OBTENÇÃO DE EXTRATOS DOS FRUTOS DE *GARCINIA COCHINCHINENSIS* VISANDO APLICAÇÃO EM NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Tainá de O. Leria Constantini (PIBIC), Cássia Gonçalves Magalhães (Orientador), e-mail: cassiagmag@yahoo.com.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química.

Área: Química **Subárea do conhecimento: Química Orgânica**

Palavras-chave: *Garcinia cochinchinensis*, nanomateriais, xantonas.

Resumo

As nanopartículas têm sido amplamente estudadas devido às suas características físicas e químicas únicas, relacionadas ao tamanho, morfologia e composição. A redução dos íons de prata pode ser realizada por diferentes rotas de síntese, incluindo extratos de origem vegetal. A escolha de um agente redutor e estabilizante benigno para o meio ambiente é de extrema importância. Devido à importância da caracterização química de plantas pouco estudadas, associada ao emprego de extratos vegetais em diferentes processos na química verde, esse trabalho teve como objetivo a obtenção de extratos dos frutos de *Garcinia cochinchinensis* visando a biossíntese de nanopartículas de prata. Foram obtidos os extratos dos frutos de *G. cochinchinensis*. Estes foram fracionados por cromatografia em coluna e caracterizados por cromatografia em camada delgada, RMN de ^{1}H e ^{13}C e potencial antimicrobiano. Além disso, avaliou-se seu potencial na produção de nanopartículas de prata, caracterizado por espectroscopia na região do UV-Vis. Extratos e frações obtidas foram avaliadas quanto ao potencial antioxidante e antimicrobiano.

Introdução

Nanopartículas metálicas estão sendo utilizadas em diferentes áreas, incluindo campos médicos.[1] Esses materiais têm atingido um foco especial por sua alta condutividade elétrica e térmica, estabilidade química, atividade catalítica e propriedades biológicas.[2,3] No entanto, a maioria das metodologias empregadas na síntese de nanopartículas requer o uso de reagentes potencialmente tóxicos e alta demanda energética.[4]

Para nanopartículas de prata baseadas em extratos de vegetais, estudos reportam-nas como potenciais produtos para o pré-diagnóstico e tratamento de câncer, além de suas propriedades de proteção ambiental.[5] *Garcinia cochinchinensis* (Clusiaceae) é uma espécie nativa do Vietnã, uma planta medicinal usada há centenas de anos no sudeste da Ásia, no tratamento de alergias e doenças cutâneas. Estudos de caracterização da flora do estado do Paraná reportam a presença de espécies do gênero *Garcinia*.[6] Contudo, até o presente momento, são escassos os relatos a respeito do estudo fitoquímico de *G. cochinchinensis* crescida no Brasil Tendo em vista a importância de se obter nanoparticulas a partir de métodos ambientalmente seguros, a produção desses materiais empregando-se os extratos dos frutos de *G. cochinchinensis* leva à possibilidade de nova aplicação para os mesmos, agregando valor econômico à espécie.[7]

Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo como objetivo obter extratos e metabólitos secundários dos frutos de *G. cochinchinensis* e avaliar sua eficiência na

síntese de nanopartículas de prata, além da verificação de seu potencial antimicrobiano e antioxidante.

Material e Métodos

Os frutos de *G. cochinchinensis* foram coletados de um exemplar localizado no campus da Universidade Estadual de Londrina, no Paraná, sob a supervisão da Profa. Dra. Ana Odete dos Santos Vieira, responsável pela identificação do material. Após higienização dos mesmos, as cascas foram separadas da polpa dos frutos e foram submetidas à extração exaustiva com etanol, em aparelho Soxhlet, durante 30 horas, aproximadamente e fez-se a filtração e remoção completa do solvente, à pressão reduzida. O respectivo extrato foi solubilizado em uma mistura de etanol:água (6:4) e então submetido à extração líquido-líquido, empregando-se hexano, diclorometano e acetato de etila como contra-fase. Cada uma das frações originadas foi submetida à destilação à pressão reduzida, obtendo-se os respectivos extratos.

O extrato em diclorometano (0,747 g) foi fracionado empregando-se cromatografia em coluna (coluna A). Neste processo foram utilizadas como fase móvel 500 mL de duas misturas de solventes: a primeira de hexano e diclorometano e a segunda mistura de diclorometano e acetona. Como fase estacionária utilizou-se a sílica-gel 60. Foram recolhidas 91 frações, que após comparação por cromatografia em CCDS (camada delgada de sílica), foram reunidas em 15 grupos. Foram estudadas as seguintes reuniões:

Fração A2 (frações 4-5; 0,016 g) e **Fração A7** (frações 38-43; 0,157 g)

Ambas apresentaram um único ponto na placa de CCDS. Por isso, as amostras foram enviadas para análise por ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{1}H e ^{13}C e a Fração A7, também, para espectroscopia na região do infravermelho.

Fração A6 (frações 23-37; 1,212 g)

Esta reunião se apresentou como um sólido branco e foi fracionada novamente, empregando-se cromatografia em coluna. Devido ao perfil complexo das amostras, seria necessário outro método de separação cromatográfico do qual não se dispunha. Por isso, optou-se por trabalhar com as mesmas posteriormente.

O extrato em acetato de etila (0,138 g) foi fracionado empregando-se cromatografia em coluna (coluna B). Neste processo foram utilizadas como fase móvel 20 mL de uma mistura dos solventes: hexano e acetato de etila. Como fase estacionária utilizou-se a sílica-gel 60. Foram recolhidas 40 frações, que após comparação por CCDS, foram reunidas em 6 grupos.

A partir do extrato em acetato de etila fez-se a tentativa da síntese das AgNPs da seguinte forma: 5 mL do extrato foi colocado em banho de gelo e sob agitação por 5 minutos. Após este tempo adicionou-se 0,5 mL de $AgNO_3$ 0,1 $molL^{-1}$ durante 30 minutos. Fez-se a caracterização por espectroscopia na região do UV-Vis (espectrofotômetro Varian Cary 50Bio) na região de 200 a 900 nm .

A fração A7 foi avaliada frente aos micro-organismos *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) e *Bacillus subtilis* PY79). A CIM foi determinada pela técnica de diluição em microplacas (96 orifícios) de acordo com a metodologia descrita segundo a norma M7-A6 do manual *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012) para as bactérias aeróbicas.

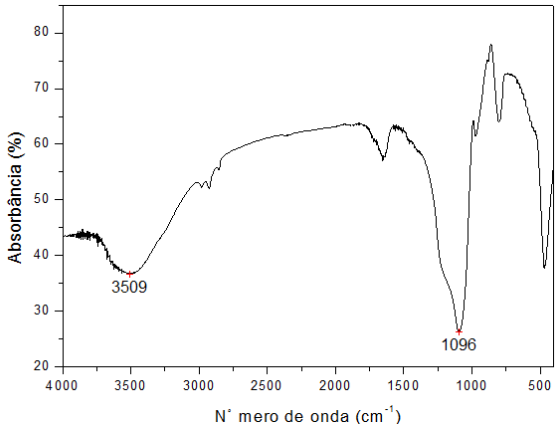
O extrato em acetato de etila foi submetido à avaliação de seu potencial antioxidante frente ao radical DPPH. No ensaio, uma solução de DPPH 0.10 mmol/L em metanol foi preparada e uma alíquota de 260 µLfoi acrescentada a 40 µL de extrato à concentração de 0,76mg/mL. Deixou-se reagir por 30 min na ausência de

luz. A absorbância foi lida a 517 nm e a atividade sequestrante foi determinada como a porcentagem de inibição da atividade das espécies, dada por: %inibição = [(absorbância do controle – absorbância da amostra)/ absorbância do controle] x 100. Utilizou-se ácido ascórbico como padrão.[8]

Resultados e Discussão

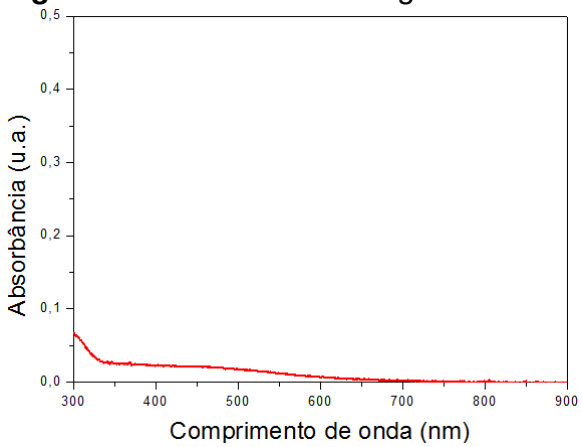
As frações **A2** e **A7**, isoladas durante o estudo fitoquímico, foram enviados para análise por ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{1}H e de ^{13}C. Estes não levaram a resultados expressivos quanto à caracterização quimiotaxonômica da espécie, uma vez que os espectros obtidos de **A2** evidenciaram sinais que caracterizavam hidrocarbonetos. Os espectros de RMN da fração **A7** não apresentaram sinais relativos às evidências de grupos funcionais visualizados no espectro obtido na região do IV (Figura 1), que foram relacionados à presença de grupo hidroxila (banda em 3509 cm^{-1}) e banda em 1096 relativo a estiramento de ligação -OH de álcool primário.[9]

Figura 1 – Espectro de absorção na região do IV (pastilha de KBr) da amostra A7.



A partir de análise do espectro na região do UV-Vis(Figura 2), observou-se que o extrato não foi capaz de reduzir a prata, pois no espectro não se observa a banda característica da prata, que seria observada em aproximadamente 400nm.[10] Talvez isso tenha acontecido porque o redutor foi obtido a partir de extrações com solventes de média polaridade, o que pode ter influenciado na solubilidade do mesmo quando colocado em contato com a solução aquosa de $AgNO_3$.

Figura 2– Análise UV-Vis AgNPs-extrato.



A Fração A7 não apresentou atividade frente aos micro-organismos testados. Esse resultado contrasta com aquele obtido por Naldoni[11] que observaram a atividade antimicrobiana de compostos obtidos dos frutos de *G. brasiliensis*. No entanto, o potencial observado é relacionado a compostos obtidos a partir do extrato

hexânico, e nesse trabalho foi feita a avaliação de uma amostra obtida de um extrato de maior polaridade. Como se tratam de substâncias quimicamente distintas, é provável que não tenha havido interação suficiente entre a amostra avaliada e os micro-organismos, refletindo na ausência de atividade.

O extrato em acetato de etila dos frutos de *G. cochinchinensis* à concentração de 0,76mg/mL foi capaz de inibir a ação do radical DPPH (taxa de inibição = 68,0% ±1). No entanto, a fração **A7** inibiu levemente a ação daquela espécie reativa (taxa de inibição = 18,8% ±0,8). Isso pode estar relacionado à menor concentração de compostos antioxidantes presentes na amostra purificada. O potencial antioxidante de espécies do gênero *Garcinia* se deve à presença de compostos fenólicos, também encontrados em *G. cochinchinensis* crescida no Vietnã.[12]

Conclusão

A fração A7, originada do extrato em diclorometano, não apresentou atividade frente aos micro-organismos testados e exibiu fraca atividade antioxidante. O estudo fitoquímico realizado com os extratos de *G. cochinchinensis* não revelou resultados expressivos quanto ao isolamento de compostos inéditos na literatura científica. Não foi observada a formação de nanopartículas de prata por meio da metodologia utilizada. Sendo assim, são necessárias outras pesquisas, as quais podem agregar resultados mais relevantes quanto a este aspecto.

Agradecimentos

À UEPG, ao CLabMu e ao professor Dr. Thiago de Castro Rozada, pela realização dos espectros de RMN na Universidade Estadual de Maringá.

Referências

[1] JADHAV, K., *et al* . **ACS Biomater. Sci. Eng**., v.4, p. 892−899, 2018.
[2] GANJI, N., KHAN, I., BOTHUN, G. D. **Langmuir**, v. 34, p. 2039-2045, 2018.
[3] AHMED, S., *et al*. **J. Adv. Res.**, v. 7, p. 17–28, 2016.
[4] SILVA, L., *et al*. **Water Air Soil Pollut**, v. 227, p. 306,2016.
[5] JAYAPRAKASH, N., *et al*. **J. Photochem. Photobiol. B: Biol**., v.169, p.178–185, 2017.
[6] ALMEIDA, A. R. G.; BONALDI, R. A. **Acta Biol. Par.**, v. 44, p. 57-69, 2015.
[7] RAJAKANNU, S., *et al*. **Int. J. of Cur. Microbiol. and Appl. Sci.**, v. 4, p. 944-952, 2015.
[8] BRAND-WILLIAMS, W., *et al*. **Food Sci. Technol-Leb**, v. 28, p. 25–30, 1995.
[9] BARBOSA, L.C.A. **Viçosa: UFV**, 2007.
[10] ROCHA, R. R. **Florianópolis, UFSC, Trabalho de Conclusão de Curso**, p.47, 2010.
[11] NALDONI, F.J., *et al*.. **J of Med Food**, v.2, p.403, 2009.
[12] BINH T.D. TRINH, *et a*. **Phytochemistry Letters**, v.6, p. 224–227, 2013.