

ISOLAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DA *GARCINIA GARDNERIANA*

DAYANA ALVES RODRIGUES, ALEXSANDRO NUNES COLIM,
GUSTAVO ANTÔNIO MENDES PEREIRA, MARCELO HENRIQUE DOS
SANTOS

Palavras-chave: bacupari; benzofenona; biflavonoide.

INTRODUÇÃO

A *Garcinia gardneriana*, conhecida popularmente como bacupari, é uma espécie frutífera, pertencente à família Clusiaceae ou Guttiferae, nativa da flora brasileira com notável relevância para a conservação da biodiversidade. Essa planta possui frutos com polpa doce e aromática consumida principalmente por aves e mamíferos, auxiliando na dispersão de sementes (RODRIGUES et al., 2021).

Além da sua importância ecológica, a *Garcinia gardneriana* possui moléculas promissoras em atividades biológicas, potencial para as indústrias farmacêuticas e agroquímicas, na descoberta de novos fármacos e agroquímicos. É uma espécie rica em compostos fenólicos, benzofenonas, xantonas e outros metabólitos secundários com propriedades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana (MOREIRA et al., 2017; AKONGWI et al., 2023).

Os estudos com compostos extraídos de fontes naturais possuem considerável relevância científica, econômica e social, uma vez que as fontes naturais apresentam uma gama de moléculas bioativas com estruturas químicas diversificadas com potencial para aplicação nas áreas da saúde, indústria e agricultura (RODRIGUES et al., 2021). Diante da importância dos compostos bioativos presentes no bacupari, este trabalho visou o isolamento e a quantificação de duas benzofenonas polipreniladas, guttiferona-A e 7-epcluisianona e um biflavonoide que é a fukugetina.

MATERIAL E MÉTODOS

Os solventes utilizados para extração e isolamento dos compostos fenólicos foram de grau P.A adquiridos do Sigma Aldrich. E os solventes utilizados na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram grau CLAE adquiridos do Sigma Aldrich.

Coleta e classificação do material vegetal

As sementes da espécie *G. gardneriana* utilizadas para o objeto de estudo químico foram coletadas na Mata-do-Paraíso, região de Viçosa-MG, Brasil (coordenadas: 20°47'48.6"S 42°51'35.6"W). A coleta foi cadastrada no SISGEN que recebeu o código A1DE111.

Preparação dos extratos

As sementes frescas (1,500 kg) foram submetidas ao processo de extração por maceração em acetato de etila durante cinco dias sendo trocado o solvente a cada 24 horas. A cada 24 horas a solução em acetato de etila foi filtrada concentrada em evaporador rotativo a 40 °C e o solvente extrator foi retornado ao recipiente contendo as sementes trituradas. Ao final dos cinco dias foram obtidos 107,6 g de extrato de acetato de etila (EAE). A torta foi desprezada.

Cromatografia em coluna

Inicialmente o extrato em acetato de etila das sementes (EAE) foi submetido à cromatografia líquida em coluna a fim de isolar e purificar os compostos majoritários presentes nas sementes da espécie *G. gardneriana*. Foi utilizado sílica-gel (70-230 mesh) como fase estacionária e como fase móvel um gradiente entre hexano e acetato de etila acidificada com 0,5% de ácido acético. As frações coletadas da coluna foram monitoradas monitorado usando placa para cromatografia de camada delgada (CCD) com base de alumínio (Macherey-Nagel DC-Fertigfolien ALUGRAM® Xtra SiL (G/UV 254). Após eluição a placa de CCD foi observada sob luz UV ($\lambda = 254$ nm) e revelada com solução de vanilina. As demais que não continham os compostos de interesse não foram trabalhadas devido a pequena quantidade/ou complexidade de isolamento.

Cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV-Vis (CLAE-UV)

Para a obtenção dos perfis cromatográficos do extrato bruto e quantificação dos compostos isolados empregou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (modelo Shimadzu, bomba LC 20AT) com detecção por espectroscopia UV-Vis, injetor automático modelo SIL-10^a e forno Shimadzu (CTO 10 ASVP). A análise cromatográfica foi realizada em coluna de fase reversa utilizando uma coluna analítica C18 Shimadzu VP-ODS (150 mm comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno). As amostras foram filtradas em filtro 0,45 µm antes da injeção (20 µL).

A otimização cromatográfica foi realizada priorizando a separação dos compostos majoritários (guttiferona-A, 7-epiclusianona e fukugetina) presentes no EAE, visando um menor tempo de corrida e melhor simetria dos picos referente a cada composto. As variáveis empregadas foram, fluxo 1,0 mL min⁻¹, temperatura do forno de 30 °C, fase móvel foi empregada no modo isocrático, 80:20 acetonitrila/água acidificada com 0,5 % de ácido ortofosfórico, comprimento de onda 254 nm.

Para a quantificação dos compostos foi preparada uma curva analítica para cada padrão. A faixa de concentração empregada para a preparação da curva analítica para cada padrão foi, 2,0; 1,8; 1,7; 1,5; 1,3; 1,0; 0,7 e 0,5 mg mL⁻¹ para a guttiferona-A, 2,0; 1,8; 1,5; 1,3; 1,0; 0,7; 0,5; 0,25 mg mL⁻¹ para a 7-epiclusianona e 1,00; 0,70; 0,50; 0,40; 0,25; 0,12; 0,06 e 0,01 mg mL⁻¹ para a fukugetina. O EAE (5,0 mg) foram dissolvidos em 1,0 mL de acetonitrila grau HPLC.

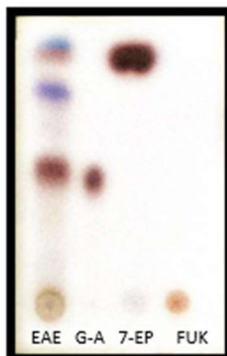
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Preparo do extrato e isolamento dos compostos majoritários

Inicialmente foi realizada análise em cromatografia em camada delgada (CCD) para o extrato em acetato de etila (EAE) e os padrões isolados, guttiferona-A, 7-epiclusianona e fukugetina (Figura 1). Os padrões devidamente elucidados e purificados foram cedidos pelo pesquisador Marcelo Henrique dos Santos.

Figura 1 – Cromatografia em camada delgada (CCD), da esquerda para direita; Extrato bruto da semente de *Garcinia gardneriana* em acetato de etila (EAE); padrão da bezofenona natural guttiferona-A (G-A), padrão da benzofenona natural 7-epiclusianona (7-EP) e padrão do

biflavonoide natural fukugetina (FUK). Eluente hexano/acetato de etila (7:3 v/v) revelado com solução de vanilina em ácido sulfúrico.



O fracionamento do EAE (1,07 g) foi realizado utilizando cromatografia em coluna, foram obtidas 115 frações. As frações foram agrupadas de acordo com a similaridade observada por CCD. A benzofenona natural 7-epiclusianona foi obtida nas frações 3 a 12. As frações foram agrupadas obtendo 0,360 g, submetidas novamente à CC obtendo-se 0,180 g do composto puro.

A benzofenona guttiferona-A foi obtida nas frações 32 a 78. Essas frações foram reunidas e submetidas novamente a CC e obtendo-se 0,250 g de um sólido amarelado puro.

O biflavonoide fukugetina foi obtido nas frações 82 a 88. Essas frações foram reunidas e submetidas novamente a CC obtendo-se 0,078 g de um sólido amarelo puro.

Identificação e quantificação

A separação, identificação e quantificação dos compostos isolados EAE da espécie *G. gardneriana* foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em fase reversa. Foram quantificados os três compostos majoritários guttiferona-A, fukugetina e 7-epiclusianona.

A identificação dos compostos foi feita a partir da comparação do tempo de retenção (tR) dos picos observados no cromatograma do extrato bruto EAE (5 mg/mL) (Figura 2) com os padrões isolados, diluídos em acetonitrila e injetados separadamente (Figura 3).

Figura 2 – Cromatograma do EAE da espécie *G. gardneriana*, 1- fukugetina (tR= 1,8 min), 2- guttiferona-A (tR= 26,3 min) e 3- 7-epiclusianona (tR= 37,2 min). Coluna C18, fluxo 1,0 mL

min-1, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.

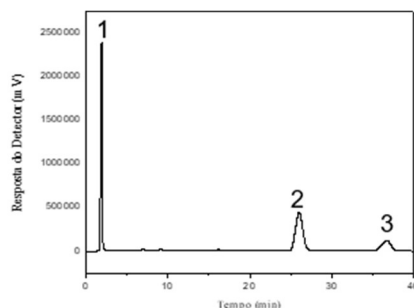
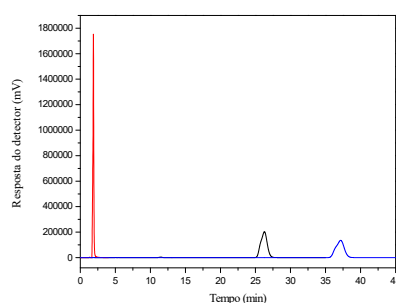


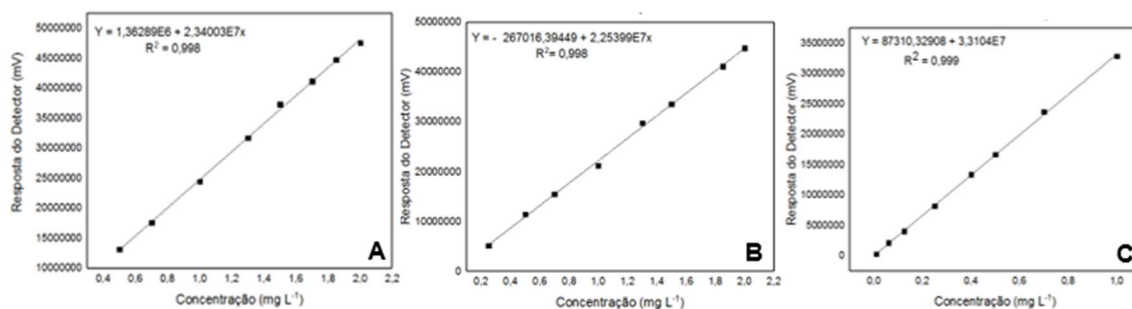
Figura 3 – Cromatograma dos padrões, 1- fukugetina ($t_R = 1,8$ min), 2- guttiferona-A ($t_R = 26,3$ min) e 3- 7-epiclusianona ($t_R = 37,2$ min), coluna C18, fluxo 1,0 mL min⁻¹, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.



Quantificação dos compostos isolados no EAE

Para a quantificação dos compostos isolados foi construída uma curva analítica separadamente para a guttiferona-A, 7-epiclusianona e fukugetina (Figura 4).

Figura 4 – Curva analítica do composto guttiferona-A (A), 7-epiclusianona (B) e fukugetina (C), preparado em acetonitrila, coluna C18, fluxo 1,0 mL min⁻¹, acetonitrila/água com 0,5% de ácido ortofosfórico (80/20 v/v), comprimento de onda de 254 nm, 30 °C.



Neste trabalho foi determinado a concentração dos compostos empregando as equações da reta obtidas através da curva analítica para cada composto guttiferona-

A, 7-epiclusianona e fukugetina, foram obtidos, 1,13 mg mL⁻¹, 0,46 mg mL⁻¹ e 0,7 mg mL⁻¹ para os compostos respectivamente contidos em 5 mg de extrato bruto EAE.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos demonstram a eficiência da metodologia empregada tanto na identificação quanto na quantificação dos compostos majoritários presentes no extrato bruto da espécie *G. gardneriana*. A determinação das concentrações de guttiferona-A (1,13 mg·mL⁻¹), 7-epiclusianona (0,46 mg·mL⁻¹) e fukugetina (0,70 mg·mL⁻¹) em 5 mg de extrato evidencia a relevância química da espécie estudada, destacando seu potencial como fonte de metabólitos bioativos. Tais achados contribuem para o avanço do conhecimento sobre a composição química da espécie e fornecem subsídios para futuras investigações farmacológicas e biotecnológicas dessas moléculas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais), à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), a UEMG (PAPQ/UEMG-15/2024) pela bolsa de professor orientador e auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- AKONGWI, M.; KWENE, E. C.; AWAH, L. A.; TIH, A. E.; GHOGOMU, R. T.; CHO-NGWA, F. C.; NGEMENYA, M. N. Anti-Salmonella activity on multidrug-resistant strains and cytotoxicity of extracts and constituents of *Garcinia brevipedicellata* and *Garcinia epunctata*. **Scientific African**, v.19, p. 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01465>, 2022.
- MOREIRA, M. E. DE C.; NATAL, D. I. G.; TOLEDO, R. C. L.; RAMIREZ, N. M.; RIBEIRO, S. M. R.; BENJAMIN, L. DOS A.; OLIVEIRA, L. L. DE; RODRIGUES, D. A.; DEMUNER, A. J.; VELOSO, M. P.; SANTOS, M. H. DOS; MARTINO, H. S. D. Bacupari peel extracts (*Garcinia brasiliensis*) reduce high-fat diet-induced obesity in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 29, p. 143–15. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2016.11.001>, 2017.

RODRIGUES, D. A.; SOUSA, B. L. DE; SILVA, J. G. DA; PEREIRA, G. A. M.; BOUSADA, G. M.; SILVA, A. A. DA; DEMUNER, A. J.; COSTA, E. D' M.; PILAU, E. J.; SILVA, E.; SANTOS, M. H. DOS. Phytotoxic property of metabolites isolated from *Garcinia gardneriana*.

Computational Biology and Chemistry, v. 92, p. 1-9. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2021.107460>, 2021.

AUTORES

Dayana Alves Rodrigues, Docente na Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG-Ituiutaba). Graduada em Licenciatura em Química pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). Mestra em Agroquímica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Doutora em Agroquímica- Química Orgânica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). E-mail: dayana.rodrigues@uemg.br

Alexsandro Nunes Colim, Analista de Laboratório na Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG-Ituiutaba). Graduado em Química (Bacharelado e Licenciatura Plena) pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Mestre em Química Analítica e Doutor em Ciências - Química Analítica, pela UFSM. E-mail: alexsandro.colim@uemg.br.

Gustavo Antônio Mendes Pereira, Desenvolvimento de Tecnologias e Mercado pela empresa AGROCETE. Graduado em Bacharelado em Engenharia Agrônoma pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). Mestre em Produção Vegetal pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). Doutor em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). E-mail: gustavogamp@hotmail.com.

Marcelo Henrique dos Santos, Docente pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Graduado Química Bacharelado e licenciatura, pela Universidade Federal de Viçosa. Mestre em Agroquímica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Doutor em Química pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). E-mail: marcelo_hs@yahoo.com.br.