** pelos ensinamentos, compreensão, apoio e dedicação durante esse trabalho.

Ao amigo **Renan Feitosa**, por todo companheirismo, amizade, conselhos, paciência e compreensão.

À grande amiga **Marilize Damasceno** pelas orações e palavras de incentivo nos momentos mais difíceis.

As minhas amigas **Dani Costa**, **Cristiane Miranda** e **Fabiane Oliveira** por todo apoio e carinho.

A **Elivano Junior Santos** pelo apoio, companheirismo e por sempre estar disposto a me ouvir.

Aos meus amigos da pós-graduação: **Andreza Ramos**, **Alcilene Dias**, **Sidney Azevedo**, **Orlando Paes**, **Fabiana Almeida**, **Elzalina Soares**, **Bruna Ribeiro**, **Jesyka Aroucha**, **Adriana Cavalcante** e **Edzon Veiga** pelo apoio e companheirismo.

Aos professores do PPGQ, em especial ao professor **Drº Marcos Machado**, **Drª Rita Nunomura**, **Drº Afonso Duarte**, **Drª Cecília Nunez** e **Drª Maria Lúcia Belém**.

Aos meus colegas de laboratório: **Loretta Ennes, Gabriela Farias, Jean Rodrigues e Jhonis Bentes** pela boa convivência e contribuição nas correções do meu trabalho, em especial ao **Willian Hayasida**.

Aos meus colegas do laboratório **LAPAAM** por contribuírem com suas experiências e pequenos favores. Em especial a **Viviane Guedes, Ketlellin Galeno, Berna Almeida, Rita Cinara e Paula Paz**.

À **Lyege Magalhães e Magno Pêrea** pelo apoio na obtenção dos espectros de RMN.

À **Joelma Alcântara** pelo auxílio nas análises dos óleos essenciais e ajuda nas correções.

À **Drª Marcia Ortiz e Drª Roselaine Facanali**, do IAC, pelo apoio na obtenção dos cromatogramas.

Ao **INPA** pela estrutura física oferecida e oportunidade de trabalho.

À **UFAM** pela oportunidade de aperfeiçoamento oferecida através do Programa de Pós Graduação em Química (**PPGQ**).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**), pela bolsa concedida.

RESUMO

Palavras-chave: *Protium tenuifolium*; *Manilkara huberi*; Estudo fitoquímico

Protium (Burseraceae) e *Manilkara* (Sapotaceae) ocorrem na Amazônia e apresentam importância econômica no setor madeireiro, além do potencial biológico dos seus metabólitos secundários. Considerando a escassez de estudos em resíduos madeireiros e florestais desses gêneros, neste trabalho foi avaliado do ponto de vista químico, resíduos florestais e madeireiros de *Protium tenuifolium* e *Manilkara huberi*. Assim, o estudo fitoquímico do extrato metanólico dos resíduos madeireiros de *Manilkara huberi* conduziu ao isolamento do *p*-hidroxibenzaldeído e de uma nova saponina triterpênica identificada como 2 β ,3 β ,6 β ,28-tetra-hidroxi-olean-12-en-23-oico éster 23-O- α -L-ramnosepiranosil. No extrato hexânico de resíduos florestais (galhos) de *Protium tenuifolium* foram identificadas misturas de triterpenos (α e β - amirina) e de esteroides (β -sitosterol e estigmasterol). O estudo do extrato metanólico desta espécie resultou no isolamento de policetídeos inéditos na família Burseraceae, conhecidos como integracina A e Integracina B. A identificação das substâncias foram baseadas nos espectros de RMN uni e bidimensional. Os constituintes voláteis das cascas de *P. tenuifolium* foram obtidos por hidrodestilação e avaliados por CG/DIC e CG/EM. Na composição predominou os monoterpenos limoneno (56,17%), α -felandreno (16,22%) e *p*-cimeno (10,52%). O presente estudo contribuiu de maneira significativa para o conhecimento químico das espécies amazônicas, agregando valor comercial, científico e biológico aos resíduos madeireiros e florestais.

ABSTRACT

Key words: *Protium tenuifolium*; *Manilkara huberi*; phytochemical study

Protium (Burseraceae) and *Manilkara* (Sapotaceae) occur in the Amazon and show economic importance in the timber industry beyond the biological potential of its secondary metabolites. Considering the scarcity of studies on wood and forest residues of these genus, this study was evaluated from the chemical point of view, forest and wood residues of *Protium tenuifolium* and *Manilkara huberi*. Thus, the phytochemical study of the methanol extract of wood residues from *Manilkara huberi* led to the isolation of *p*-hydroxybenzaldehyde) and a new saponin triterpen identified as 2 β , 3 β , 6 β , 28-tetrahydroxy-olean-12-en-23-oic ester 23-O- α -L-ramnosepyranosyl. In the hexane, extract of forest residues (branches) from *Protium tenuifolium* were identified the mixture α and β -amyrin (triterpenes) β -sitosterol and stigmasterol (steroids). The study of the methanol extract of this species resulted in the isolation of the unpublished polyketides in the Burseraceae family; known as integracin A and B. Identification of compound were based in NMR spectra uni and two-dimensional. The volatile constituents of the bark of *P. tenuifolium* were evaluated, the essential oil obtained by hydrodistillation and the chemical constituents analyzed by GC/FID and GC/MS. In the composition predominated the monoterpenes limonene (56.17%), α -phellandrene (16.22%) and *p*-cymene (10.52%). This study contributed significant to the chemical knowledge of Amazonian species studied, aggregating commercial, scientific and biological value to compounds identified in wood and forest residues.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Triterpenos isolados das resinas de <i>Protium</i>	27
Tabela 2. Esteroides isolados das partes lenhosas de <i>Protium</i>	28
Tabela 3. Lignanas isoladas do caule de <i>Protium</i>	28
Tabela 4. Cumarinas e cumarinolignanas em partes lenhosas de ocorrência em <i>Protium</i>	29
Tabela 5. Principais constituintes químicos dos óleos essenciais de <i>Protium</i>	31
Tabela 6. Compostos isolados das partes lenhosas de <i>Manilkara</i>	37
Tabela 7. Reunião das frações obtidas de MHM	46
Tabela 8. Reunião das frações obtidas de PTHG	49
Tabela 9. Dados de ^1H (300 MHz, MeOD), HSQC e HMBC (300/75 MHz, MeOD) da substância MHM-7.20.S	66
Tabela 10. Dados de ^1H e ^{13}C de MHM1.32.X1.10.4 comparados com a literatura	73
Tabela 11. Dados de HMBC para os hidrogênios dos anéis aromáticos de PTMG-10 ^a	88
Tabela 12. Dados de ^1H (600 MHz, MeOD) e ^{13}C (150 MHz, MeOD) de PTMG-10A e B	89
Tabela 13. Composição percentual dos óleos essenciais de <i>Protium tenuifolium</i>	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais constituintes da madeira e percussores na formação de ligninas	19
Figura 2. Desenho esquemático da anatomia do tronco de uma folhosa	20
Figura 3. Planos de corte em um corpo de prova e principais elementos observados	21
Figura 4. Uso da madeira nativa amazônica pelo setor madeireiro em 2009 (milhões m ³)	22
Figura 5. Cromatograma da amostra PTMG-10 e os picos “trapeados”	56
Figura 6. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, MeOD) e expansão de MHM7.20.S	67
Figura 7. Mapa de contorno de HSQC de MHM7.20.S	68
Figura 8. Mapa de contorno de HMBC de MHM7.20.S	69
Figura 9. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, Pyr-d ₅) de MHM1.32.X1.10.4	74
Figura 10. Espectro de RMN ¹³ C (75 MHz, Pyr-d ₅) e ampliações de MHM1.32.X1.10.4	75
Figura 11. Mapa de contorno de HSQC de MHM1.32.X1.10.4	76
Figura 12. Mapa de contorno de HMBC de MHM1.32.X1.10.4	77
Figura 13. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) e expansão de PTHG-6.2.5	80
Figura 14. Expansão do espectro de RMN ¹ H na região 4,9-5,3 ppm (A) e 3,1-3,3 ppm (B) e de PTHG-6.2.5	81
Figura 15. Mapa de contorno de HSQC de PTHG-6.2.5	82
Figura 16. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) e expansão de PTHG-8	85

Figura 17 Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD) de PTMG-10 ^a	90
Figura 18. Ampliações no espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD) de PTMG-10A	91
Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, MeOD) de PTMG-10A	92
Figura 20. Mapa de contorno HSQC de PTMG-10A	93
Figura 21. Mapa de contorno HMBC de PTMG-10A	94
Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD) de PTMG-10B	95
Figura 23. Ampliações no espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD) de PTMG-10B	96
Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, MeOD) de PTMG-10B	97
Figura 25. Mapa de contorno HSQC de PTMG-10B	98
Figura 26. Mapa de contorno HMBC de PTMG-10B	99
Figura 27. Cromatograma CG-EM do óleo essencial das cascas de <i>Protium tenuifolium</i>	102
Figura 28. Macrofotografias do plano transversal com aumento de 50X	103
Figura 29. Microfotografias com aumento de 50X no plano transversal	104
Figura 30. Microfotografias com aumento de 50X plano tangencial.	104
Figura 31. Microfotografias com aumento de 50X plano radial.	105

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Classificação botânica das folhosas	18
Esquema 2. Preparação dos extratos vegetais hexânicos e metanólicos	44
Esquema 3. Fracionamento cromatográfico de MHM	45
Esquema 4. Fracionamento cromatográfico de MHM-7	47
Esquema 5. Fracionamento cromatográfico de MHM 32	48
Esquema 6. Fracionamento cromatográfico de PTHG	49
Esquema 7. Fracionamento cromatográfico de PTHG-6	50
Esquema 8. Purificação do sólido PTHG 8	51
Esquema 9. Partição do extrato metanólico dos galhos de PTMGE	52
Esquema 10. Fracionamento cromatográfico de PTMG	53
Esquema 11. Fracionamento cromatográfico de PTMG-14.8	54
Esquema 12. Fracionamento cromatográfico de PTMC	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Utilização dos resíduos madeireiros pelas indústrias de Manaus	23
Quadro 2. Substâncias isoladas das partes lenhosas do gênero <i>Protium sp</i>	30
Quadro 3. Substâncias isoladas das partes lenhosas de <i>Manilkara</i>	37
Quadro 4. Substâncias identificadas no extrato metanólico do caule de <i>Manilkara huberi</i>	63
Quadro 5. Substâncias identificadas no extrato hexânico dos galhos <i>Protium tenuifolium</i>	63
Quadro 6. Substâncias identificadas nos extratos metanólicos de galhos e caule de <i>Protium tenuifolium</i>	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
APG	Grupo de Filogenia das Angiospérmicas
CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG/DIC	Cromatografia gasosa com detector de ionização por chama
CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
cm	Centímetros
DCM	Dicloro metano
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
eV	Elétron volts
Fig.	Figura
g	Gramas
h	Altura
Hex	Hexano
HSQC	Heteronuclear Spectroscopy Quantum Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
IAC	Instituto Agronômico de Campinas
<i>J</i>	Constante de acoplamento
Km ²	Quilômetros quadrado
mg	Miligramas
mm	Milímetros
M ³	Metro cúbico

<i>m</i>	Multiplete
MeOH	Metanol
MHM	Extrato metanólico de <i>Manilkara huberi</i>
min	Minutos
mL	Mililitros
nm	Nanômetros
°C	Grau Celsius
PTHG	Extrato hexânico dos galhos de <i>Protium tenuifolium</i>
PTMG	Extrato metanólico dos galhos de <i>Protium tenuifolium</i>
Ref.	Referências
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
UV	Ultravioleta
<i>s/</i>	Singleto largo
<i>t</i>	Tripleto
μL	Microlitros
μm	Micrometros

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Biodiversidade e Classificação das espécies madeireiras	18
1.2. Madeira e sua anatomia	19
1.3. Identificação anatômica de madeiras	21
1.4. Resíduos madeireiros	22
1.5. Estudos químicos e biológicos em resíduos madeireiros	24
2. GÊNEROS <i>Protium</i> E <i>Manilkara</i>	25
2.1. Gênero <i>Protium</i> (Burseraceae)	26
2.2. Estudos da composição química dos óleos essenciais de <i>Protium</i>	31
2.3. Gênero <i>Manilkara</i> (Sapotaceae)	36
3. OBJETIVO	38
3.1. Objetivo geral	39
3.2. Objetivo específico	39
4. METODOLOGIA	40
4.1. Materiais utilizados	41
4.2. Equipamentos	42
4.3. Material botânico	43
4.3.1. Coleta e identificação	43
4.3.2. Processamento das amostras vegetais	43
4.3.3. Preparação dos extratos brutos	43
4.4. Extrato metanólico de <i>Manilkara Huberi</i> (MHM)	45

4.4.1. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico do caule	45
4.4.2. Fracionamento cromatográfico de MHM-7	47
4.4.3. Fracionamento cromatográfico de MHM-32	48
4.5. Extrato hexânico de <i>Protium tenuifolium</i>	49
4.5.1. Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico do galho	49
4.5.2. Fracionamento cromatográfico de PTHG6	50
4.5.3. Purificação de sólido da fração PTHG 8	51
4.6. Extrato metanólico de <i>Protium tenuifolium</i>	52
4.6.1. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico do galho	52
4.6.2. Fracionamento cromatográfico da fase PTMG	53
4.6.3. Parâmetros utilizados no CLAE	55
4.6.4. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico do caule	57
4.7. Extração de óleo essencial de <i>Protium tenuifolium</i>	58
4.7.1. Extração dos óleos essenciais	58
4.7.2. Cálculo do rendimento	58
4.7.3. Avaliação e identificação dos constituintes do óleo essencial	58
4.8. Identificação macroscópica e microscópica de madeira	60
4.8.1. Preparo dos corpos de prova e caracterização anatômica da madeira	60
4.8.2. Preparo de lâminas permanentes para microscopia	60
4.8.3. Descrições macroscópicas, microscópicas e identificação	60
5. RESULTADOS E DISCURSÃO	61
5.1. Estrutura das substâncias identificadas	62

5.2.	Identificação das substâncias isoladas de <i>Manilkara huberi</i>	65
5.2.1.	Identificação de MHM-7.20. S	65
5.2.2.	Identificação de MHM1.32.X1.10.4	70
5.3.	Identificação das substâncias isoladas de <i>Protium tenuifolium</i>	78
5.3.1.	Identificação de PTHG 6.2.5- A e PTHG 6.2.5- B	78
5.3.2.	Identificação de PTHG-8	83
5.3.3.	Identificação de PTMG-10A e PTMG-10B	86
5.4.	Composição do óleo de <i>Protium tenuifolium</i>	100
5.5.	Identificação macroscópica e microscópica de <i>Protium tenuifolium</i>	103
6.	CONCLUSÃO	106
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108

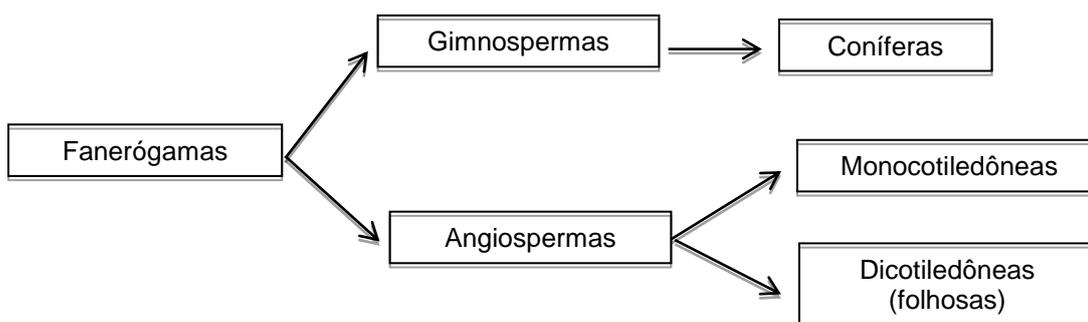
1. INTRODUÇÃO

1.1. Biodiversidade e classificação das espécies madeireiras

Segundo o ministério do meio ambiente (MMA, 2000), a biodiversidade é a variabilidade de organismos vivos e suas espécies, provenientes de todas as origens, sejam elas de ecossistemas terrestres, aéreos ou aquáticos. Esse conceito deixa evidente que a quantidade de espécies, área territorial e tipo de habitat irão influenciar na determinação da dimensão da biodiversidade. O Brasil ocupa quase a metade da América do Sul e abriga a maior biodiversidade do planeta (MMA, 2012) que se distribui entre diversos biomas, dentre eles a Amazônia.

A Amazônia está presente em nove países. A Amazônia brasileira abrange cerca de 4 milhões de Km² e nove estados (SECOM, 2012). Diversas riquezas naturais com importância econômica e científica estão inseridas nesse território, sendo esta região a maior produtora de madeira tropical no mundo (OIMT, 2010).

Segundo o sistema APG III, do reino plantae, as árvores produtoras de madeira (folhosas) são da divisão das Espermatófitas (com sementes), Fanerógamas (com flores) e Tracheophyta (vasculares). Subdivididas em Gimnospermas (sem frutos) e Angiospermas (com frutos) e são classificadas em Dicotyledoneae e Monocotyledoneae (MOBOT, 2014) (Esquema. 1). As angiospermas possuem o maior número de espécies (250.000) e no Brasil podem chegar a 45.000 (Lewinsohn e Prado, 2002).



Esquema 1. Classificação taxonômica das folhosas

A madeira é um produto das árvores, segundo Klock e Muniz (1998) dentre as substâncias principais que a formam estão os polímeros de celulose (glicoses), hemicelulose (pentoses e hexoses), ligninas (precursores básicos: álcoois *p*-cumárico, sinapílico e coniferílico) e os metabólitos secundários. (Figura 1)

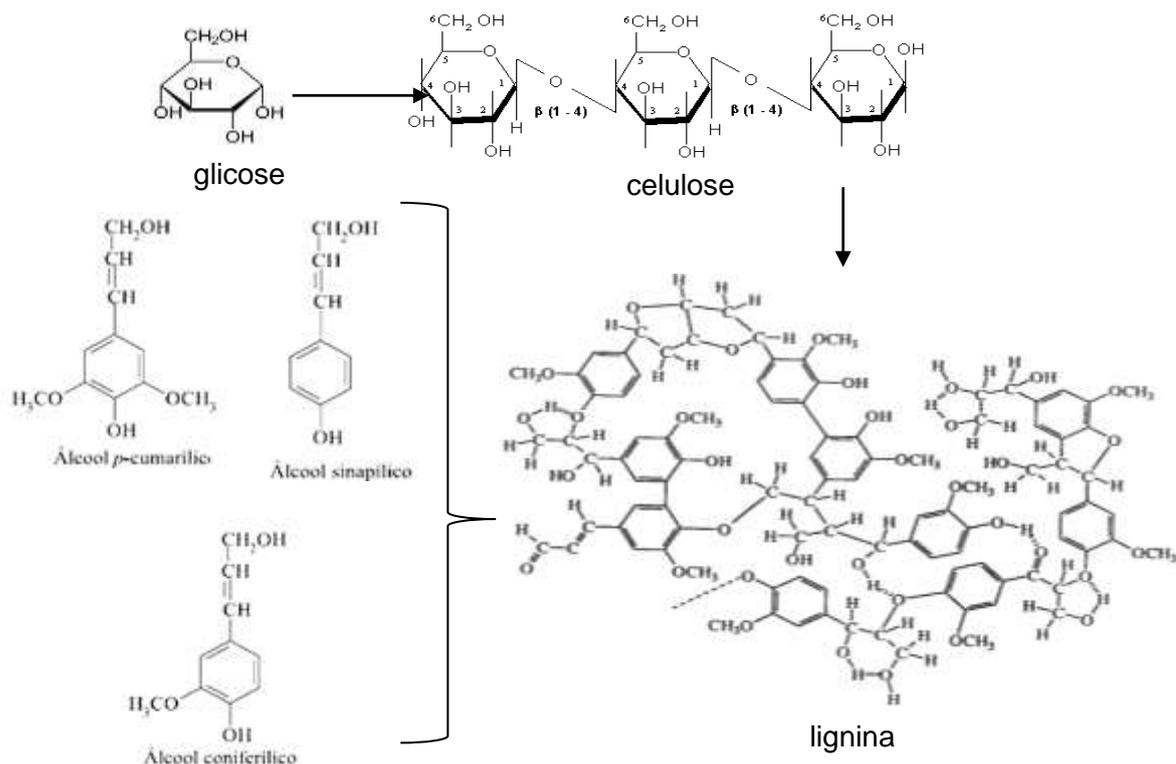
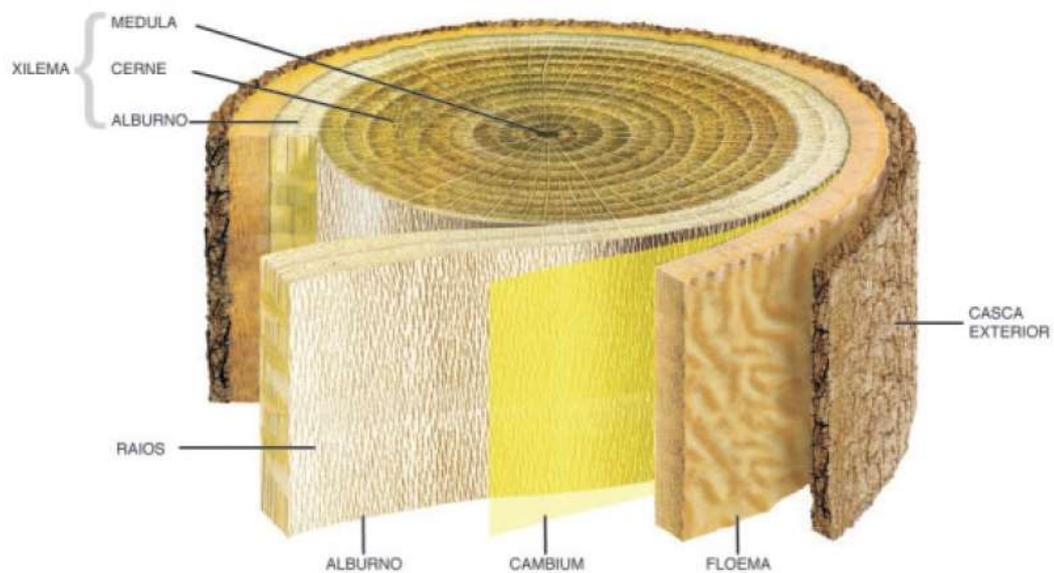


Figura 1. Principais constituintes da madeira e precursores na formação de ligninas

A anatomia de uma árvore examinada de fora para dentro tem as seguintes camadas: casca exterior (seca e totalmente inerte), floema ou casca interior (principal função transportar seiva elaborada), cambium (película que produz o crescimento diametral do tronco) e xilema (divide-se em medula, alburno e cerne) (Burger e Richter 1991) (Figura 2).



Fonte: Gonzaga, 2006

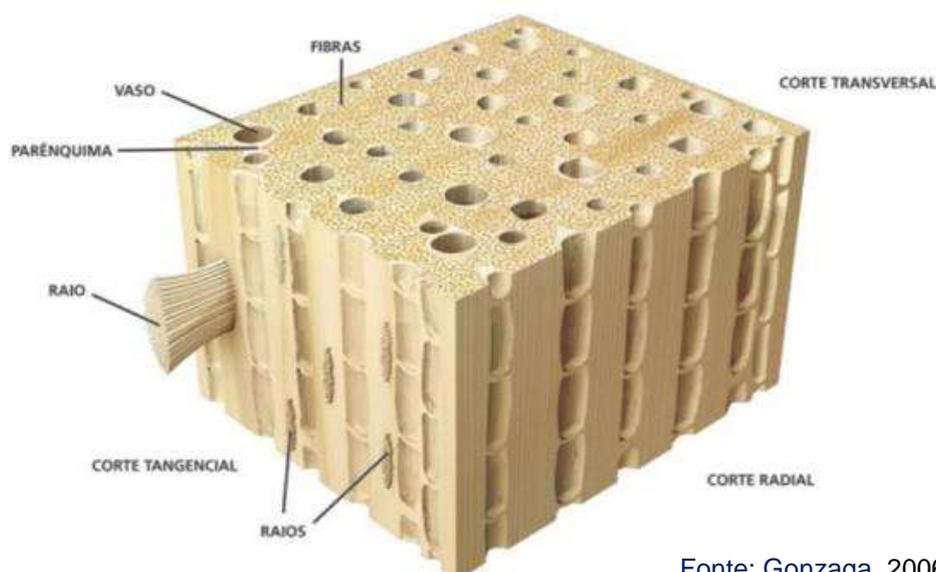
Figura 2. Desenho esquemático da anatomia do tronco de uma folhosa

Segundo Burger e Richter (1991) outras características anatômicas de algumas folhosas são as estruturas secretoras de níveis celulares ou intercelulares que contém óleos, gomas, ceras, bálsamos, taninos e resinas. As estruturas secretoras incluem os canais resiníferos e laticíferos que estão em várias partes vegetativas e são responsáveis pela produção de um grande número de substâncias que desempenham diferentes funções (Esaú, 1985). As características anatômicas são fundamentais na identificação de uma espécie.

1.3. Identificação anatômica de madeiras

Na definição da espécie de uma árvore é de fundamental importância a identificação botânica, onde os órgãos reprodutivos (flores e frutos) e as características morfológicas (cascas, folhas e etc) são analisados (Burger e Richter, 1991). Nem sempre é possível ter o material reprodutivo disposto facilmente, devido ao período específico de floração e frutificação serem específicos e até mesmo demorado, dependendo da espécie.

Outra forma de identificação é a análise anatômica, onde são empregadas as técnicas macroscópicas e microscópicas. Na identificação são observadas várias características dos tecidos e células. Os principais elementos a serem observados são o parênquima axial (células de forma retangular e paredes normalmente finas que tem como função o armazenamento de nutrientes), vasos (conjunto de células que forma uma estrutura tubiforme com função de condução de líquidos) e o raio (faixas horizontais formadas por células com a função de armazenamento de nutrientes) (Figura 3). A partir dessas observações são realizados estudos comparativos via amostra de madeira padronizada disposta na Xiloteca (Freitas e Vasconcelos, 2010).

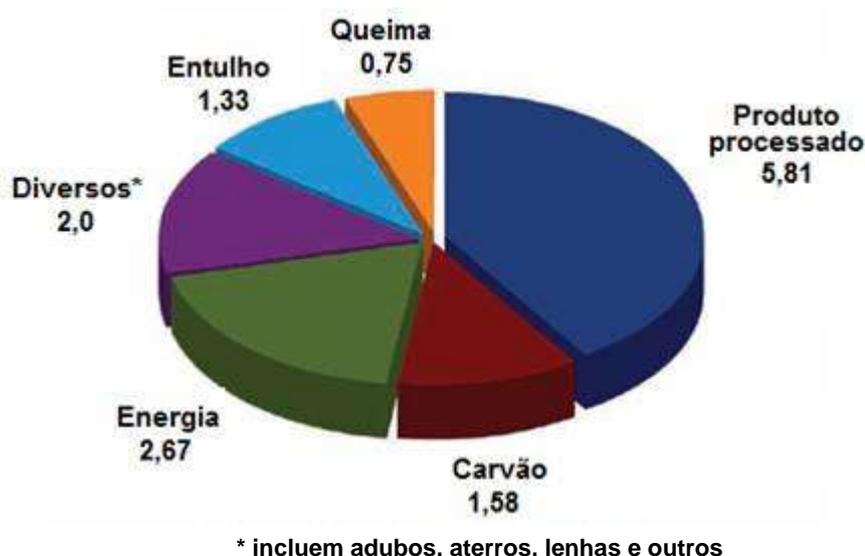


Fonte: Gonzaga, 2006

Figura 3. Planos de corte em um corpo de prova e principais elementos observados

1.4. Resíduos madeireiros

Os resíduos sólidos são provenientes de atividades de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola e outras (ABNT, NBR/10004). A Amazônia brasileira é uma das principais regiões produtoras de madeira tropical no mundo (OIMT, 2010). A atividade industrial das madeireiras gera resíduo cujo volume é proporcional ao baixo rendimento da madeira processada. O Serviço Florestal Brasileiro, em 2009 registrou que na Amazônia brasileira o processamento de 14,2 milhões de m³ de madeira gerou 5,8 milhões de m³ de madeira processada, cujo 8,4 milhões de m³ foram categorizados como resíduos (Figura 4) (SFB-IMAZON, 2010).



Fonte: SFB-IMAZON, 2010

Figura 4. Uso da madeira nativa amazônica pelo setor madeireiro em 2009 (milhões m³)

Segundo MMA (2009), na região amazônica, aspectos econômicos, tecnológicos, logísticos, políticos, entre outros, são as principais barreiras para a valorização e aproveitamento dos resíduos madeireiros. Isso foi observado em 2000, no estudo realizado nas indústrias madeireiras de Manaus por Sales e

colaboradores, foi constatado que a maçaranduba (*Manilkara sp*, Sapotaceae) está entre as madeiras mais utilizadas e que o desperdício de matéria-prima é de 15 a 50% por tora. O baixo rendimento é resultante do mau condicionamento da madeira, imperfeições e sobras de madeiras obtidas na fabricação do produto. A maioria das serrarias utiliza seus resíduos industriais para geração de energia (olarias e padarias), e várias movelarias descartam como lixo no meio ambiente (Quadro 1).

Quadro 1. Utilização dos resíduos madeireiros pelas indústrias de Manaus

Indústrias	Energia	Cabo de vassoura	Tábuas e grades	Sarrafeado e caixotaria	Fogo	Lixo
Compensados	6		1	1		
Serrarias	11	1			1	1
Movelarias					3	17

(Sales-Campos et al, 2000).

A problemática do grande volume dos resíduos vem sendo estudada e propostas para o destino dos resíduos madeireiros surgem tais como, aproveitá-los, na produção de energia. No entanto, há má repercussão ambiental, especialmente devido ao processo de combustão de biomassa ser fonte de produção de gases tóxicos, material particulado e gases do efeito estufa (Crutzen e Andreae, 1990). Outras maneiras de valorização dos resíduos madeireiros, exemplificados pela confecção de pequenos objetos (Nascimento, 2005), compostagem, adubo orgânico, confecção de chapas de aglomerado e outros (Gomes e Sampaio, 2004). Diversas formas de aproveitamento desses resíduos podem ser reveladas, mas isso requer investimentos e estudos, onde o conhecimento sobre essa matéria-prima e seu potencial é necessário para fundamentar propostas de valorização.

1.5. Estudos químicos e biológicos em resíduos madeireiros

A literatura reporta os estudos químicos e o potencial biológico das espécies de Burseraceae e Sapotaceae bem como de espécies de várias famílias produtoras de madeira. Ainda assim existe carência de estudos em resíduos madeireiros. Um dos estudos foi realizado por Granato et al (2005) com extratos obtidos dos rejeitos de madeiras nobres comercializadas no Paraná, onde é relatada atividade antimicrobiana em *Staphylococcus*, *Proteus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Streptococcus*.

Hayasida e seus colaboradores (2008) identificaram em resíduos do cerne de pau-rainha (*Brosimum rubescens*) alto teor de xantiletina, que possui potencial para atividades antiplaquetária, antifúngica e herbicida (Teng et al, 1992; Godoy et al., 2005; Anaya et al, 2005). Na continuação desse estudo, em 2011, ficou evidenciado que o alburno desta espécie produz metabólitos diferentes do cerne, pois foi identificado o triterpeno 3 β -acetoxi-olean-12-eno-28-al além do β -sitosterol e não foi detectada a presença da xantiletina.

Recentemente relatou-se a produção de nano poros de carbono a partir do processamento de resíduos madeireiros e seu uso em super capacitores e na captura de CO₂ a partir de diversos resíduos de madeira (Dobele et al, 2012).

Considerando a escassez de estudos em resíduos madeireiros de Sapotaceae e Burseraceae e a disponibilidade dos resíduos das espécies de *Protium* e *Manilkara*, neste projeto serão avaliados do ponto de vista químico e potencial biológico, resíduos *Protium tenuifolium* e *Manilkara huberi*.

2. GÊNEROS *Protium* e *Manilkara*

2.1. Gênero *Protium* (Burseraceae)

A família Burseraceae é dividida nas tribos Protieae, Boswellieae e *Canarieae* (Daly, 1989). O gênero *Protium* pertence à tribo Protieae e é o mais abundante na família, com cerca de 120 espécies, apresentando ocorrência de cerca de 70 espécies na região amazônica (Fine et al, 2005). As espécies dessa família geralmente produzem resinas aromáticas que são conhecidas popularmente na Amazônia como breu (Corrêa, 1984). Dentre as espécies utilizadas no setor madeireiro do Amazonas estão *P. tenuifolium*, *P. heptaphyllum* e *P. puncticulatum*, que apresentam madeira moderadamente pesada, fáceis de trabalhar e são usadas na marcenaria, construções e caixotaria (Loureiro et al, 1979; Silva, 2002).

Os estudos químicos não voláteis em *Protium* foram realizados principalmente em resinas, que são constituídas predominantemente de triterpenos do tipo ursano, oleanano e tirucalano, sendo α -amirina (ursano) e β -amirina (oleanano) encontrados na maioria das espécies estudadas (tabela 1). Os triterpenos identificados em outras partes vegetativas de *Protium* foram α e β -amirina no caule de *P. hebetatum* (Costa et al, 2012) e β -amirina na casca da madeira de *P. paniculatum* (Zoghbi et al, 1993).

Conforme mostram as tabelas 2-4, outros constituintes não voláteis foram encontrados em madeiras e cascas. Até o momento existem raros registros da ocorrência de triterpenos em madeira e cascas. Nestas partes vegetativas são mais relatadas à presença de cumarinas, lignanas, cumarinolignanas e esteroides (Quadro 2).

Com relação aos constituintes químicos ativos isolados de *Protium*, os triterpenos α -amirina e β -amirina isolados do *P. heptaphyllum* (resina), *P. hebetatum* (madeira) e *P. paniculatum* (cascas) foram avaliados em mistura e mostraram

potencial antinocepcivo (Holanda-Pinto et al, 2008), anti-inflamatório (Vitor et al, 2009; Melo et al, 2011), antiagregante plaquetário (Aragão et al, 2007), antihiperlipidêmico e hipolipemiante (Santos et al, 2012). A cumarina escopoletina e seus derivados isolados de *Protium javanicum* apresentaram atividade antitermítica (Adfa et al, 2010).

Tabela 1. Triterpenos isolados das resinas de *Protium*

Constituintes químicos	Espécies	Ref.
α -amirina	<i>P. hebetatum</i>	1
	<i>P. heptaphyllum</i>	2
	<i>P. kleinii</i>	3
β -amirina	<i>P. hebetatum</i>	1
	<i>P. heptaphyllum</i>	4
	<i>P. kleinii</i>	3
α e β -amirina (Mistura)	<i>heptaphyllum</i>	5,6
	<i>P. hebetatum</i>	1
β -amirenona	<i>P. hebetatum</i>	1
lupenona, α e β -amirinona	<i>P. heptaphyllum</i>	5
breína	<i>P. kleinii</i>	3
	<i>P. hebetatum</i>	2
	<i>P. heptaphyllum</i>	4, 6
maniladiol	<i>P. hebetatum</i>	1
	<i>P. heptaphyllum</i>	5, 6
breína e maniladiol (mistura)	<i>P. heptaphyllum</i>	5
ursa-9 (11): 12-dien-3- β -ol	<i>P. heptaphyllum</i>	6
oleana-9 (11): 12-dien-3- β -ol	<i>P. heptaphyllum</i>	6
ácido3- α -hidroxi-tirucala-8,24-dien-21-oico	<i>P. heptaphyllum</i>	6
3-oxo-11-hidroxi-ursa-12-eno	<i>P. kleinii</i>	3
3-oxo-11,14-dihidroxi-ursa-12-eno	<i>P. kleinii</i>	3
3-oxo-11- hidroxi-ursa-12-eno	<i>P. kleinii</i>	3
3-oxo- 11- hidroxi-olean-12-eno	<i>P. kleinii</i>	3
3-oxo-11 α - hidroxi-olean-12-eno	<i>P. kleinii</i>	3
3-oxo-11 α -hidroxi-ursa-12-eno	<i>P. kleinii</i>	3

ácido 3-oxotirucala-6,24-dien-21-oico	<i>P. hebetatum</i>	1
ácido 3- α -hidroxitirucala-6,24-dien-21-oico	<i>P. hebetatum</i>	1
ácido 3- α -acetoxitirucala-6,24-dien-21-oico	<i>P. hebetatum</i>	1
ácido 3- α -hidroxitirucala-7,24-dien-21-oico	<i>P. hebetatum</i>	1
3- β -24-dihidroxi-ursa-12-eno	<i>P.heptaphyllum</i>	7
3-oxo-20-S-hidroxitaraxastano	<i>P.heptaphyllum</i>	7
3 beta, 20-S- dihidroxitaraxastano	<i>P.heptaphyllum</i>	7

1. Marques et al, 2010a; 2. Zoghbi et al, 1993; 3. Lima et al, 2005; 4. Bandeira et al, 2002; 5. Vieira-Júnior et al, 2005; 6. Maia et al, 2000; 7. Susunaga et al, 2001,9.

Tabela 2. Esteroides isolados das partes lenhosas de *Protium*

Constituintes químicos	Espécies	Parte vegetativa	Ref
β -sitosterol, estigmasterol, campesterol (mistura)	<i>P. hebetatum</i>	Caule	1
β -sitosterol	<i>P. paniculatum</i>	Cascas	2
estigmasterol			2
3-O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol	<i>P.heptaphyllum</i>	Caule e cascas	3

1. Costa et al, 2012; 2. Zoghbi et al, 1993; 3. Almeida et al, 2002;.

Tabela 3. Lignanas isoladas do caule de *Protium*

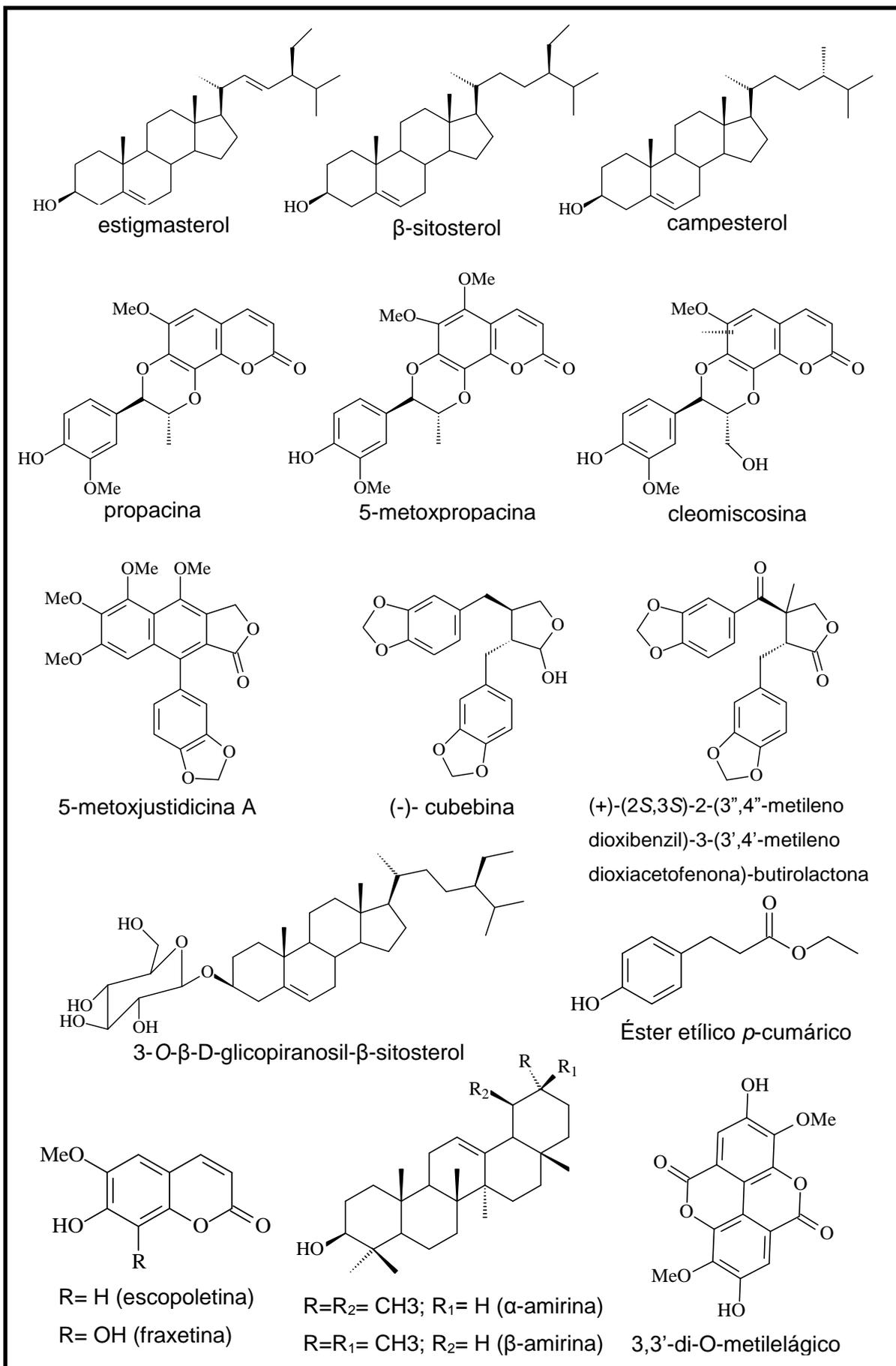
Constituintes químicos	Espécies	Ref
5-metoxijusticidina A,	<i>P. unifoliolatum</i>	1
(+)-(2S, 3S)-2-(3, 4"-metilenodioxibenzil)-3-(3',4'-metilenodioxacetofenona)-butirolactona (-)-cubebina (mistura epimérica)	<i>P. tenuifolium</i>	2

1. Siani et al, 1998; 2. Siqueira et al, 1995

Tabela 4. Cumarinas e cumarinolignanas em partes lenhosas de ocorrência em *Protium*

Constituintes químicos	Espécies	Parte vegetativa	Ref
escopoletina	<i>P. hebetatum</i>	Caule	1
	<i>P.heptaphyllum</i>		2
		Caule e cascas	3
propacina	<i>P. opacum</i>	Caule	4
	<i>P.heptaphyllum</i>	Caule e cascas	3
ácido éster etílico <i>p</i> -cumárico			3
fraxetina			3
cleomiscosina A			3
5-metoxipropacina	<i>P. unifoliolatum.</i>	Cascas	5

1. Costa et al, 2012; 2. Bandeira et al, 2002; 3. Almeida et al, 2002; 4. Zoghbi et al, 1981; 5. Magalhães et al, 2006



Quadro 2. Substâncias isoladas das partes lenhosas do gênero *Protium* sp

2.2. Estudos da composição química dos óleos essenciais de *Protium*

Quando se trata de estudos químicos por CG/ EM da composição de óleos essenciais no gênero *Protium*, a literatura reporta estudos em 19 espécies, sendo *P. heptaphyllum* a espécie mais estudada. Resina e folhas são as partes vegetativas mais estudadas, seguidas dos galhos e frutos. Estudos com cascas e madeira são escassos. Dentre os constituintes majoritários do óleo essencial de *Protium* os mais relatados são *p*-cimeno, α -pineno, α -felandreno, limoneno e β -cariofileno. Todos esses são frequentes na resina, exceto o β -cariofileno que é mais relatado nas folhas. O limoneno é também relatado em frutos. Nas demais partes vegetativas não se observa a frequência de um composto majoritário (tabela 5).

Tabela 5. Principais constituintes químicos dos óleos essenciais de *Protium*

Espécies	Parte	Constituintes majoritários (%)	Ref.
<i>P. altsonii</i>	Resina	<i>trans</i> -di-hidro- α -terpineol (25,8)	1
<i>P. bahianum</i>	Folhas	α -cadineno (25,3) α -pineno (19,1) aromadendreno (20,3; 21) óxido de cariofileno (22,6 ; 20,3)	2,3
	Frutas	α -pineno (34,0)	2
	Resina	terpinen-4-ol (7,4) <i>trans</i> -di-hidro- α -terpineol (25,8)	22
<i>P. confusum</i>	Cascas	<i>p</i> -cimen-8-ol (14,4) ácido hexadecanóico (8,4) espatulenol (9,5)	4
	Caule	<i>p</i> -cimen-8-ol (6,1) ácido hexadecanóico (7,8) espatulenol (9,0)	4
	Folhas	β -cariofileno (8,0) espatulenol (19,3)	4

		óxido de β -cariofileno (14,1)	
	Frutas	limoneno (60,2)	4
<i>P. copal</i>	Resina	α -pineno (17,95) limoneno (16,88) sabineno (12,51)	5
<i>P. crassipetalum</i>	Folhas	α -copaeno (19,6) espatulenol (13,9) <i>trans</i> -cariofileno (16,4)	6
	Galhos	α -copaeno (15,2) <i>trans</i> -cariofileno (10,1)	6
<i>P. decandrum</i>	ráquis	terpinen-4-ol (64,8)	7
	folhetos	terpinen-4-ol (33,0)	7
	Galhos finos	α -pineno (78,6)	22
	Ramos	<i>trans</i> - α -bergamoteno (22,1)	7
	Resina	<i>trans</i> - α -bergamoteno (47,7)	7
<i>P. grandifolium</i>	Folhas	β -cariofileno (24,5) γ -cadineno (11,4)	8
<i>P. hebetatum</i>	Folhas	β -cariofileno (12,8) γ -cadineno (6,99) <i>p</i> -cimeno (8,17)	8
	Ramos	α -copaeno (11,7) α -cubebeno (9,2) α -pineno (14,6) β -cariofileno (9,1) óxido de cariofileno (15,4)	9
	Ráquis foliar	α -copaeno (8,3) α -cubebeno (5,6) β -cariofileno (12,8) óxido de cariofileno (23,3)	9
	Resina	α -felandreno (3,5; 8,1); (10,7) α -pineno (15,2-59,4); (20,3 -74,6) <i>p</i> -cimeno (35,8; 38,9) <i>cis</i> - β -dihidroterpineol (10,0; 3,2) limoneno (9,0; 11,7)	9,10
<i>P. heptaphyllum</i>	Folhas e caule (óleo comercial)	α -felandreno (10,0)	16
		α -pineno (40,0)	

		<i>p</i> -menta-1,4 (8)-dieno (12)	
	Folhas	9- <i>epi</i> -cariofileno (21,4) 14-hidroxi-9- <i>epi</i> -cariofileno (16,7) β -cariofileno (18,5) <i>trans</i> -cariofileno (16,9) <i>trans</i> -isolongifolanona (10,7) copaeno (11,8) germacreno B (12,8) mirceno (18,6)	6, 13,17
	Frutos	α -felandreno (16,7) α -pineno (10,5) α -terpinoleno (28,5) α -terpineno (47,6) limoneno (16,9)	13,17
	Resinas	1,8-cineol (58,7) α -felandreno (7,2; 16,7; 10,4), α -pineno (10,5; 27; 71,2) α -terpineol (7,7) α -terpineno (18,0; 13,7) β -cimeno (11,2) β -cariofileno (7,2) γ -terpineno (12,0) <i>p</i> -cimeno (36,0; 11,0; 16; 39.93) (10,78%) (11.0) <i>p</i> -cimen-8-ol (11,0; 11.3) δ -3-careno (7,1) dilapiol (16,0; 16.1) eucaliptol (10,92) limoneno (18,2; 16,9; 49,96) mirceno (35) sabineno (11) terpinoleno (21,8; 28,5; 28; 42.31; 21.8) <i>trans</i> - β -ocimeno, (11,81)	8, 11-15, 23-25
<i>P. icicariba</i>	Folhas	α -copaeno (9,8; 12; 7.5) germacrene D (16; 23; 14)	18
	Frutos	α -terpineno (26; 21; 30)	18

	Resina	<i>p</i> -cimeno (30; 20; 40)	18
<i>P. lewellyni</i>	Folhas	β -cariofileno (32,2) limoneno (18,6)	8
<i>P. neglectum</i>	Resina	α -terpineol (6,9) <i>p</i> -cimeno (5,2) durenol (15,6) eugenol de metilo (9,2) piperitenona (25,4) timol (17,5)	19
<i>P. nitidifolium</i>	Resina	α - tujeno (30,5) <i>p</i> -cimeno (34,6)	10
<i>P. paniculatum</i>	Resina	α -felandreno (23,8) α -terpineno (11,4) <i>p</i> -cimeno (38,3; 33,8; 90,0; 69,3) <i>p</i> -ment-3-eno (31,4)	10
<i>P. pilosissimum</i>	Folhas	β -sesquifelandreno (24,3)	6
	Galhos	selin-11-en-4-ol (56,5)	6
<i>P. pilosum</i>	Folhas e Galhos finos	<i>p</i> -cimeno (31,2) α -felandreno (24,1) α -pineno (31,7)	22
<i>P. polybotryum</i>	Galhos	khusimona (35,9)	6
<i>P. spruceanum</i>	Resina	α -felandreno (41,6; 38,5; 24,3) <i>p</i> -cimeno (17,1; 31,3; 20,2) óleo de cânfora (14,5) epi- α -cadinol (20,4) limoneno (90,93) sabineno (61,3)	1,10,21, 20
	Folhas	β -cariofileno (36,4) sabineno (81,4)	
	folhas e ramos finos	α -pineno (31,7) α -felandreno (24,1) β -cariofileno (10,8) <i>p</i> -cimeno (31,2) sabineno (56,3; 79,8) terpinen-4-ol (10,3)	1, 22, 20
	Casca de	limoneno (19,4)	1

	madeira	sabineno (33,8)	
	Frutas	limoneno (22,1) sabineno (56,1)	1
<i>P. strumosum</i>	Resina	α -felandreno (17,4) p -cimeno (31.5; 27,4) limoneno (75.5) terpinoleno (22,4)	22,10
	Folhas	α -selineno (15,4) β -selineno (17)	8

1-Zoghbi et al, 2002; 2-Pontes et al, 2010; 3-Moraes et al, 2013; 4-Santana et al, 2009; 5-Case et al, 2003; 6-Carvalho et al, 2013; 7-Carvalho et al, 2010; 8-Siani et al,1999; 9-Pinto et al, 2010; 10-Ramos et al, 2000; 11-Citó et al, 2003; 12-Bandeira et al, 2006; 13-Bandeira et al, 2001; 14-Siani et al, 2011; 15-Amaral et al, 2009; 16-Araujo et al, 2011; 17- Pontes et al, 2007; 18- Siani et al., 2004; 19- Suárez et al, 2013; 20- Machado et al, 2003; 21- Lima et al, 2014; 22. Zoghbi et al, 2005 23. Marques et al, 2010; 24- Siani et al,1999a 25-Rao et al, 2007.

2.3. Gênero *Manilkara* (Sapotaceae)

A família Sapotaceae é dividida nas tribos Mimosopeae, Isonandreae, Sideroxyloae, Chrysophylleae e Omphalocarpeae. O gênero *Manilkara* da tribo Mimosopeae é pantropical, possui cerca de 40 espécies (Pennington, 2004). Entre as madeiras com potencial econômico no gênero está *Manilkara surinamensis*. É conhecida no Amazonas pelo nome de maparajuba e no Pará como maçaranduba, sua madeira é muito pesada (0,95 a 1,00 g/cm³), boa de trabalhar e recebe bom acabamento sendo usada em vigamentos, móveis, cabos de ferramentas e construções (Loureiro e Silva, 1968).

Os estudos fitoquímicos sobre o gênero *Manilkara* são escassos, nos frutos de *M. subsericea* foram encontrados alguns triterpenos, principalmente ésteres de α e β -amirina (Fernandes et al, 2013) e de *M. zapota* um polissacarídeo acetilado (Mondal et al, 2012). Em folhas de *M. indica* foi encontrada a flavona Isoafinetina (Haraguchi et al, 2003). Os constituintes químicos das partes lenhosas (casca e caule) das espécies estudadas estão mostrados no Quadro 3 e tabela 6.

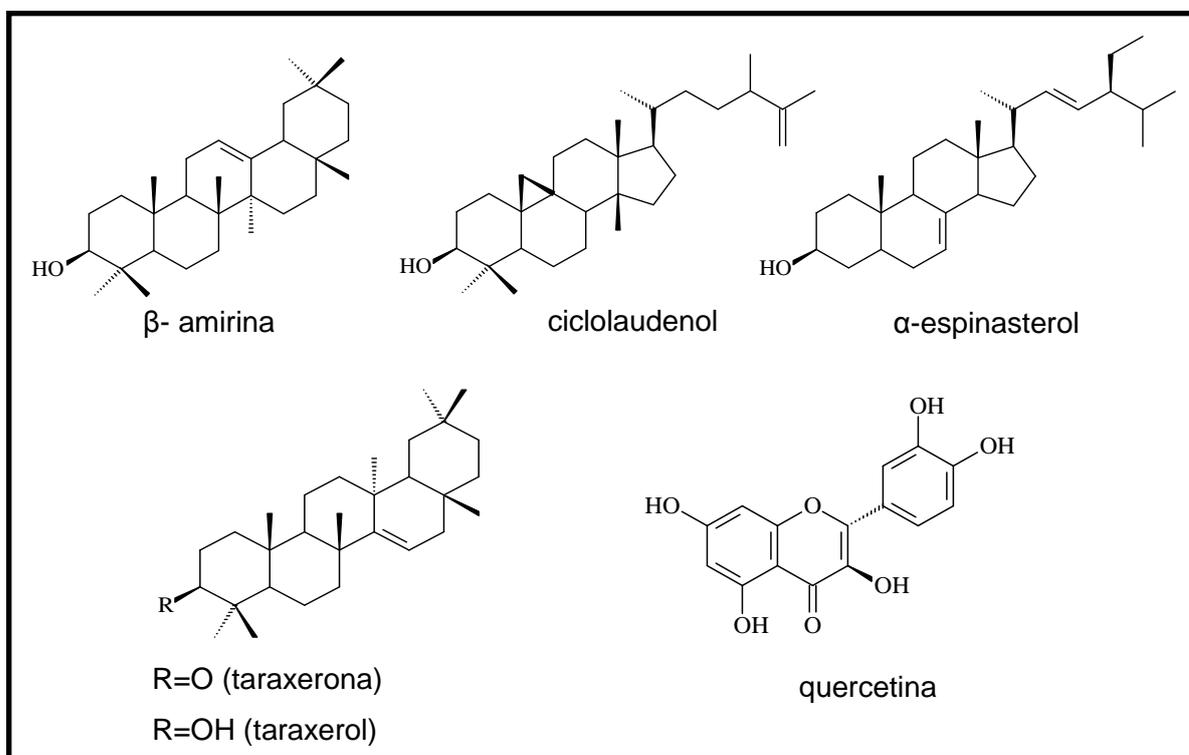
Quanto à atividade biológica alguns extratos foram testados. O extrato do caule de *M. zapota* com elevado teor de quercetina (flavonoide) apresentou atividade anti-inflamatória (Hossain et al, 2012), e de *M. hexandra* apresentou potencial estimulante do sistema imunológico (Gomathi et al, 2012). Os extratos das cascas de *M. subsericea* apresentaram potencial anticâncer (Osman et al, 2011). Nos extratos de folhas de *M. subsericea* foi relatada atividade acaricida (Rajakumar e Rahuman, 2012) e de *M. hexandra*, inibição da formação de lesões gástricas induzidas (Shah et al, 2004).

Tabela 6. Compostos isolados das partes lenhosas de *Manilkara*

Constituintes químicos	Espécies	Parte vegetativa	Ref.
α -espinasterol (esteroide)	<i>M. bidentata</i>	Caule	1
ácido palmítico e esteárico (mistura) lipídios			
alcanos (mistura de tridecano e tetracosano)			
β -amirina*			
ciclolaudenol*			
polissacarídeos	<i>M. hexandra</i>	Casca	2
taraxerol*	<i>M. kauki</i>	Casca	3
taraxerona*			

* triterpenos

1.Cocker e Shaw, 1963 2. Gomathi et al, 2012; 3. Misra et al, 1970



Quadro 3. Substâncias isoladas das partes lenhosas de *Manilkara*

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- ✓ Realizar o estudo químico em resíduos madeireiros e florestais das espécies de *Protium tenuifolium* (Burseraceae) e *Manilkara huberi* (Sapotaceae).

3.2. Objetivos Específicos

- ✓ Identificar as estruturas das substâncias isoladas;
- ✓ Agregar valor aos resíduos madeireiros.
- ✓ Contribuir para o conhecimento químico dos resíduos madeireiros e florestais de espécies amazônicas.

4. METODOLOGIA

4.1. Materiais utilizados

- ✓ **Cromatografia em coluna (CC):** Foram utilizadas colunas de vidro de diversas alturas e diâmetros, sendo escolhidas com base na quantidade de amostra a serem fracionadas.
- ✓ **Suportes para cromatografia em coluna:** Sílica gel 60 (70-230 mesh e 230-400 mesh) da Merck; Sephadex LH-20 e celulose microcristalina Avicel (Merck).
- ✓ **Cromatografia em camada delgada (CCD):** cromatofolhas de alumínio impregnadas com sílica gel 60, indicador de fluorescência F₂₅₄ e 0,2 mm de espessura da Merck. Os reveladores utilizados foram radiação ultravioleta (254 e 365 nm) e vanilina sulfúrica.
- ✓ **Solventes:** Foram utilizados solventes comerciais destilados no LQPN-INPA. Para as análises de RMN foram utilizados solventes deuterados.

4.2. Equipamentos

- ✓ **Evaporador rotativo:** Yamato, modelo RE500, equipado com banho Yamato BM200.
- ✓ **Balança analítica:** marca Shimadzu, com capacidade de até 320 g.
- ✓ **Moinho:** marca Marconi, modelo MA-340.
- ✓ **Chapa de aquecimento:** marca Fisaton, modelo 753A.
- ✓ **Cromatógrafo gasoso/ detector por ionização de chama (DIC):** modelo CG 2010 da Shimadzu©, coluna CP-Sil 5 DB (100% dimetilpolisiloxano) da Varian©.
- ✓ **Cromatógrafo gasoso/ espectrômetro de massa:** modelo QP-5000 da Shimadzu© com detector por espectrometria de massas (CG-EM).
- ✓ **Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear:** espectros obtidos em aparelho Bruker DRX- 300 (INPA) e DRX-600 (UFSCar)
- ✓ **Sistema de cromatografia Líquida acoplado a Extração em Fase Sólida e Ressonância Magnética Nuclear (CLAE-EFS-RMN):** CLAE: AGILENT TECHNOLOGIES, 1200 SERIES. RMN: Bruker, modelo AVANCE III, 14,1 Tesla (600 MHz).

4.3. Material botânico

4.3.1 Coleta e identificação

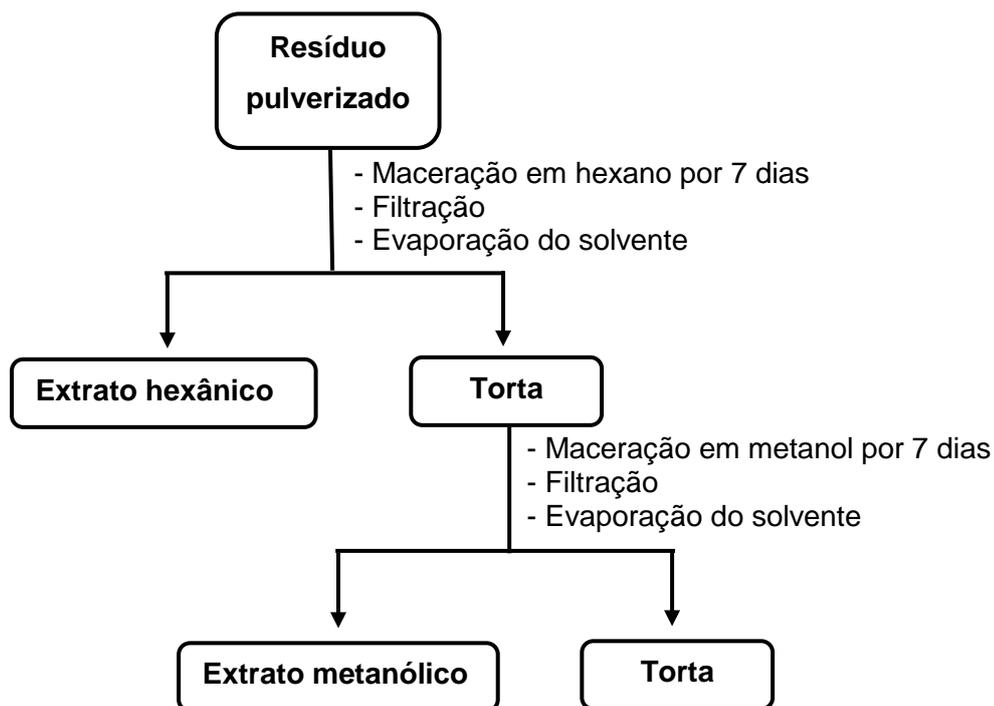
Os resíduos florestais (galhos e cascas) de *Protium tenuifolium* foram coletados na reserva experimental Zona Franca 2 (ZF-2), localizada no Km 60 da BR-174 (Manaus-Boa Vista) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Os resíduos madeireiros (caules) de *Protium tenuifolium* e *Manilkara huberi* foram fornecidos pelo Laboratório de Tecnologia da Madeira (LTM) do INPA. Os espécimes foram previamente identificados com base na Xiloteca do LTM pelo pesquisador e anatomista de madeira Jorge Alves de Freitas.

4.3.2. Processamento das amostras vegetais

O material vegetal fresco (resíduo florestal) foi submetido ao processo de secagem em temperatura ambiente por 7 dias, os resíduos madeireiros já encontrava-se secos. Posteriormente, ambos os materiais vegetais foram pulverizados em moinho de faca.

4.3.3. Preparação dos extratos brutos

A obtenção dos extratos foi por maceração, em frascos do tipo mariote, através de extrações sucessivas em hexano e metanol, por um período de 7 dias em cada solvente. As soluções obtidas foram filtradas e concentradas em evaporador rotativo, obtendo-se os extratos brutos, conforme o esquema 2.



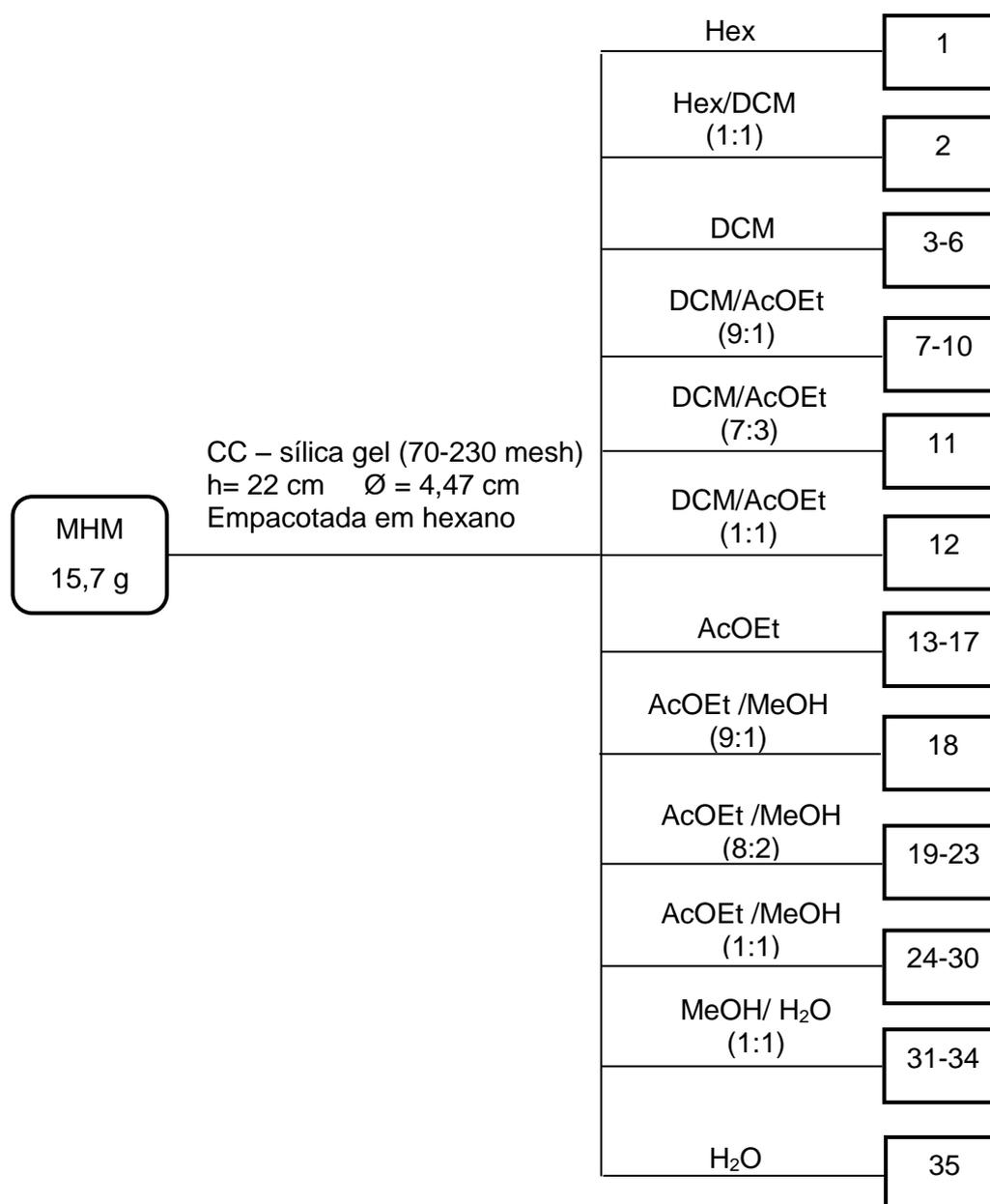
Esquema 2. Preparação dos extratos vegetais hexânicos e metanólicos

A maioria dos extratos selecionados para continuação dos estudos químicos foram os extratos metanólicos. Os perfis cromatográficos dos extratos hexânicos apresentaram predominância de lupeol e sitosterol (substâncias comuns em plantas), quando avaliados e comparados com os padrões destas substâncias em CCD.

4.4. Extrato metanólico de *Manilkara huberi*

4.4.1. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico do caule

O extrato obtido (15,78 g) foi fracionado em coluna tipo filtrante (Esquema 3). Após análise por CCD, as frações foram reunidas pesadas e codificadas (Tabela 7). A fração MHM-7 apresentou sólido amarelo e substância fluorescente (254) intensa quando analisada em CCD. MHM-32 apresentou aspecto de cristal (açúcar) e alta pigmentação. Estas frações foram selecionadas para continuidade do estudo.



Hex-Hexano; DCM-Diclorometano; AcOEt-Acetato de Etila; MeOH- Metanol; H₂O-Água

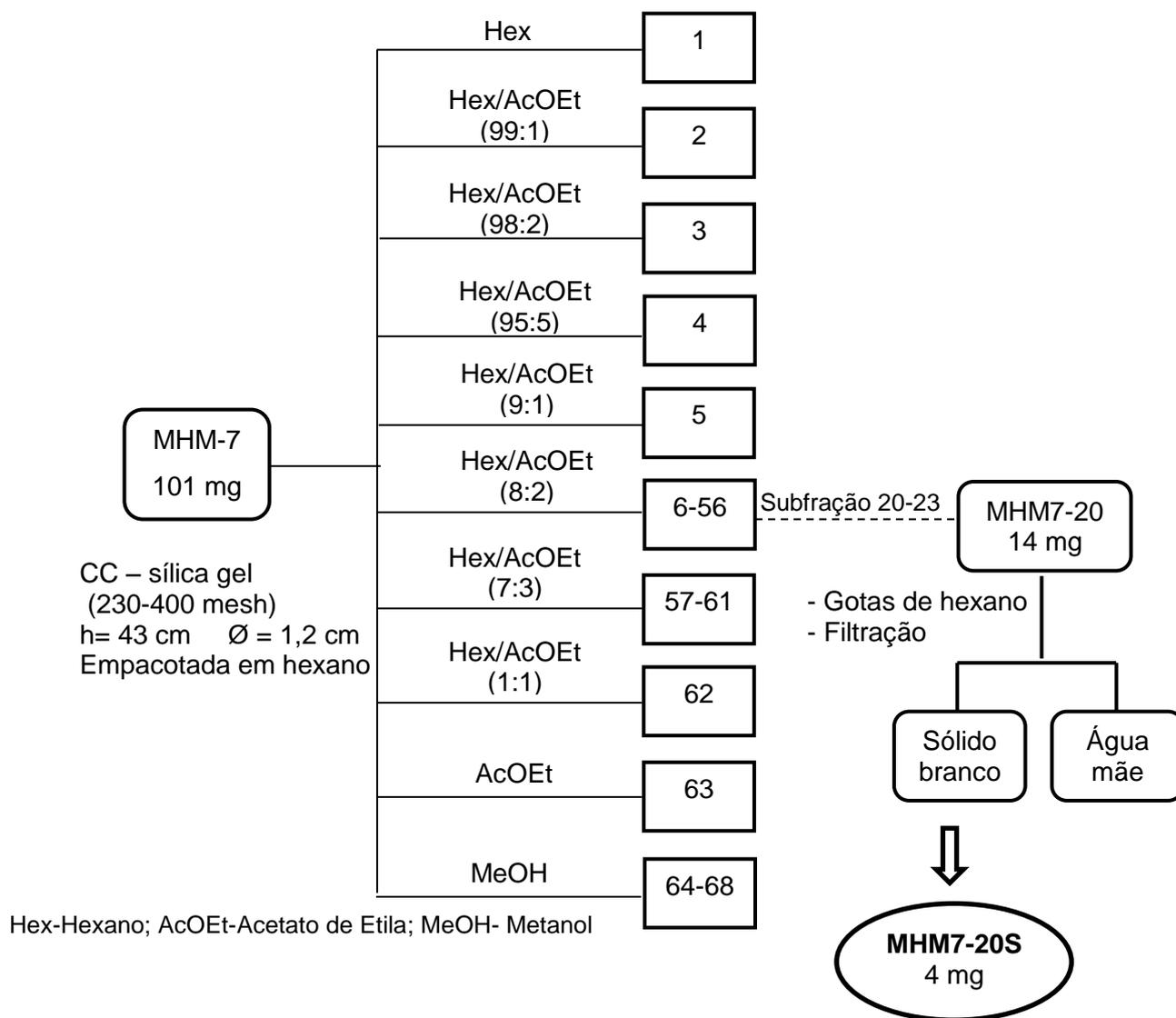
Esquema 3. Fracionamento cromatográfico de MHM

Tabela 7. Reunião das frações obtidas de MHM

Frações Reunidas	Códigos	Massa (mg)
1	MHM-1	7,0
2- 4	MHM-2	16,0
5- 6	MHM-5	10,0
7- 11	MHM-7	101,0
12- 19	MHM-12	1000,0
20- 22	MHM-20	306,0
23	MHM-23	293,0
24	MHM-24	854,0
25	MHM-25	80,3
26	MHM-26	303,0
27	MHM-27	314,0
28	MHM-28	675,0
29	MHM-29	189,0
30	MHM-30	1068,0
31	MHM-31	2490,0
32-34	MHM-32	6046,0
35	MHM-35	100,0

4.4.2. Fracionamento cromatográfico de MHM-7

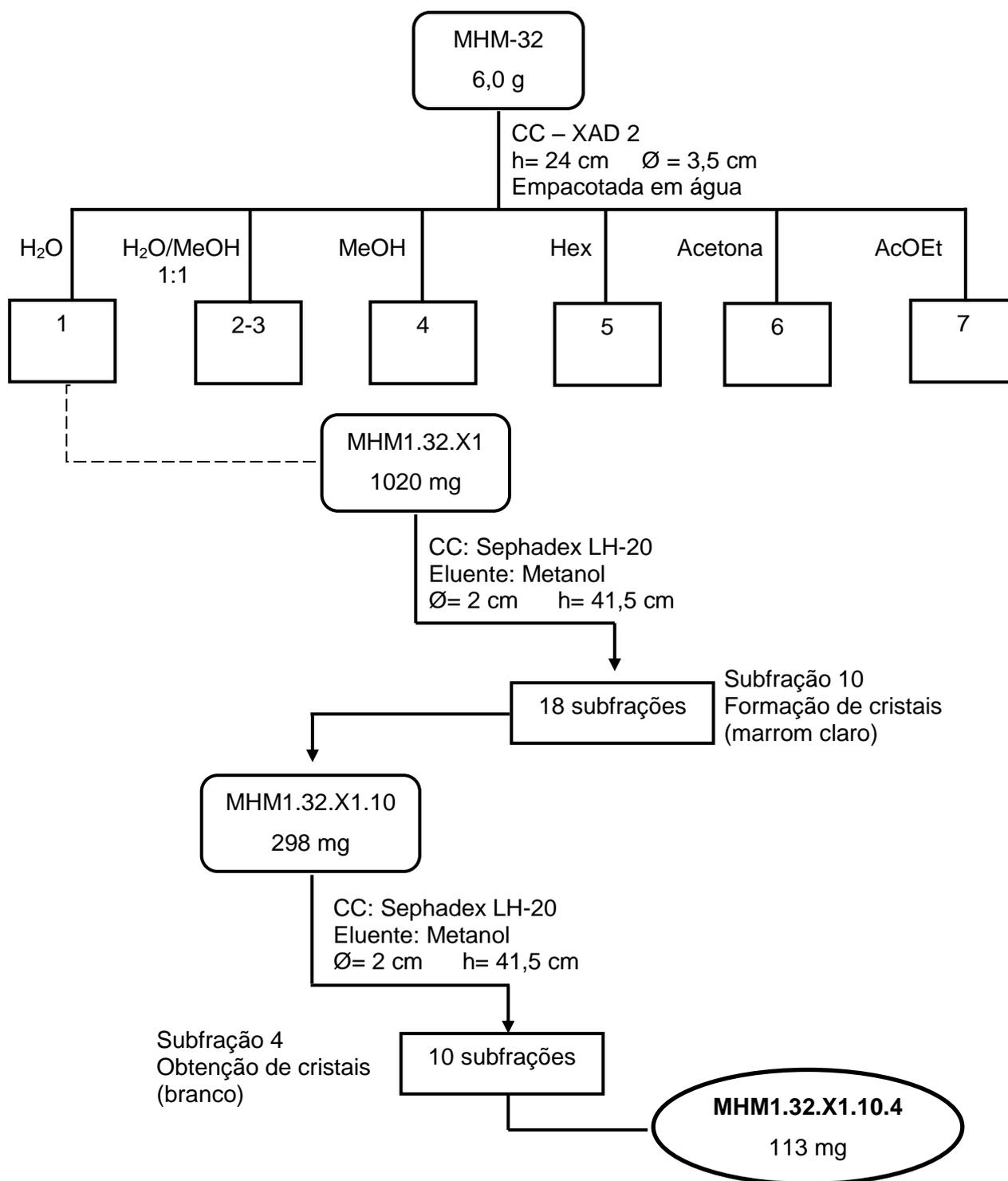
A fração MHM-7 foi submetida a fracionamento em coluna cromatográfica, fornecendo 68 frações. A subfração MHM 7-20 apresentou um sólido amarelo claro cujo processo de purificação utilizado foi o de recristalização, que forneceu a substância codificada como MHM7-20S (Esquema 4).



Esquema 4. Fracionamento cromatográfico de MHM-7

4.4.3. Fracionamento cromatográfico de MHM-32

A fração MHM-32 foi fracionada em coluna cromatográfica de XAD-2 e sephadex- LH20, onde a subfração MHM1.32.X1.10.4. foi obtida como um sólido cristalino branco (Esquema 5).



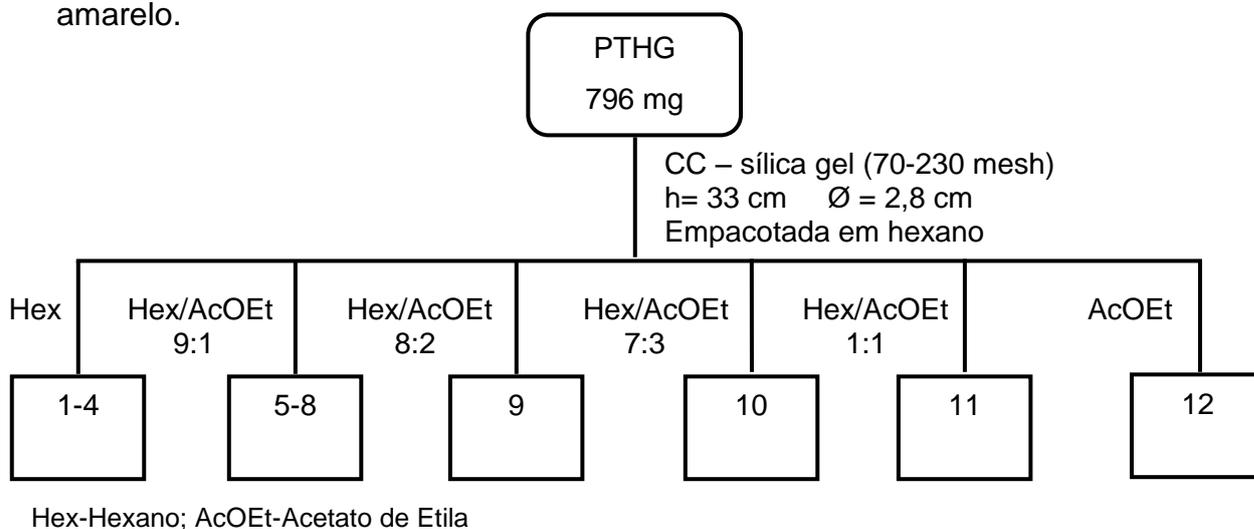
Hex-Hexano; DCM-Diclorometano; AcOEt-Acetato de Etila; MeOH- Metanol; H₂O-Água

Esquema 5. Fracionamento cromatográfico de MHM-32

4.5. Extrato hexânico de *Protium tenuifolium*

4.5.1. Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico do galho

O extrato hexânico dos galhos (PTHG) foi submetido a fracionamento cromatográfico conforme o esquema 6 e após análise em CCD as frações foram reunidas (tabela 8). Duas frações foram selecionadas para continuidade dos estudos, PTHG-6 e PTHG-8. Ambas apresentaram a formação de um sólido amarelo.



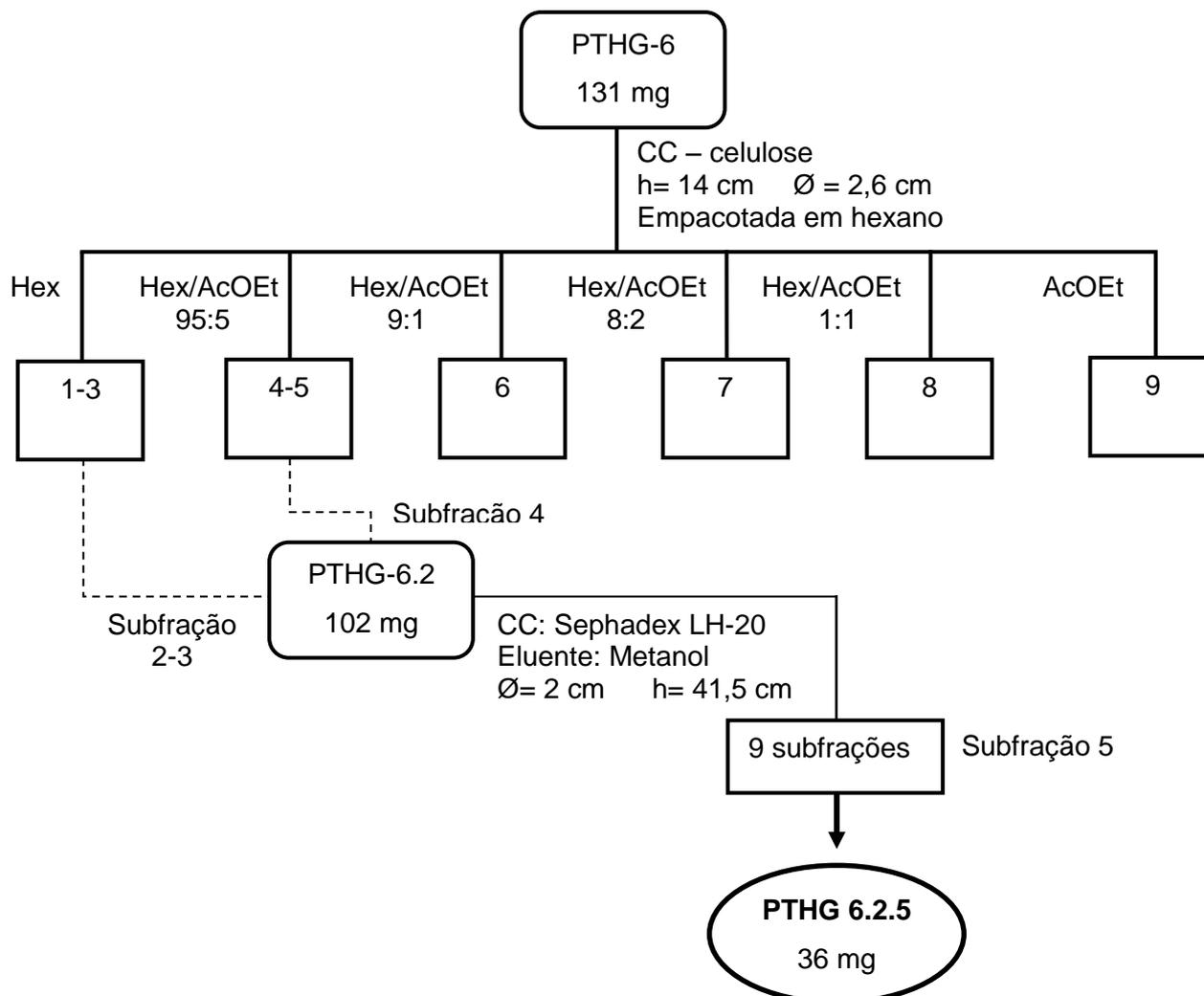
Esquema 6. Fracionamento cromatográfico de PTHG

Tabela 8. Reunião das frações obtidas de PTHG

Frações Reunidas	Códigos	Massa (mg)
1	PTHG1	0
2	PTHG2	4
3	PTHG3	1
4	PTHG4	3
5	PTHG5	137
6	PTHG6	131
7	PTHG7	44
8-9	PTHG8	115
10-12	PTHG10	205

4.5.2. Fracionamento cromatográfico de PTHG-6

A fração PTHG-6 foi submetida a uma filtração em coluna de celulose e sephadex LH-20 conforme o esquema 7, resultando no isolamento de PTHG 6.2.5.

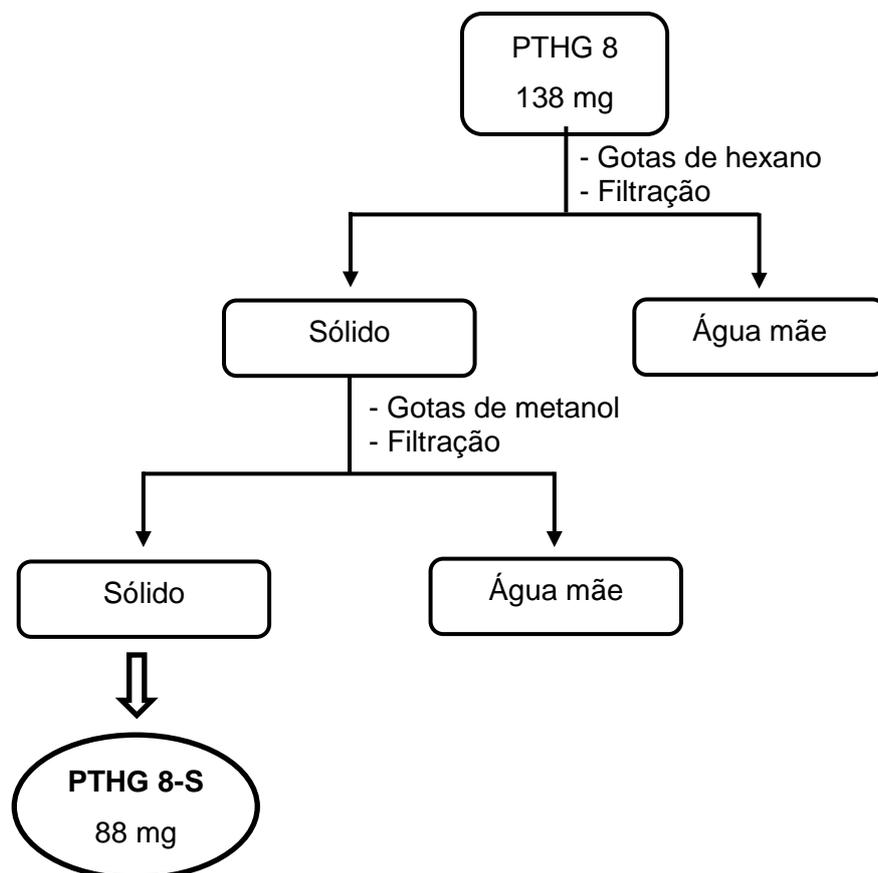


Hex- Hexano; AcOEt- Acetato de Etila

Esquema 7. Fracionamento cromatográfico de PTHG-6

4.5.3. Purificação de sólido da fração PTHG-8

A fração PTHG-8 apresentou grande quantidade de um sólido branco purificado por recristalização, segundo o esquema 8.

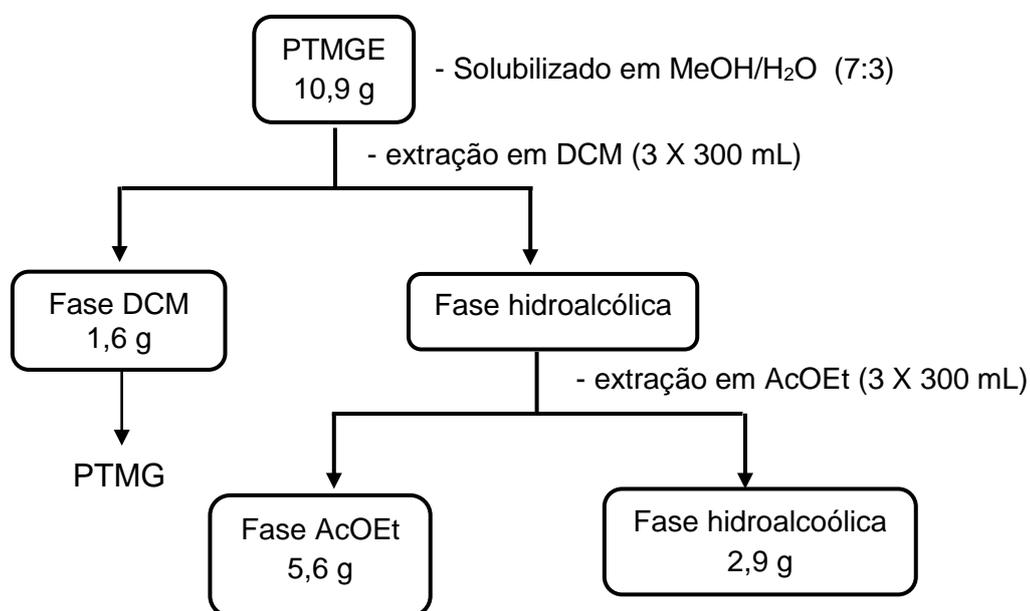


Esquema 8. Purificação do sólido PTHG 8

4.6. Extrato metanólico de *Protium tenuifolium*

4.6.1. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico do galho

O extrato metanólico dos galhos (PTMGE) foi submetido à partição líquido-líquido e originou três fases (esquema 10). Com base nas análises em CCD, a fase orgânica DCM foi selecionada para o fracionamento cromatográfico e renomeada como PTMG.

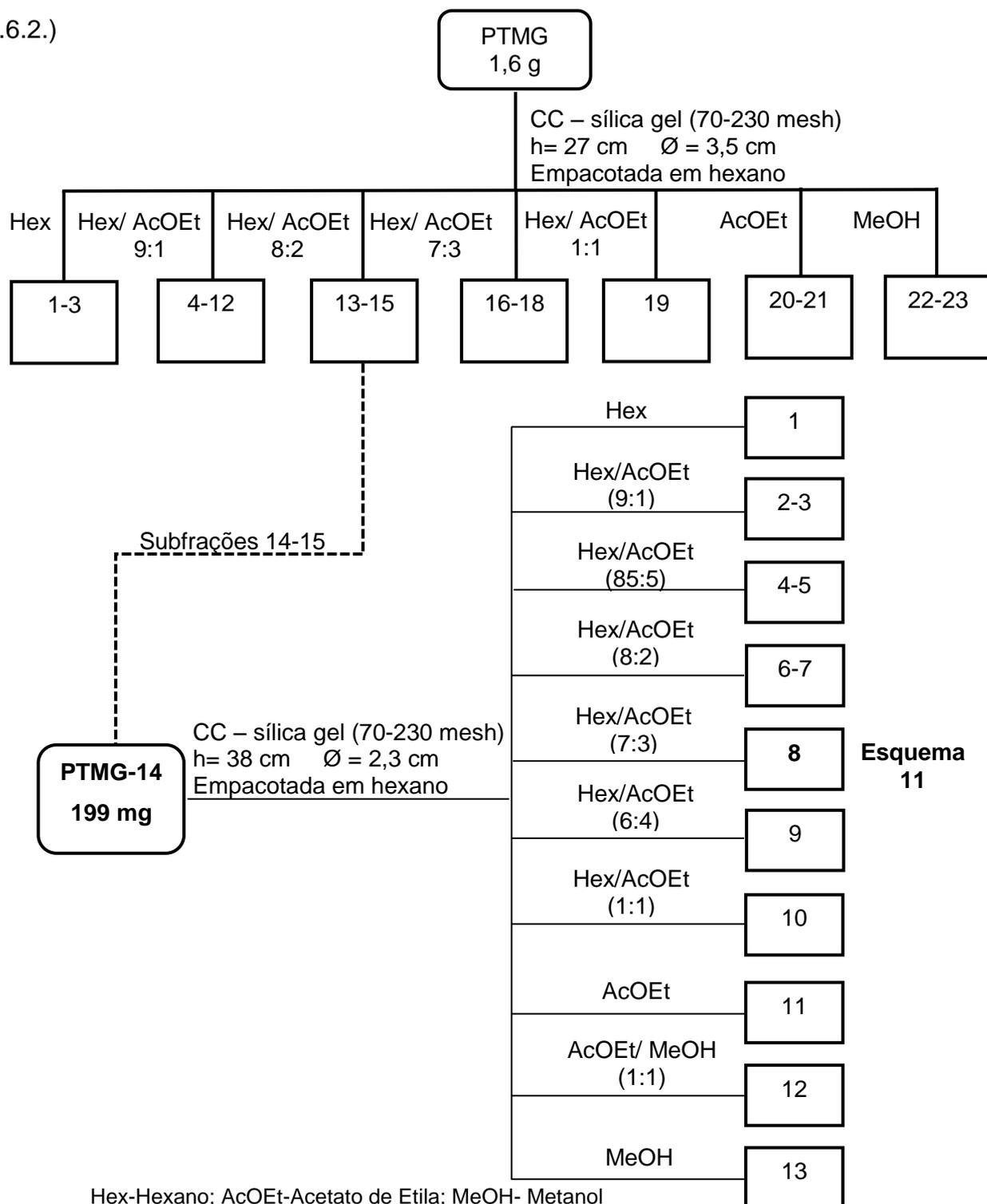


DCM-Diclorometano; AcOEt-Acetato de Etila; MeOH- Metanol

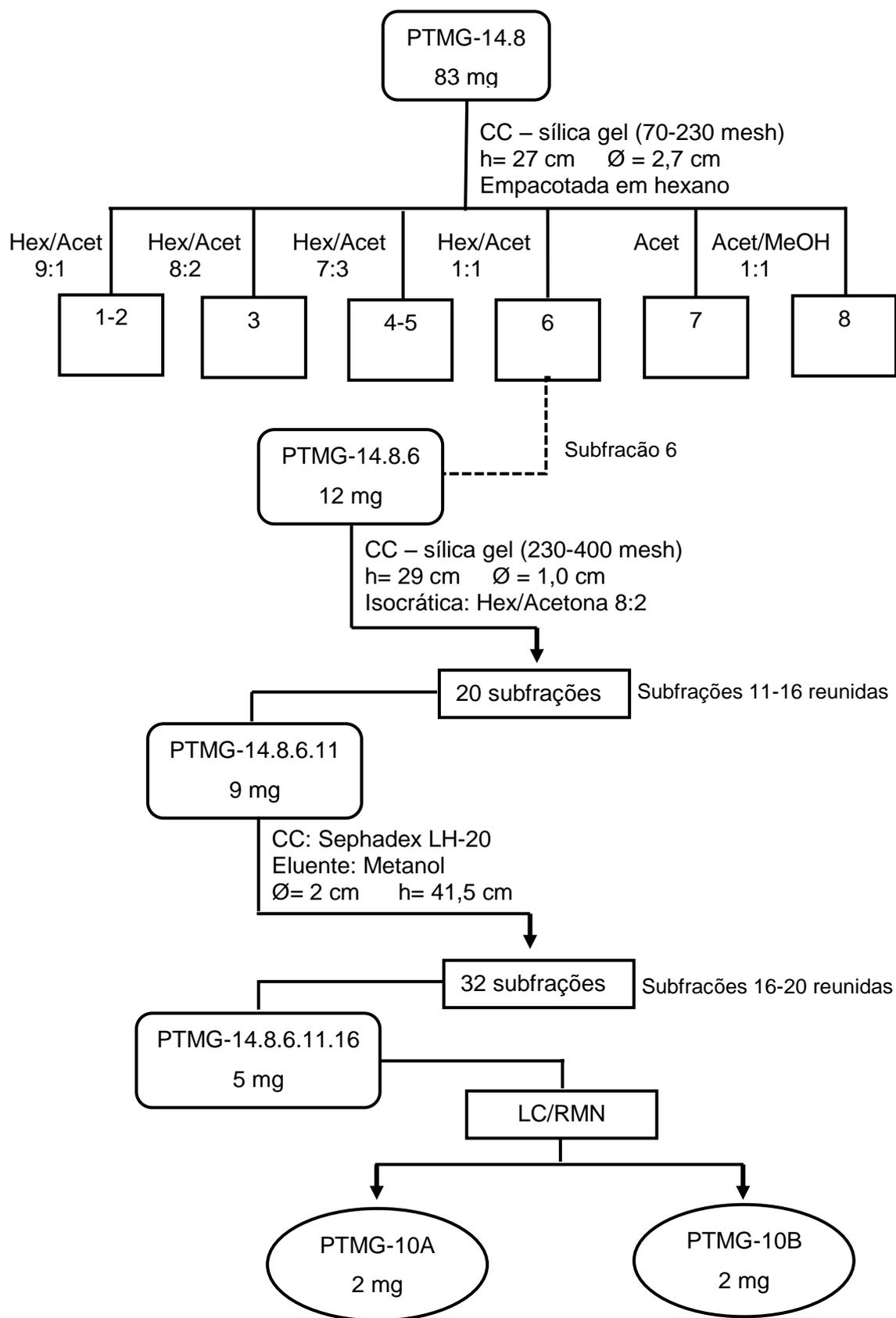
Esquema 9. Partição do extrato metanólico dos galhos de PTMGE

4.6.2. Fracionamento cromatográfico PTMG

O fracionamento cromatográfico de PTMG foi efetuado segundo o esquema 10. A subfração PTMG-14.8 foi submetida ao fracionamento descritos no esquema 11, O isolamento de PTMG-10 pico 1 e 2 foram realizados por CLAE-EFS (subitem 4.6.2.)



Esquema 10. Fracionamento cromatográfico de PTMG



Hex-Hexano; MeOH- Metanol; Acet: Acetona

Esquema 11. Fracionamento cromatográfico de PTMG-14.8

4.6.3. Parâmetros utilizados no CLAE

A amostra (5 mg) a ser injetada foi solubilizado em acetona (1,5 ml) e filtrada em membrana PVDF (fluoreto de polivinilideno), obtendo-se a solução estoque. Inicialmente foi realizada uma corrida exploratória em modo reverso utilizando uma coluna ProntoSil 120-5-EuroBOND-C18 (5 μ m, 120 Å, 15 cm x 4,0 mm), tendo como fase móvel uma mistura de CH₃CN/H₂O com gradiente linear variando 0-100% de CH₃CN, com vazão de 0.8 mL/min e volume de amostra injetado foi de 30 μ L. O cromatograma adquirido nesta corrida exploratória apresentou 2 picos de intensidades significantes (Figura 5).

Para a purificação das substâncias utilizou-se a coluna ProntoSil 120-5-EuroBOND-C18 e fase móvel CH₃CN/H₂O com gradiente constante de 72,0% de CH₃CN (18 min.) até 100% CH₃CN (2 min.) e permanecendo em MeOH por 5 min. Após este período, retornou-se ao gradiente inicial (100-72,0% de CH₃CN, 1 min, permanecendo em 72,0% de CH₃CN por 4 min).

Os picos foram “trapeados” estavam aderidas nos cartuchos de EFS (C-18). As amostras foram extraídas em MeOH, após secas, foram solubilizadas em MeOD para injeção e análise no RMN. As substâncias foram identificadas como PTMG-10A e PTMG-10B.

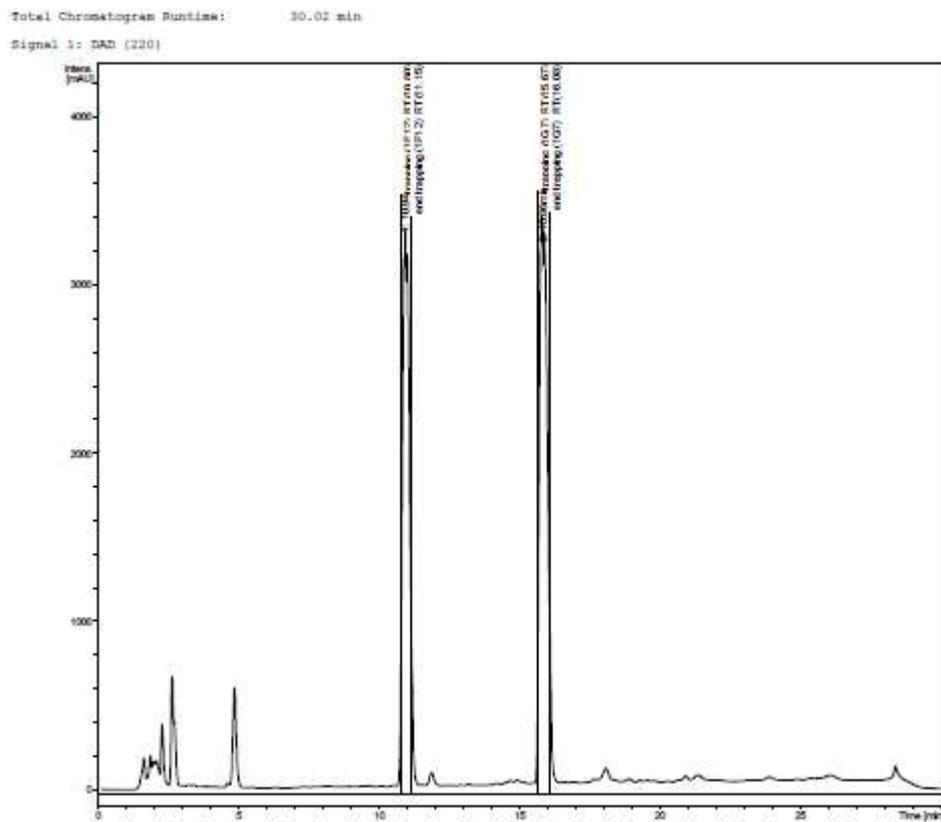
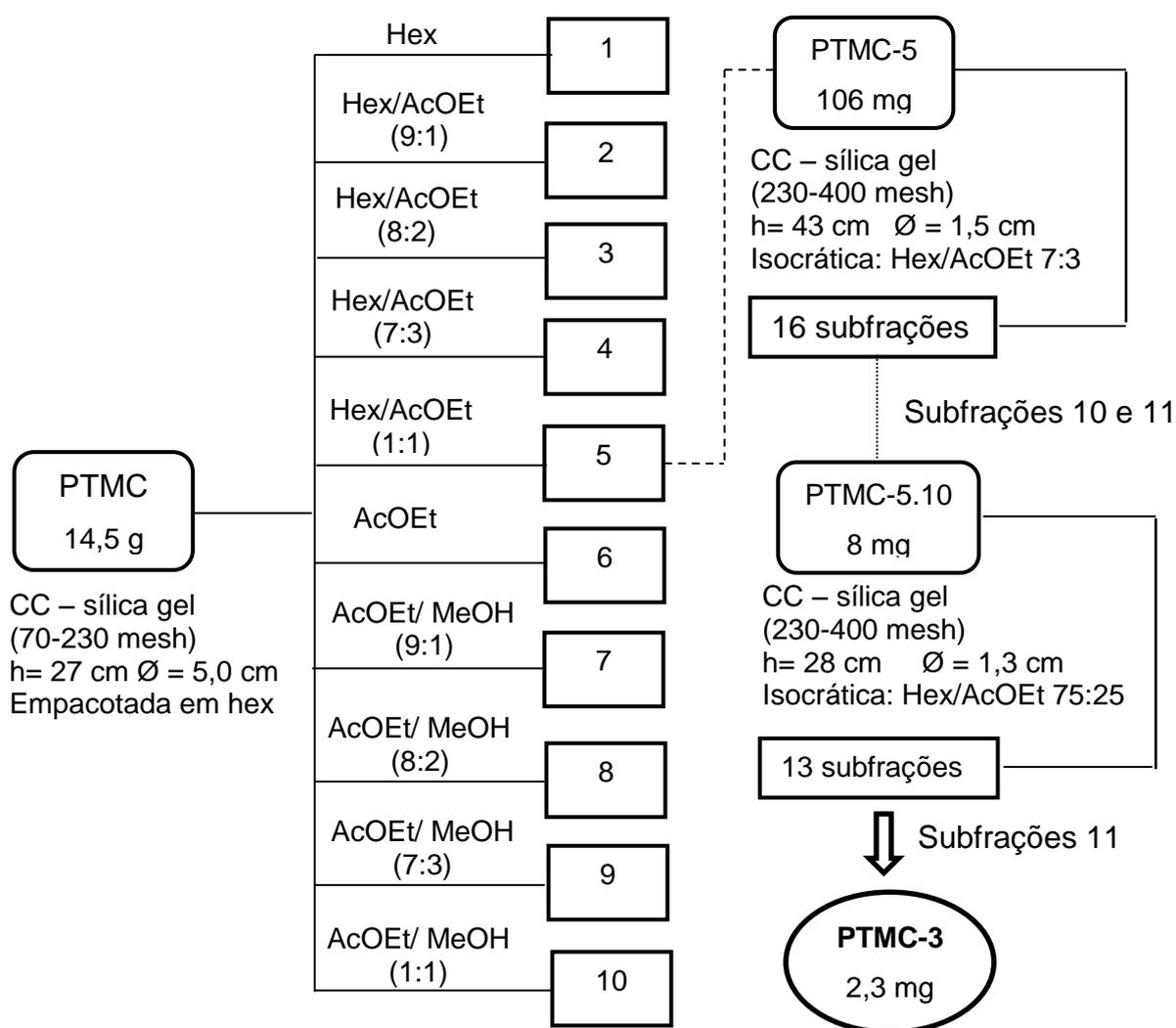


Figura 5. Cromatograma da amostra PTMG-10 e os picos “trapeados”

4.6.4. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico do caule

O extrato metanólico do caule (PTMC) foi submetido a cromatografia de coluna em sílica gel por sucessivas vezes, conforme o esquema 12. A subfração PTMC-5.10.11 apresentou uma substância isolada, a mesma foi renomeada para PTMC-3.



Hex-Hexano; AcOEt – Acetato de etila; MeOH: Metanol

Esquema 12. Fracionamento cromatográfico de PTMC

4.7. Extração de óleo essencial de *Protium tenuifolium*

4.7.1. Extração dos óleos essenciais

As amostras de óleos essenciais foram obtidas em triplicata por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger modificado, acoplado a um balão de fundo redondo, com uma manta elétrica aquecedora, mantendo-se a temperatura em 100°C. Para cada extração em triplicatas, a proporção de material vegetal e água destilada foi de 1:10. Após quatro horas, recolheu-se o óleo essencial que foi seco com sulfato de sódio anidro, acondicionado em ampola de vidro âmbar e mantido sob refrigeração.

4.7.2. Cálculo do rendimento

O rendimento da extração foi calculado com base na massa do óleo volátil obtido em relação à massa de material vegetal utilizado, multiplicado por 100. Os valores foram dados em porcentagem segundo a equação:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{volume de óleo obtido (mL)} \times 100}{\text{material de partida (g)}}$$

4.7.3. Avaliação e identificação dos constituintes do óleo essencial

As análises foram realizadas em triplicata no Instituto Agronômico de Campinas sob a supervisão da Dra. Marcia Ortiz Mayo Marques. Os óleos essenciais foram diluídos em acetato de etila (1,0 µL/mL) e as soluções obtidas foram submetidas à análise por Cromatografia em fase Gasosa com Detector de Ionização de Chama (CG-DIC) utilizando como gás de arraste hélio (He) em fluxo de 1,0 mL/min. A injeção em modo split 1:20 foi realizada com injetor a 250°C. A temperatura do detector foi de 290°C e o forno foi programado de 60°C a 240°C a 3°C/min.

As análises foram realizadas com coluna capilar de sílica fundida OV-5, com medidas de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Ohio Valley Specialty Chemical, Inc.). As condições da análise foram às mesmas utilizadas por CG-DIC; impacto eletrônico a 70 eV.

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas e cálculos dos índices de retenção com o banco de dados do sistema CG/EM, da literatura (ADAMS, 2006) e com dados das espectrootecas NIST 12, NIST 62 e WILEY 139, sendo quantificados por CG/DIC.

Os índices de retenção foram calculados utilizando a equação de van der dool-kratz, relacionando os tempos de retenção dos compostos presentes nos óleos essenciais com os tempos de retenção de uma série homóloga de hidrocarbonetos lineares (C₉-C₂₂) que foi co-injetada com a amostra na seguinte programação: 60 °C - 240 °C, 3^oC /min; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

4.8. Identificação macroscópica e microscópica de madeira

4.8.1. Preparo dos corpos de prova e caracterização anatômica da madeira

Os estudos anatômicos foram desenvolvidos no Laboratório de Anatomia e Identificação de Madeiras do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Para caracterização macroscópica de *Protium tenuifolium*, foram confeccionados corpos de prova a partir dos discos de madeira com dimensões de 2x2x2 cm.

4.8.2. Preparo de lâminas permanentes para microscopia

Os cortes histológicos (transversal, tangencial e radial) micrométricos foram obtidos com auxílio de um micrótomo de deslize, de 15 a 20 µm de espessura. Foram preparados dois tipos de lâmina, com os cortes naturais e com os cortes tratados com corante. Estes foram clarificados com uma solução de hipoclorito de sódio comercial (20%) e foram imersos em série alcoólica: etanol 50, 70, 96 e 100% (5 min) para desidratar. Para coloração do tecido foi usada safranina hidroalcoólica, a mesma série alcoólica foi usada para retirar o excesso de corante. Após a desidratação e coloração, os cortes foram submergidos em xilol (fixador) e montados em lâmina e lamínula com a resina (balsamo do Canadá), preparando-se as lâminas permanentes.

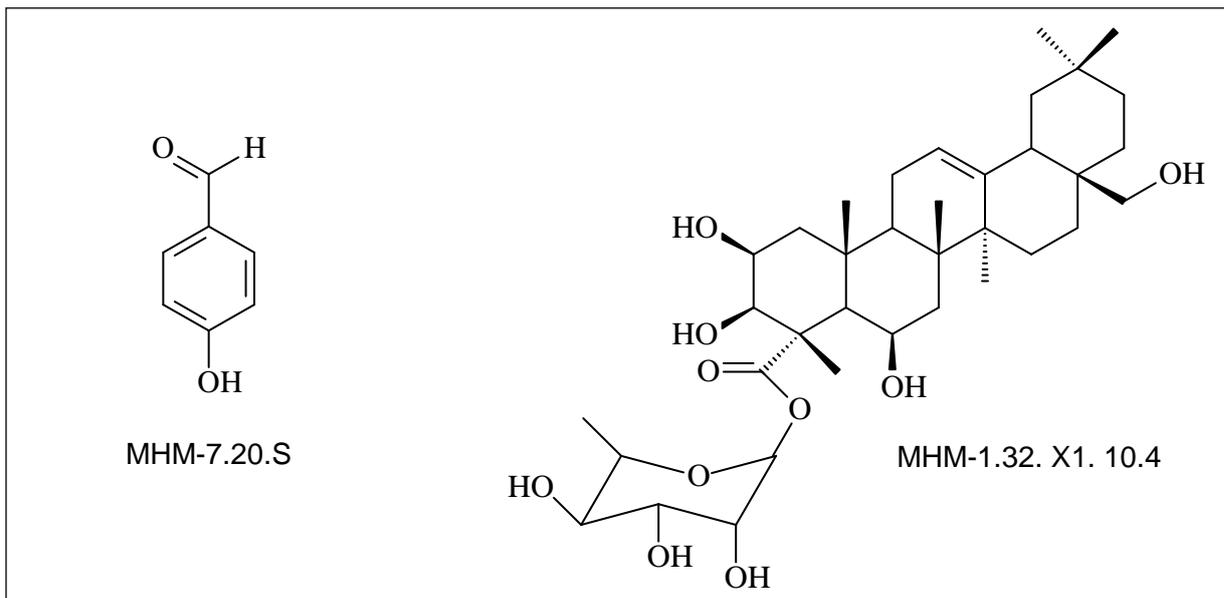
4.8.3. Descrições macroscópicas, microscópicas e identificação.

As análises foram realizadas em microscópio óptico associado a um computador com software de análise de imagem (MOTIC) com aumentos de 10x, 30x e 50x. As descrições são de acordo com as normas para procedimentos em estudos de anatomia de madeira (Coradin e Muniz, 1992). A identificação da

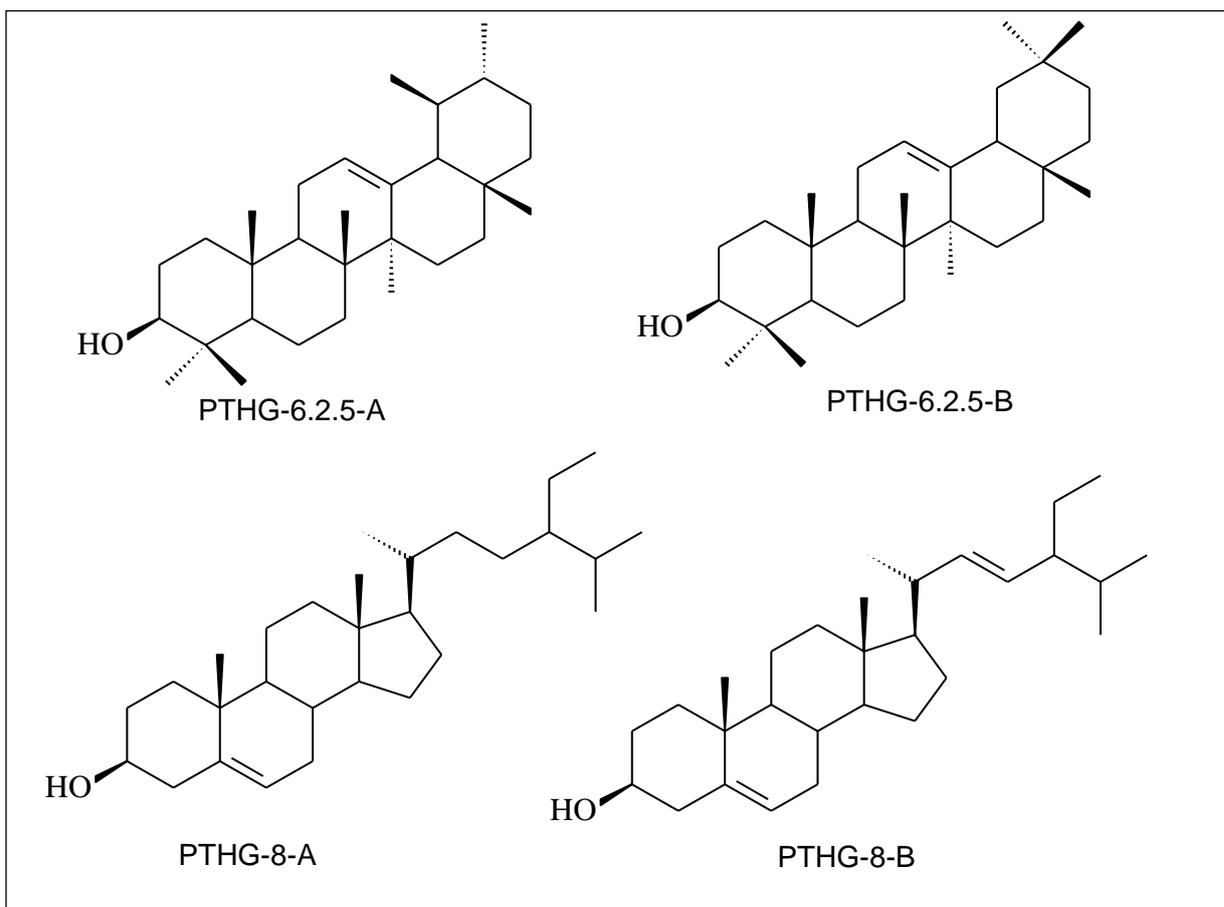
espécie foi realizada pelo método de comparação, tendo como suporte a Coleção botânica disponível na Xiloteca do INPA.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

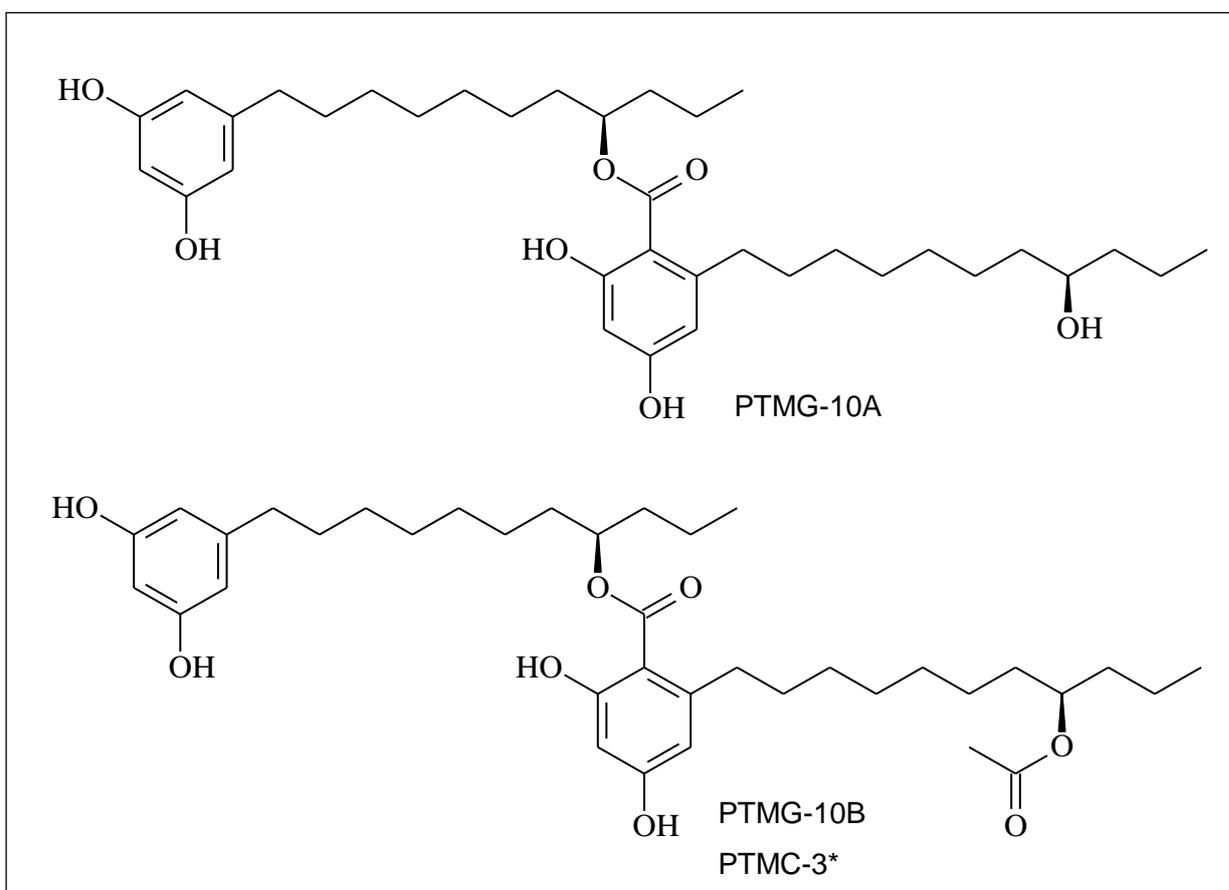
5.1. Estrutura das substâncias identificadas



Quadro 4. Substâncias identificadas no extrato metanólico do caule de *Manilkara huberi*



Quadro 5. Substâncias identificadas no extrato hexânico dos galhos *Protium*



Quadro 6. Substâncias identificadas nos extratos metanólicos de galhos e caule* de *Protium tenuifolium*

5.2. Identificação das substâncias isoladas de *Manilkara huberi*

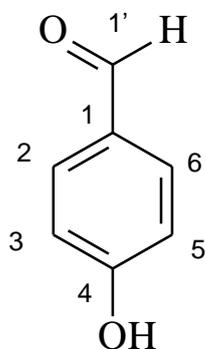
5.2.1. Identificação de MHM-7.20. S

A substância MHM-7.20.S foi isolada do extrato metanólico (esquemas 3 e 4), apresentou-se na forma de um sólido amorfo de cor branca, solúvel em metanol. Nas análises em CCD foi detectada absorvância na luz UV (254 nm). Quanto aos reveladores químicos, a substância apresentou mancha amarela em vapor de iodo e não reagiu com vanilina sulfúrica.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 6) foram observados sinais como o singlete em δ 9,74, típico do grupo funcional aldeído e sinais de hidrogênios aromáticos δ 7,78 e 6,92. Ao analisar os desdobramentos foi observada simetria desses sinais de hidrogênio aromáticos, caracterizando o sistema AA'BB' e evidenciando um benzeno 1-4 *para*-dissubstituído.

No espectro HSQC (Figura 7) observa-se a correlações dos sinais de H em δ 7,78 e 6,92 com os sinais de carbonos em δ 131,8 e 115,4, respectivamente. No espectro HMBC (Figura 8) é possível observar as correlações do H em δ 7,78 com os carbonos em δ 191,4; 163,7; 131,8 e do H em δ 6,89 com os carbonos em δ 128,6 e 115,4. Esses dados confirmam que o hidrogênio em δ 7,78 está mais próximo à carbonila.

MHM-7.20.S foi identificado como p-hidroxibenzaldeído cujos dados de RMN são compatíveis aos reportados na literatura (Vaish et al, 2005; Kametani et al, 2007). Na família Sapotaceae, essa substância foi recentemente isolada dos frutos de argan (gênero *Argania*) (Khallouki et al, 2015). O p-hidroxibenzaldeído é um produto comercializado para sínteses (Sawarkar, 2012). Em estudo de avaliação biológica foi constatada atividade anticonvulsiva para essa substância (Ha et al, 2000). Esse é o primeiro relato de p-hidroxibenzaldeído no gênero *Manilkara*.

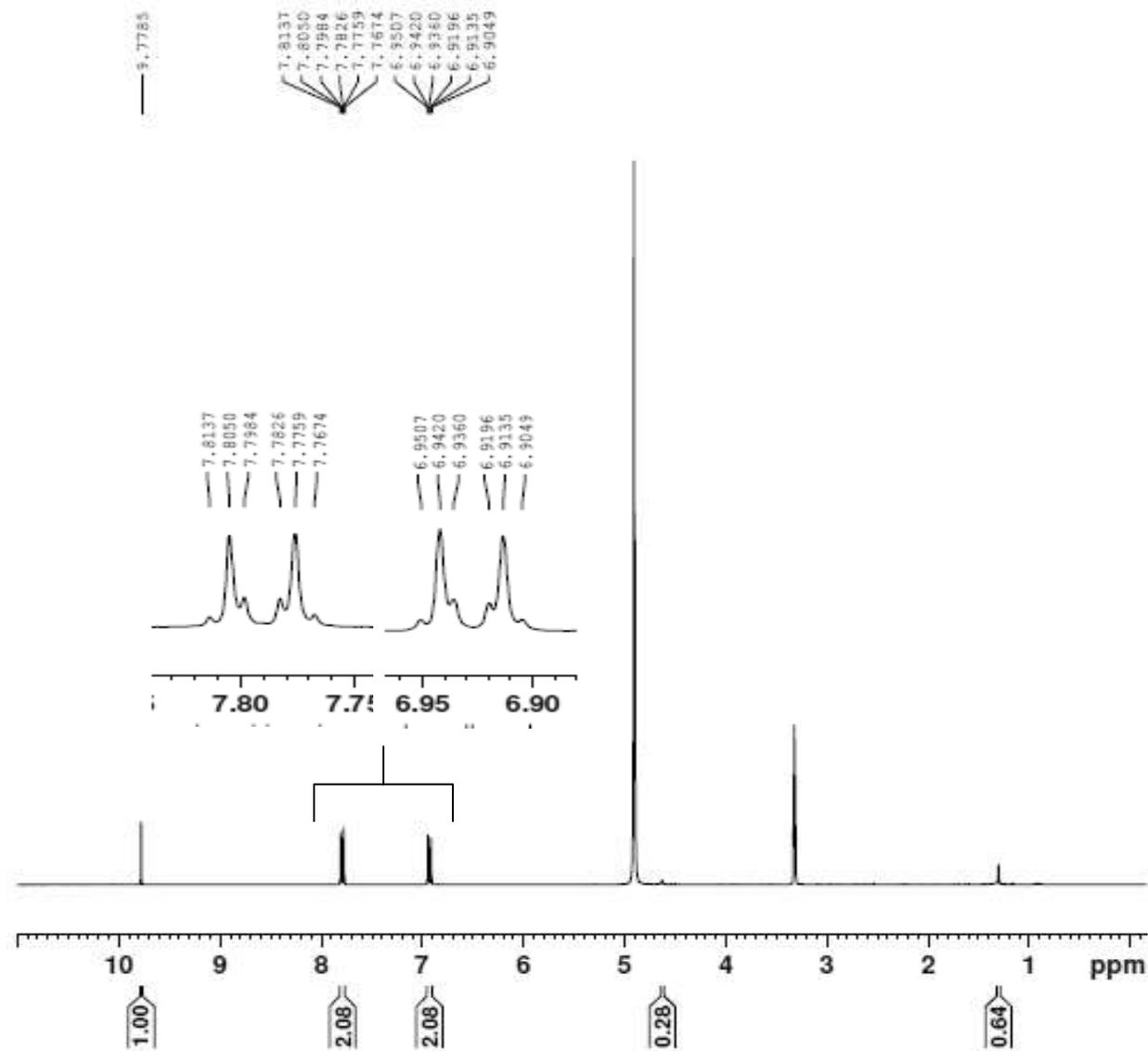


p-hidroxibenzaldeído

Tabela 9. Dados de ^1H (300 MHz, MeOD), HSQC e HMBC (300/75 MHz, MeOD) da substância MHM-7.20.S

Nº	RMN ^1H	RMN ^{13}C	HMBC
1		128,6	
2/6	7,78 AA',BB'	131,8	C-1'; C-4; C-6; C-2
3/5	6,92 AA',BB'	115,4	C-1; C-5; C-3
4		163,7	
1'	9,78 s	191,4	

*Obtidos por HSQC e HMBC



Current Data Parameters
 NAME Sami MHM7.20s
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20130613
 Time 9.06
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT MeOD
 NS 16
 DS 2
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.093132 Hz
 AQ 5.3687091 sec
 RG 69.6136
 DW 81.920 usec
 DE 10.00 usec
 TE 295.4 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 300.1818537 MHz
 NUC1 1H
 P1 8.25 usec
 PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.1800000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 6. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, MeOD) e expansão de MHM7.20.S

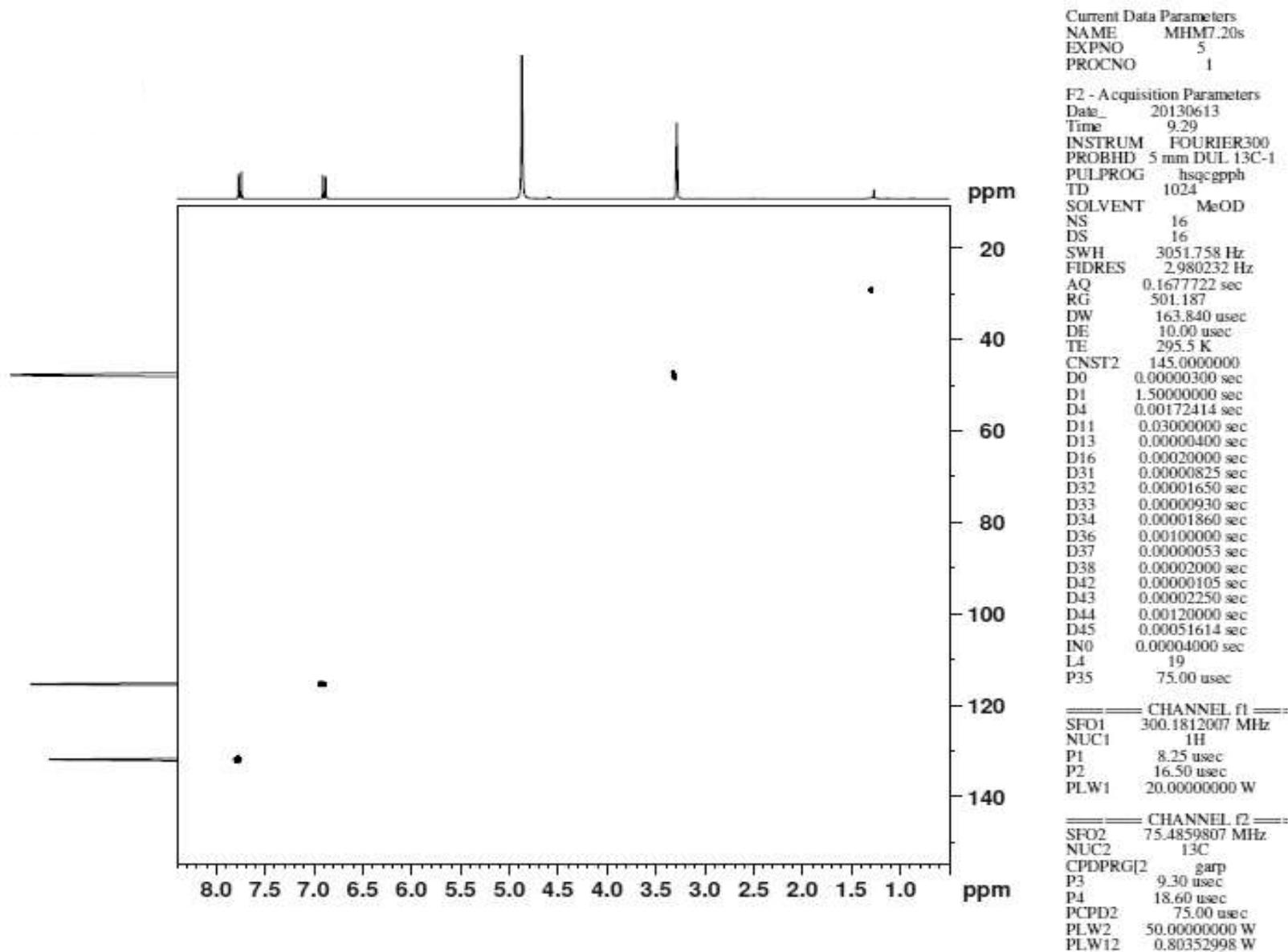


Figura 7. Mapa de contorno de HSQC de MHM7.20.S

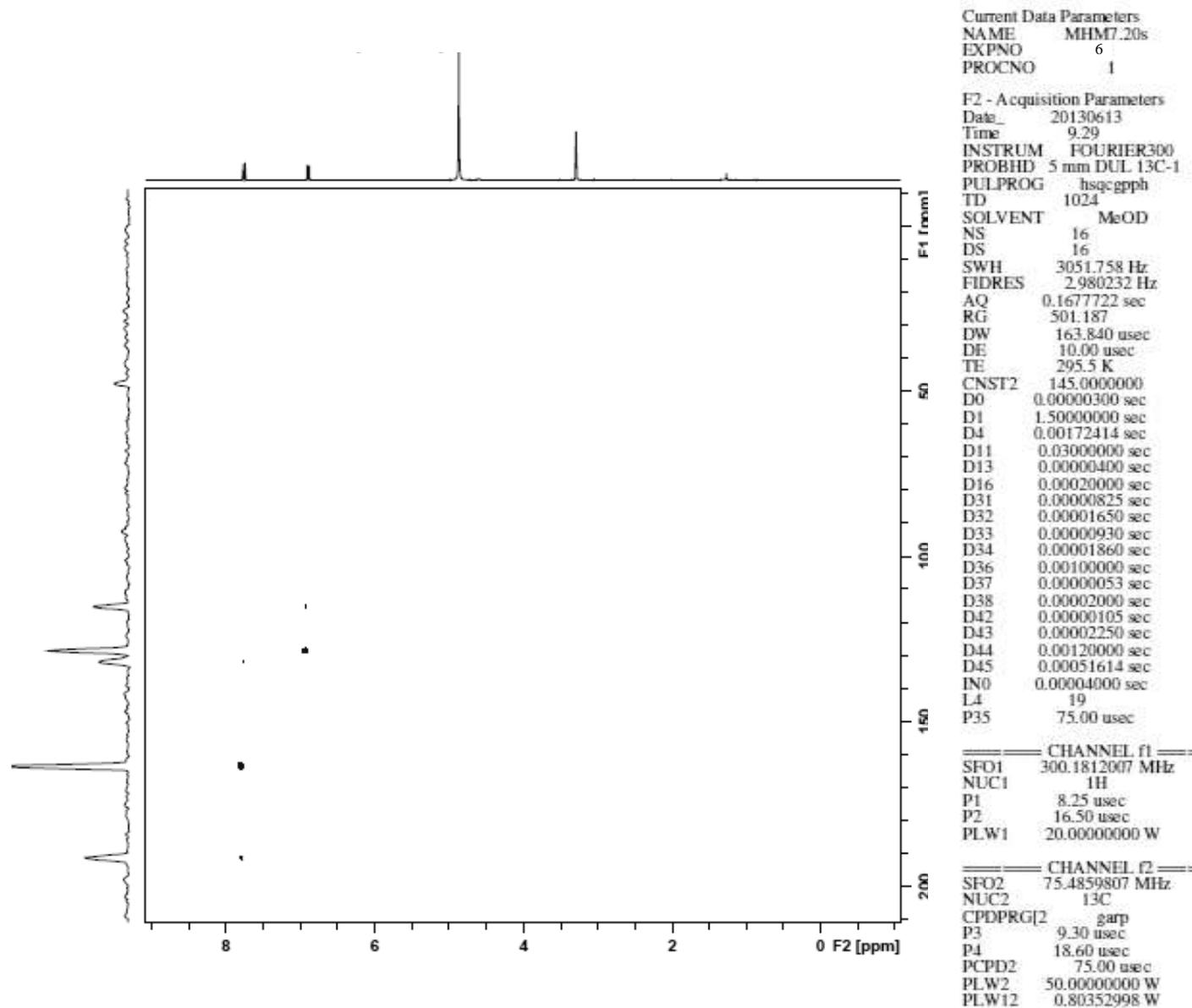


Figura 8. Mapa de contorno de HMBC de MHM7.20.S

5.2.2. Identificação de MHM-1.32.X1.10.4

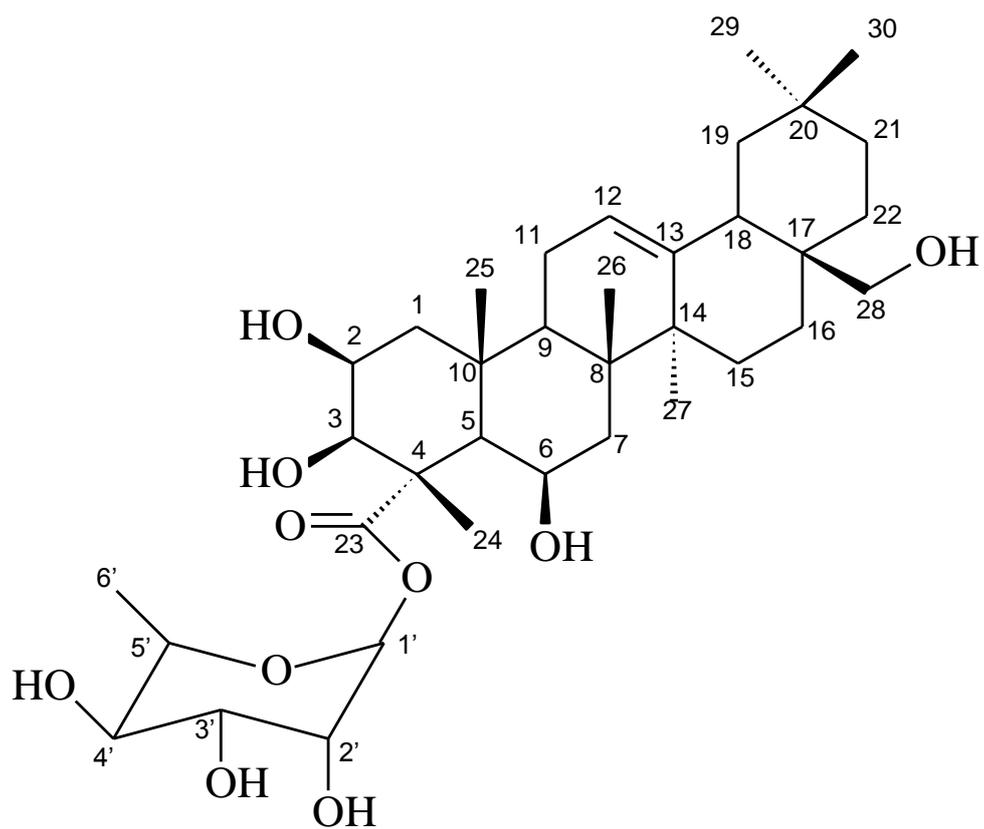
A substância MHM1.32.X1.10.4 isolada segundo os esquemas 3 e 5 não apresentou absorvância/fluorescência na luz UV quando analisada em CCD. Apresentou-se na forma de um sólido cristalino de cor branca, solúvel em água com presença de espuma sob agitação.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 9, Tabela 10) foram observados sinais de metilas em singleto na região entre δ 1,62-0,88 além de metila em dubleto em δ 1,94, sinais de hidrogênios carbinólicos com deslocamentos na faixa de δ 4,95-3,66 e olefínico em δ 5,72. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 10, Tabela 10) foram observados sinais de carbonila em δ 176,6, sinais de olefínicos típicos de triterpeno do tipo oleanano em δ 143,8 e 124,7, carbinólicos em δ 74,6-67,7. A proposta para um triterpeno glicosilado foi corroborada pela absorção em δ 102,5, que se refere a carbono anomérico, e pela abundância de carbonos carbinólicos.

O experimento HSQC (Figura 11) mostrou as correlações do hidrogênio olefínico em δ 5,72 com o sinal de carbono em δ 124,7. Neste experimento verificaram-se também as correlações dos hidrogênios δ 4,34 e 3,66 com o carbono em δ 70,0 que baseado na correlação observada no HBMC (Figura 12) do H em δ 3,66 com o sinal do C em δ 50,0, evidenciando a presença da hidroxila em C-28.

No HSQC observa-se um sinal de H δ 6,16 (H-1') correlacionando com carbono anomérico δ 102,5 (C-1'), ao analisar o HMBC observam-se as correlações do H δ 4,30 (H-5') com C δ 19,5 (C-6'); H δ 6,16 (H-1') com C 67,5 (C-5') e 74,5 (C-2'). Essas correlações indicam a presença de metila no glicosídeo que associado aos deslocamentos dos hidrogênios na região de δ 4,3-4,7 permite afirmar que o açúcar presente na substância é a ramnose.

No HMBC há correlação do sinal de H da metila em δ 1,62 (H-24) com o carbono em δ 75,4 (C-3). De acordo com a literatura esse deslocamento de ^{13}C é compatível para saponinas esterificada em C-23 previamente identificada na família Sapotaceae (Wandji et al, 2003). A literatura também mostra saponinas de Sapotaceae com esterificação em C-28 e hidroxilada em C-23, mas os deslocamentos químicos de ^{13}C divergem dos obtidos para MHM1.32.X1.10.4 (Eskander et al, 2014; Tapondjou et al, 2011; Sánchez-Medina et al, 2009; Lavaud et al, 1996). Desta forma, MHM1.32.X1.10.4 foi identificado pela primeira vez como ácido $2\beta,3\beta,6\beta,28$ -tetra-hidroxi-olean-12-en-23-oico éster 23-O- α -L-ramnosepiranosil cujos dados foram comparados com a literatura (Wandji et al, 2003; Sahu et al, 1997).

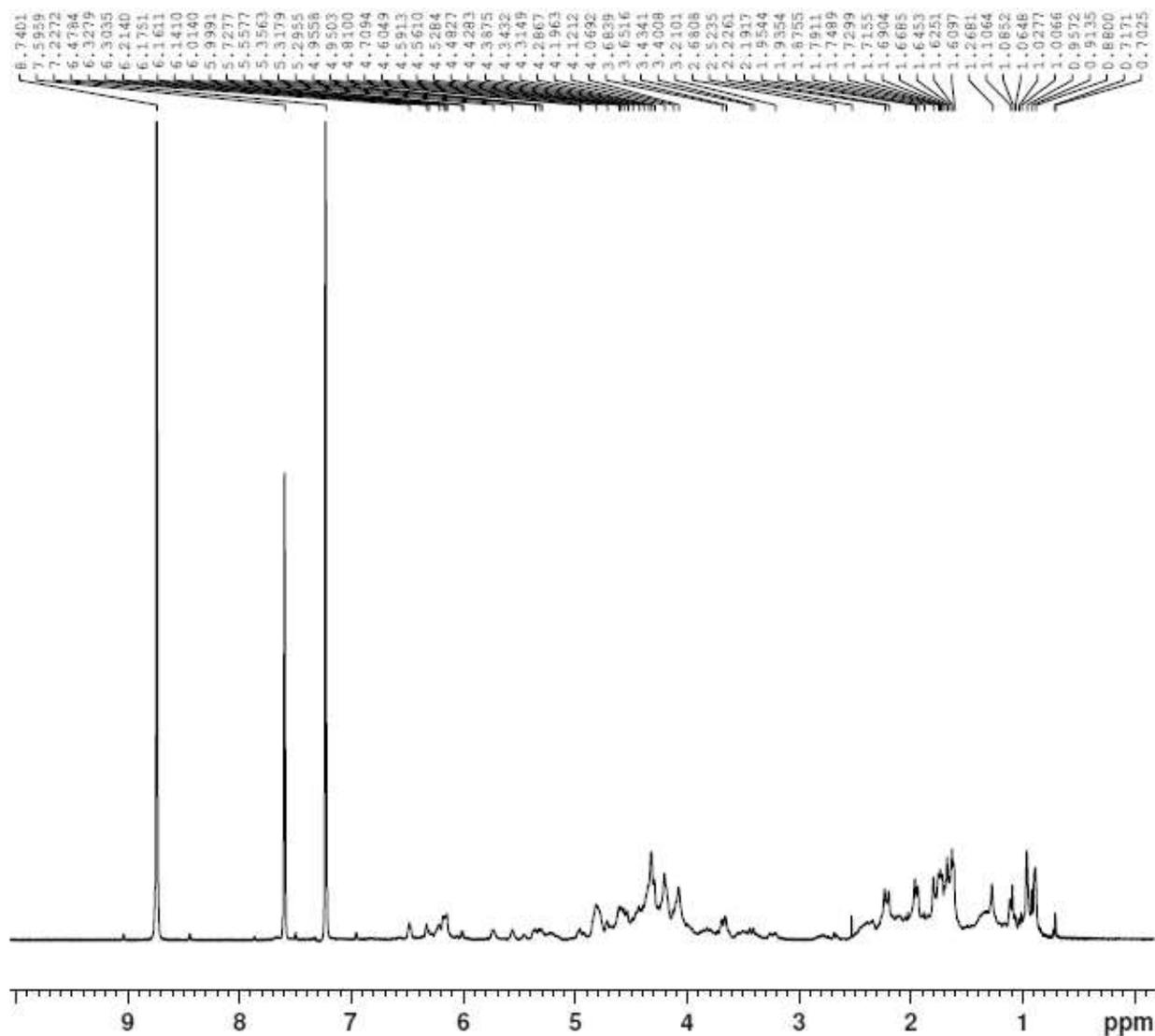


ácido 2 β ,3 β ,6 β ,28-tetra-hidroxi-olean-12-en-23-oico éster 23-O- α -L-ramnosepiranosil

Tabela 10. Dados de ^1H e ^{13}C de MHM1.32.X1.10.4 comparados com a literatura

Nº	Experimental		Literatura		
	RMN ^1H (300 MHz, Piridina-d5)	RMN ^{13}C (75 MHz, Piridina-d5)	RMN ^1H	RMN ^{13}C	
1		47,8		47,7	Wandji et al, 2003 ^B
2	4,30 (sl)	74,6	4,36 (sl)	71,8	
3	4,19	75,4	4,10 (d, 4,0 Hz)	73,3	
4		55,3		55,9	
5		51,0		48,6	
6	4,95 (sl)	67,7	5,00 (sl)	67,0	
7		40,05		40,5	
8		39,8		39,1	
9		47,8		47,9	
10		37,3		36,8	
11		24,2		23,6	
12	5,72 (sl)	124,7	5,12 (t, 2,46 Hz)	123,1	
13		143,8		144,2	
14		44,3		42,9	
15		27,8		28,1	
16		24,2		24,2	
17		50,0		47,3	
18		43,4		41,7	
19		46,8		46,2	
20		31,3		31,4	
21		34,8		34,2	
22		33,7		33,7	
23		176,6		176,2	
24	1,62 s	19,1	1,50	15,0	
25	1,60 s	19,1	1,10	17,3	
26	1,09 s	25,1	0,98	18,7	
27	1,26 s	26,5	1,04	26,8	
28	4,34 e 3,66	70,0		72,3	
29	0,88 s	33,6	0,86	33,8	
30	0,95 s	24,4	0,87	24,4	
1'	6,16	102,5	5,98 (sl)	102,3	Sahu et al, 1997 ^A
2'	4,70	74,5	4,40	72,0	
3'	4,18	71,4	4,40	71,7	
4'	4,59	72,9	4,18	73,6	
5'	4,30	67,5	4,27 m	69,9	
6'	1,94 (d, 5,7 Hz)	19,5	1,64 (d, 5,8 Hz)	18,7	

A- ^1H - 500 MHz; ^{13}C -125 MHz, Piridina-d5; B- ^1H - 400 MHz; ^{13}C -100 MHz, DMSO.



Current Data Parameters
 NAME Sami_X1.10.4 novo
 EXPNO 19
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20150312
 Time 9.22
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zgcppr
 TD 65536
 SOLVENT Pyridine
 NS 64
 DS 4
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.093132 Hz
 AQ 5.3687091 sec
 RG 22.387
 DW 81.920 usec
 DE 10.00 usec
 TE 295.6 K
 D1 2.00000000 sec
 D12 0.00002000 sec
 P41 2000000.00 usec
 TD0 1

==== CHANNEL f1 ====
 SFO1 300.2019728 MHz
 NUC1 1H
 P1 7.88 usec
 PLW1 20.00000000 W
 PLW9 0.00000100 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.2004360 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 9. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, piridina- d_5) de MHM1.32.X1.10.4

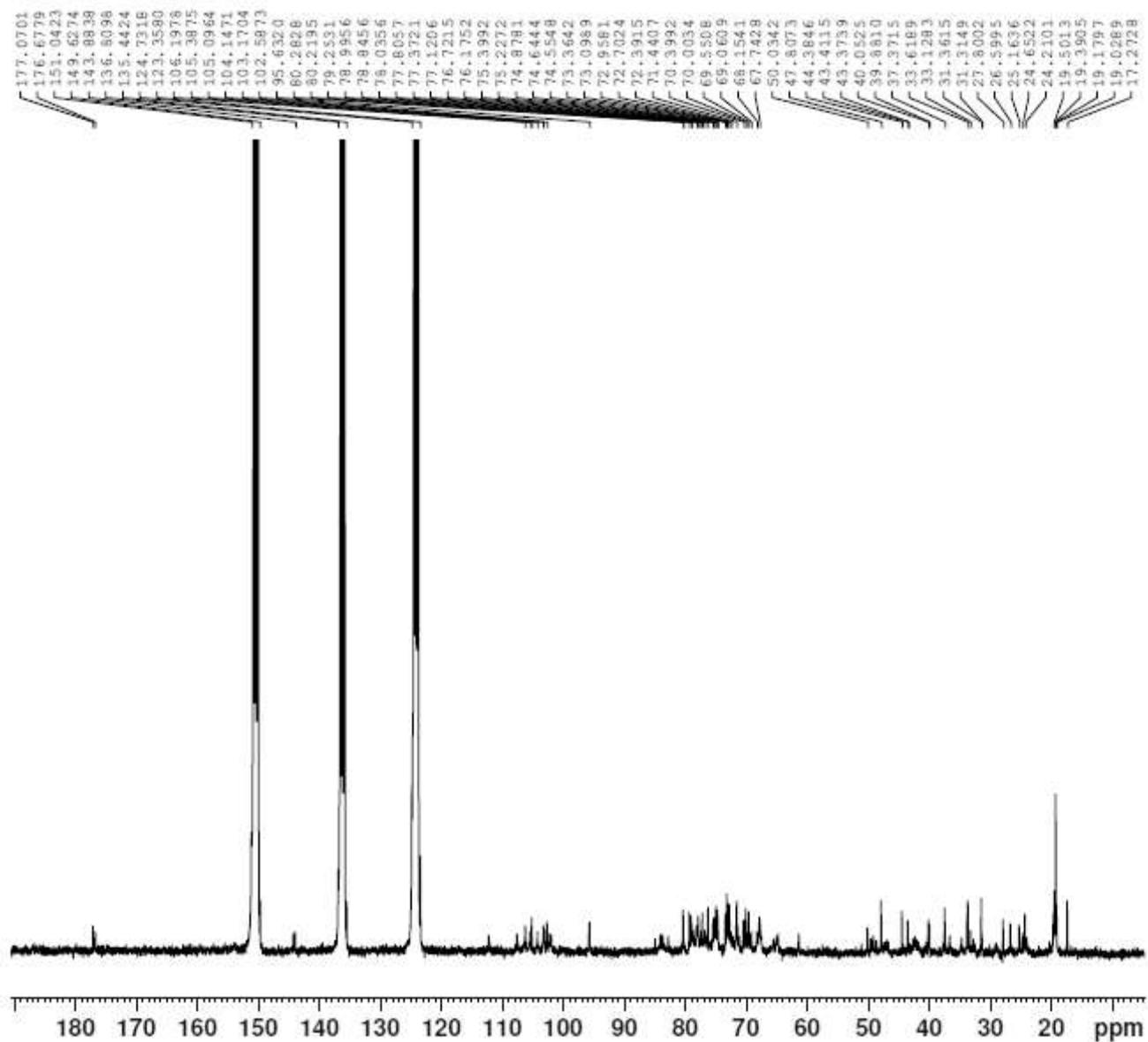


Figura 10. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, Piridina-d₅) e ampliações de MHM1.32.X1.10.4

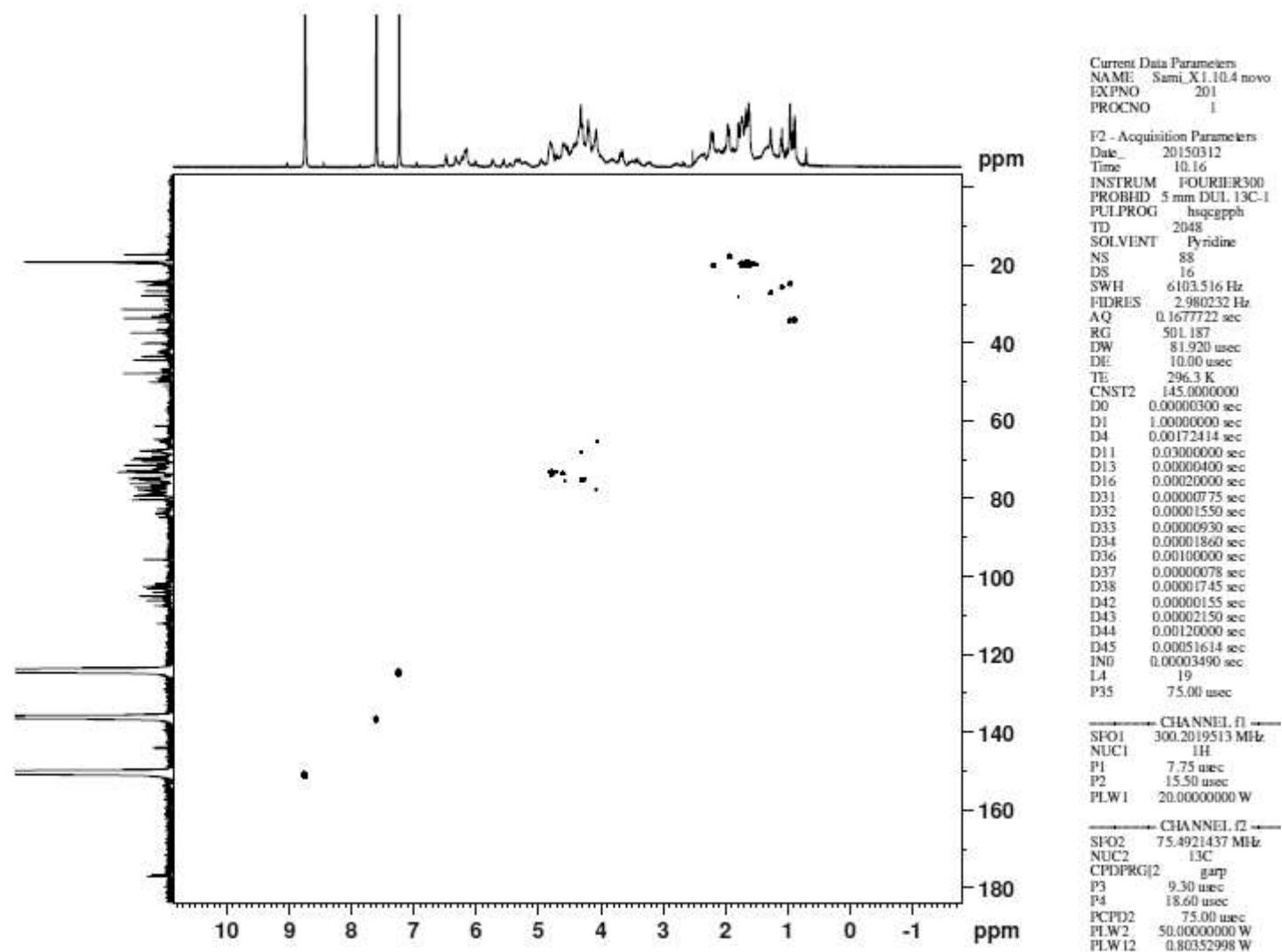


Figura 11. Mapa de contorno de HSQC de MHM1.32.X1.10.4

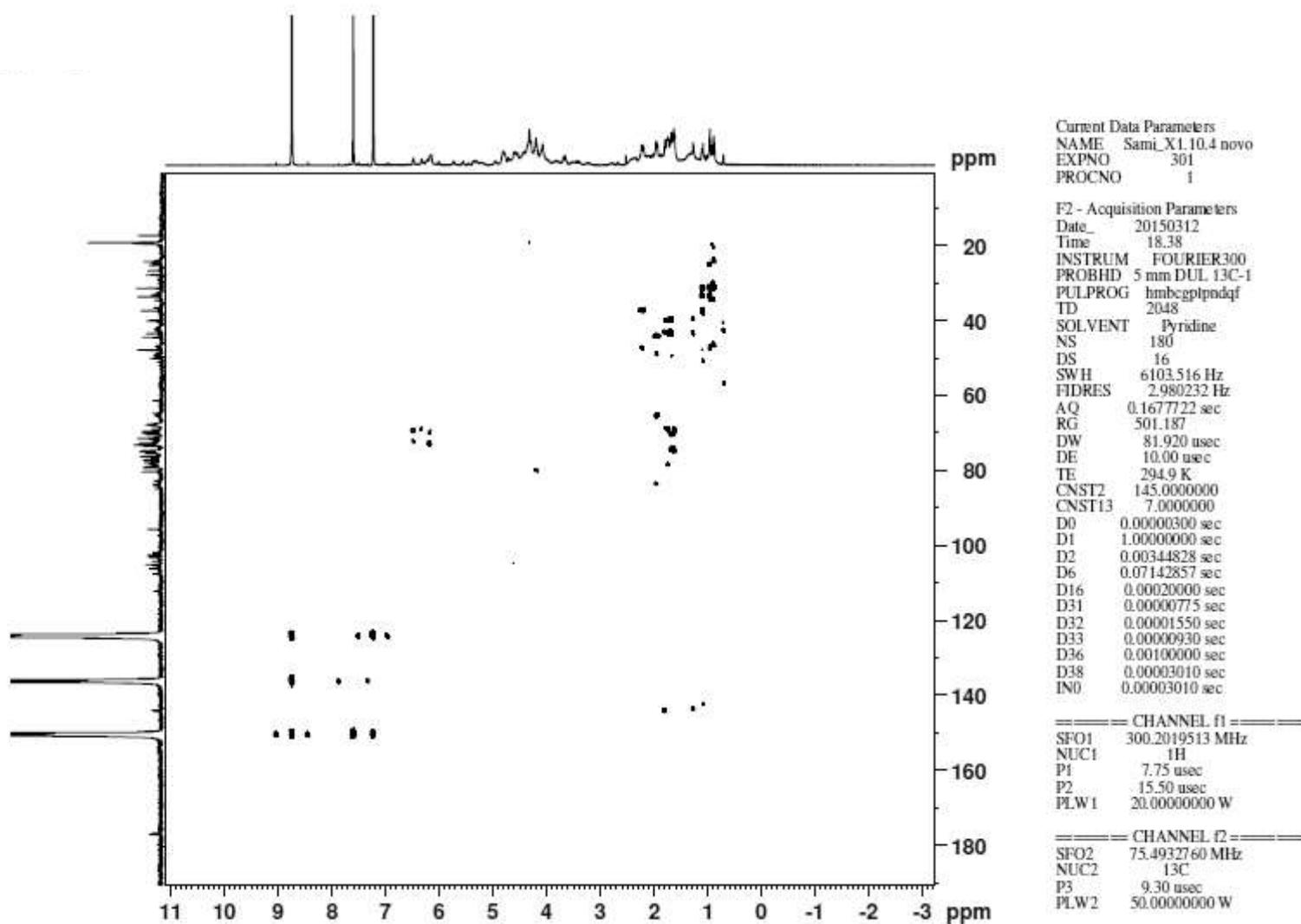


Figura 12. Mapa de contorno de HMBC de MHM1.32.X1.10.4

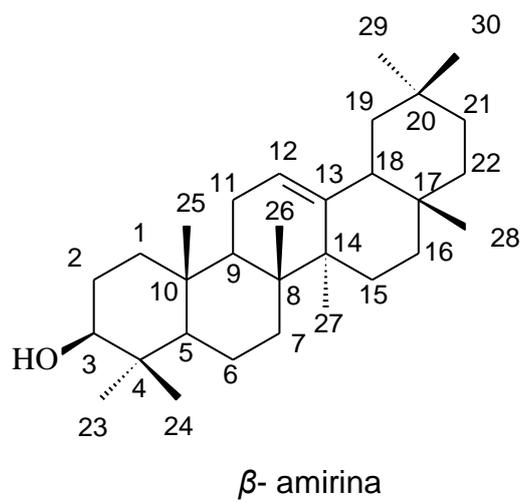
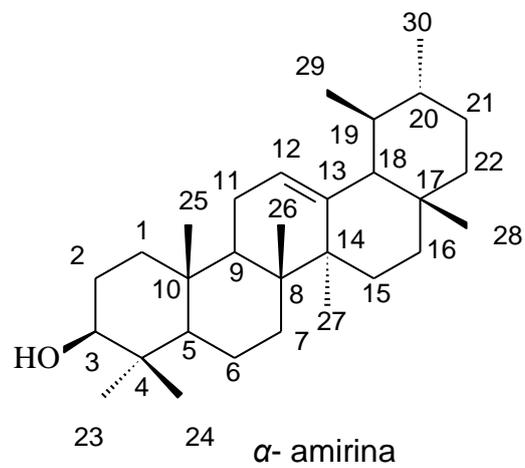
5.3. Identificação das substâncias isoladas de *Protium tenuifolium*

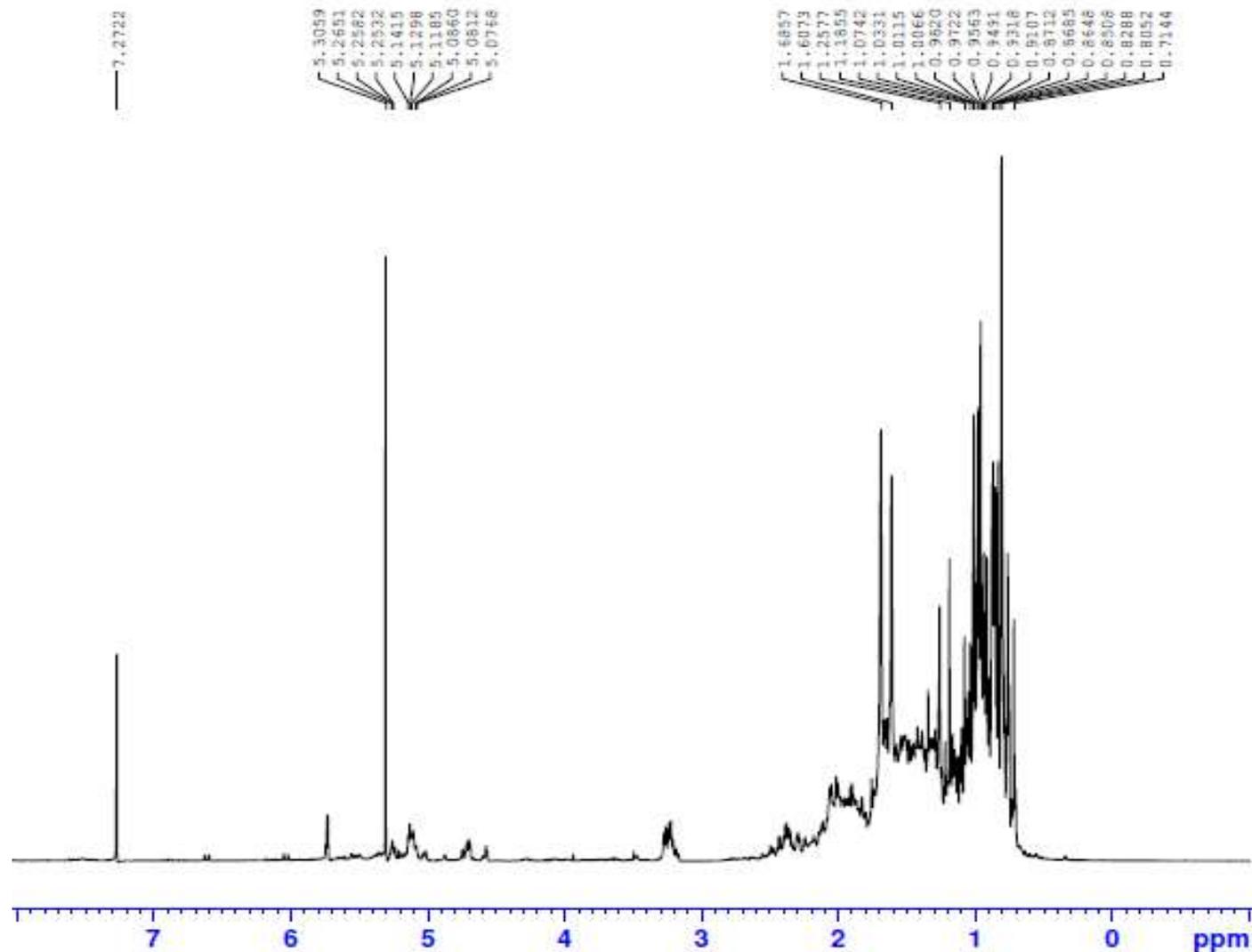
5.3.1. Identificação de PTHG 6.2.5- A e PTHG 6.2.5- B

A substância PTHG 6.2.5 foi isolada do extrato hexânico (esquema 6 e 7), apresentou-se na forma de um sólido branco amorfo, solúvel em DCM. Nas análises em CCD não foi detectada absorvância ou fluorescência, quando revelada em vanilina sulfúrica apresentou coloração roxa.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 13) foram observados sinais de hidrogênios de grupos metílicos em 1,34-0,70, hidrogênio carbinólico atribuído ao hidrogênio 3 em δ 3,22 (dd, $J= 9,96$ e $4,59$ Hz) (Figura 14-B). São observados sinais de hidrogênios olefínicos δ 5,12 (t, 3,5 Hz) e 5,18 (t, 3,5 Hz) (Figura 14-A) típicos de triterpenos do tipo ursano e oleanano. No mapa de contorno HSQC (Figura 15) esses hidrogênios correlacionam respectivamente com os carbonos em δ 124,5 e 122,07 e foram atribuídos a H-12.

Baseando-se nos dados espectroscópicos de RMN, PTHG 6.2.5 apresenta uma mistura dos triterpenos α e β amirina. A análise da intensidade dos sinais desses hidrogênios olefínicos nos permite afirmar que o triterpeno do tipo ursano (α -amirina) está em maior concentração. A ocorrência dessas substâncias são frequentes em *Protium* (Burceraceae), sendo relatados nesse gênero em cascas (Zoghbi et al, 1993), caule (Costa et al, 2012) e principalmente na resina (Marques et al, 2010; Zoghbi et al, 1993; Lima et al, 2005; Bandeira et al, 2002; Vieira-Júnior et al, 2005; Maia et al, 2000). α e β amirina apresentaram atividade hipolipimiente e antihiperlipicêmica (Santos et al, 2012).





Current Data Parameters
 NAME Sami_PTHC_6.2.5
 EXPNO 13
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20150324
 Time 18.26
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 64
 DS 0
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.093132 Hz
 AQ 5.3687091 sec
 RG 5.623
 DW 81.920 usec
 DE 10.00 usec
 TE 1030.6 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

----- CHANNEL f1 -----
 SFO1 300.2019513 MHz
 NUC1 1H
 P1 7.88 usec
 PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.2000000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 13. Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de PTHG-6.2.5

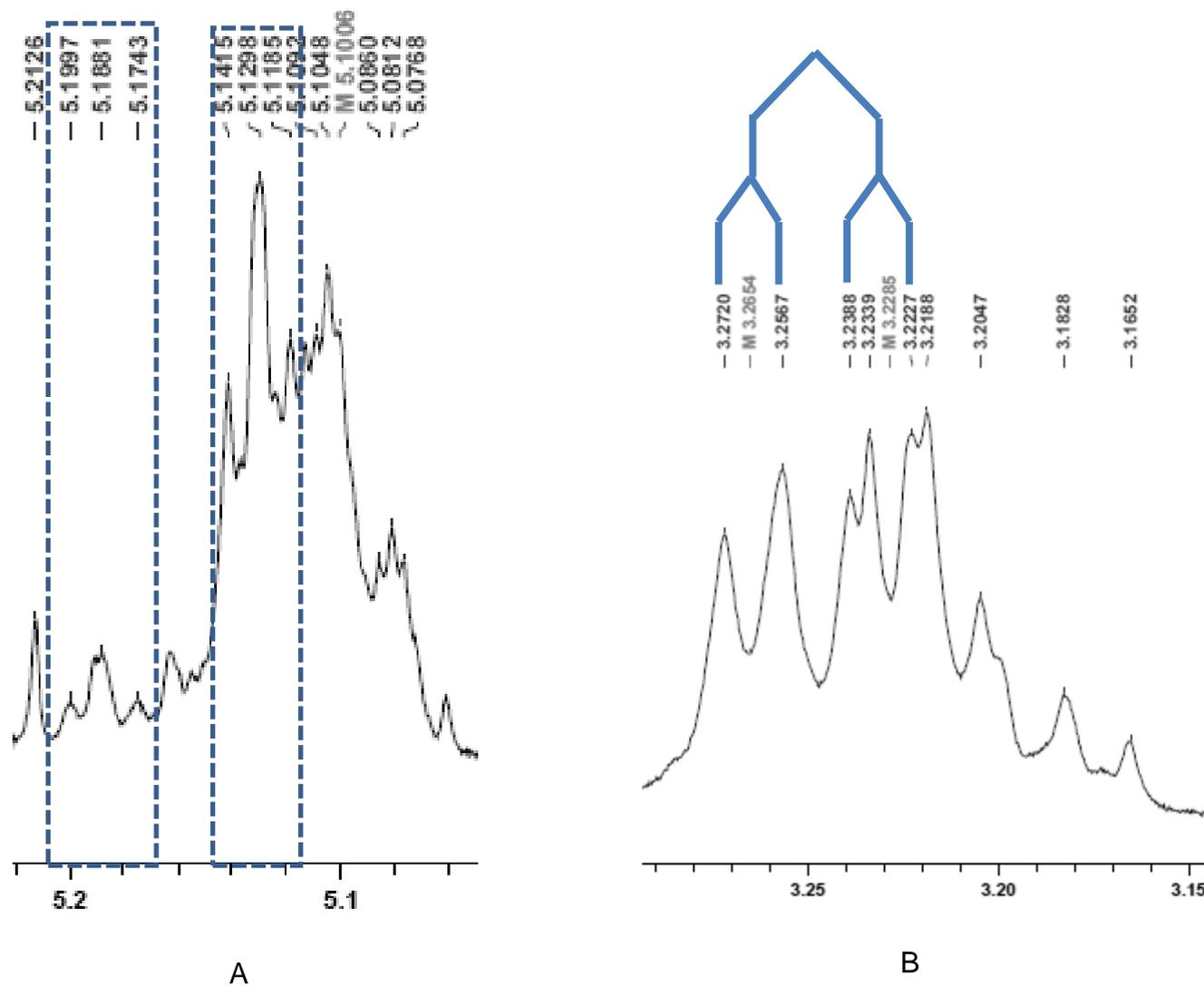
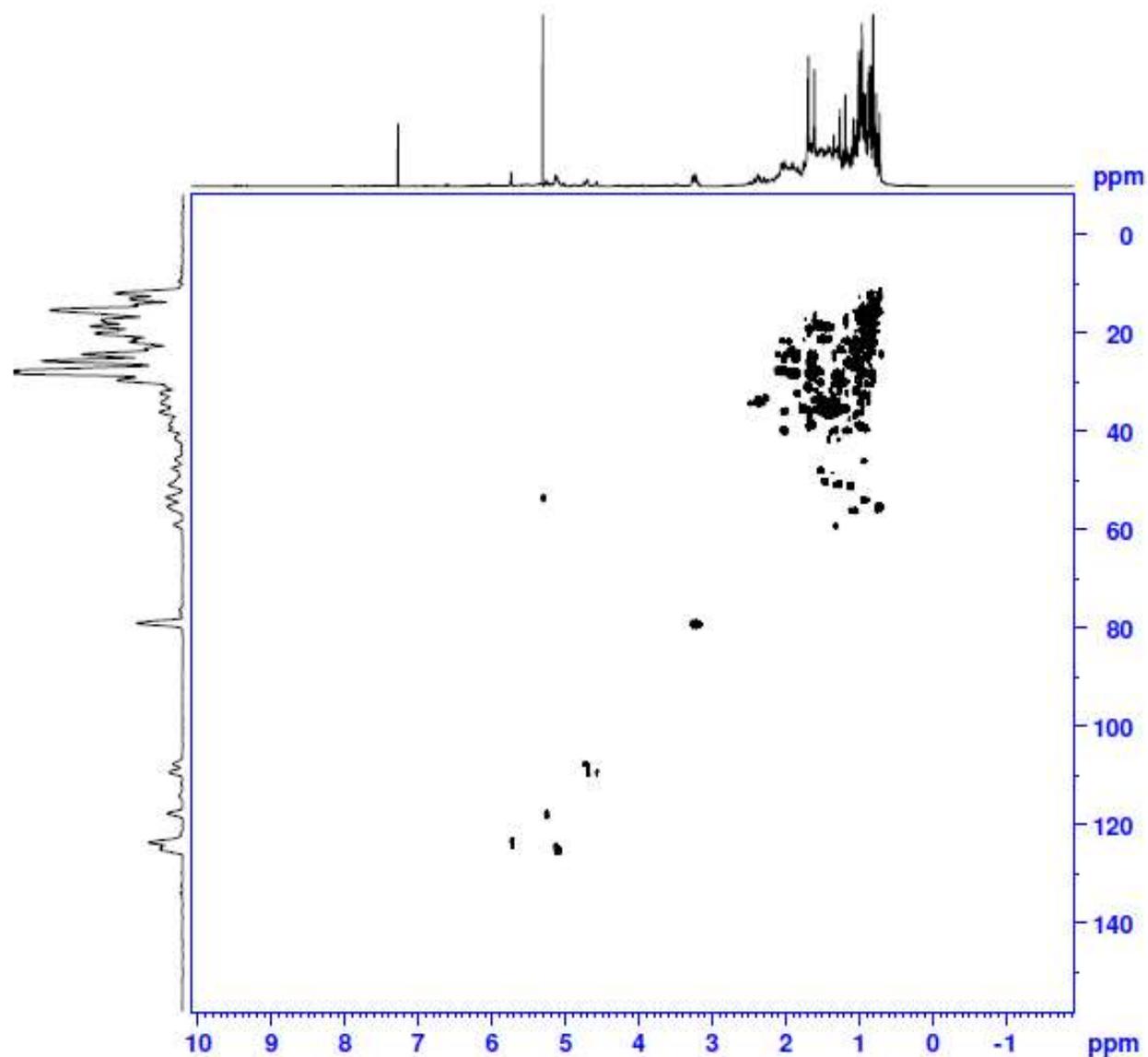


Figura 14. Expansão do espectro de RMN ^1H na região 4,9-5,3 ppm (A) e 3,1-3,3 ppm (B) e de PTHG-6.2.5



Current Data Parameters
 NAME Sami_PTHC_6.2.5
 EXPNO 200
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20150324
 Time 18.37
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG hsqcgpqh
 TD 2048
 SOLVENT CDC13
 NS 180
 DS 16
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 2.980232 Hz
 AQ 0.1677722 sec
 RG 501.187
 DW 81.920 usec
 DE 10.00 usec
 TE 1030.6 K
 CNST2 145.000000
 D0 0.0000300 sec
 D1 1.0000000 sec
 D4 0.00172414 sec
 D11 0.03000000 sec
 D13 0.00000400 sec
 D16 0.00020000 sec
 D31 0.00000775 sec
 D32 0.00001550 sec
 D33 0.00000930 sec
 D34 0.00001860 sec
 D36 0.00100000 sec
 D37 0.00000078 sec
 D38 0.00001505 sec
 D42 0.0000155 sec
 D43 0.00002150 sec
 D44 0.00120000 sec
 D45 0.00051614 sec
 IN0 0.00003010 sec
 L4 19
 P35 75.00 usec

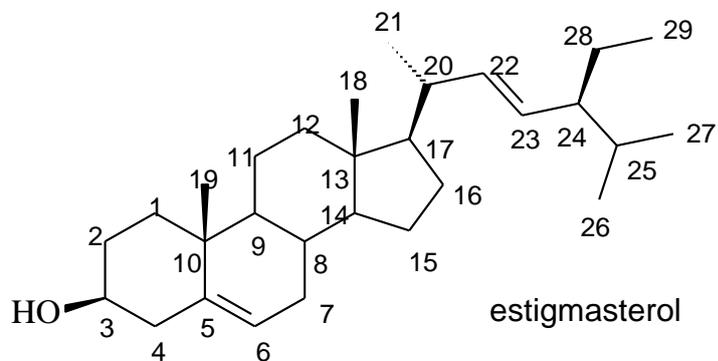
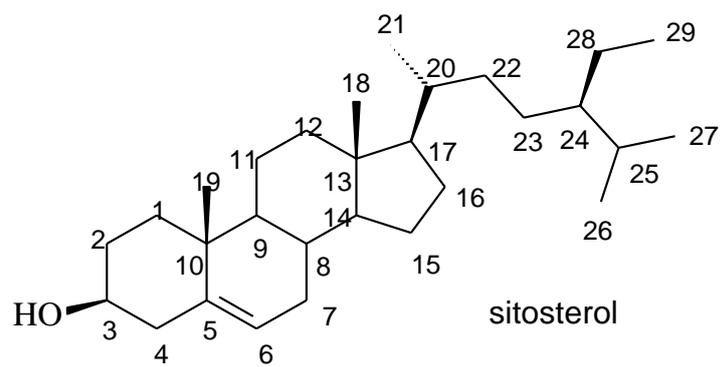
===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 300.2019513 MHz
 NUC1 1H
 P1 7.75 usec
 P2 15.50 usec
 PLW1 20.00000000 W

Figura 15. Mapa de contorno de HSQC de PTHG-6.2.5

5.3.2. Identificação de PTHG-8

A amostra PTHG-8 purificada do extrato hexânico (esquema 6 e 8), apresentou-se na forma de um sólido branco cristalino, solúvel em DCM. Nas análises em CCD não foi detectada absorvância/fluorescência na luz UV. Em vanilina sulfúrica a substância apresentou coloração roxa.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 16) foram observados sinais de um dubleto largo em δ 5,35 ($J= 5,19$ Hz), atribuído ao hidrogênio olefínico H-6 e um multiplete em δ 3,53 (H-3) referente ao hidrogênio ligado ao carbono carbinólico. A presença do estigmasterol foi confirmada pela presença de dois duplos dubletos em δ 5,15 ($J= 8,5$ e $15,2$ Hz), atribuídos aos hidrogênios oleifínicos H-22 e H-23, respectivamente. Baseando-se nos dados observados de RMN a mistura foi identificada como β -sitosterol e estigmasterol. Os valores das integrais apresentados no espectro de RMN ^1H permite estimar a substância majoritária como sendo o β -sitosterol em aproximadamente 75,0%.



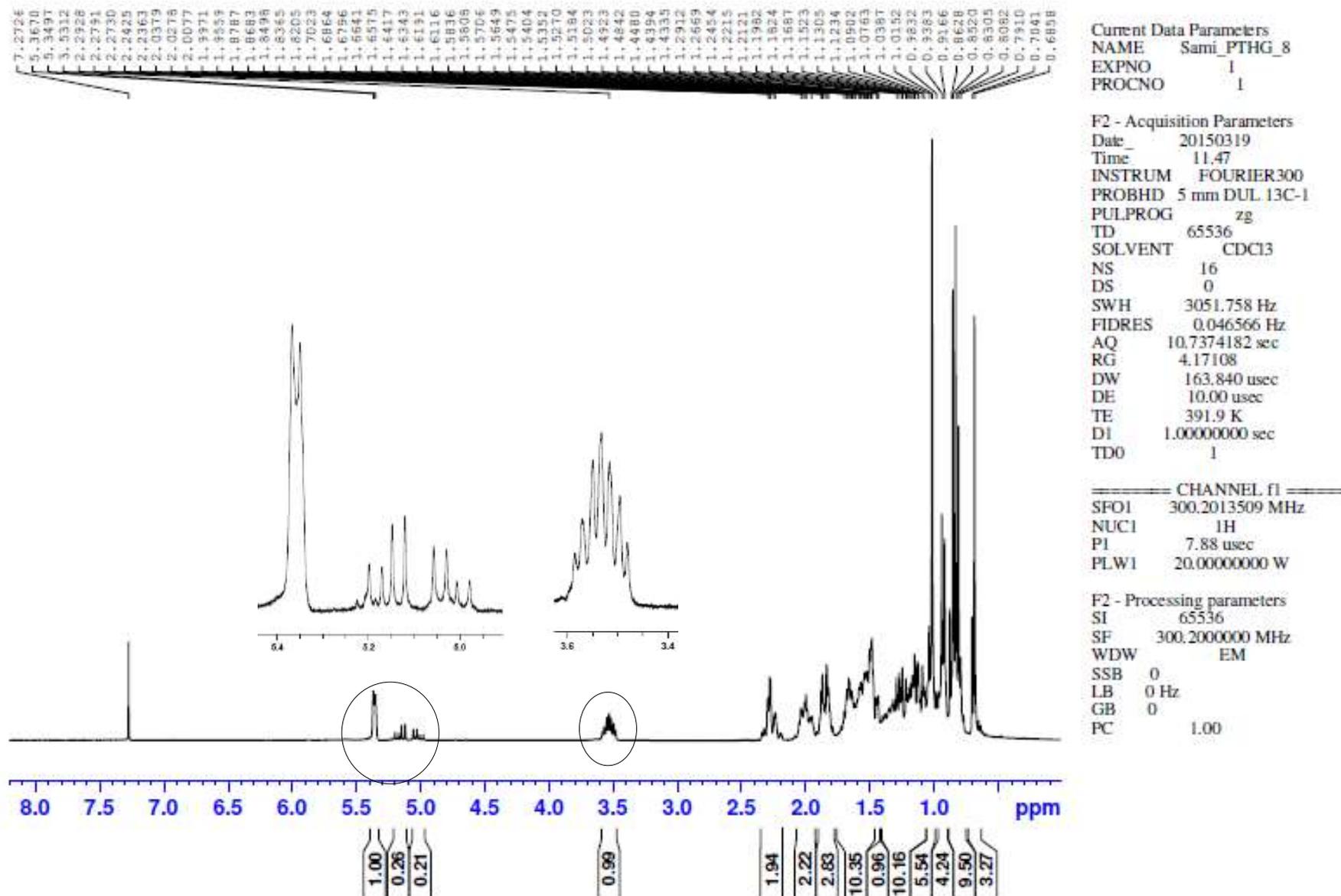


Figura 16. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) e expansão de PTHG-8

5.3.3. Identificação de PTMG-10A e PTMG-10B

As substâncias PTMG-10A e PTMG-10B foram isoladas do extrato metanólico de resíduos florestais (esquema 10 e 11). Apresentaram-se na forma de um sólido branco amorfo, solúvel em MeOH. Quando analisadas em CCD revelavam na luz ultravioleta e em vanilina sulfúrica (coloração vermelha).

No espectro de RMN de ^1H (Figura 17) de PTMG-10A cujas ampliações encontram-se na Figura 18, foram observados sinais de aromáticos referentes a dois anéis. Os sinais atribuídos ao anel A em δ 6,10 (d, 2,22 Hz, H-1/5), δ 6,06 (t, 2,22 Hz, H-3) e anel B em δ 6,15 (d, 2,46 Hz, H-4') e δ 6,19 (t, 2,52 Hz, H-6'). Sinais como multipletos em δ 5,24 (H-14) e 3,50 (H-15') indicaram a presença de carbinólico de éster e de álcool respectivamente. Sinais de dois hidrogênios metílicos em δ 0,90 (H-18') e 0,94 (H-17), ambos como tripletos, integrados para 3 hidrogênios e constante de 7,2 Hz, um tripleto em δ 2,41 referente a H-7 (7,9 Hz) e multipletos em δ 2,80 (H-8') também foram observados, além de sinais de hidrogênios (H-8 à H-13 e H-9' à H-14') ligados a carbonos sp na faixa de δ 1,31 à 1,65.

Dentre os sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 19) estão os de carbonila com δ 172,8 (C-1'), aromáticos oxigenados (δ 159,3; 166,1 e 163,8) atribuídos respectivamente a C-2/4; C-3' e C-5', oximetínicos (δ 76,6 e 72,2), correspondentes a C-14 e C-15'.

O experimento HMBC (Figura 21) foi fundamental no estabelecimento do padrão de substituição de ambos os anéis aromáticos (Tabela 11). As correlações para ambos os anéis permitem identificar o primeiro carbono de uma cadeia segmentada por CH_2 . No anel A, H-1/5 tem a série de CH_2 ligados a C-6 iniciada por C-7 (δ 37), no anel B, essa série inicia-se com C-8' (δ 37,8). As correlações de HMBC para o H δ 5,24 (H-14) com a carbonila C-1' (δ 172,8) e com **C-2' (δ 105,7)**

confirmam a ligação das duas unidades através do éster em C-14. PTMG-10A foi identificada como integracina B.

Para PTMG-10B os valores dos deslocamentos de hidrogênios apresentados no espectro de RMN de ^1H (Figura 22 e ampliações na Figura 23) e ^{13}C (Figura 24) são semelhantes. No espectro de RMN de ^1H dessa substância observou-se um sinal como singlete em δ 1,99 (H-2''), típico de metila de acetato e um multiplete δ 4,88 (H-15'). São observados dois sinais a mais no espectro de RMN de ^{13}C em relação a PTMG-10A, um sinal de metila (δ 21,1) e de uma carbonila (δ 172,9) atribuídos a C-2'' e C-1'', respectivamente. No espectro de HMBC (Figura 25) é observada correlação H-2'' (δ 1,99) e de H-15' (δ 4,88) com a carbonila. Dessa maneira PTMG-10B foi identificado como a integracina A. Esta mesma substância foi isolada do caule de *Protium tenuifolium* (Esquema 12) e foi denominada PTMC-3.

Em 2002, Singh e seus colaboradores publicaram o primeiro relato de isolamento de integracinas (A e B) a partir do fungo endofítico *Cytonaema sp.*, isolado dos galhos finos de *Quercus ilex* (Fagaceae). Nesse mesmo estudo as integracinas apresentaram inibição da integrase (enzima viral essencial para a replicação do HIV-1), com IC₅₀ de 3,2 μM (Integracina A), 6,1 μM (B). A partir daí começaram a surgir os primeiros relatos de integracinas em plantas (Wang et al, 2009; Shi et al, 2010; Lu et al, 2011; . Liu et al, 2012; Huang et al, 2014).

Recentemente estudos computacionais testaram a capacidade de interrupção da integracina (A e B) na Nef (proteína de vírus HIV essencial para a replicação e progressão da síndrome da imunodeficiência adquirida), e integracina A também apresentou potencial elevado na inibição a NEF (Gautam et al, 2014). O relato de integracina A e B é inédito na família Burseraceae.

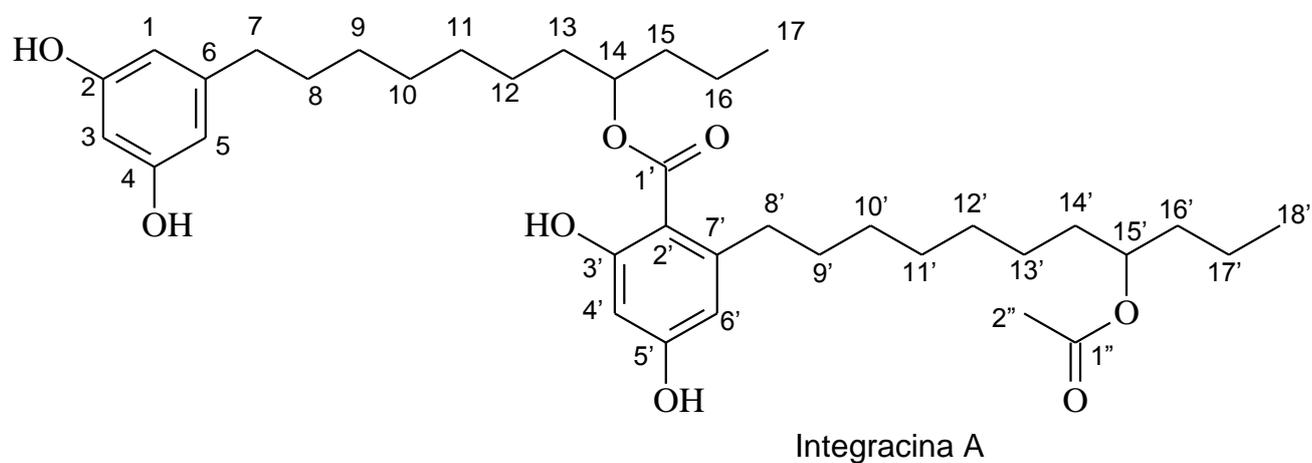
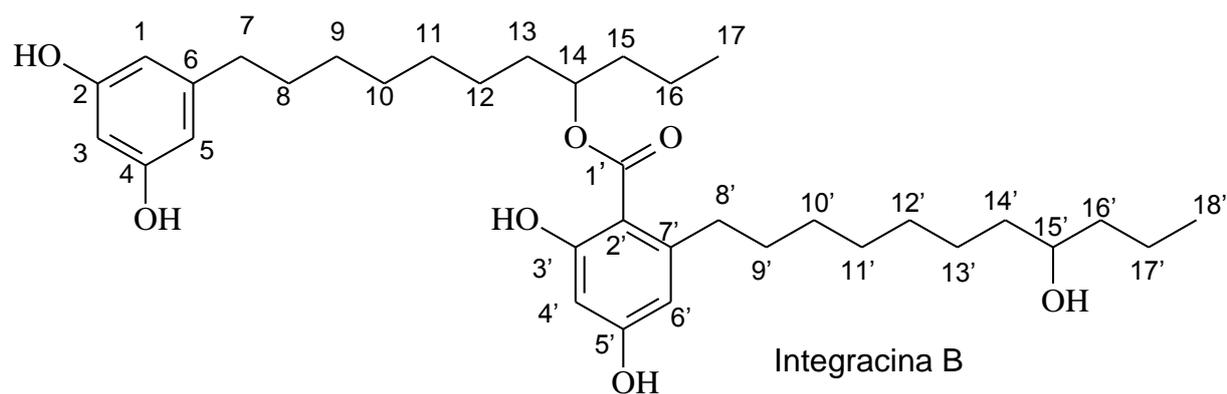
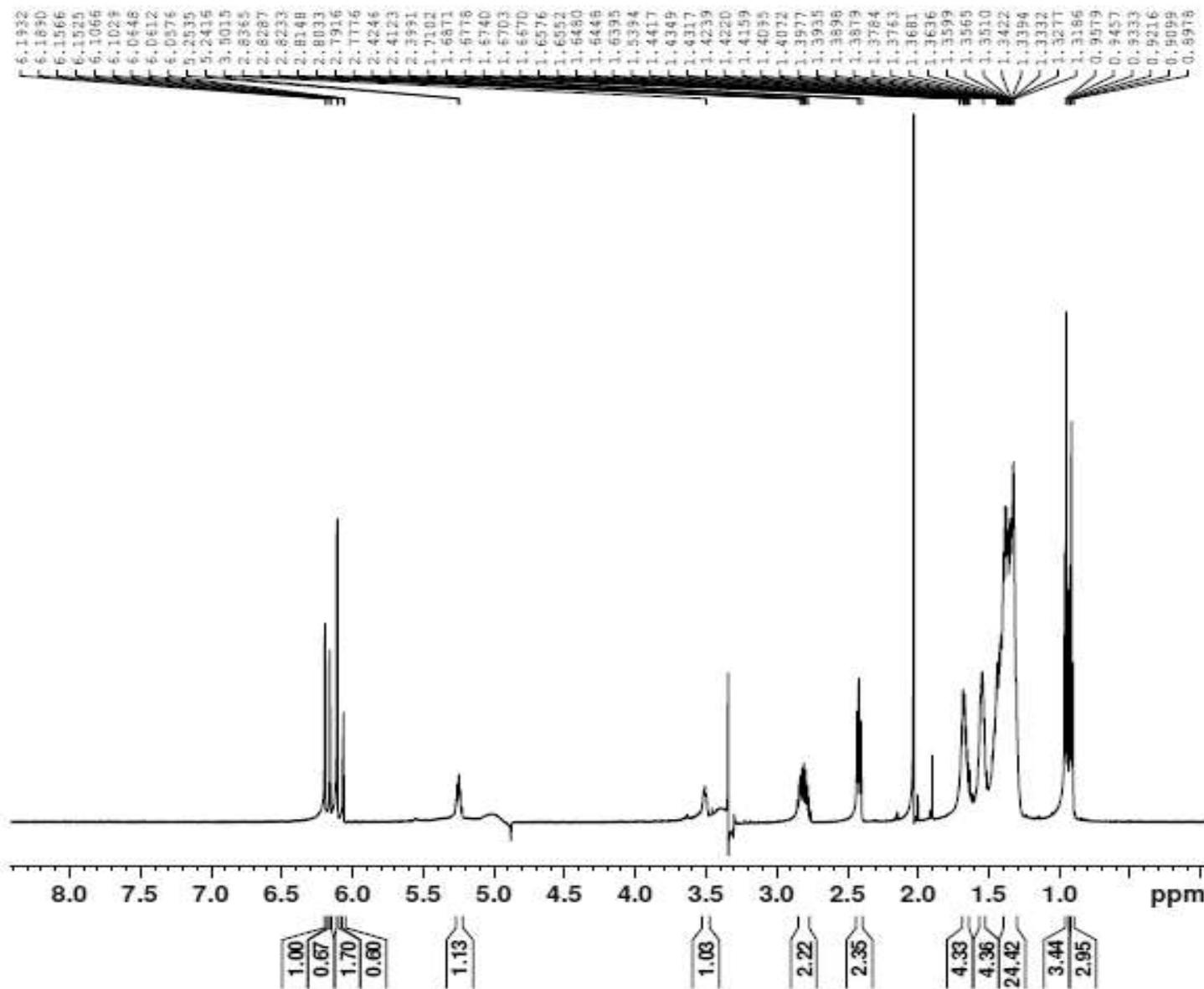


Tabela 11. Dados de HMBC para os hidrogênios dos anéis aromáticos de PTMG-10A

	Anel A		Anel B
1/5	C-2, C-3, C-5 e C-7	4'	C-1', C-2', C-3', C-5' e C-6'
3	C-1, C-2, C-4 e C-5	6'	C-1', C-2', C-4', C-5' e C-8'

Tabela 12. Dados de ^1H (600 MHz, MeOD) e ^{13}C (150 MHz, MeOD) de PTMG-10A e B

Nº	PTMG-10A		PTMG-10B	
	RMN ^1H	RMN ^{13}C	RMN ^1H	RMN ^{13}C
1	6,10 (d, 2,22)	107,9	6,11 (d, 2,2)	107,9
2		159,3		159,3
3	6,06 (t, 2,22)	101,0	6,07 (t, 2,2)	101,01
4		159,3		159,3
5	6,10 (d, 2,22)	107,9	6,11 (d, 2,2)	107,9
6		146,2		146,3
7	2,41 (t, 7,9)	37,0	2,43 (t, 7,5)	37,0
8	1,50 (m)	32,4	1,50-1,56 (m)	32,4
9	1,31-1,41 (m)	31,2	1,27-1,45 (m)	30,3
10	1,31-1,41 (m)	30,3	1,27-1,45 (m)	30,4
11	1,31-1,41 (m)	30,4	1,27-1,45 (m)	30,7
12	1,31-1,41 (m)	26,8	1,27-1,45 (m)	26,7
13	1,65 (m)	35,5	1,65 (m)	35,5
14	5,24 (m)	76,6	5,27 (m)	76,6
15	1,65 (m)	37,8	1,65 (m)	37,7
16	1,31-1,41 (m)	19,9	1,39 (m)	19,9
17	0,94 (t, 7,4)	14,3	0,96 (t, 7,2)	14,3
1'		172,8		172,7
2'		105,7		105,7
3'		166,1		166,0
4'	6,15 (d, 2,46)	102,0	6,16 (d, 2,5)	101,9
5'		163,8		163,7
6'	6,19 (d, 2,52)	112,0	6,20 (d, 2,5)	111,9
7'		149,0		149,0
8'	2,80 (m)	37,8	2,83 (m)	37,7
9'	1,50 (m)	33,6	1,52-1,54 (m)	33,6
10'	1,31-1,41 (m)	31,1	1,27-1,45 (m)	31,0
11'	1,31-1,41 (m)	30,5	1,31 (m)	30,6
12'	1,31-1,41 (m)	30,9	1,31 (m)	30,6
13'	1,31-1,41 (m)	26,6	1,37-1,32 (m)	26,4
14'	1,31-1,41 (m)	38,4	1,50 (m)	35,5
15'	3,50 (m)	72,2	4,88 (m)	75,4
16'	1,31-1,41 (m)	40,7	1,67 (m)	37,5
17'	1,31-1,41 (m)	19,9	1,31 (m)	19,6
18'	0,90 (t, 7,2)	14,5	0,92 (t, 7,2)	14,3
1''				172,9
2''			1,99 s	21,1



Current Data Parameters
 NAME PTMG_10 (Pico 1)
 EXPNO 11
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date 20140515
 Time 13.12
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm CPTCI 1H-
 PULPROG lc1pnr2
 TD 65536
 SOLVENT MeOD
 NS 8
 DS 4
 SWH 12019.230 Hz
 FIDRES 0.183399 Hz
 AQ 2.7262976 sec
 RG 50.8
 DW 41.600 usec
 DE 10.00 usec
 TE 295.0 K
 D1 2.40000010 sec
 D8 0.01000000 sec
 D12 0.00002000 sec
 D13 0.00000400 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 600.2329263 MHz
 NUC1 1H
 P1 7.00 usec
 PLW1 8.39999962 W
 PLW9 0.00001646 W

===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 600.2320030 MHz
 NUC2 1H
 PLW2 8.39999962 W
 PLW21 0.00001742 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 600.2300171 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 17 Espectro de RMN de ¹H (600 MHz, MeOD) de PTMG-10A

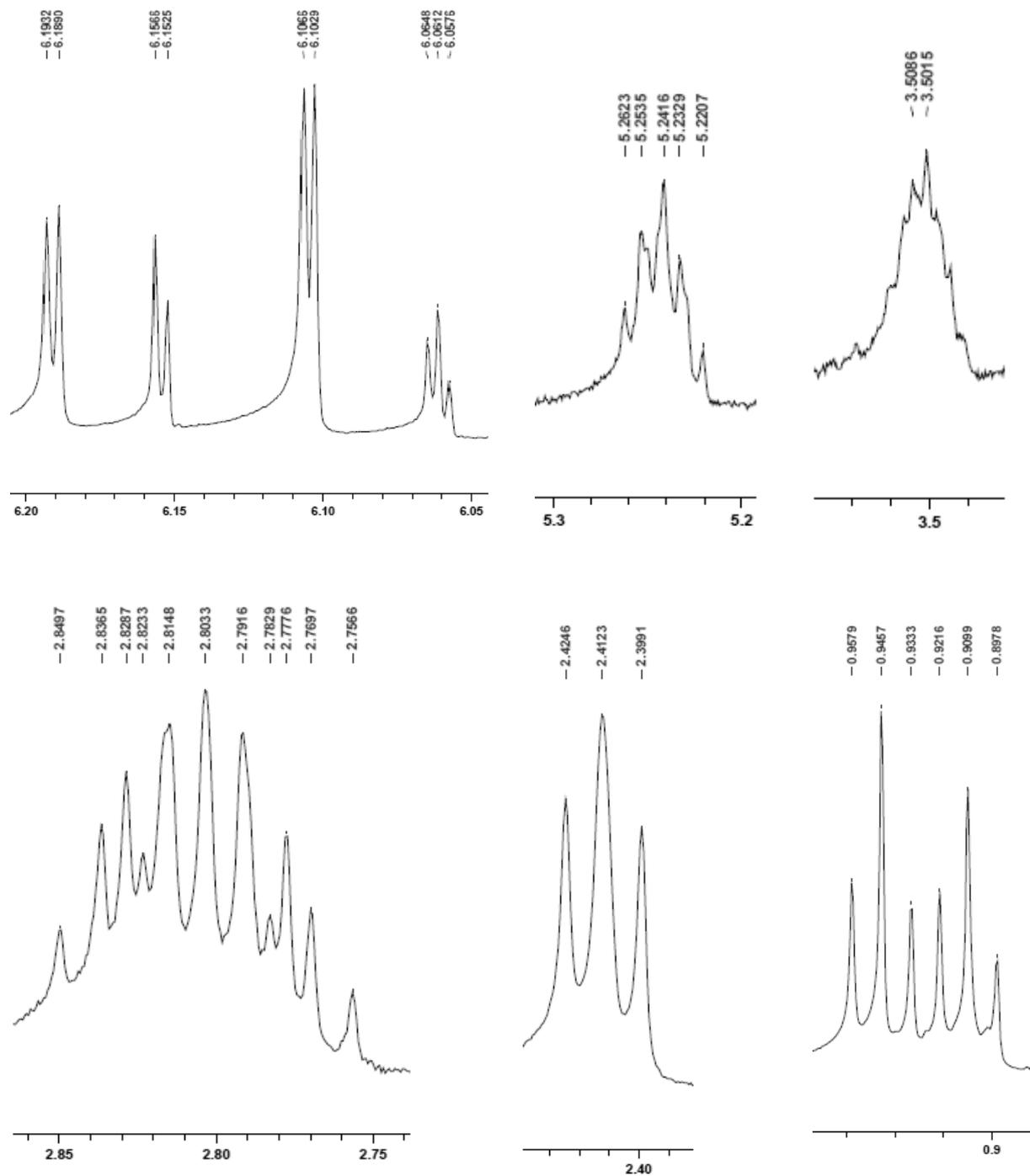


Figura 18. Ampliações no espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD) de PTMG-10A

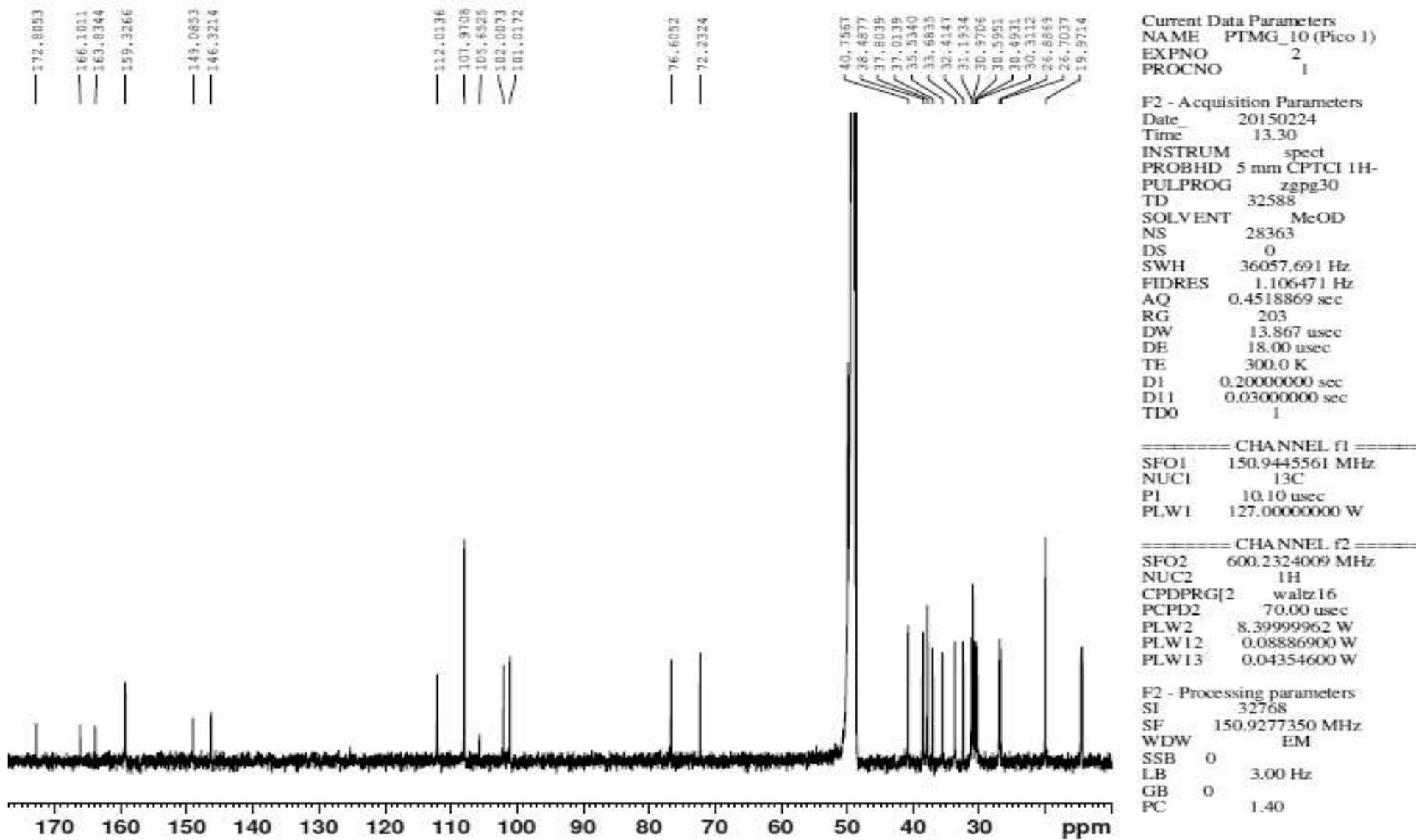


Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, MeOD) de PTMG-10A

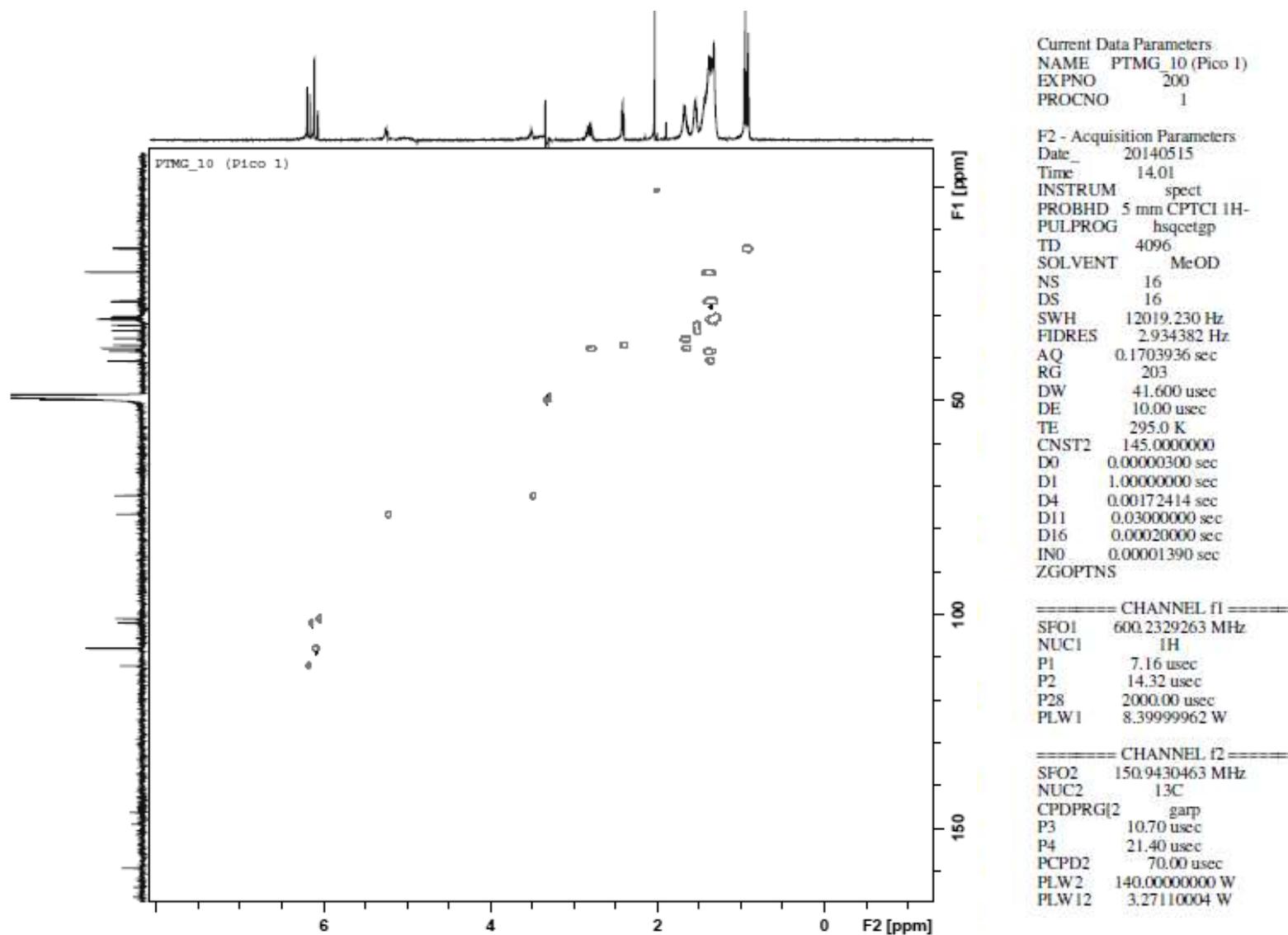


Figura 20. Mapa de contorno HSQC de PTMG-10A

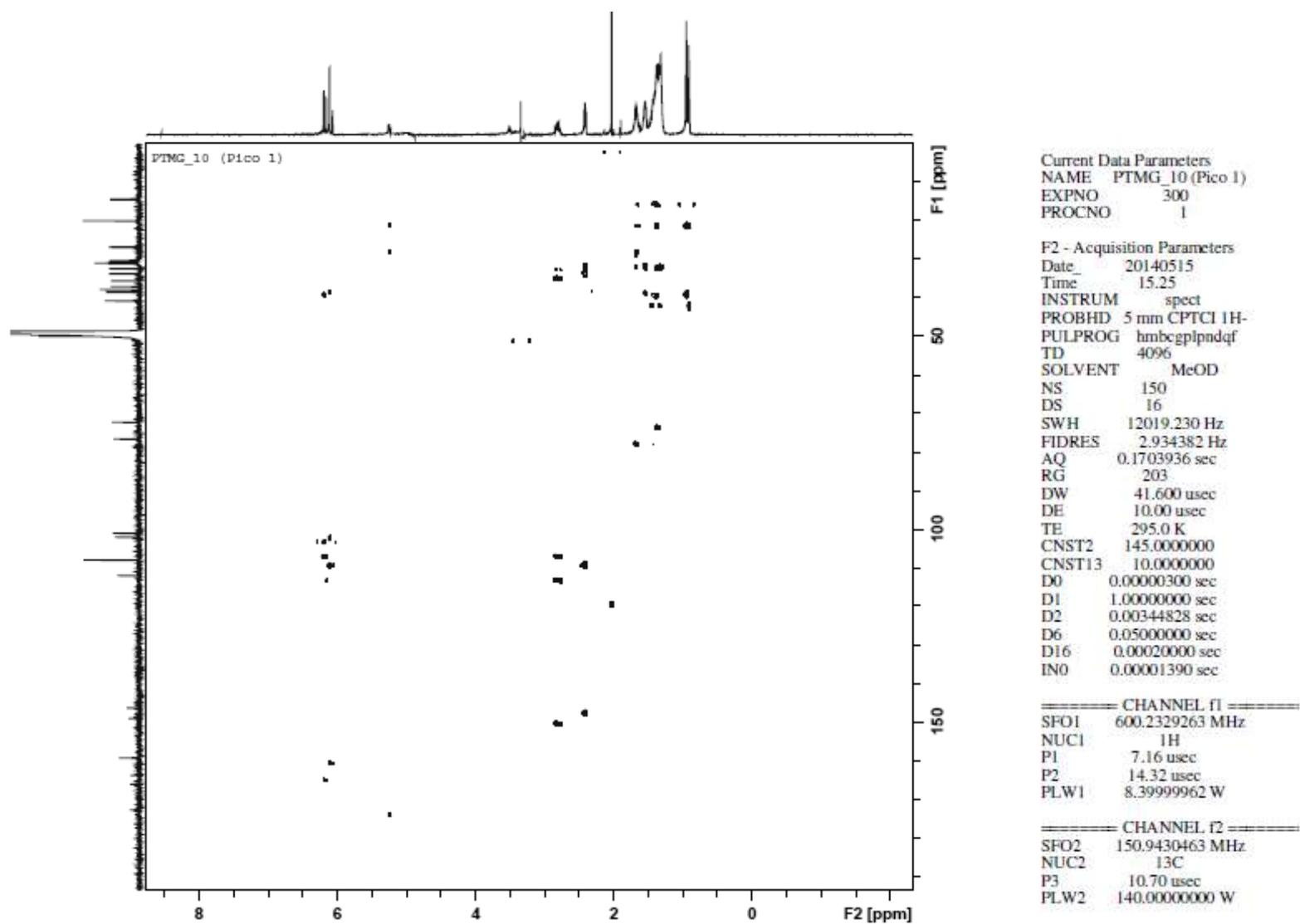
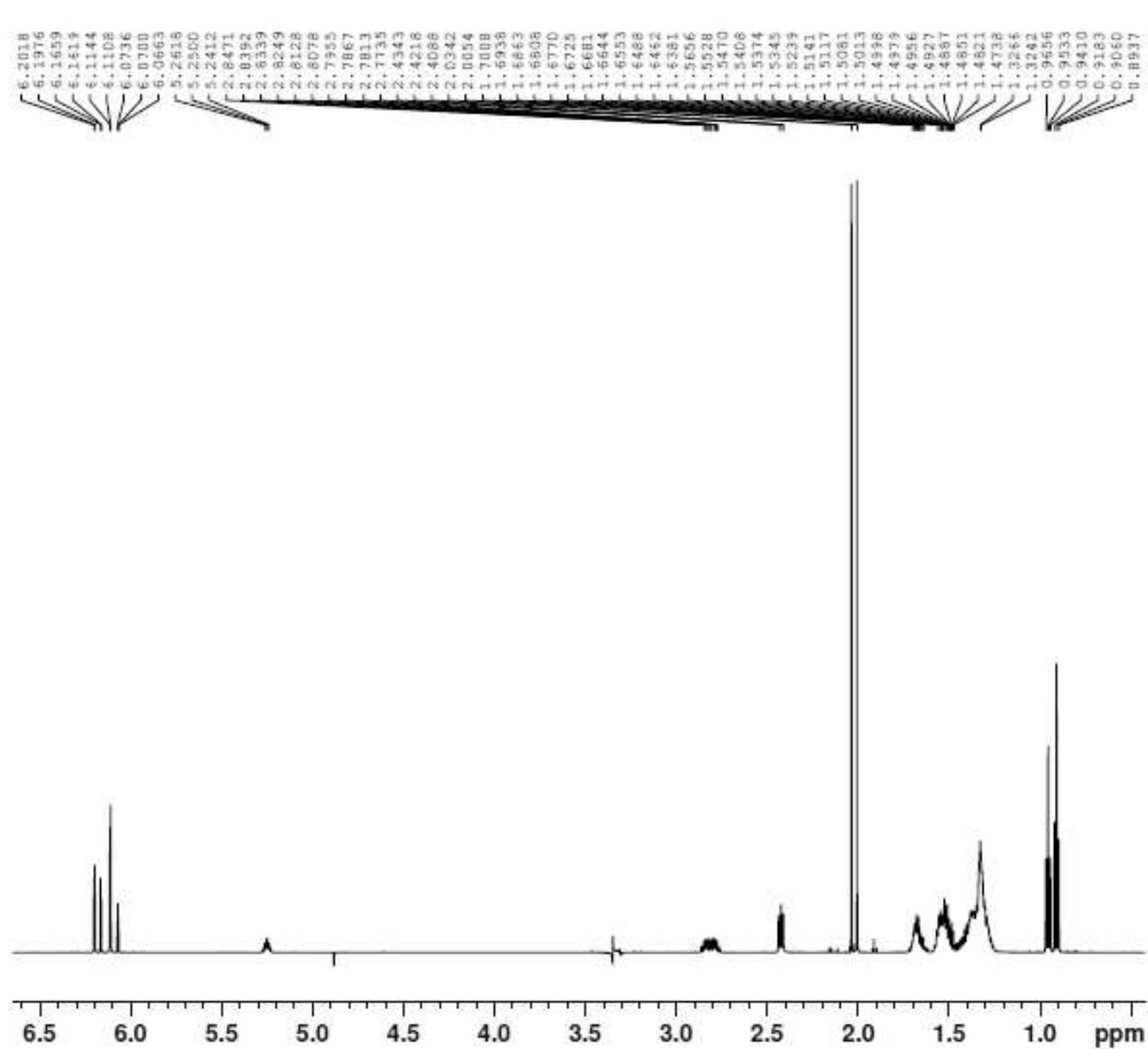


Figura 21. Mapa de contorno HMBC de PTMG-10A



Current Data Parameters
 NAME PTMG_10 (Pico 2)
 EXPNO 11
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20140514
 Time 17.28
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm CPTCI 1H-
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT MeOD
 NS 8
 DS 4
 SWH 12019.230 Hz
 FIDRES 0.183399 Hz
 AQ 2.7262976 sec
 RG 50.8
 DW 41.600 usec
 DE 10.00 usec
 TE 295.0 K
 D1 2.40000010 sec
 D8 0.01000000 sec
 D12 0.00002000 sec
 D13 0.00000400 sec
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 600.2329263 MHz
 NUC1 1H
 P1 7.00 usec
 PLW1 8.39999962 W
 PLW9 0.00001646 W

===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 600.2320030 MHz
 NUC2 1H
 PLW2 8.39999962 W
 PLW21 0.00001742 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 600.2300120 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 22. Espectro de RMN de ¹H (600 MHz, MeOD) de PTMG-10B

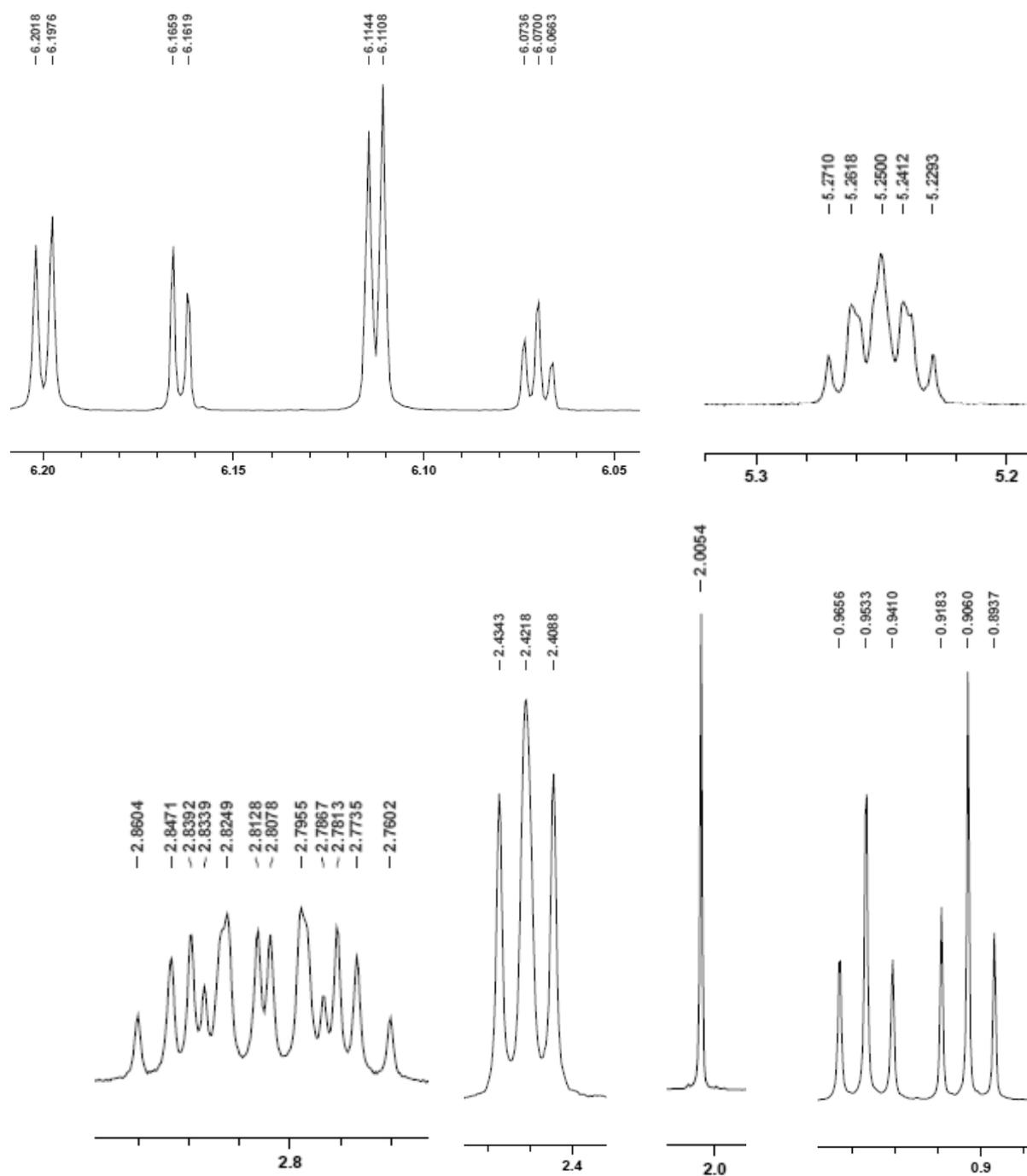
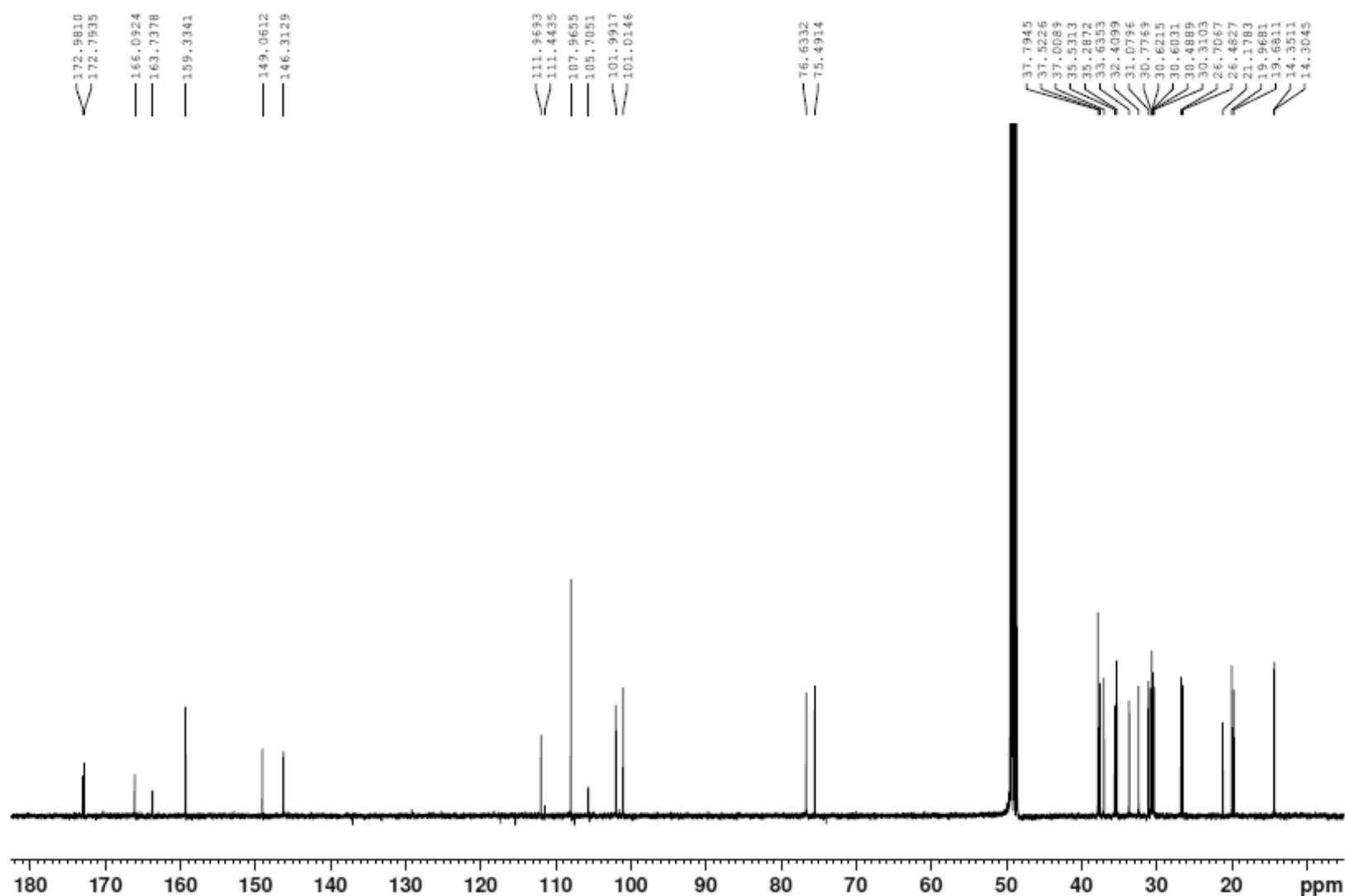


Figura 23. Ampliações no espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD) de PTMG-10B



Current Data Parameters
 NAME PTMG_10 (Pico 2)
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20140806
 Time 8.53
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm CPTCI 1H-
 PULPROG zgpg30
 TD 32588
 SOLVENT MeOD
 NS 112640
 DS 0
 SWH 36057.691 Hz
 FIDRES 1.106471 Hz
 AQ 0.4518869 sec
 RG 203
 DW 13.867 usec
 DE 18.00 usec
 TE 300.0 K
 D1 0.20000000 sec
 D11 0.03000000 sec
 TDO 1

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 150.9445561 MHz
 NUC1 13C
 P1 10.10 usec
 PLW1 127.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 600.2324009 MHz
 NUC2 1H
 CPDPRG[2] waltz16
 PCPD2 70.00 usec
 PLW2 8.39999962 W
 PLW12 0.08886900 W
 PLW13 0.04354600 W

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 150.9277350 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

Figura 24. Espectro de RMN de ¹³C (150 MHz, MeOD) de PTMG-10B

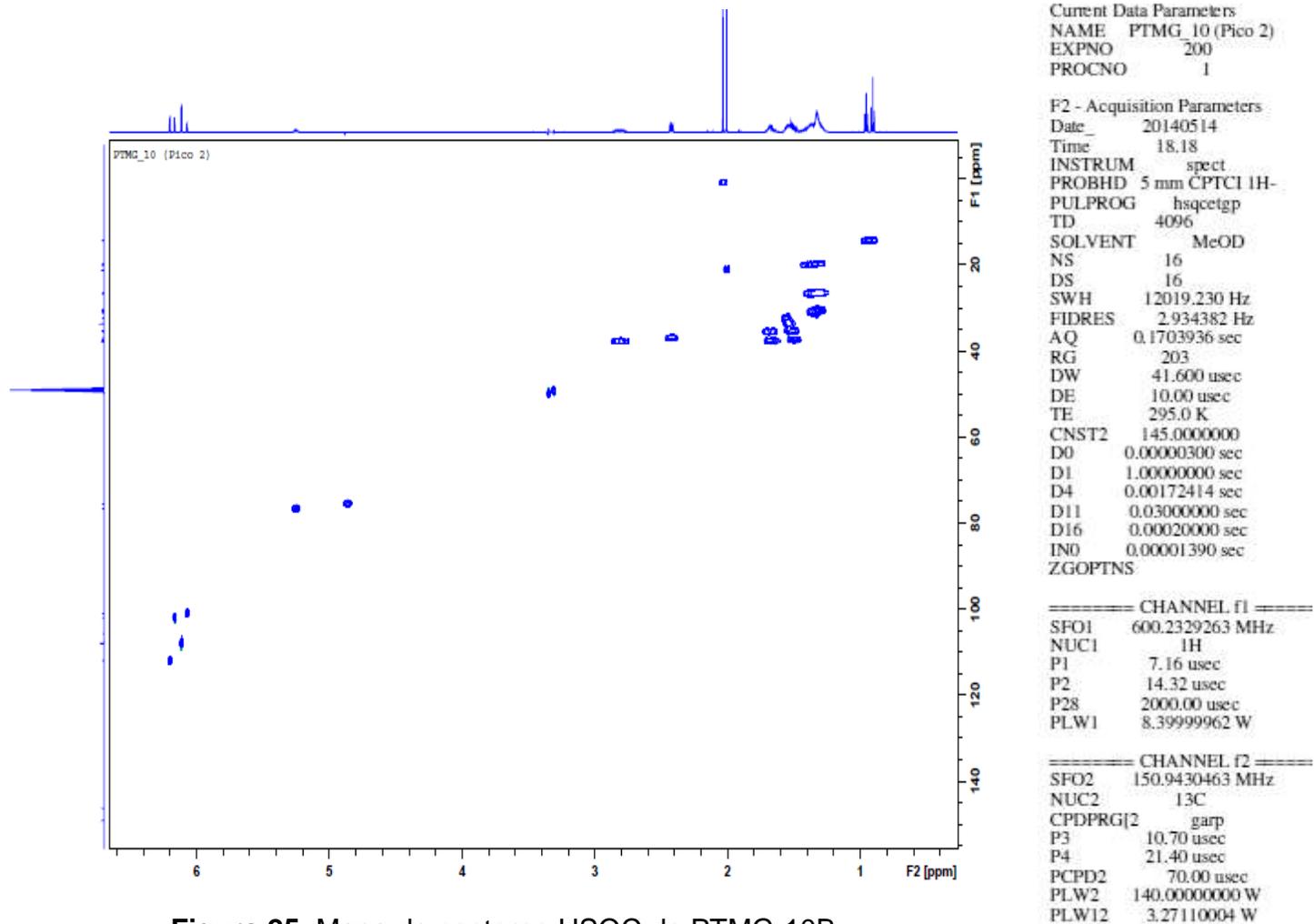
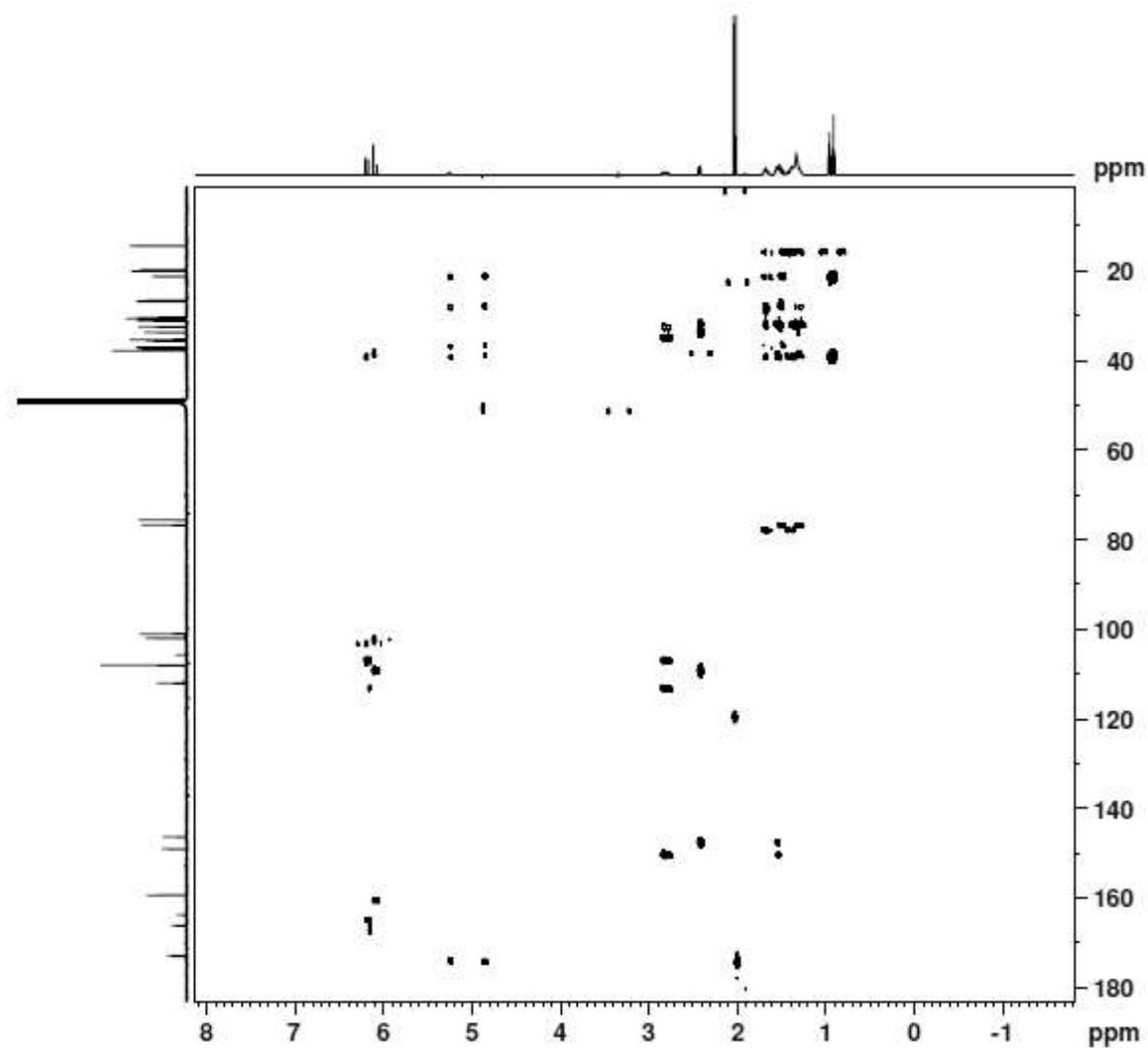


Figura 25. Mapa de contorno HSQC de PTMG-10B



Current Data Parameters
 NAME PTMG_10 (Pico 2)
 EXPNO 300
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20140514
 Time 19.41
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm CPTCI 1H-
 PULPROG hmbcgpndqf
 TD 4096
 SOLVENT MeOD
 NS 110
 DS 16
 SWH 12019.230 Hz
 FIDRES 2.934382 Hz
 AQ 0.1703936 sec
 RG 203
 DW 41.600 usec
 DE 10.00 usec
 TE 295.0 K
 CNST2 145.000000
 CNST13 10.000000
 D0 0.00000300 sec
 D1 1.00000000 sec
 D2 0.00344828 sec
 D6 0.05000000 sec
 D16 0.00020000 sec
 IN0 0.00001390 sec

===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 600.2329263 MHz
 NUC1 1H
 P1 7.16 usec
 P2 14.32 usec
 PLW1 8.39999962 W

===== CHANNEL f2 =====
 SFO2 150.9430463 MHz
 NUC2 13C
 P3 10.70 usec
 PLW2 140.00000000 W

Figura 26. Mapa de contorno HMBC de PTMG-10B

5.4. Composição do óleo de *Protium tenuifolium*

O óleo essencial das cascas da madeira de *Protium tenuifolium*, obtido a partir de resíduos florestais, apresentou rendimento de 0,005%. A análise por CG/EM dos componentes voláteis indicou a presença de 33 constituintes, dos quais 24 foram identificados, permitindo 93,93% de identificação (Tabela 13).

Tabela 13. Composição percentual dos óleos essenciais de *Protium tenuifolium*

Nº	Substância	IR cal	IR lit	% Relativa
1	α -pineno	930	932	0,58
2	α-felandreno	1003	1002	16,22
3	α -terpineno	1014	1014	0,27
4	<i>p</i>-cimeno	1021	1020	10,52
5	limoneno	1027	1024	56,17
6	terpinoleno	1085	1086	0,24
7	linalol	1096	1095	0,66
8	<i>trans-p</i> -met-2,8-dien-1-ol	1118	1119	0,23
9	<i>trans</i> -sabinol	1135	1137	0,22
10	α -terpineol	1187	1186	1,38
11	ni	1192	--	0,22
12	piperitona	1251	1249	1,14
13	α -cubebeno	1348	1345	0,73
14	α -copaeno	1374	1374	0,25
15	β -cariofileno	1417	1417	0,39
16	γ -gurjuneno	1474	1475	0,31
17	γ -muuroleno	1478	1478	0,68

18	α -zingibereno	1493	1493	0,29
19	α -muroleno	1497	1500	0,26
20	δ -amorfenos	1511	1511	0,21
21	7- <i>epi</i> - α -selineno	1520	1520	1,21
22	ni	1545	-	0,22
23	ni	1573	-	0,39
24	óxido de cariofileno	1580	1582	0,26
25	viridiflorol	1589	1592	0,26
26	ni	1621	-	0,22
27	1- <i>epi</i> -cubenol	1624	1627	0,87
28	ni	1628	-	0,30
29	ni	1638	-	1,89
30	α -murolol	1642	1644	0,58
31	ni	1646	-	0,18
32	ni	1647	-	0,20
33	Ni	1650	-	2,45

Número de substâncias	33
Hidrocarbonetos monoterpênicos	84%
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	4,33%
Monoterpenos oxigenados	3,63%
Sesquiterpenos oxigenados	1,97%
Não identificados	6,07%
Total identificado	93,93%

ni- não identificado

O perfil químico revelou uma proporção elevada de hidrocarbonetos monoterpênicos (84%). Os constituintes majoritários foram o limoneno (56,17%), α -felandreno (16,22%) e *p*-cimeno (10,52%) (Figura 27).

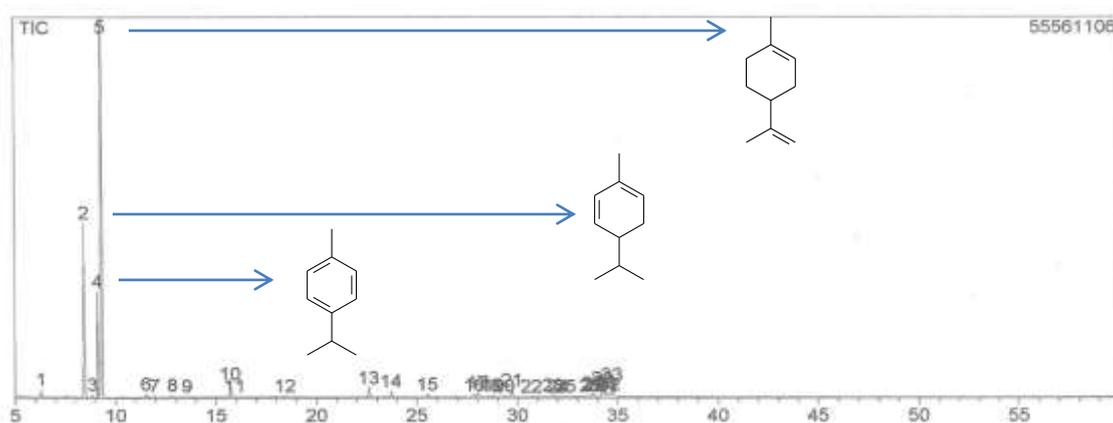


Figura 27. Cromatograma CG-EM do óleo essencial das cascas de *Protium tenuifolium*

O limoneno é reportado em seis espécies, principalmente em resinas e frutos, com percentuais máximos em frutos de 60,2% (Santana et al, 2009) e na resina 90,93% (Lima et al, 2014). O α -felandreno é reportado em cinco espécies, principalmente na resina, e seus percentuais variam de 3,5% (Pinto et al, 2010) a 24,1% (Zoghbi et al, 2002). Presente como constituinte majoritário em nove espécies, o *p*-cimeno apresenta percentuais que chegam a 90,0% (Ramos et al, 2000).

Os estudos com óleos essenciais em cascas de *Protium* são raros. Nas cascas de *Protium confusum* foram identificados *p*-cimen-8-ol (14,4%), ácido hexadecanóico (8,4%) e espatulenol (9,5%) (Santana et al, 2009). Nessa mesma parte vegetativa, *Protium spruceanum* apresentou limoneno (19,4%) e sabineno (33,8%) (Zoghbi et al, 2002). O presente estudo da composição química do óleo de resíduos florestais de *Protium tenuifolium* é inédito.

5.5. Identificação macroscópica e microscópica de *Protium tenuifolium*

A análise foi efetuada com base nas técnicas específicas aplicada na identificação macroscópica e microscópica da madeira, descritas no subitem 4.8.

A descrição macroscópica para a espécie estudada são de parênquima axial praticamente indistinto, poros notados a olho nu, numerosos, pequenos a médio, solitários predominantes, múltiplos de 2 a 4 (Figura 28). Vazios, alguns obstruídos. Raios no topo são finos, numerosos, visíveis apenas com lentes de aumento, na face tangencial são distribuídos irregularmente (Figura 29), na radial são bastante contrastados (Figura 31). Um Canal secretor foi observado no corte tangencial (figura 30).

Todos os aspectos observados estão de acordo com a literatura (Loureiro et al, 1997), esse trabalho de identificação anatômica gerou um laudo técnico (Nº 002/2015) que confirma que a espécie estudada é *Protium tenuifolium*.

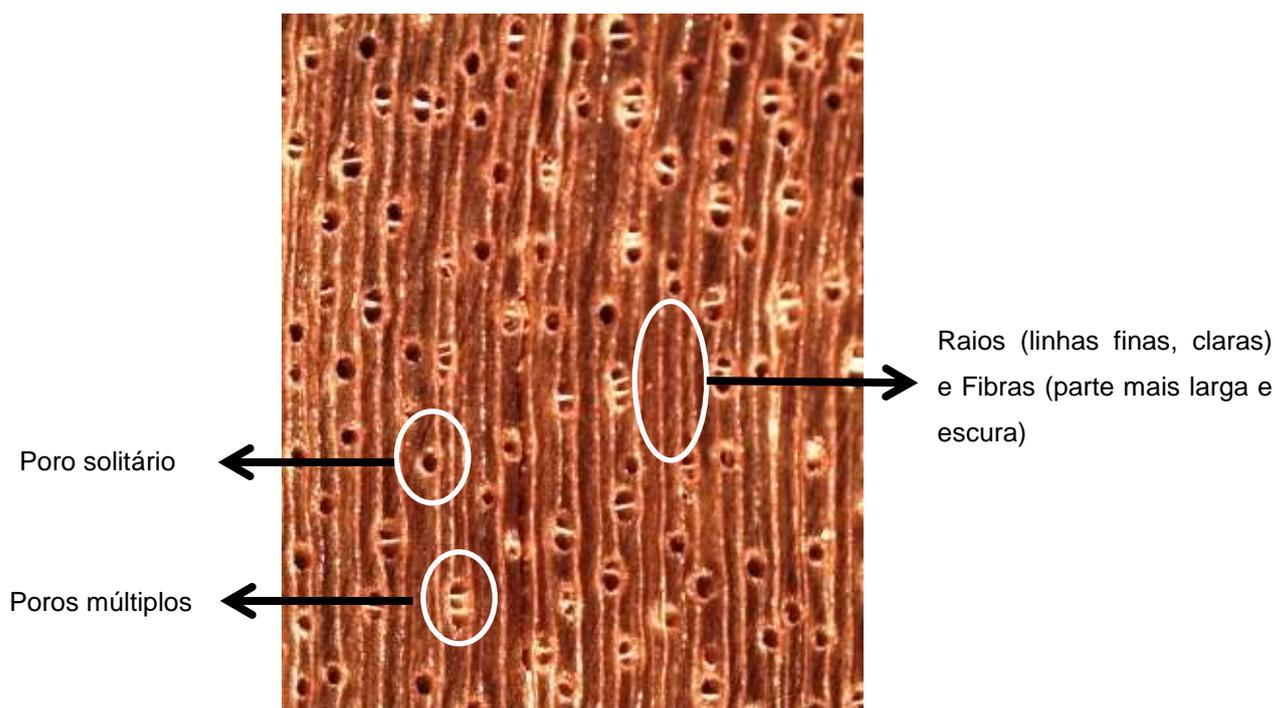


Figura 28. Macrofotografias do plano transversal com aumento de 50X

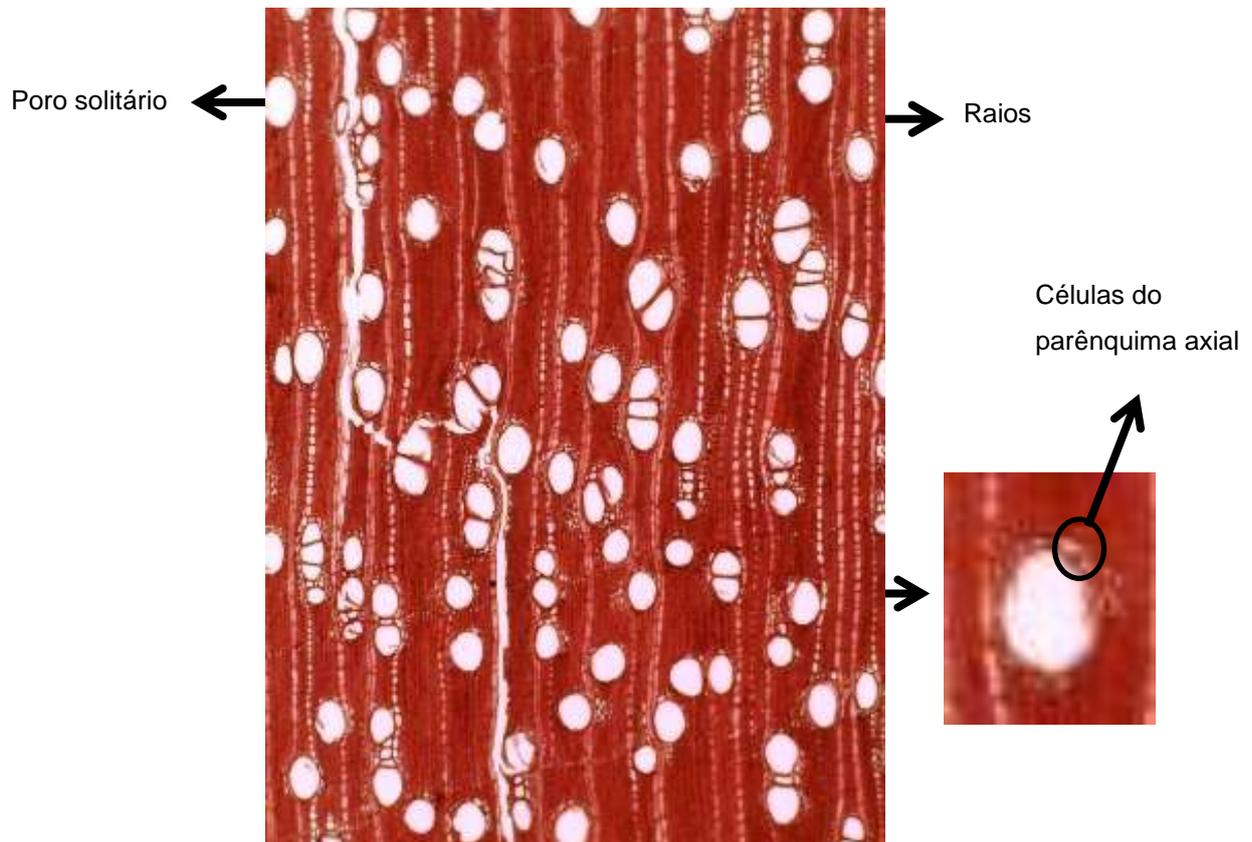


Figura 29. Microfotografias com aumento de 50X no plano transversal.

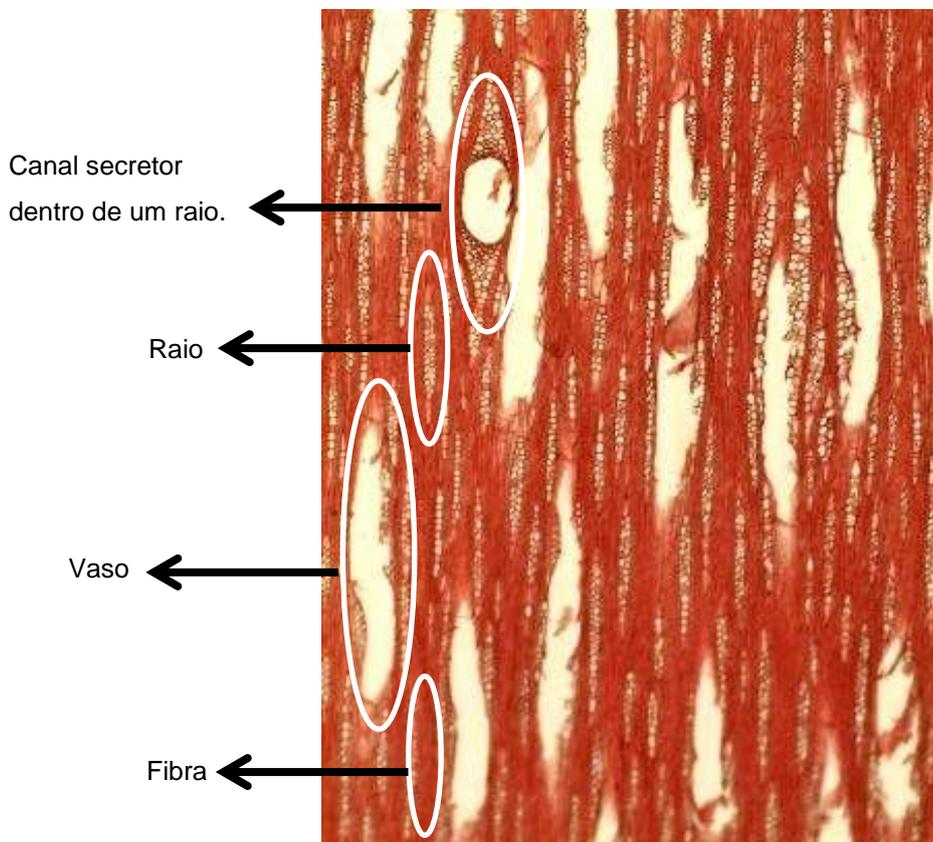


Figura 30. Microfotografias com aumento de 50X plano tangencial.

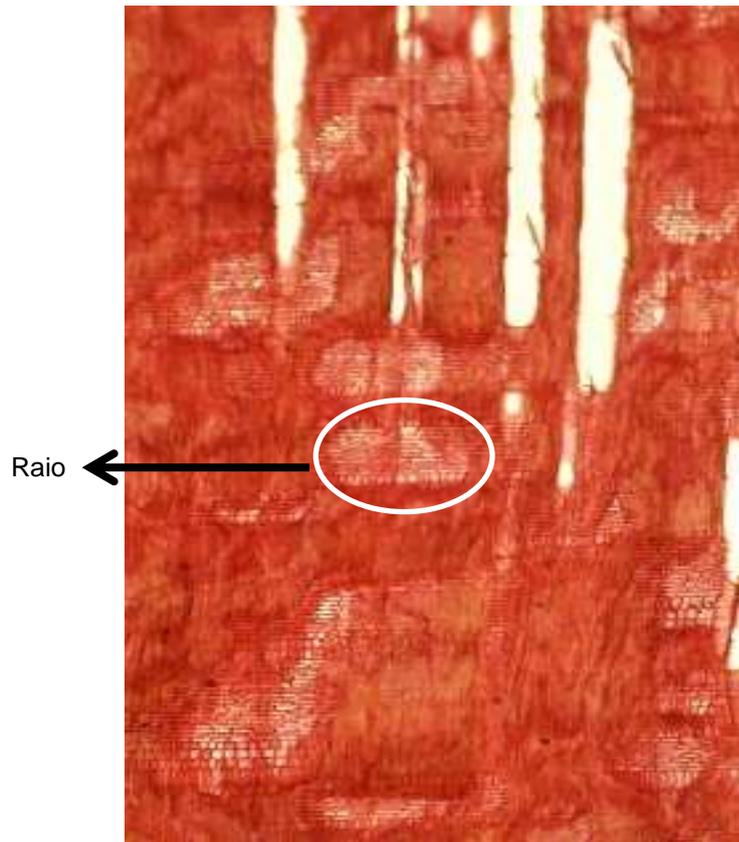


Figura 31. Microfotografias com aumento de 50X plano radial.

6. CONCLUSÃO

Foram realizados estudos químicos em duas espécies secretoras. A partir do extrato metanólico dos resíduos madeireiros (caule) de *Manilkara huberi* obteve-se uma substância fenólica com valor comercial, inédita no gênero e uma saponina com esqueleto inédito foi elucidada e identificada em mistura.

Nos resíduos florestais de *Protium tenuifolium*, obtidos de galhos, os triterpenos (α e β - amirina) típicos de Burseraceae, foram identificados em mistura no extrato hexânico. Essa mistura apresenta atividades do tipo hipolipimante, antihiperlipidêmica e anti-inflamatória. Nesse mesmo extrato uma mistura de esteroides (β -sitosterol e estigmasterol) foi identificada.

Integracinas (policetídeos) com alto valor comercial e potencial anti HIV foram isoladas e identificadas a partir do extrato metanólico dos galhos e caule pela primeira vez no Brasil e na família Burseraceae.

O ineditismo de integracinas na família Burseraceae levou a um trabalho de identificação anatômica na busca de ter total certeza da espécie em questão, no qual foi comprovada o gênero e a espécie da madeira estudada.

O estudo da composição química do óleo essencial de *Protium tenuifolium* é inédito, sendo constituído de 84% de hidrocarbonetos monoterpênicos.

O presente estudo contribuiu de maneira significativa para o conhecimento químico das espécies amazônicas estudadas, bem como o valor comercial, científico e biológico das substâncias identificadas agregam valor aos resíduos madeireiros e florestais

REFERÊNCIAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10004: Classificação de Resíduos. Rio de Janeiro: p. 71. 2004.

Adfa, M.; Yoshimura, T.; Komura, K.; Koketsu, M. 2010. Antitermite activities of coumarin derivatives and scopoletin from *Protium javanicum* Burm. F. *Journal of Chemical Ecology*, 36:720-726.

Almeida, E.X.; Conserva, L.M.; Lemos, R.P.L. 2002. Coumarins, coumarinoligninoids and terpenes from *Protium heptaphyllum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 465-67.

Amaral, M.; Braga, F.; Passos, F.; Almeida, F.; Oliveira, R.; Carvalho, A.; Chaves, M.; Oliveira, F. 2009. Additional evidence for the anti-inflammatory properties of the essential oil of *Protium heptaphyllum* resin in mice and rats. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28: 775-82.

Anaya, A.L.; Rubalcava, M.M.; Ortega, R.C.; Santana, C.G.; Monterrubio, P.N.S.; Bautista, B.E.H.; Rachel, M.R. 2005. Allelochemicals from *Stauranthus perforatus*, a rutaceous tree of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Phytochemistry*, 66: 487-494.

Aragão, G.F.; Carneiro, L.M.V.; Júnior, A.P.F.; Bandeira, P.N.; Lemos, T.L.G.; Viana, G.S.B. 2007. Antiplatelet activity of α - and β -amyrin, isomeric mixture from *Protium heptaphyllum*. *Pharmaceutical Biology*, 45: 343-349.

Araujo, D.; Takayama, C.; Faria, F.; Socca, E.; Dunder, R.; Manzo, L.; Ferreira, A.; Souza-Brito, A. 2011. Gastroprotective effects of essential oil from *Protium heptaphyllum* on experimental gastric ulcer models in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21: 721-729.

Bandeira, P. N.; Machado, M. I. L.; Cavalcanti, F. S.; Lemos, T. L. G. 2001. Essential oil composition of leaves, fruits and resin of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. *Journal of Essential Oil Research*, 13: 33-34.

Bandeira, P.N.; Pessoa, O.D.L.; Trevisan, M.T.S.; Lemos, T.L.G. 2002. Secondary metabolites of *Protium heptaphyllum* March. *Química Nova*, 23: 1078-1080.

Bandeira, P.N.; Fonseca, A.M.; Costa, S.M.O.; Lins, M.U.D.S.; Pessoa, O.D.L.; Monte, F.J.Q.; Nogueira, N.A.P.; Lemos, T.L.G. 2006. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of resin of *Protium heptaphyllum*. *Natural Product Communications*, 1: 117-20.

Burger, L.M.; Richter, H.G. Anatomia da madeira. 2. Ed. São Paulo: Nobel, 1991. 154p.

Carvalho, L.E.; Pinto, D.S.; Magalhães, L.A.M.; Lima, M.P.; Marques, M.O.M.; Facanali, R. 2010. Chemical constituents of essential oil of *Protium decandrum* (Burseraceae) from Western Amazon. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13: 181-184.

Carvalho, L.E.; Magalhães, L.A.M.; Lima, M.P.; Marques, M.O.M; Facanali, R. 2013. Essential oils of *Protium* of the Adolpho Ducke forest reserve: *Protium crassipetalum*, *P. heptaphyllum* subs. *ulei*, *P. pilosissimum* and *P. polybotryum* J. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16: 551-554.

Case, R.J.; Tucker, A.O.; Maciarelo, M.J.; Wheeler, K.A. 2003. Chemistry and ethnobotany of commercial incense copals copal blanco, copal oro, and copal negro, of North America. *Economic Botany*, 57:189-202.

Citó, A.M.G.L.; Souza, A.A.; Lopes, J.A.D.; Chaves, M.H.; Costa, F.B.; Souza, A.S.A.; Amaral, M.P.M. 2003 .*Protium heptaphyllum* March (Burseraceae resin) chemical composition of essential oil and cytotoxic evaluation with respect to *Artemia salina* Leach. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 52: 74-76.

Cocker, W.; Shaw, S.J. 1963. Extractives from wood, III. Extractives from *Manilkara bidentata*. *Journal of the Chemical Society*, 107: 677-680.

Coradin, V.T.R.; Muniz, G.I.B. Normas de Procedimentos em Estudo de Anatomia da Madeira: Angiospermas e Gimnospermas. IBAMA, Brasília, 1992, 19p

Corrêa, M.P. 1984. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil. 1. Ed. v. 3. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, 545p.

Costa, T.O.G.; Almeida, R.A.; Koolen, H.H.F.; Silva, F.M.A.; Pinto, A.C. 2012. Constituintes químicos do caule de *Protium hebetatum* (Burseraceae). *Acta Amazonica*, 42: 557-540.

Crutzen, P.J.; Andreae, M.O. 1990. Biomass burning in the tropics: Impacts on atmospheric chemistry and biogeochemical cycles. *Science*, 250:1669-1678.

Daly, D.C. 1989. Studies in neotropical Burseraceae. II. Generic limits in new world Protieae and Canarieae. *Brittonia*, 41: 17-27.

Dobele, G.; Dizhbite, T.; Gil, M.V.; Volperts, A.; Centeno, T.A. 2012. Production of nanoporous carbons from wood processing wastes and their use in supercapacitors and CO₂ capture. *Biomass and Bioenergy*, 46: 145-154.

Esaú, K. 1985. Anatomia vegetal. 3. Ed. Barcelona: Ediciones Omega, S.A., 779p.

Eskander, J; Haggag, E; El-Gindi, M.; Mohamedy, M. 2014. A novel saponin from *Manilkara hexandra* seeds and anti-inflammatory activity. *Medicinal Chemistry Research*, 23: 717-724.

Fernandes, C.P.; Corrêa, A.L.; Lobo, J.F.R.; Caramel, O.P.; Almeida, F.B.; Castro, E.S.; Souza, K.F.C.S.; Patricia, B.; Amorim, L.; Santos, M. G.; Ferreira, J. L. P.; Falcão, D.Q.; Carvalho, J.C.T.; Rocha, L. 2013. Triterpene esters and biological activities from edible fruits of *Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard, Sapotaceae.

BioMedical Research International. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/280810> [Article ID 280810]

Fine, P.V.A.; Daly, D. C.; Munoz, G. V.; Mesones, I.; Cameron, K.M. 2005. The contribution of edaphic heterogeneity to the evolution and diversity of Burseraceae trees in the western Amazon. *Evolution*, 59: 1444-1476.

Freitas, J.; Vasconcelos, F. 2010. Identificação prática de madeiras comerciais da Amazônia: Método macroscópico de comparação. 1 Ed. Manaus: Editora INPA, 54p.

Gautam, D.; Yaseen, M.; Sharma, K. 2014. Analysis of Ligand Molecule of Nef Protein of HIV-1. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 4: 230-237.

Godoy, M.F.P.; Victor, S.R.; Bellini, A.M.; Guerreiro, G.; Rocha W.C.; Bueno, O.C.; Hebling, M.J.A.; Bacchi-Jr, M.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C.; Fernandes J.B.; Pagnocca F.C. 2005. Inhibition of the symbiotic fungus of leaf-cutting ants by coumarins. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16: 669-672.

Gomathi, P.; Kumar, S.A.; Prameela, R.; Kishorekumar, K.; Gnananath, K. 2012. Stimulation of immune system function by polysaccharides of *Manilkara hexandra* (Roxb.) bark. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4: 430-432.

Gomes, J.I.; Sampaio, S.S.2004. Aproveitamento de resíduos de madeira em três empresas madeireiras do estado do Pará. Comunicado técnico 102. EMBRAPA, Belém do Pará.

Gonzaga, A.L. 2006. Madeira: Uso e conservação. Cardenos técnicos 6. IPHAM. São Paulo.

Granato, D.; Nunes, D. S.; Mattos, P. P.; Rios, E.M.; Glinski, A.; Rodrigues, L.C.; Zanusso-Júnior, G. 2005. Chemical and biological evaluation of rejects from the wood industry. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48: 237-241.

Ha, J.; Lee, D.; Lee, J.; Kim, J.; Yong, C; Kim, J.; Ha, J.; Huh, K. 2000. 4-Hydroxybenzaldehyde from *Gastrodia elata* B1. is active in the antioxidation and GABAergic neuromodulation of the rat brain. *Journal of Ethnopharmacology*, 73: 329-333.

Hayasida, W.; Sousa, A.S.; Lima, M.P.; Nascimento, C.C.; Ferreira, A.G. 2008. Proposta de aproveitamento em resíduos de pau rainha (*Brosimum rubescens*) descartados pelo setor madeireiro. *Acta Amazonica*, 38: 749-752.

Hayasida, W.; Lima, M.P.; Nascimento, C.C.; Ferreira, A.G. 2011. Resíduos madeireiros do alburno de pau-rainha (*Brosimum rubescens*): investigação de metabólitos secundários e alguns aspectos tecnológicos. *Acta Amazônica*, 41: 285-288.

Haraguchi, H.; Hayashi, R.; Ishizu, T.; Yagi, A. 2003. A flavone from *Manilkara indica* as a specific inhibitor against aldose reductase in vitro. *Planta Medica*, 69:853-855.

Holanda-Pinto, S.A.; Pinto, L.M.S.; Guedes, M.A.; Cunha, G.M.A.; Chaves, M.H.; Santos, F.A.; Rao, V.S. 2008. Antinociceptive effect of triterpenoid α,β -amyrin in rats on orofacial pain induced by formalin and capsaicin. *Phytomedicine*, 15: 630-634.

Hossain, H.; Jahan, F.; Howlader, S.I.; Dey, S.K.; Hira, A.; Ahmed, A.; Sarkar, R.P. 2012. Evaluation of anti-inflammatory activity and total flavonoids content of *Manilkara zapota* (Linn.) bark. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 2: 35-39.

Huang, S.; Luo, H.; Ma, Q.; Peng, H.; Daia, H.; Zhou, J.; Zhao, Y. 2014. Chemical Constituents from the Stems of *Excoecaria acertifolia*. *Chemistry & Biodiversity*, 11: 1406-1416.

Kametani, S.; Yuasa, A.; Kikuzaki, H.; Kennedy, D.; Honzawa, M.; Yuasa, I. 2007. Chemical constituents of *Cape Aloe* and their synergistic. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71, 1220-1229.

Khallouki, F.; Haubner, R.; Ricarte, I.; Erben, G.; Klika, K.; Ulrich, C.; Owen, R. 2015. Identification of polyphenolic compounds in the flesh of Argan (Morocco) fruits. *Food Chemistry*, 179: 191-198.

Klock, U.; Muniz, G.I.B. 1998. Química da Madeira. Série didática nº 02/98. Fupef, Curitiba.

Lavaud, C.; Massiot, G.; Becchi, M.; Misra, G.; Nigam, S. 1996. Saponins from three species of *Mimusops*. *Phytochemistry*, 41: 887-893.

Lewinsohn, T.M.; Prado, P.I. 2002. Biodiversidade brasileira: síntese do estado atual do conhecimento. Contexto, São Paulo.

Lima, F. V.; Malheiros, A.; Otukic, M. F.; Calixto, J.B.; Yunesa, R. A.; Cechinel-Filho V.; Monached, F. D. 2005. Three new triterpenes from the resinous bark of *Protium kleinii* and their antinociceptive activity. *Journal Brazilian Chemistry Society*, 16: 578-582.

Lima, T.; Rocha, K.; Melo, M.; Marques, M.; Facanali, R.; Lima, M. 2014. Aspectos morfológicos e químicos de *Protium spruceanum*: uma contribuição ao conhecimento de espécies aromáticas do Bosque da Ciência do INPA. *Scientia Amazonia*, 3: 6-10.

Liu, H.L.; Huang, X.Y., Li, J; Xin, GR.; Guo, Y.W. 2012. Absolute configuration of integracins A, B, and 15'-dehydroxy-integracin B. *Chirality*, 24: 459-62.

Loureiro, A. A.; Freitas, J.A.; Freitas, C.A A. Essências Madeireiras da Amazônia 3. MCT/INPA/CPFF. vol.1. Manaus: INPA, 1979, 243p.

Loureiro, A.A.; Silva, M.F. 1968. Catálogo de madeiras da Amazônia. Manaus: INPA, vol.2: 411p.

Lu, S.; Draeger, S.; Schulz, B.; Krohn, K.; Ahmed, I.; Hussain, H. 2011. Bioactive aromatic derivatives from endophytic fungus, *Cytospora* sp. *Natural Product Communications*, 6: 661-666.

Maia, R. M.; Barbosa, P. R.; Cruz, F. G.; Roque, N. F.; Fascio, M. 2000. Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum* March (Burseraceae): characterization in binary mixtures. *Química Nova*, 23: 423-24.

Machado, L.; Zoghbi, M.; Andrade, E. 2003. Seasonal variation in the composition of the essential oils from the leaves, thin branches and resin of *Protium spruceanum* (Benth.). *Flavour and Fragrance Journal*, 18: 338-341.

Magalhães, A.; Zoghbi, M.G.B; Siani, A.C. 2006. 5-Methoxypropacin, a novel coumarinolignoid from *Protium unifoliolatum*. *Natural Product Research*, 20: 43-46.

Marques, D.D.; Graebner, I.B.; Lemos, T.L.G.; Machado, L.L.; Assunção, J.C.C.; Monte, F.J.Q. 2010a. Triterpenes from *Protium hebetatum* resin. *Natural Product Communications*, 5: 1181-1182.

Marques, D.; Sartori, R.; Lemos, T.; Machado, L.; Souza, J.; Monte, F.2010. Chemical composition of the essential oils from two subspecies of *Protium heptaphyllum*. *Acta Amazonica*, 40: 227-230.

Melo, C. M.; Morais.T. C.; Tomé, A. R.; Brito, G. A. C.; Chaves, M. H.; Rao, V. S.; Santos, F. A. 2011. Anti-inflammatory effect of α,β -amyrin, a triterpene from *Protium heptaphyllum*, on cerulein-induced acute pancreatitis in mice. *Inflammation Research*, 60: 673-681.

Misra, G.; Nigam S. K.; Mitra, C. R. 1970.Triterpenoids of *Mimusops manilkara* trunk bark. *Phytochemistry*, 9: 2067-2068.

MMA/SBF— Ministério do Meio Ambiente/Setor Brasileiro Florestal. 2000. Convenção sobre diversidade biológica-CDB. Brasília, 60p.

MMA – Ministério do Meio Ambiente. Levantamento sobre a geração de resíduos provenientes da atividade madeireira e proposição de diretrizes para políticas, normas e condutas técnicas para promover o seu uso adequado: Secretaria de Mudanças Climáticas e Qualidade Ambiental; Secretaria de Biodiversidades e Florestas. Curitiba, 2009.

MMA, 2012. Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade Brasileira. (<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>). Acesso em 13/05/2014.

MOBOT, 2014. Missouri Botanical Garden. Eletronic Database. (<http://www.tropicos.org>). Acesso em 13/05/2014.

Mondal, S.; Das, D.; Roy, S. K.; Islam, S. S. 2012. Isolation, purification and structural characterization of an acetylated heteroglycan from the unripe fruits of *Manilkara zapota* L. *Carbohydrate Research*, 354: 74–78.

Monteiro, M.H.D.A.; Andreato, R.H.P.; Neves, L.J. 2007. Estruturas secretoras em Sapotaceae. *Pesquisas Botânica*, 58: 253-262.

Moraes, M.; Camara, C.; Ramos, C. 2013. Seasonal variation in the essential oil of *Protium bahianum* Daly (Burseraceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16: 300-307.

OIMT - Organização Internacional das madeiras tropicais. Resenha anual e evolução da situação mundial das madeiras. Yokohama, Japão. OIMT. 206 p. 2010

Nascimento, C.C. 2005. Revista: Ciência e tecnologia em resíduos de madeira. Amazonas: *Ciência- FAPEAM*, 1: 22-24.

Osman, M.A.; Rashid, M. M.; Aziz, M. A.; Habib, M. R.; Karim, M. R. 2011. Inhibition of Ehrlich ascites carcinoma by *Manilkara zapota* L. stem bark in Swiss albino mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1: 448-451.

Pennington, T.D. 2004. Sapotaceae. In Kubitzki, K. (ed.). The families and genera of vascular plants. Berlin: Springer-verlag. Vol. 6, pp. 390-421.

Pinto, D.; Carvalho, L.; Lima, M.; Marques, M.; Facanali, R.; Ribeiro, J. 2010. Volatiles of foliar rachis, branches and resin elicited by insects from *Protium hebetatum* grows wild in Amazon. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13: 699-703.

Pontes, W.J.T.; Oliveira, J.C.G.; Câmara, C.A.G.; Lopes, A.C.H.R.; Gondim-Júnior, M.G.C.; Oliveira, J.V.; Barros, R.; Schwartz, M.O.E. 2007. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). *Acta Amazonica*, 37: 103-110.

Pontes, W.; Silva, J.; Camara, C.; Gondim-Junior, M.; Oliveira, J.; Schwartz, M. 2010. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oils from fruits and leaf of *Protium bahianum* Daly. *Journal of Essential Oil Research*, 22: 279-282.

Rajakumar, G.; Rahuman, A.A. 2012. Acaricidal activity of aqueous extract and synthesized silver nanoparticles from *Manilkara zapota* against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Research in Veterinary Science*, 93: 303-309.

Ramos, M. F. S.; Siani, A. C.; Tappin, M. R. R.; Guimarães, A. C.; Ribeiro, J.E. L. 2000. Essential oils from oleoresins of *Protium* ssp. of the Amazon region. *Flavour and Fragrance Journal*, 150: 383-387.

Rao, V. S. N.; Maia, J. L.; Oliveira, F. A.; Lemos, T. L. G.; Chaves, M. H. Santos, F. A. 2007. Composition and antinociceptive activity of the essential oil from *Protium heptaphyllum* Resin. *Natural Product Communications*, 2: 1-3.

Sahu, N.; Koike, K.; Jia, Z.; Nikaido, T. 1997. Triterpenoid saponins from *Mimusops elengi*. *Phytochemistry*, 44:1145-9.

Sales-Campos, C.; Abreu, R.L.S.; Vianez, B.F. 2000. Condições de uso e processamento da madeira em indústrias madeireiras de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 30: 319-331.

Sánchez-Medina, A.; Stevenson, P.; Habtemariam, S.; Penã-Rodríguez, L.; Corcoran, O.; Mallet, A.; Veitch, N. 2009. Triterpenoid saponins from a cytotoxic root extract of *Sideroxy lonfoetidissimum* sub sp

Santana, A.; Vila, R.; Espinosa, A.; Olmedo, D.; Gupta, M.; Cañigüeral, M. 2009. Composition and biological activity of essential oils from *Protium confusum*. *Natural Product Communications*, 4: 1401-1406.

Santos, F.A.; Frota, J.T.; Arruda, B.R.; Melo, T.S.; Silva, A.A.C.A.; Brito, G.A.C.; Chaves, M.H.; Rao, V.S. 2012. Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of α , β -amyrin, a triterpenoid mixture from *Protium heptaphyllum* in mice. *Lipids in Health and Disease*, 11:98-106.

Sawarkar, U.; Narule, M.; Choudhari, M. 2012. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some 2-(propen-1-one) aryl 3-substituted phenothiazine. *Scholars Research Library*, 4:967-971.

SECOM – Secretaria de Comunicação social da presidência da república.
Biodiversity in Brazil, Fact Sheet United Nations Conference on Biological Diversity
(COP11) – Hyderabad, India, October 2012.

SFB; IMAZON, 2010. A atividade madeireira na Amazônia brasileira: produção,
receita e mercados. Serviço Florestal Brasileiro, Instituto do Homem e Meio
Ambiente da Amazônia – Belém, PA: 05-07p.

Shah, M.B.; Goswami, S.S.; Santani, D.D. 2004. Effect of *Manilkara hexandra*
(Roxb.) dubard against experimentally-induced gastric ulcers. *Phytotherapy*
Research, 18: 814-818.

Siani, C.; Zoghbi, M. G. B.; Wolter, E. L. A.; Vencato, I. 1998. 5-Methoxyjusticidin A,
a new aryl-naphthalene lignan from *Protium unifoliolatum*. *Journal of Natural*
Products, 61: 796-797.

Siani, A. C.; Ramos, M. F. S. 1999. Volatile constituents from oleoresin of *Protium*
heptaphyllum (Aubl.) March. *The Journal of Essential Oil Research*, 11: 72-74.

Siani, A. C.; Ramos, M. F. S.; Lima-Junior, O. M.; Santos, R. R.; Ferreira, E. F.;
Soares, R. O. A.; Rosas, E. C.; Susunaga, G. S.; Guimarães, A. C.; Zoghbi, M. G. B.;
Henriques, M. G. M. O. 1999a. Evaluation of anti-inflammatory – related activity of
essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *Journal of*
Ethnopharmacology, 66: 57-69.

Siani, A. C.; Garrido, I. S.; Monteiro, S. S.; Carvalho, E. S.; Ramos, M. F.S. 2004. *Protium icariba* as a source of volatile essences. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32: 477-489.

Siani, A. C.; Ramos, M.F.S.; Monteiro, S.S.; Santos, R.R.; Soares, R. O. A. 2011. Essential oils of the oleoresins from *Protium Heptaphyllum* growing in the Brazilian southeastern and their cytotoxicity to neoplastic cells lines. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14: 373-378.

Silva, A.C. 2002. Madeiras da Amazônia: características gerais, nome vulgar e usos. Manaus: SEBRAE, 237p.

Singh, S.B.; Zink, D.L.; Bills, G.F.; Pelaez, F.; Teran, A.; Collado, J.; Silverman, K.C.; Lingham, R.B.; Felock, P.; Hazuda, D.J. 2002. Discovery, structure and HIV-1 integrase inhibitor activities of integracins, novel dimeric alkyl aromatics from *Cytospora sp.* *Tetrahedron Letters*, 43: 1617-1620.

Siqueira, J.B.G.; Zoghbi, M.G.B.; Cabral, J.A.; Filho, W.W. 1995. Lignans from *Protium tenuifolium*. *Journal of Natural Products*, 58:730-732.

Suárez, A.I.; Compagnone, R.S.; Acosta, D.; Vasquez, L.; Diaz, B.; Canelon, D.J. 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from oleoresin of *Protium neglectum* S. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10: 70-75.

Susunaga, G.S.; Siani, A.C.; Pizzolatti, M.G.; Yunes, R.A.; Monaache, F.D. 2001. Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*. *Fitoterapia*, 72: 709-711.

Tapondjou, L.A.; Nya L.B.T.; Tane, P.; Ricciutelli, M.; Quassinti, L. 2011. Cytotoxic and Antioxidant Triterpene Saponins from *Butyro spermumparkii* (Sapotaceae). *Carbohydrate Research*, 346: 2699–2704.

Teng, C.M.; Li, H.L.; Wu, T.S.; Huang, S.C.; Huang, T.F. 1992. Antiplatelet actions of some coumarin compounds isolated from plant sources. *Thrombosis Research*, 66: 549-557.

Vaish, S. K.; Singh, A.; Singh, A. K.; Mehrotra, N. K. 2005. Study of NMR spin lattice relaxation of several aldehydes. *Indian Journal of Pure & Applied Physics*, 43: 295-300.

Vieira-Júnior, G.M.; Souza, C.M.L ; Chaves, M.H. 2005. Resina de *Protium heptaphyllum*: Isolamento, caracterização estrutural e avaliação das propriedades térmicas. *Quimica Nova*, 28: 183-187.

Vitor, C.E.; Figueiredo, C.P.; Hara, D.B.; Bento, A.F.; Mazzuco, T.L. 2009. Therapeutic action and underlying mechanisms of a combination of two pentacyclic triterpenes, α - and β -amyrin, in a mouse model of colitis. *British Journal of Pharmacology*, 157: 1034-1044.

Vieira-Júnior, G.M.; Souza, C.M.L; Chaves, M.H. 2005. Resina de *Protium heptaphyllum*: Isolamento, caracterização estrutural e avaliação das propriedades térmicas. *Quimica Nova*, 28: 183-187.

Wandji, J.; Tillequin, F.; Mulholland, D.; Shirri, J.; Tsabang, N.; Seguin, E.; Verte, P.; Libot, F.; Fomum, Z. 2003. Pentacyclic triterpenoid and saponins from *Gambeya boukokoensis*. *Phytochemistry*, 64: 845-849.

Wang, H.; Wang, Y.; Shi, Y.; Li, X.; Long, C. 2009. Chemical constituents in roots of *Osbeckia opipara*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 34:414-418.

Zoghbi, M.G.B.; Roque, N.F.; Gottlieb, O.R. 1981. Propacin, a coumarinolignoid from *Protium opacum*. *Phytochemistry*, 20:180.

Zoghbi, M.G. B.; Siqueira, J. B. G.; Wolter, E.L. A.; Junior, O. L. P. 1993. Constituintes químicos de *Protium paniculatum* (Burseraceae). *Acta Amazonica*, 23: 187-189.

Zoghbi, M. G. B.; Andrade, E. H. A.; Maia, J. G. S. 2002. Composition of the essential oils from leaves, wood, fruits and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) Engl. *Journal of Essential Oil Research*, 14:169-171.

Zoghbi, M. G. B.; Andrade, E. H. A.; Lima, M. P.; Silva, T. M. D.; Daly, D. C. 2005. The essential oils of five species of *Protium* growing in the north of Brazil. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 8: 312-317.