

Identificação de bergenina e carotenóides no fruto de uchi (*Endopleura uchi*, Humiriaceae)

Lyege Amazonas M. MAGALHÃES¹, Maria da Paz LIMA², Helyde Albuquerque MARINHO³, Antonio Gilberto FERREIRA⁴

RESUMO

O extrato obtido em metanol da polpa de frutos *Endopleura uchi* foi submetido a fracionamento utilizando-se técnicas cromatográficas convencionais levando ao isolamento de bergenina. Na análise da composição dos carotenóides foi evidenciada a predominância de β -caroteno ($16,57 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Os isômeros do β -caroteno foram detectados, *trans*- β -caroteno (89,3%), 13-*cis*- β -caroteno (8%) e 9-*cis*- β -caroteno (3%). Considerando a importância do papel nutricional dos carotenóides e a bioatividade do glicosídeo bergenina, esse estudo sugeriu o potencial desse fruto como alimento funcional.

PALAVRAS-CHAVE

Endopleura uchi, Bergenina, β -Caroteno.

Identification of bergenin and carotenoids in the uchi (*Endopleura uchi*, Humiriaceae) fruit

ABSTRACT

The extract obtained in methanol from the fruits pulp of *Endopleura uchi* was fractionated using conventional chromatographic techniques to isolate bergenin. In the analysis of the composition of carotenoids was evidenced the predominance of β -carotene ($16.57 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). The isomers of β -carotene: *trans*- β -carotene (89.3%), 13-*cis*- β -carotene (8%) and 9-*cis*- β -carotene (3%) were detected. Considering the importance of the nutritional role of carotenoids and the bioactivity of the bergenin, this study suggested the potential of this fruit as functional food.

KEYWORDS

Endopleura uchi, Bergenin, β -Carotene.

¹ Programa de Iniciação Científica, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. e-mail: lyege@inpa.gov.br.

² Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Pesquisas em Produtos Naturais - CPPN. e-mail: mdapaz@inpa.gov.br. Endereço de correspondência.

³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Pesquisas em Ciências da Saúde - CPCS. e-mail: marinho@inpa.gov.br.

⁴ Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, Caixa Postal 676. e-mail: giba@dq.ufscar.br

INTRODUÇÃO

Endopleura uchi (Huber) Cuatrec. [sin. *Sacoglottis uchi* Huber] (Humiriaceae) é uma espécie originária da Amazônia brasileira, encontrada em estado silvestre em mata de terra firme, dispersa por toda a Bacia Amazônica. A planta é conhecida na região como uchi, uxi ou uchi-pucu (Cuatrecasas, 1961; Schultes, 1979).

A madeira dessa espécie é utilizada na construção civil e naval, marcenaria e carpintaria. A casca da árvore é utilizada na forma de maceração para o tratamento de artrite, colesterol, diabetes e como anti-inflamatório (Corrêa, 1984).

O fruto é uma dupla oblongo-elipsóide de 5 a 7 cm de comprimento, 3 a 4 cm de diâmetro, com peso entre 50 e 70 g e apresenta coloração verde-amarelada ou parda-escuro quando maduro. É considerado um alimento de grande importância para subsistência de muitas comunidades rurais mais distantes, no entanto na última década tem sido detectado um mercado em expansão na área periurbana de Belém durante os quatro meses de frutificação, gerando renda para várias famílias. A polpa *in natura* é consumida pura bem como na fabricação de sorvete e licor. O fruto é também apreciado por vários animais silvestres, tornando-o favorito aos caçadores para construção de armadilhas de caça (Shanley, Luz & Swingland, 2002).

Estudos fitoquímicos efetuados com essa espécie descrevem a ocorrência das isocumarinas bergenina e 8,10-dimetoxibergenina e dos triterpenóides pentacíclicos, ácido masilínico e o seu éster masilinato de metila, no caule de um espécime coletado na Pará (Luna, Bento & Sant'Ana, 2001; Luna *et al.*, 2000). Os estudos com polpa de frutos de uchi o indicaram como fonte de ácidos graxos, fibras, esteróides, sais minerais, vitaminas C e E. Os principais ácidos graxos identificados foram o ácido oléico (7,38%) e ácido palmítico (3,78%). A composição do aroma nos frutos também foi avaliada, sendo identificados 42 componentes com predominância de 3,3-dimetil-2-butanol (18,8%) e eugenol (14,0%) (Marx *et al.*, 2002).

Considerando a importância econômica e alimentar dos frutos de uchi para região amazônica, esse trabalho objetivou a descoberta de possíveis constituintes responsáveis pelas propriedades terapêuticas e/ou nutricional.

MATERIAIS E MÉTODOS

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS GERAIS

Os espectros de RMN foram obtidos em aparelho Bruker DRX-400 (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz), utilizando DMSO- d_6 como solvente. O espectro de absorção na região do IV foi obtido em aparelho Perkin Elmer (Spectrum-2000), utilizando pastilha de KBr. O ponto de fusão foi determinado no aparelho da Marconi (MA-381). Para o fracionamento do extrato obtido em metanol, foram utilizadas colunas cromatográficas em gel

de sílica (Merck, 70-230 mesh) e celulose microcristalina Avicel (Merck). As placas cromatográficas foram reveladas com luz UV e solução alcoólica de vanilina/ácido sulfúrico. Para identificação dos carotenóides utilizou-se espectrofotômetro UV/Visível, Perkin-Elmer 552A, duplo feixe, com registrador acoplado.

EXTRAÇÃO, FRACIONAMENTO E ISOLAMENTO DA SUBSTÂNCIA 1

Os frutos maduros de *Endopleura uchi* foram coletados em dezembro de 2003 no Campus I do INPA em indivíduo previamente marcado (árvore nº 176) e identificado durante a execução do projeto INPA/ODA (Ferreira & Ramos, 1993). A polpa foi macerada à frio com hexano, metanol e metanol:água (1:1), sendo o extrato obtido em metanol (16,56g) submetido à partição em diclorometano:água (7:3), seguida por acetato de etila. As fases orgânicas reunidas com base em cromatografia em camada delgada (CCD), foram fracionadas em coluna de sílica gel (70-230 mesh), eluídas em gradiente de polaridade [hexano:diclorometano (1:1); diclorometano; diclorometano:acetona (95:5)→(1:1); acetona e metanol], fornecendo 18 frações. As frações 12 a 14 (1,46 g) eluídas em diclorometano:acetona (1:1) foram reunidas e refractionadas em coluna de celulose, eluída em gradiente [hexano; hexano:acetona (9:1)→(1:1); acetona e etanol] fornecendo 28 subfrações. As subfrações 23 e 24, eluídas em acetona, forneceram a substância **1** (269 mg), a qual foi purificada após várias recristalizações em acetona.

DETERMINAÇÃO DOS CAROTENÓIDES

A determinação do teor de carotenóides na polpa do uchi, baseou-se no método preconizado por Rodriguez-Amaya (1977). Os pigmentos foram extraídos com acetona utilizando-se um homogeneizador, tipo liquidificador (aço inox), seguindo-se uma filtração a vácuo em funil de Büchner, várias vezes até descoloração total da polpa. O extrato obtido em acetona (contendo pigmento amarelo) foi submetido à partição em éter de petróleo:água. Para análise preliminar do número de carotenóides nas amostras, a fase etérea foi avaliada em cromatografia em camada delgada, utilizando-se como fase móvel, éter etílico:éter de petróleo (1:9).

Para hidrólise dos ésteres, a fase etérea foi submetida à saponificação com uma solução metanólica de KOH a 10% durante 12 horas, em repouso a temperatura ambiente. Na separação dos pigmentos utilizou-se coluna cromatográfica em MgO:Hiflosupercel (1:2) cujas fases móveis empregadas foram éter de petróleo e gradiente de éter de petróleo:acetona. As frações obtidas foram concentradas em evaporador rotativo (a 35°C) até um volume suficiente para leitura em espectrofotômetro, registrado de 350 a 550 nm. Para separação dos isômeros *cis* do β -caroteno foi utilizada a cromatografia em coluna de óxido de magnésio (Rodriguez-Amaya *et al.*, 1976).

Na identificação dos carotenóides considerou-se a ordem de eluição na coluna cromatográfica, espectro de absorção na região do UV/visível, valores de Rf em cromatografia em camada delgada comparativa e reação de isomerização. Verificou-se a isomerização transferindo-se a fração de β -caroteno para uma cubeta do espectrofotômetro e adicionando-se duas gotas de solução de iodo em éter de petróleo para a realização da leitura. Em seguida, essa fração foi exposta à luz e novamente a leitura foi registrada. O deslocamento para comprimento de onda menor é indicativo da presença de isômeros *trans* e para maior ou sem deslocamento indica a presença de isômeros *cis*.

Foi aplicada a Lei de Beer para quantificação dos carotenos em cada fração, de acordo com suas absorbâncias máximas e também a tabela de absorvidades (Davies, 1976). O teor de vitamina A foi calculado com base na atividade de pró-vitamina A de cada carotenóide, segundo Bauerfeind (1972).

As análises foram efetuadas em duplicata e os experimentos em todas as etapas foram realizados ao abrigo da luz.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

IDENTIFICAÇÃO DE BERGENINA

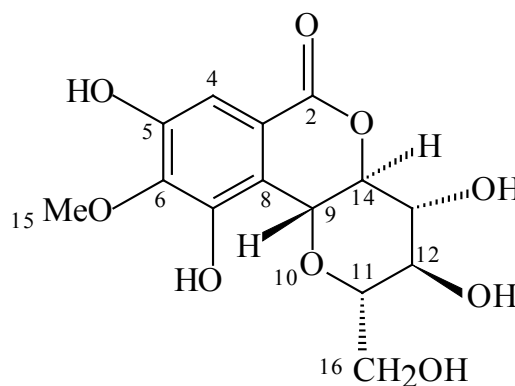
A estrutura da isocumarina bergeninina (1) [sólido cristalino, p.f. 149,8 °C] foi definida com base nas análises dos espectros de IV, RMN de ^1H e ^{13}C e por comparação com dados da literatura (Seo *et al.*, 1999). As principais bandas de absorção observadas no IV (KBr) foram em 3400 e 3291 cm^{-1} (OH), 1706 cm^{-1} (C=O), 1609, 1587 e 1493 cm^{-1} (C=C de aromático).

O espectro de RMN de ^1H (Tabela 1) mostrou sinais característicos da bergeninina: um sinal de aromático em δ 6,98 e de metoxila em δ 3,77 (3H, s) além dos sinais típicos do C-glicosídeo. No espectro de RMN ^{13}C (Tabela 1), o sinal de carbonila foi verificado em δ 163,63, a metoxila em δ 60,05 e o grupo hidroximetileno em δ 61,33.

O espectro de COSY 1H-1H (400 MHz, DMSO- d_6), revelou o acoplamento dos hidrogênios metínicos em δ 4,98 (H-9) com δ 3,99 (H-14) e desse último com o hidrogênio oximetínico em δ 3,65 (H-13). Outros acoplamentos observados foram: δ 3,85 (H-16a) - δ 3,44 (H-16b); δ 3,65 (H-13) - δ 3,20 (H-12); δ 3,57 (H-11) - δ 3,20 (H-12).

Os dados dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram similares aos descritos na literatura (Seo *et al.*, 1999).

A substância 1, descrita nesse trabalho, foi isolada anteriormente a partir do caule de um espécime coletado no Pará (Luna *et al.*, 2000) e tem sido relatada nesta família, na espécie *Humiria balsamifera* por sua atividade antiinflamatória (Harborne & Baxter, 1993) bem como em casca da espécie africana *Sacoglottis gabonensis* (Ogan, 1971).



Bergeninina (1)

Outros registros de ocorrência desse C-glicosídeo são nos frutos de *Ardisia colorata* (Myrsinaceae) e folhas de *Saxifraga stolonifera* e *Rodgersia podophylla* (Saxifragaceae) (Taneyana *et al.*, 1983; Chin & Kim, 2006). Em experimentos com animais de laboratório, a bergeninina tem mostrado potente ação hepatoprotetora (Lim *et al.*, 2001; Lim *et al.*, 2000; Lim *et al.*, 2001).

IDENTIFICAÇÃO DOS CAROTENÓIDES

Foram identificados carotenóides com atividades de pró-vitamina A: β -caroteno e α -caroteno. O β -caroteno foi

Tabela 1 - Deslocamentos químicos nos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C da bergeninina (1)

Posição	δ_{H} Experimental (DMSO, 400 MHz)	δ_{C} Experimental (DMSO, 100 MHz)	δ_{C} Literatura* (DMSO, 75 MHz)
2		163,6	163,4
3		109,7	109,5
4	6,98 (s)	151,2	151,0
5		140,8	140,6
6		148,4	148,1
7		116,1	116,0
8		118,3	118,1
9	4,98 (d, J=10,4 Hz)	72,3	72,1
11	3,57 (ddd, J=9,5, 7,6 e 2,0 Hz)	81,9	81,8
12	3,20 (m)	70,9	70,7
13	3,65 (t)	73,9	73,7
14	3,99 (dd, J=10,4 e 9,5 Hz)	80,0	79,8
15	3,77 (s)	60,1	59,9
16	3,85 (dd, J=11,7 e 2,0 Hz, 16a) 3,44 (m, 16b)	61,3	61,1

*Seo *et al.* (1999).

majoritário na amostra de uchi apresentando concentração com valores médios de 16,57 µg/g. O α-caroteno foi observado em traços. Após a separação, o *trans*-β-caroteno predominou com 89,3%. Os isômeros 13-*cis*-β-caroteno e 9-*cis*-β-caroteno foram detectados, em média 8% e 3%, respectivamente, confirmando os dados da literatura que indicam esses como os principais isômeros presentes em frutos e legumes (Agostini & Cecchi, 1996).

Com base na razão de conversão estabelecida pela National Research Council (6 µg de β-caroteno corresponde a 1 RE - retinol equivalente), verificou-se que 100 g de polpa de uchi pode contribuir com aproximadamente 27,6% das necessidades diárias de vitamina A (100 µg/g/RE) para um homem adulto (NRC, 1989).

CONCLUSÃO

Esse estudo constitui o primeiro registro da presença de bergenina e carotenóides nos frutos de uchi. O β-caroteno foi o carotenóide responsável pela maior contribuição para o valor de vitamina A. Considerando a importância do papel nutricional dos carotenóides e a bioatividade do glicosídeo bergenina, esse estudo revelou o potencial desse fruto ocorrente na região amazônica como alimento funcional.

BIBLIOGRAFIA CITADA

Agostini, T.S.; Cecchi, H.M. 1996. Composição de carotenóides no marolo e em produtos de preparo caseiro. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 16(1): 67-71.

Bauerfeind, J.C. 1972. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20(3): 456-473.

Chin Y.W.; Kim, J.W. 2006. Three new flavonol glycosides from the aerial parts of *Rodgersia podophylla*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 54(2): 234-236.

Corrêa, M.P. 1984. *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, V. 6.

Cuatrecasas, J.A. 1961. A taxonomic revision of Humiriaceae, Contributions from the United States National Herbarium. *Bulletin of the United States National Museum*, 35, Part 2.

Davies, B.H. 1976. *Chemistry and biochemistry of plants pigments*. London: Academic Press: TW Goodwin, 2.ed, p. 38-165.

Ferreira, C.A.C.; Ramos, J.F. 1993. *Espécies botânicas do Campus do INPA: Arbóreas e Arbustivas*. Manaus: INPA/OD, Ed. Calderaro.

Harborne J.B.; Baxter, H. 1993. *Phytochemical Dictionary. A handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Taylor e Francis. London. Washington DC.

Kim, H.S.; Lim, H.K.; Chung, M.W.; Kim, Y.C. 2000. Antihepatotoxic activity of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated hepatocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 69(1): 79-83.

Lim, H.K.; Kim, H.S.; Choi, H.S.; Choi, J.; Kim, S.H.; Chang, M.J. 2001. Effects of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus* against D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmacology*, 63(2): 71-75.

Lim, H.K.; Kim, H.S.; Choi, H.S.; Oh, S.; Choi, J. 2000. Hepatoprotective effects of bergenin, a major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(3): 469-474.

Luna, J.S.; Bento, E.S.; Sant'Ana, A.E.G. 2001. Identificação Estrutural de dois Triterpenóides Pentacíclicos de *Endopleura uchi* (Humiriaceae); In: 24ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Poços de Caldas-MG.

Luna, J.S.; Silva, T.M.; Bento, E.S.; Sant'Ana, A.E. G. 2000. Isolamento e Identificação Estrutural dos Constituintes Químicos de *Endopleura uchi* (Humiriaceae). In: 23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Poços de Caldas-MG. <http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/0597-1/index.html>. Acesso: 09/02/2007.

Ogan, A.U. 1971. Humiriaceae: An isocoumarin from the bark of *Sacoglottis gabonensis*. *Phytochemistry*, 10(11): 2832-2833.

Marx, F.; Andrade, E.H.A.; Zoghbi, M.G.B.; Maia, J.G.S. 2002. Studies of edible amazonian plants. Part 5: Chemical characterization of *Endopleura uchi* fruits. *European Food Research and Technology*, 214(4): 331-334.

National Research Council (NRC). Recommended dietary allowances. 1989. 10ª ed. Washington (DC): National Academy Press.

Rodriguez-Amaya, D.B.; Raymundo, L.C.; Lee, T.C.; Simpson, K.L.; Chichester, C.O. 1976. Carotenoids pigments change in ripening *Monordia charantia* fruits. *Annals of Botany*, 40: 615-624.

Seo, E.K.; Chai, H.; Constant, H.L.; Santisuk, T.; Reutrakul, V.; Beecher, C.W.W.; Farnsworth, N.R.; Cordell, G.A.; Pezzuto, J.M.; Kinghorn, A.D. 1999. Resveratrol tetramers from *Vatica diospyroides*. *Journal of Organic Chemistry*, 64(19): 6976-6983.

Shanley, P.; Luz, L.; Swingland, I.R. 2002. The faint promise of a distant market: a survey of Belém's trade in non-timber forest products. *Biodiversity and Conservation*, 11: 615-636.

Sumino, M.; Sekine, T.; Ruangrunsi, N.; Igarashi, K.; Ikegami, F. 2002. Ardisiphenols and other antioxidant principles from the fruits of *Ardisia colorata*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 50(11):1484-1487.

Taneyana, M.; Yoshida, S.; Kobayash, M.; Hasegawa, M. 1983. Studies on C-glycosides in higher-plants.3. Isolation of norbergenin from *Saxifraga stolonifera*. *Phytochemistry*, 22(4): 1053-1054.

Yoshida, T.; Seno, K.; Takama, Y.; Okuda, T. 1982. Bergenin derivatives from *Mallotus japonicus*. *Phytochemistry*, 21(5): 1180-1182.

Schultes, R.E. 1979. De plantis toxicariis e mundo novo tropicale commentationes. XXI. Interesting native uses of the Humiriaceae in the northwest Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*, 1: 89-94.

Recebido em 23/07/2007
Aceito em 23/07/2007