

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES FOTOPROTETORA E ANTIRADICALAR *IN VITRO* DOS GALHOS DE *Platonia insignis* (CLUSIACEAE)Andréia G. A. Silva^a, Rodrigo de A. Moreira^a, Renato Pinto de Sousa^a, Evaldo dos S. M. Filho^a, Marcia D. A. Veras^a, Mariana Helena Chaves^a e Sâmya D. L. Freitas^{a*} ^aDepartamento de Química, Universidade Federal do Piauí, 64049-550 Teresina – PI, Brasil

Recebido em 14/03/2021; aceito em 07/04/2021; publicado na web em 06/05/2021

CHEMICAL COMPOSITION AND PHOTOPROTECTIVE AND ANTIRADICAL ACTIVITIES OF THE BRANCHES OF *Platonia insignis* (CLUSIACEAE). The chemical study of the branches of *Platonia insignis* enabled the isolation of the biflavonoid morelloflavone and the identification, by mass spectrometry, of over 9 polyphenols, including eight biflavonoids, one benzophenone, and one xanthone. The *in vitro* biological tests of solar photoprotection and antiradical activities against the crude extract and Hex and AcOEt fractions showed relevant results, which confirm the high pharmaceutical potential of the species.

Keywords: *Platonia insignis*; biflavonoids; photoprotective activity; mass spectrometry.**INTRODUÇÃO**

O uso de plantas com fins medicinais é provavelmente tão antigo quanto o aparecimento do próprio homem. A preocupação com a cura de doenças sempre se fez presente ao longo da história da humanidade.¹ No Brasil, o conhecimento das propriedades de plantas medicinais é uma das maiores riquezas da cultura indígena, uma sabedoria tradicional que é passada de geração em geração.² As plantas medicinais sempre foram objeto de estudo, buscando-se novas fontes para obtenção de princípios ativos (metabolitos secundários), responsáveis por sua ação farmacológica ou terapêutica.³

A família Clusiaceae Lindl., também conhecida como Guttiferae, apresenta uma distribuição pantropical, incluindo cerca de 55 gêneros e 1.200 espécies.^{4,5} No Brasil, encontra-se representada por 12 gêneros (1 endêmico); 126 espécies (42 endêmicas), além de 4 subespécies que podem ser encontradas como arbustos, árvores ou lianas.⁶ A família não é endêmica do país, no entanto, é nativa de grande parte dele, com ocorrências confirmadas nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul.^{6,7}

Estudos realizados com plantas da família Clusiaceae identificaram constituintes químicos pertencentes a classes e sub-classes de metabolitos como cumarinas, xantonas, benzofenonas, biflavonoides e triterpenos.⁸⁻¹¹ Os biflavonoides são umas das sub-classes mais abundantes, considerados como marcadores taxonômicos da família.⁹

O gênero *Platonia* Mart. tem como sinônimo heterotípico *Aristoclesia* Coville e apresenta uma única espécie (*Platonia insignis*). É um gênero nativo, não endêmico do Brasil, com distribuição nas regiões Norte (Amazônia, Pará, Roraima) e Nordeste (Maranhão e Piauí), além de outros países como Peru, Venezuela, Colômbia e Guiana Francesa.^{6,12}

A espécie *Platonia insignis* é conhecida popularmente como bacurizeiro ou bacuri. É uma planta madeireira, de frutos comestíveis, bastante saboreada pela população, que utiliza a polpa do fruto para fabricação de sucos, sorvetes, doces e outros.⁵ A espécie é pertencente à família Clusiaceae e nativa do cerrado brasileiro, também apresenta sinônimas como *Aristoclesia esculenta* Stuntz, *Moronobea esculenta* Arruda e *Platonia esculenta* Oken.⁶ O óleo das sementes é empregado na medicina popular no tratamento de problemas de pele, tais como

queimaduras, feridas, e no tratamento de dores lombares, inflamações e cicatrização.¹³

Atualmente existe na literatura registros de estudos fitoquímicos das cascas das sementes, dos frutos e do caule, da polpa, da semente e das flores de *P. insignis* Mart.^{11,14-16} Estudos farmacológicos também foram realizados com a espécie, como atividade antioxidante *in vitro*, citotóxica, anticolinesterásica, antimicrobiana, anticonvulsivante, cicatrizante, antileishmania e gastroprotetora.^{5,8,11,13,14,17-19}

A revisão bibliográfica de *P. insignis* mostra que a espécie é promissora para a indústria farmacêutica e biotecnológica, estimulando estudos mais aprofundados. Apesar da existência de estudos químicos e farmacológicos com as sementes e cascas dos frutos de *P. insignis*, não foram encontrados trabalhos relatados na literatura com os galhos. Assim, considerando o potencial verificado a partir dos resultados anteriores e devido à grande quantidade de compostos fenólicos e com potencial de atividade antioxidante *in vitro* frente ao radical DPPH, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma investigação química e a avaliação do potencial fotoprotetor, devido à alta incidência de radiação solar no Cerrado e antioxidante dos galhos de *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae), contribuindo ainda mais para o conhecimento científico da espécie.

PARTE EXPERIMENTAL**Instrumentação e procedimentos gerais**

Os solventes etanol e metanol utilizados na extração e fracionamento foram de grau analítico (Synth). Na análise por espectrometria de massa foram de grau HPLC e a água ultrapura (resistividade 18.2 MΩ) foi obtida em um sistema de purificação. Os reagentes utilizados na análise de teor de fenóis totais, atividade antioxidante e fotoprotetora foram Folin-Ciocalteu (Merck), carbonato de sódio (Synth), radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•) (Sigma), rutina (Sigma), BHT (Vetec).

As medidas de absorção foram feitas usando espectrofotômetro UV-Vis Lambda 25 (PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Os espectros de massas foram obtidos por inserção direta em Espectrômetro de Massas com analisador *Ion trap* (ITMS, AMAZONAS X, Bruker Daltonics) equipado com fonte de ionização por eletrospray (ESI).

*e-mail: samyafreitas@ufpi.edu.br

Material vegetal

Os galhos da espécie *Platonia insignis* foram coletados em 17 de janeiro de 2016, na cidade de Timon no Maranhão, nas coordenadas S 04° 50' 56,6" e W 042° 05' 04,8". A exsiccata da espécie com número TEPB 31.718 e cadastro SisGen ACB65D0 encontra-se depositada no Herbário Graziela Barroso – UFPI, na cidade de Teresina.

Obtenção do extrato etanólico, frações e subfrações

Os galhos (906 g) foram limpos por meio de água corrente, secos à temperatura ambiente e triturados por moinho de facas. O material vegetal foi submetido à maceração com etanol por 6 vezes durante oito dias. O solvente foi removido em evaporador rotatório sob pressão reduzida e liofilizado para a obtenção do extrato bruto (57,88 g).

Uma alíquota (25,30 g) do extrato bruto (EEtOH) dos galhos de *P. insignis* foi submetida à extração líquido-líquido por meio de suspensão em MeOH/H₂O (1:2) (100 mL) e pelos solventes orgânicos hexano e acetato de etila, obtendo-se respectivamente frações: hexano (Hex) (10,04 g), acetato de etila (AcOEt) (12,04 g) e fração residual, hidroalcolólica (HA) (1,45 g).

A fração AcOEt (10 g) foi adsorvida em uma coluna cromatográfica de gel sílica, eluída com clorofórmio/metanol em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 71 frações e reunidas em 33 subfrações após análise por CCDC, na qual se destacou a FAc21 (210 mg) apresentando um precipitado branco, com uma única mancha amarela intensa em CCD, característico de substância pura.

Análise por ESI-IT/MSⁿ do extrato bruto, fração AcOEt e subfração FAc21 dos galhos de *P. insignis*

As análises realizadas por ESI-IT/MSⁿ do extrato bruto, fração AcOEt e subfração FAc21 dos galhos de *P. insignis*, foram obtidos através da inserção direta (ID) via bomba de seringa, em espectrômetro de massas com analisador armadilha de íons (ITMS, AmaZon X, Bruker Daltonics), em fluxo contínuo de 5 µL min⁻¹, nas faixas de massa *m/z* 100 a 1500, em metanol/água (1:1). As amostras foram ionizadas por electrospray (ESI) e as fragmentações foram obtidas em múltiplos estágios (MSⁿ), em uma interface do tipo *Ion trap* (IT). O modo negativo foi escolhido para a geração e análise de todos os espectros, a voltagem do capilar 4,5 kV, nebulizador de nitrogênio com fluxo de 5 L min⁻¹ e temperatura da fonte de 220 °C a uma pressão de 10 psi para o nebulizador de nitrogênio. Antes de cada análise o ESI-IT-MS foi calibrado com formiato de sódio, sendo o erro inferior a 1 ppm. O tratamento dos espectros de massas foi realizado no *software* Compass 1.3 Data Analysis (versão 4.0, Bruker Daltonics).

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H

A subfração FAc21 foi analisada por espectroscopia de RMN de hidrogênio (¹H) solubilizada em metanol deuterado. O espectro foi obtido em espectrômetro Varian INOVA – modelo 400, operando a 400 MHz (¹H) (9,4 Tesla).

Determinação do teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi determinado seguindo a metodologia descrita por Uriu Martins *et al.*²⁰ O extrato bruto e frações Hex e AcOEt foram solubilizadas em água destilada com auxílio de 5% de DMSO em concentrações de 250 µg mL⁻¹. Dentre as soluções preparadas, foram retiradas alíquotas de 0,5 mL e transferidas para tubos de ensaio, adicionados 8 mL de água destilada e 0,5 mL do

reagente *Folin Ciocalteu* 20% (v:v). Em seguida, a solução foi homogeneizada em agitador tipo vortex, após 3 minutos, acrescido 1 mL de solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 20% (m:v) e após 1 h em banho maria a 37 °C, foram realizadas as leituras das densidades óticas em espectrofotômetro à 720 nm. Utilizou-se como padrão de referência o ácido gálico da marca Sigma[®] para construção da curva de calibração que foi expressa por $A = 0,0057C + 0,014$, com coeficiente de correlação linear igual a 0,999, em que “C” é a concentração do ácido gálico e “A” é absorvância. A partir da equação da reta obtida na curva de calibração, realizou-se o cálculo do teor de fenóis totais, expresso em EAG (equivalente ao ácido gálico mg⁻¹) de amostra. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Para construção dos gráficos e análises estatísticas, utilizou-se o programa Origin 8.0[®].²¹

Determinação do fator de proteção solar (FPS) e comprimento de onda máximo e absorvância do extrato, frações e subfração FAc21

A determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) foi baseado no método espectrofotométrico de amostras em solução adaptado por Mansur.²² Soluções contendo o extrato bruto, frações e subfração FAc21, foram preparadas com as respectivas concentrações 5, 25, 50 e 100 mg mL⁻¹, em etanol. As mesmas, foram submetidas à leitura de suas absorvâncias utilizando cubetas de quartzo em um espectrofotômetro (UV-Vis PerkinElmer - Lambda 25) nas faixas de 200 a 400 nm, com intervalos de leituras de 5 nm. Em seguida, foram substituídos os valores de absorvância obtidos, na equação adaptada por Mansur e colaboradores (1986) (Equação 1), que relaciona produto entre o efeito eritematogênico (EE) e a intensidade da radiação (I), que é constante em cada comprimento de onda (Tabela 1).²² Os testes foram realizados em triplicatas.²³

$$\text{FPS} = \text{FC} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda) \quad (1)$$

em que: FC = fator de correção igual a 10; EE(λ) = efeito eritematogênico da radiação solar em cada comprimento de onda (λ); I(λ) = intensidade da radiação solar em cada comprimento de onda (λ); Abs(λ) = leitura da absorvância obtida da amostra em cada comprimento de onda (λ).

Tabela 1. Ponderação empregada no cálculo do fator de proteção solar por espectrofotometria.²⁴

Comprimento de onda (nm)	EE x I (normalizado) Valores relativos
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1,0002

Atividade antioxidante frente ao radical DPPH

O ensaio da atividade antioxidante foi realizado frente ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) de acordo com a metodologia descrita pela literatura, com algumas adaptações.²⁵ Para o extrato bruto, frações e subfração FAc21 dos galhos de *P. insignis* foram utilizados 12,5 mg de cada em triplicata, e preparado soluções com metanol nas seguintes concentrações: 250 µg mL⁻¹ que foram diluídas

nas concentrações de 200, 150, 100, 50 e 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Posteriormente, foi preparado uma solução estoque do radical DPPH na concentração de 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ que foi protegida da luz.

A leitura das absorbâncias (A) das misturas reacionais (0,3 mL da solução da amostra e 2,7 mL da solução estoque de DPPH, na concentração de 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$), foram feitas a 516 nm, em triplicata, no 1°, 5° e 10° minuto de análise, a cada 10 min até completar 30 min. Utilizando-se como branco a solução metanólica da amostra (0,3 mL) e metanol (2,7 mL). A equação da curva analítica, foi construída com o DPPH nas concentrações de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 e 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, onde $A = 33,227c + 1,0607$, com coeficiente de correlação linear $r = 0,9997$. A partir da equação da curva do radical DPPH e dos valores de absorbância no tempo de 30 min para cada concentração testada, foram determinados os percentuais de DPPH remanescentes (%DPPH_{REM}). O percentual de atividade antioxidante (%AA) do extrato, frações e subfração FAc21 foram determinados a partir dos valores de suas absorbâncias medidas nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ no tempo de 30 minutos e calculado de acordo com a equação, $\%AA = 100 - ([DPPH]_{\text{rem}}/[DPPH]_{10}) \times 100$. Os resultados foram expressos pelo valor de CE₅₀, concentração eficiente em $\mu\text{g mL}^{-1}$ da amostra capaz de reduzir em 50% a concentração do radical livre DPPH.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise por ESI-IT/MSⁿ do extrato bruto, fração AcOEt e subfração FAc21 dos galhos de *Platonia insignis*

Os espectros de íons totais obtidos da análise por ESI-IT/MSⁿ do extrato, fração AcOEt e subfração FAc21 apresentaram uma grande variedade de íons, que ao serem detectados, sugeriu a presença de diversos metabolitos como: biflavonoides, benzofenona e xantona na composição química. A Figura 1 apresenta os espectros de massas obtidos em modo negativo [ESI (-)] do extrato bruto (A), fração AcOEt (B) e subfração FAc21 (C), apresentando sinais de maior intensidade os íons com m/z 601, m/z 555, m/z 557 e m/z 573.

A identificação dos compostos da espécie foi obtida com base no comportamento espectral de massa das fragmentações em experimentos de MSⁿ, pela seleção e fragmentação do íon precursor e comparações com a literatura. Portanto, um total de 11 picos de maior intensidade foram detectados, os mesmos podem ser observados na Tabela 2. Os compostos **1 - 11** estão presentes no extrato bruto e na fração AcOEt, já a subfração FAc21 apresentou somente o composto **2**, confirmando seu isolamento (Figura 2).

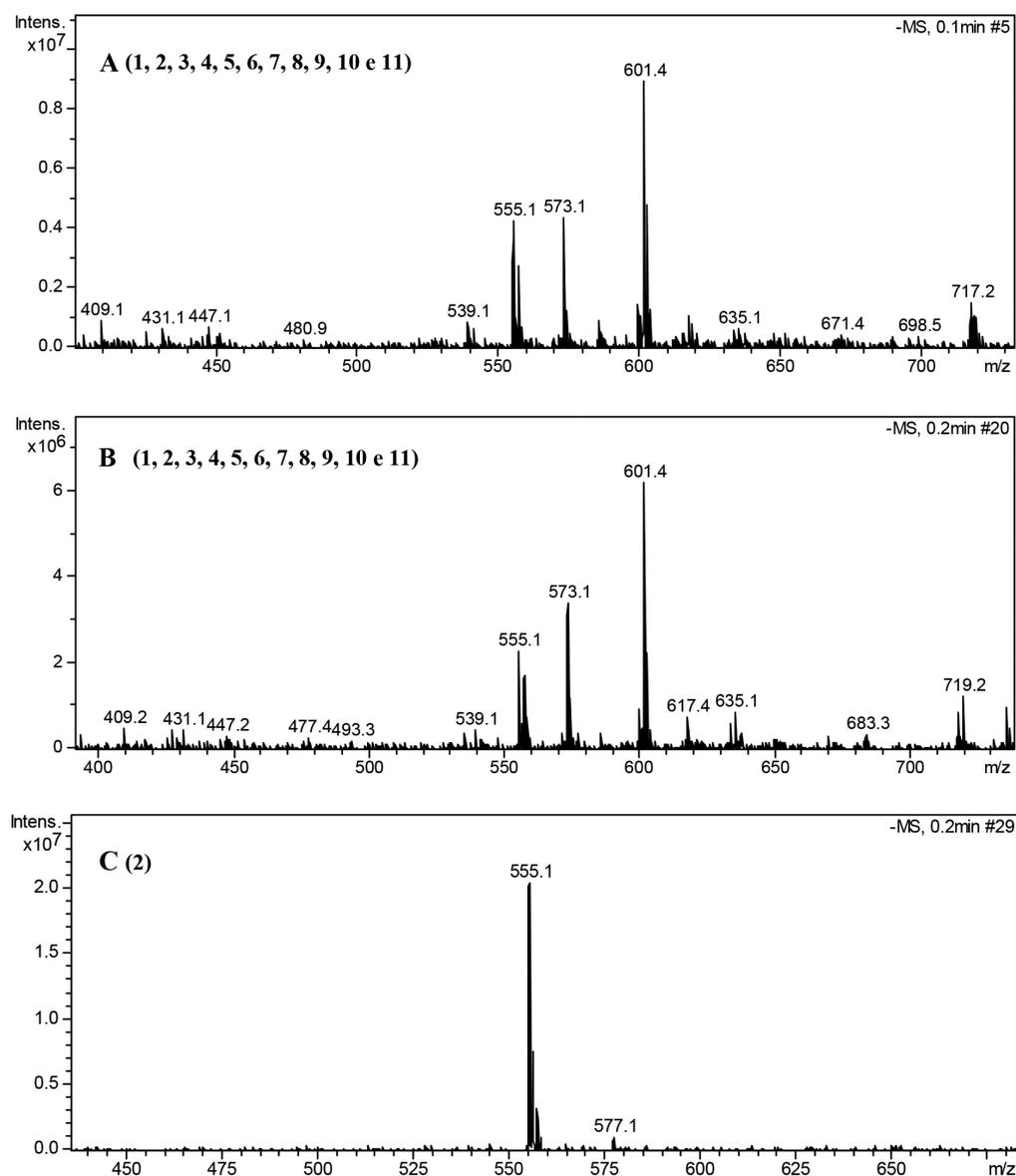
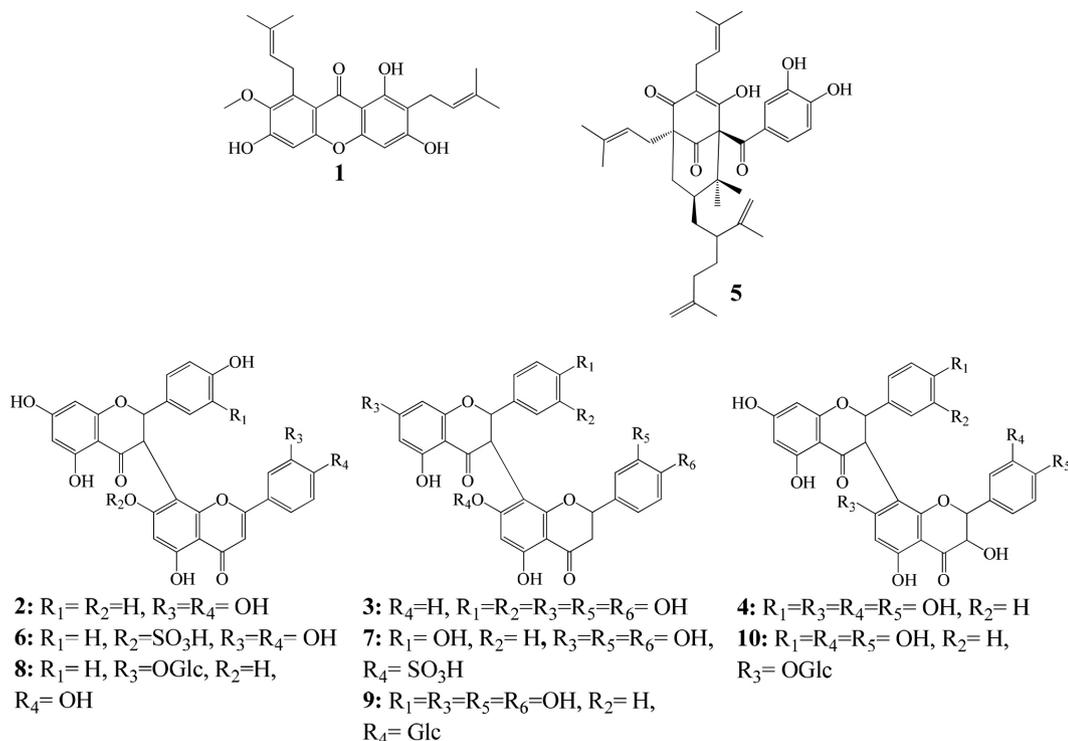


Figura 1. Espectro de massas [ESI (-)] do extrato (A), fração AcOEt (B) e subfração FAc21 (C) dos galhos de *P. insignis*

Tabela 2. Identificação dos constituintes químicos do extrato, fração AcOEt e substância isolada dos galhos de *P. insignis*

Nº	Constituinte química	Fórmula molecular	Massa molecular	[M-H] ⁻ (m/z)	ESI-MS ^a (% pico base)	Referências
1	α-Mangostin	C ₂₄ H ₂₆ O ₆	410	409	MS ² [409]: 351 (100), 394 (17,26), 339 (21,18), 377 (2,98) MS ³ [409→351]: 295.9 (100), 335.9 (75,61), 307 (28,28),	29
2	Morelloflavona	C ₃₀ H ₂₀ O ₁₁	556	555	MS ² [555]: 429 (100), 403 (4,16) MS ³ [555→429]: 401 (100), 356.9 (17,61), 294.5 (11,25)	26
3	GB-2a	C ₃₀ H ₂₂ O ₁₁	558	557	MS ² [557]: 431 (100), 403 (6,0) MS ³ [557→431]: 294.9 (100), 329.9 (14,29), 403 (17,35), 413 (24,21)	26
4	GB-2	C ₃₀ H ₂₂ O ₁₂	574	573	MS ² [573]: 447 (100), 419 (13,78) MS ³ [573→447]: 419 (100), 294.9 (10,76)	26
5	Garcinilipitona FC	C ₃₈ H ₅₀ O ₆	602	601	MS ² [601]: 465.3 (100), 409 (66,57), 557 (27,60) MS ³ [601→273]: 273 (100), 397.3 (25,73)	14
6	Morelloflavona-7''-O-sulfato	C ₃₀ H ₂₀ O ₁₄ S	636	635	MS ² [635]: 429 (100), 555 (81,87), 499 (16,46) MS ³ [635→429]: 401 (100), 295 (16,65), 357 (19,0)	26
7	GB-2a-sulfato	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₄ S	638	637	MS ² [637]: 431 (100), 557 (30,11) MS ³ [637→431]: 294.9 (100), 413 (17,11)	26
8	Fukugisídio	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	718	717	MS ² [717]: 565 (100), 429 (57,51), 591 (34,18) MS ³ [717→565]: 403 (100), 445 (9,24)	26
9	GB-2a-O-glicopiranosídeo	C ₃₆ H ₃₂ O ₁₆	720	719	MS ² [719]: 431 (100), 557 (24,90), 593 (8,16) MS ³ [719→431]: 294.3 (100), 413 (16,15)	26
10	GB2-7''-O-glicopiranosídeo	C ₃₆ H ₃₂ O ₁₇	736	735	MS ² [735]: 447 (100), 573 (11,84) MS ³ [735→447]: 429 (100), 419 (27,60), 268.9 (14,83)	26
11	NI	-	762	761	MS ² [761]: 679 (100), 615.3 (87,25), 597.2 (73,28)	-

NI: composto não identificado.

**Figura 2.** Constituintes químicos identificados no extrato, fração AcOEt e subfração FAc21 dos galhos de *P. insignis*

Biflavonoides

Os biflavonoides dos galhos de *P. insignis* foram os constituintes majoritários identificados, totalizando 8 compostos. Na família Clusiaceae é relatado a presença de uma variedade desses metabolitos, no qual, são agrupados em quatro tipos principais: GB1, GB-1a, morelloflavona e amentoflavona.⁹ Neste trabalho, foram identificados na espécie três tipos de biflavonoides de Clusiaceae (Figura 2).

Tipo Morelloflavona

Os compostos **2**, **6** e **8** foram identificados como biflavonoides do tipo morelloflavona devido ao padrão de ligação de seus monômeros (flavanona-(3→8'')-flavona).^{9,10} O composto **2**, presente no EEtOH, fração AcOEt e como único pico na subfração FAc21 apresentou íon molecular em *m/z* 555 [M-H]⁻ sendo identificado como morelloflavona (naringenina-(3→8'')-luteolina) ou Fukugentina, e confirmado pelo produto da via de fragmentação MS² em *m/z* 429 [M-H-126]⁻,

correspondendo a perda $-C_6H_6O_3$ do floroglucinol (-126 Da), devido à clivagem do anel C no monômero de naringerina. Na fragmentação em MS^3 , o composto apresentou um íon em m/z 401 $[M-H-28]^-$ pela perda neutra de CO no anel C do monômero de naringerina (Figura 2S). Este constituinte é considerado um marcador quimiossistemático de Clusiaceae (Figura 3a).⁹

O íon molecular em m/z 635 $[M-H]^-$, pertencente ao composto **6**, foi identificado como morelloflavona-7''-*O*-sulfato.^{9,26} Esse composto apresenta íon fragmento MS^2 em m/z 429 $[M-H-206]^-$ pela perda de $-C_6H_6O_3$ e $-SO_3$ e o íon em m/z 555 (característico do composto morelloflavona) e MS^3 em m/z 401 $[M-H-28]^-$ (Figura 6S) pela perda de uma molécula de CO.²⁶ O composto **8** apresentou o íon molecular

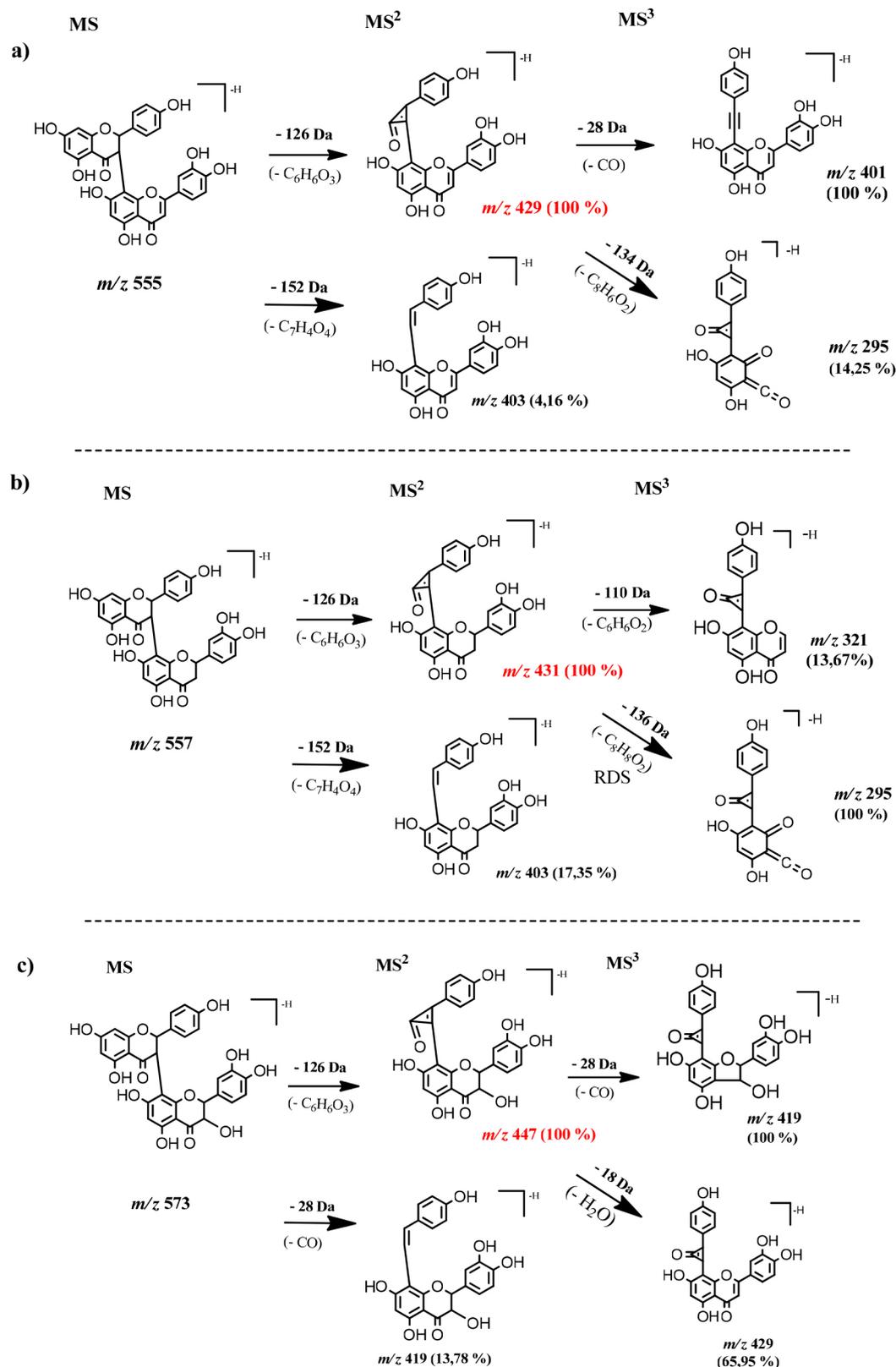


Figura 3. Proposta de vias de fragmentação MS^n para os biflavonoides do tipo morelloflavona (a), GB-1a (b) e GB1 (c) de *Platonia insignis*

em m/z 717 [M-H]⁺ e foi identificado como fukugisídeo, um derivado glicosilado da morelloflavona, apresentando como íon fragmento MS² em m/z 565 [M-H-152]⁺ com perda de -C₇H₄O₄ referente à clivagem do anel A e parte do anel C do monômero de naringerina, e íon produto MS³ em m/z 403 [M-H-162]⁺ com perda de glicose (-162 Da) no anel A do Flavonoide II do monômero de luteolina (Figura 8S).²⁶

Tipo GB-1a

Os compostos **3**, **7** e **9** foram identificados como biflavonoides do tipo GB-1a (biflavonoide do gênero *Garcinia*), que apresentam padrões de ligação dos seus monômeros (flavanona (3→8'')-flavanona).⁹ O composto **3** apresentou pico do íon molecular desprotonado em m/z 557 [M-H]⁻ e foi identificado como GB-2a (naringenina-(3→8'') eriodictiol), e o seu íon produto MS² em m/z 431 [M-H-126]⁻ com a perda -C₆H₆O₃, devido à clivagem do anel C no monômero de naringerina e MS³ em m/z 295 [M-H-28]⁻ pela perda de CO (Figura 3S) (Figura 3b).²⁶ O segundo composto desse tipo de biflavonoide foi o **7**, detentor do íon molecular em m/z 637 [M-H]⁻, foi identificado como GB-2a-sulfato, um derivado de GB-2a com a presença do substituinte SO₃, demonstrando perda de [M-H-80]⁻ e gerando íons MS² em m/z 557 e m/z 431 [M-H-126-80]⁻ característicos dos fragmentos do íon precursor GB-2a (Figura 7S). O composto **7** apresentou íon MS³ em m/z 295 [M-H-136]⁻ devido a clivagem de -C₈H₈O₂ do anel B e parte do anel C do monômero de eriodictiol, do segundo flavonoide da molécula. O composto **9** de íon molecular em m/z 719 [M-H]⁻ foi identificado como GB-2a-O-glicopiranosídeo, demonstrando um íon fragmento MS² em m/z 431 [M-H-126-162]⁻ apresentando perdas -C₆H₆O₃ e de glicose (Glc), assim como seu íon precursor em m/z 557 [M-H-162]⁻ (Figura 9S), confirmando também ser um derivado glicosilado de GB-2a.^{9,26}

Tipo GB1

Os compostos **4** e **10** foram classificados como biflavonoides do tipo GB1 (flavanona-(3→8'')-flavonol).⁹ O íon molecular em m/z 573 [M-H]⁻, correspondente ao composto **4**, foi identificado como GB-2 (naringenina-(3→8'')-taxifolina) e pelos fragmentos MS² com íon em m/z 447 [M-H-126]⁻ novamente pela perda de -C₆H₆O₃, devido a clivagem do anel C no monômero de naringerina e MS³ em m/z 419 [M-H-126-28]⁻ pela perda de uma molécula neutra de CO (Figura 3c, 4S). O composto **10** é um derivado glicosilado de GB-2, e denominado de GB2-7''-O-glicopiranosídeo.²⁶ Esse composto apresenta íon molecular em m/z 735 [M-H]⁻ e tem como produtos de fragmentações de segunda ordem o íon em m/z 447 [M-H-126-162]⁻ pela perda de -C₆H₆O₃ e glicose, assim como íon precursor em m/z 573 característico de GB-2. O íon de terceira ordem em m/z 429 [M-H-18]⁻ apresentou perda de uma molécula neutra de água (18 Da) (Figura 10S).²⁶

Benzofenona poliisoprenilada

A presença de benzofenona nos galhos de *P. insignis* pode ser confirmada pelo composto **5**, com íon molecular em m/z 601 [M-H]⁻, identificado como garcinielipitona FC (GFC), apresentando íon MS² em m/z 465 [M-H-136]⁻ pela clivagem de -C₁₀H₁₆ (136 Da) de duas unidades de isoprenos e íon MS³ em m/z 273 [M-H-192]⁻ pela perda de -C₁₁H₁₂O₃ (Figura 5S).^{14,27,28} Garcinielipitona FC é um par tautomérico de benzofenona poliprenilada e já foi isolado do extrato hexânico das sementes de *P. insignis*, sendo suas formas isoméricas bem elucidadas.^{14,28}

Xantona

O composto **1** foi identificado como α-mangostin, com íon molecular em m/z 409 [M-H]⁻ e íons fragmentos MS² em m/z 351 [M-H-58]⁻. Para a formação desse íon de segunda ordem a molécula

sofre uma desmetilação (-CH₃) formando um íon em m/z 394 [M-H-15]⁻.²⁹ Posteriormente ocorre o fechamento do anel B, com perda de -C₃H₇ formando então o íon de maior intensidade em m/z 351 [M-H-43]⁻. Outro fragmento de segunda ordem foi observado devido à reação competitiva durante a desmetilação, que favoreceu a perda de um grupo prenil (-C₄H₇) no anel B, formando também o íon de menor intensidade em m/z 339 [M-H-55]⁻. A fragmentação em MS³ demonstrou um íon em m/z 296 [M-H-55]⁻ devido a outra perda de grupo prenil (-C₄H₇) ligado ao anel A (Figura 1S). Esse composto foi sugerido, pois é o único isômero bem descrito por vários autores e de ampla ocorrência na família Clusiaceae e, além disso, já foi relatado em *P. insignis*.^{8,29}

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H da subfração Fac21

A análise por RMN de ¹H (Figura 12S) mostrou um sinal de duplete com δ_H 5,76 referente ao H-2 com constante de acoplamento, $J = 12$ Hz. De acordo com a literatura, o sinal referente ao H-3 é encontrado em δ_H 4,89 (d, $J = 12$ Hz), porém o sinal referido foi encoberto pelo sinal da água do metanol deuterado em δ_H 4,84. A posição dos hidrogênios H-2 e H-3 evidenciam a subclasse das flavanonas.^{10,30}

Os sinais com δ_H em 7,11 (d, $J = 8,0$ Hz) e 6,42 (d, $J = 8,0$ Hz) foram atribuídos aos pares de átomos de hidrogênios equivalentes nas posições 2'/6' e 3'/5' (Figura 13S), respectivamente, confirmando o padrão de substituição característica de anel *p*-substituído da porção flavanona do biflavonoide.

Observou-se dois simpletos largos em δ_H 5,97 e 5,99 atribuídos aos hidrogênios H-6 e H-8 no anel A e um simpleto em δ_H 6,25 referente ao H-6''. Outro simpleto em δ_H 6,41 é atribuído ao H-3''' pertencente ao anel F. O H-5''' em δ_H 6,92 (d, $J = 8,0$ Hz) acopla-se com o H-6''' em δ_H 7,30 (dd, $J = 8,0$ Hz) e esse, por sua vez, acopla-se também com o H-2''' com δ_H 7,35 apresentando um simpleto largo (Figura 12S).^{10,30} Os sinais principais são acompanhados por sinais de menor intensidade, fato explicado pela restrição na rotação C-3→C-8'', proposta por Li *et al.*, que evidencia o efeito atropisomérico do biflavonoide.¹⁰ A análise do espectro de RMN ¹H e comparação com dados da literatura confirma a identificação do biflavonoide morelloflavona.

Determinação do teor de fenóis totais

Os teores de fenóis totais (FT), foram determinados em mg de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (EAG). Os resultados das análises de FT do extrato bruto, frações Hex e AcOEt dos galhos de *P. insignis* estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Teor de fenóis totais (mg de EAG/g de material vegetal seco) do extrato, frações Hex e AcOEt dos galhos de *P. insignis*

Amostras	Fenóis Totais (mg de EAG g ⁻¹ de MVS ± DP)
EEtOH	348,3 ± 6,5
F. Hex	113,7 ± 1,2
F. AcOEt	382,0 ± 4,7

Os resultados demonstram que o extrato bruto (348,3 ± 6,5 mg de EAG g⁻¹) dos galhos é rico em polifenóis, no qual pode ser confirmada pela análise de ESI-IT/MSⁿ. A fração AcOEt (382,0 ± 4,7 mg de EAG g⁻¹) apresentou uma quantidade superior ao extrato, esse alto teor corrobora com a identificação por massas de 11 compostos, dentre eles biflavonoides, benzofenona e xantona.

Esses resultados confirmam ainda mais o alto potencial químico dos galhos de *P. insignis*.

Determinações do Fator de Proteção Solar (FPS) e comprimento de onda máximo e absorvância do extrato, frações e morelloflavona

O extrato bruto, fração AcOEt e biflavonoide morelloflavona isolado, assim como as demais frações Hex e HA, foram submetidos ao ensaio de determinação *in vitro* do Fator de Proteção Solar (FPS). Violante e Oliveira Junior *et al.* utilizaram esse método *in vitro* devido a sua confiabilidade e correlação com testes *in vivo*, uma vez que ele relaciona a absorvância da substância em questão com o efeito eritematogênico da radiação e intensidade da luz em comprimentos de onda específicos entre 290 e 320 nm (Região UVB).^{23,31} A Figura 4, apresenta os resultados de FPS do extrato bruto, frações Hex, AcOEt, HA, assim como morelloflavona isolada dos galhos de *P. insignis*.

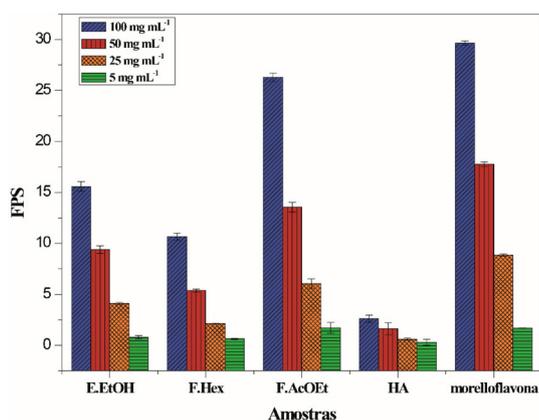


Figura 4. Fator de Proteção Solar do extrato bruto, frações Hex, AcOEt, HA e morelloflavona isolada dos galhos de *P. insignis*

Observa-se que o ensaio *in vitro* de FPS correlaciona-se diretamente com a concentração, e que o biflavonoide isolado

apresentou um FPS igual a 29,66, na maior concentração, evidenciando um alto potencial fotoprotetor, assim como o E.EtOH (15,59), F. Hex (10,66), F. AcOEt (26,28) e HA (2,06). Tendo em vista que para uma espécie ser considerada com potencial fotoprotetor é necessário que ela possua os valores de FPS ≥ 2 , todas as amostras demonstraram resultados igual ou superior e são bastantes sugestivos para serem empregados em formulações cosméticas, cujo o valor mínimo aceito pela legislação brasileira, RDC n° 30 de 1 de julho de 2012 é de um FPS > 6 .^{31,32}

A região de absorção da radiação ultravioleta (UV), também é um fator bastante relevante para as substâncias a serem empregadas como filtros solares, uma vez que eles irão proteger a pele dos raios UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) ou UVC (200-290 nm).²³ A Tabela 4 apresenta o comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) e a região de absorção de cada amostra em diferentes concentrações, assim como a Figura 5 apresenta os perfis de absorção espectrofotométrica para o extrato, frações e morelloflavona isolada.

Tabela 4. Comprimento de onda de absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) e tipo de absorção UV do extrato, frações e morelloflavona isolada dos galhos de *P. insignis*

Amostras	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Tipo de absorção
E.EtOH	289	UVB
F.Hex	276	UVC
F.AcOEt	290	UVB
F.HA	289	UVB
Morelloflavona	290-355	UVA-UVB

UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (200-290 nm).

Atividade antioxidante frente ao radical DPPH

Um antioxidante ou bioantioxidante pode ser caracterizado como uma substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada com um substrato oxidável, diminui significativamente a oxidação do referido substrato.^{33,34} Grande parte desses compostos antioxidantes pode ser encontrada nas frutas, legumes e plantas

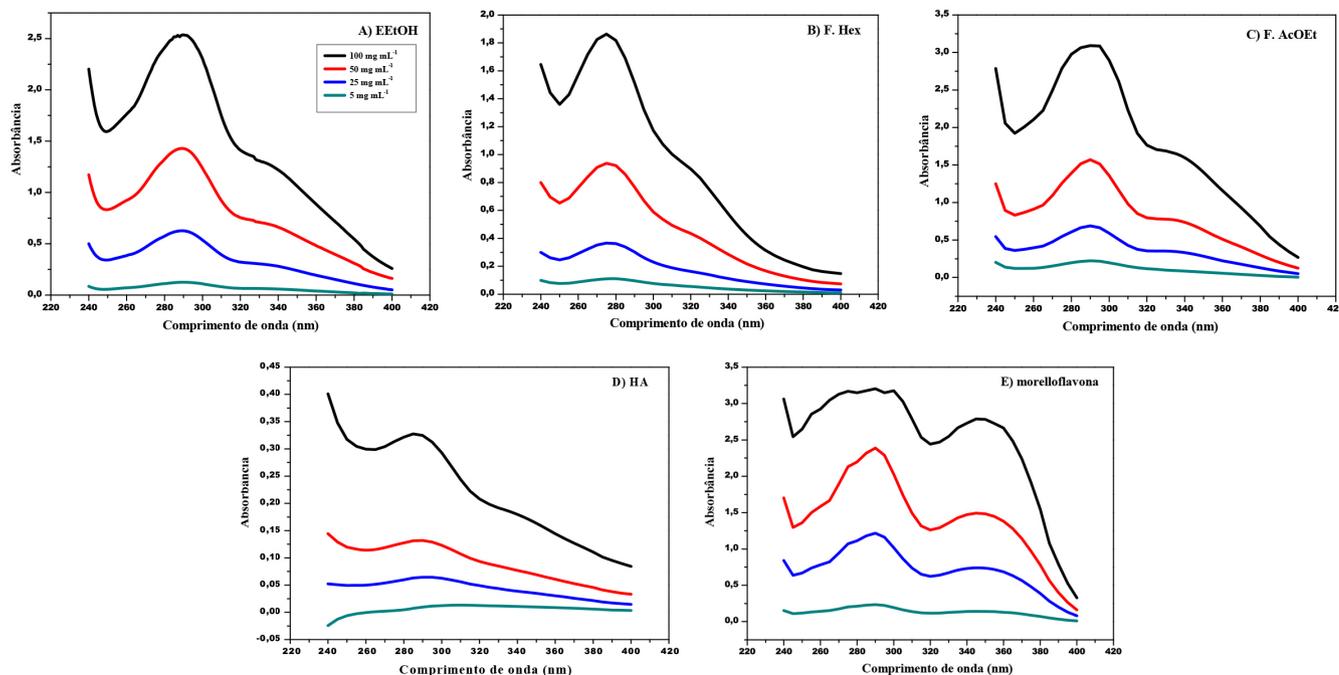


Figura 5. Perfil de absorção espectrofotométrica do extrato (A), frações Hex (B), AcOEt (C), HA (D) e morelloflavona (E) isolada dos galhos de *P. insignis* (240-400 nm)

com a função de prevenir doenças neurodegenerativas como câncer, cardiovasculares e envelhecimento precoce.^{33,35}

O E.EtOH, frações Hex e AcOEt e morelloflavona dos galhos de *P. insignis* apresentaram resultados promissores frente ao radical DPPH, obtendo-se o percentual de atividade antiradicalar (%AA) e a concentração eficiente em mg mL⁻¹ (CE₅₀) (Tabela 5) (Figura 6). Observou-se que o extrato EtOH, F.AcOEt e morelloflavona isolada apresentaram um %AA superior a 60%, atingindo máximos de 90,57, 90,88 e 89,93%, respectivamente, na maior concentração (250 µg mL⁻¹). Quando comparados ao padrão BHT (89,88%), ambos foram equivalentes. A concentração eficiente média para as amostras encontram-se na Tabela 5, no qual se observou que E.EtOH e a morelloflavona apresentaram CE₅₀ de 59,87 e 52,32 µg mL⁻¹, respectivamente, sendo mais eficientes quando comparado com o padrão BHT (69,34 µg mL⁻¹), na redução de 50% da concentração do radical.

Tabela 5. Concentração eficiente média (CE₅₀) e percentual de atividade antiradicalar (%AA) do extrato etanólico, frações e morelloflavona isolada dos galhos de *P. insignis*

Amostras	CE ₅₀ (µg mL ⁻¹)	%AA ± DP (250 µg mL ⁻¹)
E. EtOH	59,87 ± 0,80	90,57 ± 0,81
F. Hex	120,16 ± 11,92	78,83 ± 7,51
F. AcOEt	99,24 ± 5,58	90,88 ± 0,95
Morelloflavona	52,32 ± 0,62	89,83 ± 0,25
Rutina	47,06 ± 4,65	94,14 ± 0,22
BHT	69,34 ± 5,53	89,88 ± 0,83

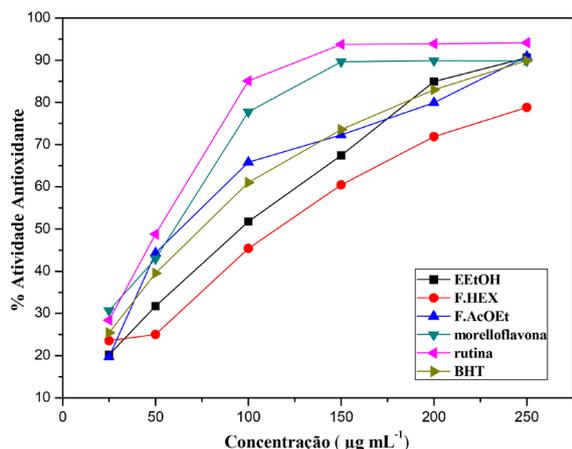


Figura 6. Porcentagem de AA do extrato etanólico e das frações Hex, AcOEt e morelloflavona isolada dos galhos de *P. insignis* e dos padrões rutina e BHT

CONCLUSÕES

O estudo realizado permitiu caracterizar pela primeira vez o perfil químico dos galhos de *P. insignis*, contribuindo para o estudo metabólico da espécie. A análise realizada por ESI-IT/MSⁿ indica que o gênero *Platonia* é altamente rico em polifenóis, com destaque para elevada quantidade de biflavonoides, que evidenciam um alto potencial fotoprotetor e antiradicalar. Os resultados dos ensaios *in vitro* trazem um importante ponto de partida para o desenvolvimento de produtos funcionais para o setor farmacêutico e alimentício.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Os dados espectrométricos do extrato, fração AcOEt e subfração FAc21 estão disponíveis em <http://quimicanova.sbq.org.br>, em formato pdf, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, INCTBioNat (2018/406126-6, 2014/465637-0) pelo apoio financeiro. Agradecem também à FAPEPI (EDITAL FAPEPI/ MCT/ CNPq/ CT-INFRA N° 007/2018 – Programa PPP) pelo auxílio financeiro concedido a S. D. L. Freitas (Termo de concessão n° 043/2019).

REFERÊNCIAS

- Forzza, R. C.; Baumgratz, J. F.; Bicudo, C. E. M.; Canhos, D. A. L. C.; Anibal, A. C.; Marcus, A. N.; Costa, A. F. C.; Hopkins, D. P.; Leitman, M. G.; Logmann, L. G.; Lughadha, E. N.; Maia, L. C. M.; Menezes, G.; Peixoto, M. P.; Pirani, A. L.; Prado, J. R.; Queiroz, J. Souza, L. P.; Souza, S.; Castro, V.; Stehmann, J. R.; Sylvestre, L.; Walter, S.; Bruno, M. T.; Zappi, D. C.; *Bioscience* **2012**, *62*, 39.
- Zeni, A. L. B.; Parisotto, A. V.; Mattos, G.; Helena, E. T. S.; *Ciência & Saúde Coletiva* **2017**, *22*, 2703.
- Bruning, M. C. R.; Mosegui, G. B. G.; Vianna, C. M. M.; *Ciência & Saúde Coletiva* **2012**, *17*, 2675.
- Stevens, P. F. Em *The Families and Genera of Vascular Plants. vol. IX. Clusiaceae-Guttiferae*; Kubitzki, K., eds; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2007, cap. 8.
- Yamaguchi, K. K. L.; Pereira, C. V. L.; Lima, E. S.; Veiga Júnior, V. F.; *Scientia Amazonia* **2014**, *3*, 39.
- Forzza, R. C.; Baumgratz, J. F. A.; Bicudo, C. E. M.; Carvalho Júnior, A. A.; Costa, A.; Costa, D. P.; Hopkins, M.; Leitman, P. M.; Lohmann, L. G.; Maia, L. C.; Martinelli, G.; Menezes, M.; Morim, M. P.; Coelho, M. A. N.; Peixoto, A. L.; Pirani, J. R.; Prado, J.; Queiroz, L. P.; Souza, V. C.; Stehmann, J. R.; Sylvestre, L. S.; Walter, B. M. T.; Zappi, D.; *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, 2010, v. 2.
- Gasparato Júnior, A.; Ferreira, I. C. P.; Nakamura, C. V.; D Filho, B. P.; Jacomassi, E.; Young, M. C. M.; Cortez, D. A. G.; *Acta Farm. Bonaerense* **2005**, *24*, 371.
- Costa Júnior, J. S.; Ferraz, A. B. F.; Sousa, T. O.; Silva, R. A. C.; Lima, S. G.; Feitosa, C. M.; Cito, A. M. G. L.; Cavalcante, A. A. C. M.; Freitas, R.; Sperotto, A. R. M.; Peres, V. F.; Moura, D. J.; Saffi, J.; *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol* **2013**, *112*, 34.
- Ferreira, R. O.; Carvalho, M. G.; Silva, T. M. S.; *Quim. Nova* **2012**, *35*, 2271.
- Li, X. C.; Joshi, A. S.; Tan, B.; Elsohly, H. N.; Walker, L. A.; Zjawiony, J. K.; Ferreira, D.; *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8709.
- Souza Cunha, A.; Alves, Moraes, M. M.; Brito, L. M.; Oliveira, L. G. C.; Sobrinho-Júnior, E. P. C.; Costa, I. C. G.; Freitas, S. D. L.; Rodrigues, K. A. F.; Chaves, M. H.; Arcanjo, D. D. R.; Carvalho, F. A. A.; *J. Evidence-Based Complementary Altern. Med.* (2017), doi:10.1155/2017/3126458.
- Lima, M. C.; *Bacuri: agrobiodiversidade*, 1ª ed., Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura: São Luís, 2007. Nascimento, W. M. O.; Carvalho, J. E. U.; Müller, C. H.; *Rev. Bras. Frutic.* **2007**, *29*, 657.
- Santos Júnior, R. Q.; Soares, L. C.; Maia Filho, A. L. M.; Araujo, K. S.; Santos, I. M. S. P.; Costa Júnior, J. S.; Saffi, J.; *ConScientiae Saúde* **2010**, *9*, 575.
- Costa Júnior, J. S.; Ferraz, A. B. F.; Filho, B. A. B.; Feitosa, C. M.; Cito, A. M. G. L.; Freitas, R. M.; Saffi, J.; *J. Med. Plant. Res.* **2011a**, *5*, 293; Costa, I. C. G.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Piauí, Brasil, 2014; Nascimento, J. L.; Coelho, A. G.; Barros, Y. S. O.; Silva, O. A.; Freitas, R. M.; Rocha, M. S.; David, J. M.; Costa Júnior, J. S.; Rufino, D. D. A.; Arcanjo, D. D. R.; Costa Junior, J. S.; Moura, L. H. P.; Ferraz, A. B. F.; Rossatto, R. R.; Quintans Júnior, L. J.; Oliveira, R. C. M.; Cito, A. M. D. G. L.; Oliveira, A. P.; *Nat. Prod. Res.* **2014**, *28*,

- 923; Pinheiro, E. E. A.; Oliveira, F. A. A.; Lima Neto, J. S.; Mesquita, A. B. S.; Brito, C. A. R. S.; Figueirêdo, G. S.; Ferreira, J. H. L.; Barreto, H. M.; Citó, A. M. G. L.; *Revista Brasileira de Biodiversidade e Biotecnologia* **2015**, *1*, 1; Rocha, E. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Tocantins, Brasil, 2017.
15. Costa Júnior, J. S.; Almeida, A. A. C.; Tome, A. R.; Citó, A. M. G. L.; Saffi, J.; Freitas, R. M.; *Epilepsy & Behavior* **2011**, *22*, 678.
16. Sousa, C. M. M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Piauí, Brasil, 2012.
17. Lustosa, A. K. M. F.; Bezerra, E. A.; Rodrigues, K. A. F.; Amorim, L. V.; Lima Neto, J. S.; Araújo, B. Q.; Costa Junior, J. S.; Mendes, A. N.; Carvalho, F. A. A.; Arcanjo, D. D. R.; Citó, A. M. D. G. L.; *Rev. Cubana Plant. Med.* **2018**, *23*, 2018.
18. Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Pérez-Jiménez, J.; Sauracalixto, F.D.; Mancini-Filho, J.; *Food Chem.* **2010**, *121*, 996.
19. Viana, A. F. S. C.; Reis Filho, A. C.; Lima, G. S.; Diniz, J. A.; Santos, M. O.; Oliveira, R. C. M.; *Anais do I Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas* **2013**, *4*, 129.
20. Uriu, D. M.; Godoy, B. S. A.; Battirola, L. D.; Andrighetti, C. R.; Marques, M. I.; Valladao, D. M. S.; *Rev. Árvore* (2018), doi.org/10.1590/1806-90882017000300016.
21. Origin (Pro), *Versão 8.0; OriginLab Corporation*; Universidade Federal do Piauí, Brasil, 2019.
22. Mansur, J. S.; Breder, M. N. R.; Mansur, M. C. A.; Azulay, R. D.; *An. Bras. Dermatol.* **1986**, *61*, 121.
23. Oliveira Júnior, R. G.; Araújo, C. S.; Souza, G. R.; Guimarães, A. L.; Oliveira, A. P.; Lima-Saraiva, S. R. G.; Morais, A. C. S.; dos Santos, J. S. R.; Almeida, J. R. G. S.; *J. Appl. Pharm. Sci.* **2013**, *3*, 122.
24. Sayre, R. M.; Agin, P. P.; Levee, G. J.; Marlowe, E.; *Photochem Photobiol.* **1979**, *115*, 46.
25. Boeira, C. P.; Piovesan, N.; Soquetta, M. B.; Flores, D. C. B.; Lucas, B. N.; Rosa, C. S.; Terra, N. N.; *Ciênc. Rural* **2017**, *11*, 48.
26. Carrillo-Hormaza, L.; Ramírez, A. M.; Quintero-Ortiz, C.; Cossio, M.; Medina, S.; Ferreres, F.; Gil-Izquierdo, A.; Osorio, E.; *J. Funct. Foods* **2016**, *27*, 503; Akpanika, G. A.; Winters, A.; Wilson, T.; Ayoola, G. A.; Adepoju-Bello, A. A.; Hauck, B.; *Food Chem.* **2017**, *222*, 35.
27. Costa Júnior, J. S.; Feitosa, C. M.; Citó, A. M. G. L.; Freitas, R. M.; Henriques, J. A. P.; Saffi, J.; *J. Biol. Sci.* **2010**, *10*, 747.
28. Silva, A. P. S. C. L.; Oliveira, G. L. S.; Medeiros, S. C.; Sousa, A. M. L.; Lopes, L. S.; David, J. M.; Junior, J. S. C.; de Freitas, R. M.; *Phytomedicine* **2016**, *23*, 477; Wu, C.; Lu, Y.; Wei, B.; Yang, S.; Won, S.; *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 246.
29. Azebaze, A. G. B.; Dogmo, A. B.; Meyer, M.; Ouahou, B. M. W.; Valentin, A.; Laurenguemfo, E.; Nkekgfack, A. E.; Vierling, W.; *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **2007**, *101*, 23; Mahabusarakam, W.; Wiriyaichitra, P.; *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 475; Wittenauer, J.; Falk, S.; Schweiggert-Weisz, U.; Carle, R.; *Food Chem.* **2012**, *134*, 445.
30. Santos, C. C.; Oliveira, R. R.; Figueiredo, M. R.; *Rev. Fitos* **2007**, *3*, 32.
31. Violante, I. M. P.; Souza, I. M.; Venturini, C. L.; Ramalho, A. F. S.; Santos, R. A. N.; Ferrari, M.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2009**, *19*, 452.
32. http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0030_01_06_2012, acessada em abril 2021.
33. Oliveira, G. L. S.; Silva, A. P. S. C. L.; Feitosa, C. M.; Almeida, F. R. C. Em *Antioxidantes: aspectos químicos, farmacológicos e terapêuticos*; Feitosa, C. M., eds.; Editora Átomo: Campinas, 2017, cap.1.
34. Oroian, M.; Escriche, I.; *Food Res. Int.* **2015**, *74*, 10.
35. Stangenberg, S.; *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2015**, *64*, 81.