



OBTENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS POR EXTRAÇÃO DIRETA DAS SEMENTES DE GARCINIA HUMILIS (CLUSIACEAE)

Julia Fontoura Carvalho Magalhaes dos Santos, Rivaldo Niero, Valdir Cechinel Filho

Área: Fitoquímica, Biotecnologia e Farmacologia de Plantas Medicinais

Introdução: Dentro da grande diversidade da flora brasileira, a família Clusiaceae apresenta-se com 37 gêneros e mais de 1610 espécies. O gênero *Garcinia* se destaca, pois, além de seu consumo como fruta, também possui aplicações medicinais. Em algumas comunidades, acredita-se que as cascas e folhas da planta possam ser usadas como remédios para tratar problemas gastrointestinais. Estudos mostram que é uma fonte rica de xantonas, biflavonoides e benzofenonas com amplo potencial farmacológico, como antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, citotóxica e diurética (1; 2; 3). *Garcinia humilis* é uma planta de origem boliviana bem adaptada no Brasil, sendo popularmente conhecido como “achachairu ou bacupari”. Seus frutos e folhas são utilizados como cicatrizantes digestivos e laxantes e em tratamentos de reumatismo, úlcera gástrica e inflamação (4). Embora seus frutos sejam comercializados na Bolívia e em parte do nordeste brasileiro, ainda são poucos os estudos científicos sobre essa espécie especificamente os frutos e sementes dessa planta. Em relação às sementes, tema alvo deste estudo, temos demonstrado que o extrato metanólico bruto e um composto puro (Gutiferona A), apresentaram efeitos antinociceptivo, gastroprotetor, leishmanicida e atividade antimicrobiana, utilizando modelos experimentais clássicos (1). Sabendo-se do potencial que essa espécie apresenta, este estudo visou a reavaliar o perfil químico, utilizando um processo de extração direta do material vegetal usando solventes em escala crescente de polaridade.

Objetivos: O objetivo do presente estudo foi analisar fitoquimicamente as frações obtidas por extração direta das sementes de *Garcinia humilis* através de técnicas cromatográficas e espectroscópicas convencionais e dar subsídio a futuros ensaios farmacológicos.

Metodologia: Os frutos de *Garcinia humilis* foram coletados na localidade de Macacos em Camboriú, Santa Catarina, em março de 2022. Posteriormente, as sementes foram separadas das cascas e polpa manualmente, lavadas, trituradas e secas em estufa a 40°C com circulação de ar, resultando em 185,87g de material seco. Em seguida, o material seco foi submetido a diferentes extrações com solventes, em ordem de polaridade crescente, como Hexano, Diclorometano e Acetato de etila, respectivamente. Cada extração foi repetida duas vezes, com a reposição do solvente a cada quatro dias. Os solventes extratores foram evaporados em um Rotaevaporador sob pressão reduzida, mantendo-se a temperatura a 50°C, resultando em 22,75g do extrato de Hexano, 4,38g de Diclorometano e 0,91g do Acetato de etila. No processo de fracionamento e purificação dos compostos, foram utilizados a cromatografia em coluna aberta (CCA), tendo como fase estacionária sílica gel 60 e fase móvel misturas de hexano e acetona em diferentes proporções. O grau de pureza foi avaliado mediante perfil por cromatografia em camada delgada (CCD). Considerando que o extrato de



hexano apresentou maior rendimento, foi selecionada para purificação. Nesse sentido, 3g foram submetidos a uma coluna de vidro (50 x 3cm), empacotada com 56g de sílica gel e eluída numa fase móvel de hexano: acetona (10x100ml) com gradiente de polaridade (1:100), rendendo 150 frações. Após agrupadas por similaridade por CCD, tendo como revelador anisaldeído sulfúrico, foi observada, na fração 67-69 (25,5mg), a formação de um sólido branco com características amorfas.

Resultados: O fracionamento do extrato de hexano através de cromatografia em coluna (Coluna 1), levou a fração 67-69 (25,5mg), a qual se apresentou como um sólido branco com características cristalinas. Na tentativa de uma identificação prévia por CCD, foi comparada com os padrões de Estigmasterol e a β amirina, isolados em nossos laboratórios. No entanto, nenhum dos padrões utilizados apresentaram fatores de retenção semelhantes ao composto isolado. Nesse sentido, foi então submetida a análise espectroscópica de RMN de H^1 e C^{13} . Os dados preliminares em conjunto aos comparados da literatura sugerem uma estrutura similar a Gutiferona A, isolada em estudos anteriores, porém com sinais de deslocamentos químicos diferentes sugerindo uma substância diferente. Com a finalidade de obter uma maior quantidade deste composto, a fração 53-69 (695,5mg), foi submetida a uma coluna cromatográfica (Coluna 2) nas mesmas condições anteriores, rendendo 72 subfrações, que foram agrupadas por similaridade por CCD. As subfrações de 42-72 (312mg) após reunidas, ainda apresentavam relativo grau de impurezas e foram submetidas a uma coluna flash (Coluna 3). Esta foi eluída em modo isocrático, usando uma mistura de hexano: acetona 70:30, rendendo 86 frações. No entanto, ainda foi possível observar impurezas presentes nas frações 38-68 (104,5mg). Assim, foi submetida a uma nova coluna flash (Coluna 4), rendendo, então, 32 frações que foram analisadas por CCD e agrupadas por similaridade. A fração 7-22, que apresentou maior grau de pureza, foi submetida à análise de cromatografia em camada delgada e comparada com cristal obtido da coluna 1 e um padrão de Gutiferona A. Após a revelação da cromatoplaça com anisaldeído sulfúrico e posterior aquecimento, foi observada a nítida semelhança com o padrão utilizado de Gutiferona A. Entretanto, se mostrou diferente do composto cristalino isolado da primeira coluna do de hexano. Embora a Gutiferona A seja um composto conhecido, estudos demonstraram seu efeito antinociceptivo em modelos de dor induzidos por formalina, capsaicina e carragenina, sugerindo que a planta é uma fonte importante de compostos com perfil adequado para o tratamento de processos dolorosos (1).

Considerações finais: A fração 67-69, oriunda do extrato de hexano, após passar por um processo de purificação, apresentou formação de cristais brancos, mostrou considerável grau de pureza quando analisado por CCD. Assim, foi submetida a análise RMN e seus resultados preliminares mostraram que os dados comparados com estudos anteriores são similares, o que sugere uma estrutura da classe das benzofuranonas semelhantes às Gutiferonas. Entretanto, outros ensaios serão necessários para elucidar definitivamente a sua estrutura. Isso se torna importante do ponto de vista químico, pois pode se tratar de algum composto ainda não identificado nessa espécie. Isso fortalece a necessidade da continuidade dos estudos com o referido extrato de hexano,



pois ainda há outras substâncias a serem isoladas e identificadas.

Financiamento ou apoio: PIBIC/CNPq/FAPESC/UNIVALI.

Referências

1) DAL MOLIN, M. M.; SILVA S., ALVES, D. R., QUINTÃO, N. L. M.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V.; NIERO R. Phytochemical analysis and antinociceptive properties of *Garcinia achachairu* Rusby (Clusiaceae) seeds. *Archives of Pharmacal Research*. v. 35, p. 623-631, 2012. 2) MARIANO, L. N. B.; BOEING, T.; CECHINEL FILHO, V.; NIERO, R.; SILVA, L. M. da; SOUZA, P. de. 1,3,5,6-tetrahydroxyxanthone promotes diuresis, renal protection and antiurolithic properties in normotensive and hypertensive rats. *Journal of pharmacy and pharmacology*, v. 73, p. 700-708, 2021. 3) TAN, W. N.; TAN, Z. H.; ZULKIFLI, N. I.; MOHAMED, N. I. K.; KAMAL, N. N. S.; ROZMAN, N. A. S.; TONG, W. Y.; LEONG, C. R.; LIM J. W. Sesquiterpenes rich essential oil from *Garcinia celebica* L. and its cytotoxic and antimicrobial activities. *Natural Product Research*, v. 17, p.1-5, 2019. 4) BARBOSA W.; CHAGAS E. A.; MARTINS L.; PIO R.; TUCCI M. L. S.; ARTIOLI F. A. Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de *achachairu*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 30, p. 263-266, 2008.