

DNA strekkodeanalyser og kvantitativ NMR spektroskopi av garciniafrukter og -ekstrakter

Seethapathy GS^{1,2,3}, Tadesse M¹, Malterud KE¹, Shaanker RU², de Boer HJ³, Ravikanth G², Wangensteen H^{1*}

¹ Seksjon for farmasøytisk kjemi, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo (www.mn.uio.no/farmasi/forskning/grupper/bionath)

² Ashoka Trust for Research in Ecology and the Environment (ATREE), Royal Enclave, Srirampura, Jakkur Post, Bangalore 560064, India

³ Naturhistorisk Museum, Universitetet i Oslo

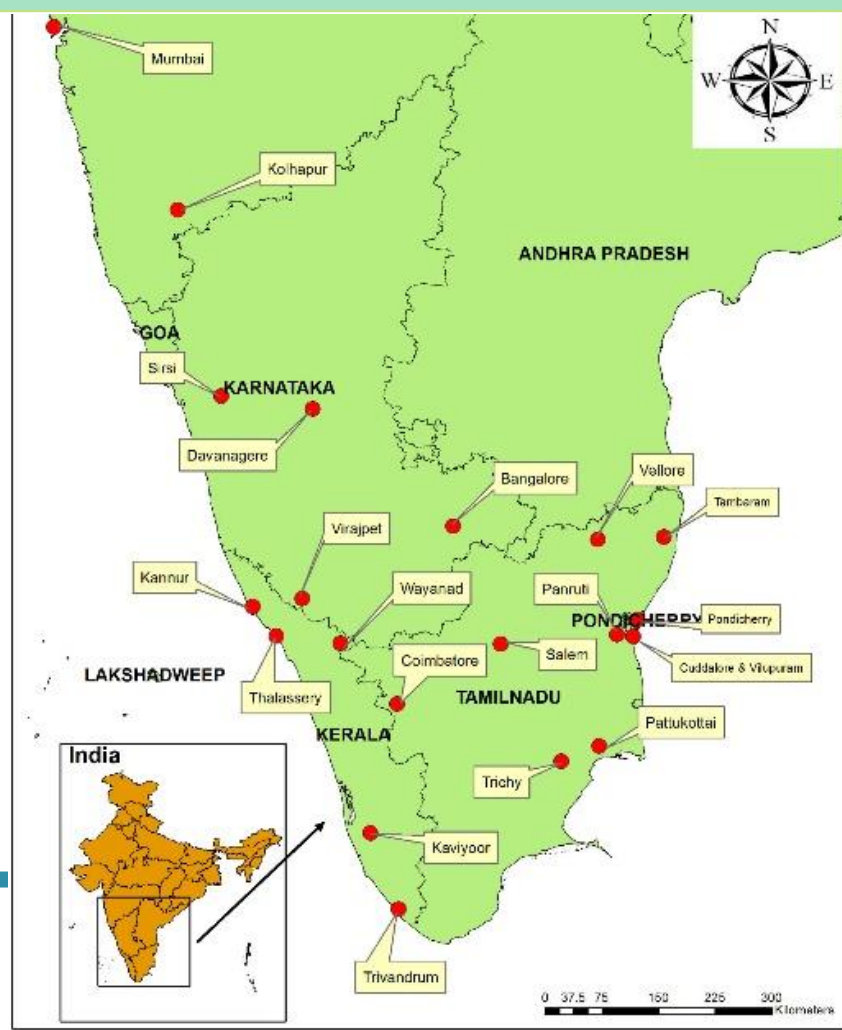


Fig 1. Kart over India som viser hvor garciniafrukter til studien ble kjøpt inn

Bakgrunn

Ekstrakter av **garciniafrukter** selges som kosttilskudd, og det reklameres med et høyt innhold av det påståtte virkestoffet **hydroksysitronsyre** (forkortet HCA), ofte på over 50 % i kapslene eller tablettene. Det påstås at ekstraktene har vektreduserende effekt. Med økende kommersiell interesse for garcinia produkter og behov for garciniafrukter fra de viltvoksende trærne i India, øker også risikoen for at det selges og omsettes frukter fra andre arter som er billigere og lettere tilgjengelig. I dag mangler rutiner for **kvalitetskontroll** av kosttilskudd, og det er et stort behov for enkle, effektive og pålitelige metoder for å kontrollere produktene som selges.



Fig 2. a) Frukter som ble brukt i DNA analyse og for NMR-kvantifisering av hydroksysitronsyreinhold; b) *Garcinia gummi-gutta* frukt; c) *Garcinia indica* frukt.

Hensikt med studien

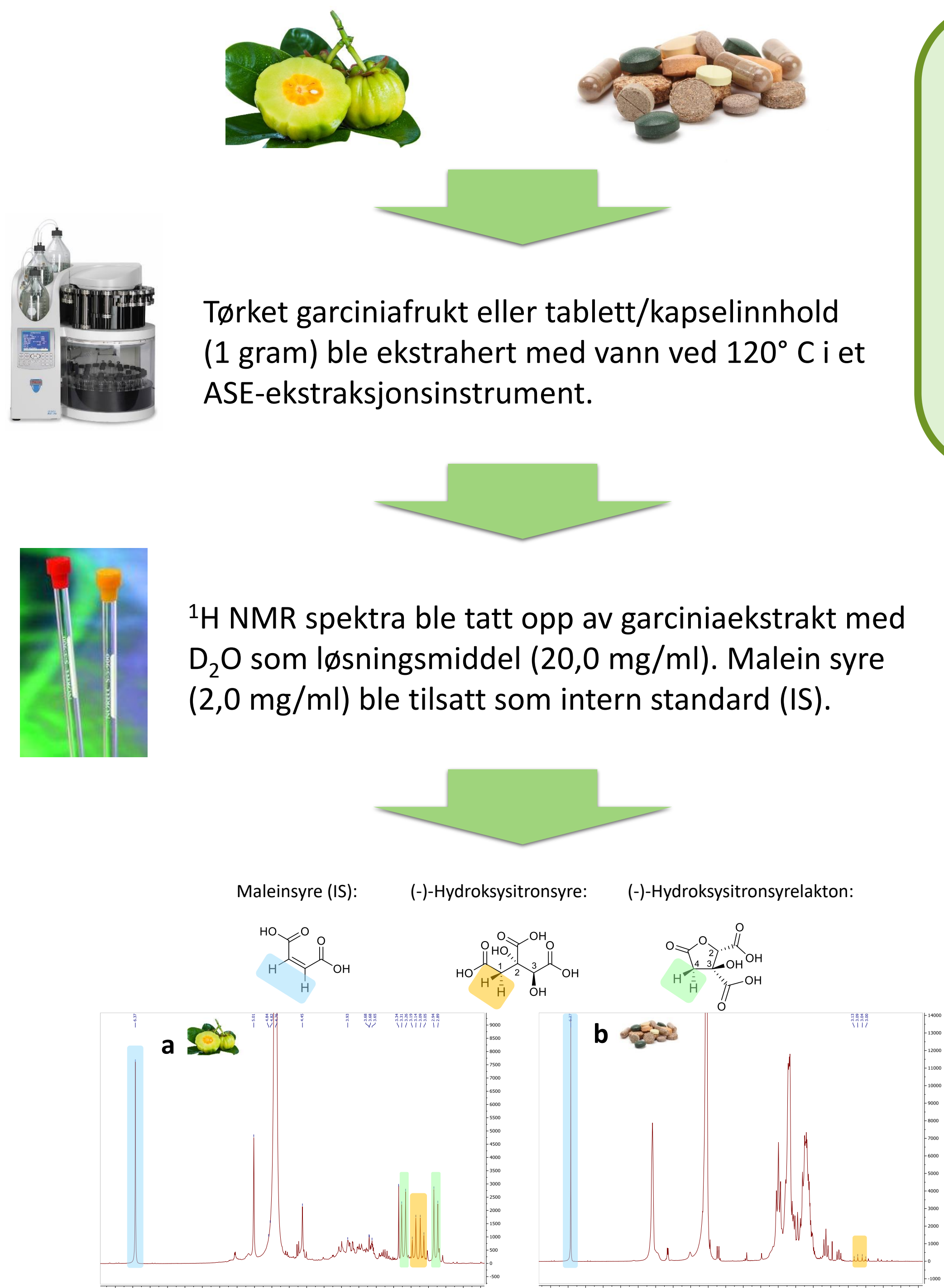
- 1) Artsbestemme *Garcinia*-fruktene som selges på markeder i India ved DNA-strekkoding
- 2) Utvikle en kvantitativ NMR metode for bestemmelse av hydroksysitronsyreinholdet i garciniafrukter og -ekstrakter
- 3) Analysere innholdet av hydroksysitronsyre i kosttilskudd med garciniaekstrakt

DNA strekkoding

Garciniafrukter fra 21 markeder i India (Fig 1 og 2) ble kjøpt inn for å artsbestemme fruktene solgt som Garcinia. nrITS ble valgt som markør for DNA-strekkodeanalyse, og analysene viste at det hovedsakelig var ***Garcinia gummi-gutta*** (syn. *Garcinia cambogia*) og ***Garcinia indica*** som ble solgt. Det ble ikke oppdaget at det ble solgt frukter som ikke var riktig identifisert eller forsøk på salg av «falske frukter».



Kvantitativ ¹H NMR analyse av hydroksysitronsyrer



For å bestemme innholdet av hydroksysitronsyre og dets lakton i garciniafruktene og garcinia kosttilskudd, ble det utviklet en **ny kvantitativ ¹H NMR metode** (Fig 3). Innholdet av hydroksysitronsyrer i vannekstraktene ble beregnet basert på arealene til metylenprotonene i syrene sammenlignet med arealet til protonene i maleinsyre (intern standard). Metoden er et alternativ til eksisterende HPLC-metoder, og **fordelen** med metoden er at det er lett å skille signaler fra syren og laktonet i motsetning til ordinære kromatografiske metoder. Det er i tillegg en rask og reproducerbar metode uten behov for prøveopparbeidelse av vannekstraktet.

Hydroksysitronsyreinhold i kosttilskudd

Garciniaekstrakter selges som kosttilskudd, og det er ingen krav til kontroll av innhold i disse produktene. Det var stor variasjon i innhold av hydroksysitronsyrer i de ti analyserte produktene, og for de fleste kosttilskuddene var **det analyserte innholdet av hydroksysitronsyre lavere enn det deklarerte**. Innholdet av hydroksysitronsyrelakton var lavere enn kvantifiserbar mengde.

Deklarert innhold	Analysert innhold (mg/tablett el. kapsel)
1. <i>G. cambogia</i> ekstrakt (60 % HCA); 500 mg	36 ± 2,9
2. <i>G. cambogia</i> ekstrakt (50 % HCA); 500 mg	149 ± 0,7
3. <i>G. indica</i> ekstrakt; 350 mg	122 ± 9,2
4. <i>G. cambogia</i> ; 100 mg	59 ± 1,4
5. <i>G. cambogia</i> ekstrakt (60 % HCA); 525 mg	29 ± 1,9
6. <i>G. cambogia</i> ekstrakt (65 % HCA); 250 mg, pulver, frukt og blader (1 % HCA); 350 mg	144 ± 3,7
7. <i>G. cambogia</i> ekstrakt; 300 mg	69 ± 1,8
8. <i>G. indica</i> pulver; 400 mg	184 ± 7,3
9. <i>G. cambogia</i> ekstrakt; 350 mg	150 ± 4,3
10. <i>G. cambogia</i> frukt (60 % HCA); 500 mg	289 ± 8,6

Fig 3. ¹H NMR spektrum av a) vannekstrakt fra *Garcinia gummi-gutta* og b) vannekstrakt fra kommersielt *Garcinia cambogia* (*G. gummi-gutta*) ekstrakt (produkt 5). Oransje og grønne felter indikerer de protonene/protonsignalene som ble benyttet for å kvantifisere innholdet av henholdsvis (-)-hydroksysitronsyre og (-)-hydroksysitronsyrelakton, mens det blå feltet indikerer protonene/protonsignalet i maleinsyre.