

## Varição espacial do perfil químico de *Calophyllum brasiliense* Cambess., determinação de possíveis quimiotipos e marcadores químicos para atividades farmacológicas

Mariana de Souza Moura<sup>1</sup>

*marianadesouzamoura@hotmail.com*

Kheytianny Hellen da Silva Lopes<sup>2</sup>

*kheyti.lopes@gmail.com*

Domingos Tabajara de Oliveira Martins<sup>3</sup>

*domingos.martins@ufmt.br*

Paulo Teixeira de Sousa Junior<sup>2</sup>

*pauloteixeiradesousa@gmail.com*

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Áreas Úmidas (INCT - Áreas Úmidas)

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Pesquisa do Pantanal (INPP)

<sup>3</sup> Departamento de Ciências Básicas em Saúde, Faculdade de Medicina,

Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT)

### INTRODUÇÃO.

A planta *Calophyllum brasiliense* Cambess., conhecida popularmente como guanandi, tem sido extensivamente estudada devido aos seus constituintes químicos e bioatividade. É tradicionalmente utilizada na medicina popular, destacando-se na planta algumas propriedades dos extratos das folhas, galhos, cascas do caule e raízes, como ações antibacterianas, antifúngicas, citotóxicas, inibitória da promoção de tumor além de possuir grande relevância devido ao seu alto potencial para tratar problemas gástricos (GUPTA; GUPTA, 2020; SARTORI et al., 1999).

Estudos anteriores indicam que extratos de *C. brasiliense* e suas frações ricas em cromononas apresentam propriedades antiúlcera em modelos de úlcera gástrica aguda e crônica em roedores, além de atividade in vitro contra *Helicobacter pylori*, um agente causador de úlcera gástrica. Entre as cromononas identificadas em *C. brasiliense*, estão os isômeros ácidos isobrasiliênsico e brasiliênsico, ácido inofilóidico e ácido caloverticílico (LEMOS et al., 2016, 2017). A presença desses compostos pode ser uma característica distintiva entre as espécies do gênero *Calophyllum*.

Embora *C. brasiliense* seja bem estudada, há poucos trabalhos que abordam a influência do local de coleta no perfil químico da planta. Variáveis como clima, solo e infestação podem afetar a composição química das plantas, pois elas se adaptam às condições locais através de mudanças genotípicas e fenotípicas (BAYONA et al., 2020; RASKAR et al., 2022). Para preencher essa lacuna, o presente estudo coletou partes de *C. brasiliense* em cinco regiões do estado de Mato Grosso, Brasil. Foram realizadas técnicas extrativas e cromatográficas para analisar a atividade anti-*Helicobacter pylori* dos extratos etanólicos e em diclorometano, usando o ensaio de microdiluição em caldo para determinar a concentração inibitória mínima (CIM). Simultaneamente, foi monitorado o perfil fitoquímico dos extratos, focando no biomarcador ácido isobrasiliênsico (Iso) através de análise por HPLC. Os resultados indicaram diferenças significativas na composição química dos extratos provenientes das diversas localidades, com destaque para a região de Poconé (Pantanal), que apresentou maiores concentrações de Iso e maior potencial quanto a atividade anti- *H. pylori* (LEÃO et al., 2024).

### MATERIAIS E MÉTODOS.

As folhas e galhos de *Calophyllum brasiliense* foram coletados em cinco municípios do estado de Mato Grosso em outubro de 2022, objetivando representar uma variedade de ecossistemas, incluindo Cerrado, Pantanal e Amazônia: Poconé (-16.2753540, -56.4903710), Rondonópolis (-16.3803670, -54.7217800), Nova Brasilândia (-15.0130810, -55.0666370), Chapada dos Guimarães- Rio da Casca (-15.5013890, -55.4043890) e Sinop (-11.8555550, -55.4970230). As exsicatas foram identificadas e depositadas no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso com registros UFMT 45505 a 45509, e o acesso ao patrimônio genético foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado sob nº AC45263 (CGen). Para a extração dos compostos, as amostras de folhas e galhos foram trituradas e extraídas em etanol e em diclorometano, filtradas, concentradas e liofilizadas.

A análise cromatográfica dos extratos foi realizada com um sistema HPLC equipado com coluna de fase reversa e detector de arranjo de diodos, utilizando um gradiente de eluição com água ultrapura acidificada com ácido fórmico e metanol. A validação do método incluiu parâmetros de linearidade, seletividade, precisão e exatidão, com limites de detecção e quantificação (LOD e LOQ) calculados. As curvas de calibração para ácido isobrasiliênsico (Iso) e padrão interno (PI) foram preparadas e analisadas usando o software Excel (LEÃO et al., 2024).

A concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos frente ao *Helicobacter pylori* foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo, conforme a CLSI (M7-A6, 2003), com modificações. Utilizou-se uma cepa de *H. pylori* (ATCC 43504) mantida em criotubos e reativada em ágar Mueller Hinton. Os extratos e a Claritromicina foram testados em placas de 96 poços com diluições seriadas, e a CIM foi definida como a menor concentração que inibiu o crescimento bacteriano, avaliada visualmente e por leitura da absorbância a 620 nm. A atividade antibacteriana foi classificada como forte (CIM < 10 µg/mL), forte-moderada (10 ≤ CIM < 100 µg/mL), fraca-moderada (100 ≤ CIM ≤ 1000 µg/mL) e fraca (CIM > 1000 µg/mL).

## RESULTADOS.

Este estudo examinou a influência das condições ambientais na composição química e atividade farmacológica da planta *C. brasiliense* em diferentes habitats do estado de Mato Grosso. Os resultados mostraram variações significativas na atividade antibacteriana dos extratos de acordo com a localização de coleta. Os extratos etanólicos das folhas de Rondonópolis, Poconé e Chapada dos Guimarães exibiram uma atividade forte-moderada com CIM de 31,25 µg/mL, enquanto os extratos de Nova Brasilândia e Sinop apresentaram CIM de 250 µg/mL, indicando atividade fraca-moderada. Os extratos de galhos também variaram, com o extrato de Poconé destacando-se com a menor CIM de 15,62 µg/mL, demonstrando a maior atividade. Além disso, os extratos em diclorometano apresentaram CIM ainda menores, sugerindo uma atividade antibacteriana mais forte comparada aos extratos etanólicos.

A análise cromatográfica por HPLC revelou diferenças marcantes nos perfis químicos dos extratos de *C. brasiliense*. Os extratos das folhas e galhos coletados em Poconé destacaram-se com uma assinatura cromatográfica exclusiva e bandas únicas, que não foram observadas em extratos de outras regiões. Essa assinatura distinta correlaciona-se com uma maior atividade antibacteriana, sugerindo que fatores ambientais, como características do solo e clima, influenciam a composição química e a eficácia dos extratos.

Para aprofundar a compreensão dos compostos ativos, foi realizada uma análise adicional com ácido isobrasiliênsico, um biomarcador potencial da espécie. A utilização do padrão interno fenolftaleína a 1 mg/mL ajudou a padronizar a análise e a confirmar a identidade do ácido

isobrasiliênsico. A comparação dos espectros UV dos picos cromatográficos confirmou a presença desse biomarcador.

Os cromatogramas evidenciaram que os extratos da planta coletada em Poconé, situada no Pantanal, apresentaram picos com maior intensidade e área integrada, o que se correlaciona com uma atividade farmacológica superior. Embora os perfis cromatográficos dos extratos de folhas e galhos sejam semelhantes, os extratos de folhas mostraram bandas adicionais, indicando uma maior diversidade de compostos.

Essas descobertas sublinham a influência significativa das condições ambientais na formação de compostos bioativos e abrem novas perspectivas para a pesquisa em química e farmacologia. O Pantanal, com sua biodiversidade e condições ambientais extremas, como variações de temperatura e ciclos de inundação, demonstrou ser uma região rica na produção de compostos bioativos, como o ácido isobrasiliênsico.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS.

O estudo realizado revelou dados importantes sobre a influência das condições ambientais na composição química e na atividade farmacológica da planta *Calophyllum brasiliense*. A análise dos extratos etanólicos e diclorometano demonstrou variações significativas na atividade anti-*Helicobacter pylori* e na composição fitoquímica, destacando a importância dos fatores ambientais, como clima e solo, na modulação da eficácia e perfil químico da planta. Em particular, os extratos coletados na região de Poconé apresentaram as concentrações mais elevadas do ácido isobrasiliênsico (Iso) e uma atividade antibacteriana mais acentuada, o que sublinha o impacto das condições locais na formação dos compostos bioativos.

Além disso, o estudo contribui para a compreensão do valor da biodiversidade regional e a importância de preservar diferentes habitats para garantir a conservação de propriedades terapêuticas. Este estudo abre novas possibilidades para a investigação de outros compostos bioativos e proporciona uma base sólida para futuras pesquisas sobre como as condições ambientais influenciam o potencial farmacológico de plantas medicinais como *C. brasiliense*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Calophyllum brasiliense*. Ácido isobrasiliênsico. Biomarcador. Anti-*Helicobacter pylori*. Pantanal.

**AGRADECIMENTOS:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Áreas Úmidas (INCT-INAU II/CNPq Proc. nº 421733/2017-9), Instituto Nacional de Pesquisa do Pantanal (INPP- Portaria MCTI nº 6.988, de 08 de maio de 2023), Universidade Federal de Mato Grosso.

### REFERÊNCIAS

BAYONA, Lina M. et al. Influence of Geographical Location on the Metabolic Production of Giant Barrel Sponges (*Xestospongia* spp.) Revealed by Metabolomics Tools. **ACS Omega**, [S. l.], v. 5, n. 21, p. 12398–12408, 2020.  
GUPTA, Shiv; GUPTA, Pawan. The Genus *Calophyllum*: Review of Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry and Pharmacology. **Bioactive Natural products in Drug Discovery**, [S. l.], p. 215, 2020.

LEÃO, Regiane Carla de Souza; MOURA, Mariana de Souza; LOPES, Kheytyany Hellen da Silva; DE VASCONCELOS, Ilmara Pereira; DE SOUSA JUNIOR, Paulo Teixeira; MARTINS, Domingos Tabajara de Oliveira. Influência do local de coleta e diferentes partes da planta no perfil químico e atividade anti-*Helicobacter*

pylori de *Calophyllum brasiliense* Cambess. **DELOS: Desarrollo Local Sostenible**, [S. l.], v. 17, n. 53, p. e1302, 2024.

LEMOS, Larissa M. S.; MIYAJIMA, Fabio; CASTILHO, Geovane R. C.; MARTINS, Domingos Tabajara O.; PRITCHARD, D. Mark; BURKITT, Michael D. Hexane extracts of *Calophyllum brasiliense* inhibit the development of gastric preneoplasia in helicobacter felis infected INS-gas mice. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 8, n. FEB, p. 92, 2017.

LEMOS, Larissa M. S.; OLIVEIRA, Rejane B.; SAMPAIO, Bruno L.; CCANA-CCAPATINTA, Gari V.; DA COSTA, Fernando B.; MARTINS, Domingos T. O. Brasiliensic and isobrasiliensic acids: isolation from *Calophyllum brasiliense* Cambess. and anti-*Helicobacter pylori* activity. **Natural product research**, [S. l.], v. 30, n. 23, p. 2720–2725, 2016.

RASKAR, Shubhangi; PURKAR, Vishwabandhu; SARDESAI, Milind; MITRA, Sirsha. Assessing the Impact of Geographical Distribution and Genetic Diversity on Metabolic Profiles of a Medicinal Plant, *Embelia ribes* Burm. f. **Plants**, [S. l.], v. 11, n. 21, p. 2861, 2022.

SARTORI, N. T.; CANEPELLE, D.; DE SOUSA, P. T.; MARTINS, D. T. O. Gastroprotective effect from *Calophyllum brasiliense* Camb. bark on experimental gastric lesions in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 67, n. 2, p. 149–156, 1999.