

REVISTA TÓPICOS

UTILIZAÇÃO DO MÉTODO DE TANINOS TOTAIS PARA DETECÇÃO DE PUNICALAGINA E ÁCIDO GALÁGICO A PARTIR DOS FRUTOS DE T. CATAPPA L (SETE-COPAS)

DOI: 10.5281/zenodo.14580153

Francisco José Mininel¹

Silvana Márcia Ximenes Mininel²

RESUMO

Este trabalho propõe uma metodologia de obtenção de taninos totais para detecção dessa classe de substâncias a partir dos frutos de *Terminalia catappa* L., popularmente conhecida como Sete-Copas. *Terminalia catappa* Linn (da família COMBRETACEAE) cresce em regiões tropicais e subtropicais, particularmente localizadas em áreas costeiras. Após a obtenção dos taninos totais, foi feita a injeção em fluxo contínuo (FIA) do extrato no espectrômetro de massas, o qual indicou a presença de taninos, dentre eles, um composto majoritário (punicalagina) em m/z 1083 e também o tanino hidrolisável ácido galágico em m/z 601. Estes compostos são descritos na literatura como os principais agentes antioxidantes e gastroprotetores encontrados em *Terminalia catappa* L.

Palavras-chave: *Terminalia catappa* L. Taninos totais. Espectrômetro de massas. Punicalagina. Ácido galágico.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

ABSTRACT

This work proposes a methodology for obtaining total tannins for the detection of this class of substances from the fruits of *Terminalia catappa* L., popularly known as Sete-Copas. *Terminalia catappa* Linn (from the COMBRETACEAE family) grows in tropical and subtropical regions particularly located in coastal areas. After obtaining the total tannins, continuous flow injection (FIA) of the extract was performed in the mass spectrometer, which indicated the presence of tannins, among them, a major compound (punicalagin) at m/z 1083 and also the hydrolyzable tannin galagic acid at m/z 601. These compounds are described in the literature as the main antioxidant and gastroprotective agents found in *Terminalia catappa* L.

Keywords: *Terminalia catappa* L. Total tannins. Mass spectrometer. Punicalagin. Galagic acid.

1 INTRODUÇÃO

Terminalia catappa Linn (da família COMBRETACEAE) cresce em regiões tropicais e subtropicais, particularmente localizadas em áreas costeiras. Essa espécie é nativa de áreas próximas a regiões costeiras do Oceano Índico, na Ásia tropical e da região que compreende várias ilhas a oeste do Oceano Pacífico, como Malásia, Indonésia e ilhas da região da Melanésia. Como consequência da migração humana essa árvore foi introduzida e naturalizada, principalmente próximo ao litoral, em muitos países tropicais do mundo, incluindo o Brasil. Suas árvores são bastante conhecidas pela

REVISTA TÓPICOS

vasta sombra que proporcionam ao longo das praias da costa brasileira (THOMSON & EVANS, 2006).

Tradicionalmente as folhas da *T. catappa* (Figura 1) são submetidas à extração em água quente para o preparo de bebida (chá) (PETERSON & JOHNSON, 1978). Essas folhas têm sido usadas como fontes medicinais populares para diarreia e como antitérmico, na Índia, Filipinas e Malásia. Em Taiwan, têm sido aplicadas para prevenir hepatomas e no tratamento da hepatite.



REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Figura 1. Folhas e frutos de *T. catappa* L. Disponível em <http://canarilformosura.webnode.com.br/news/folhas-milagrosas/>. Acesso em 02/10/202

Este trabalho teve o objetivo de propor uma metodologia para extração e detecção de compostos de interesse farmacológico da polpa dos frutos de *T. catappa* L., utilizando cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massas.

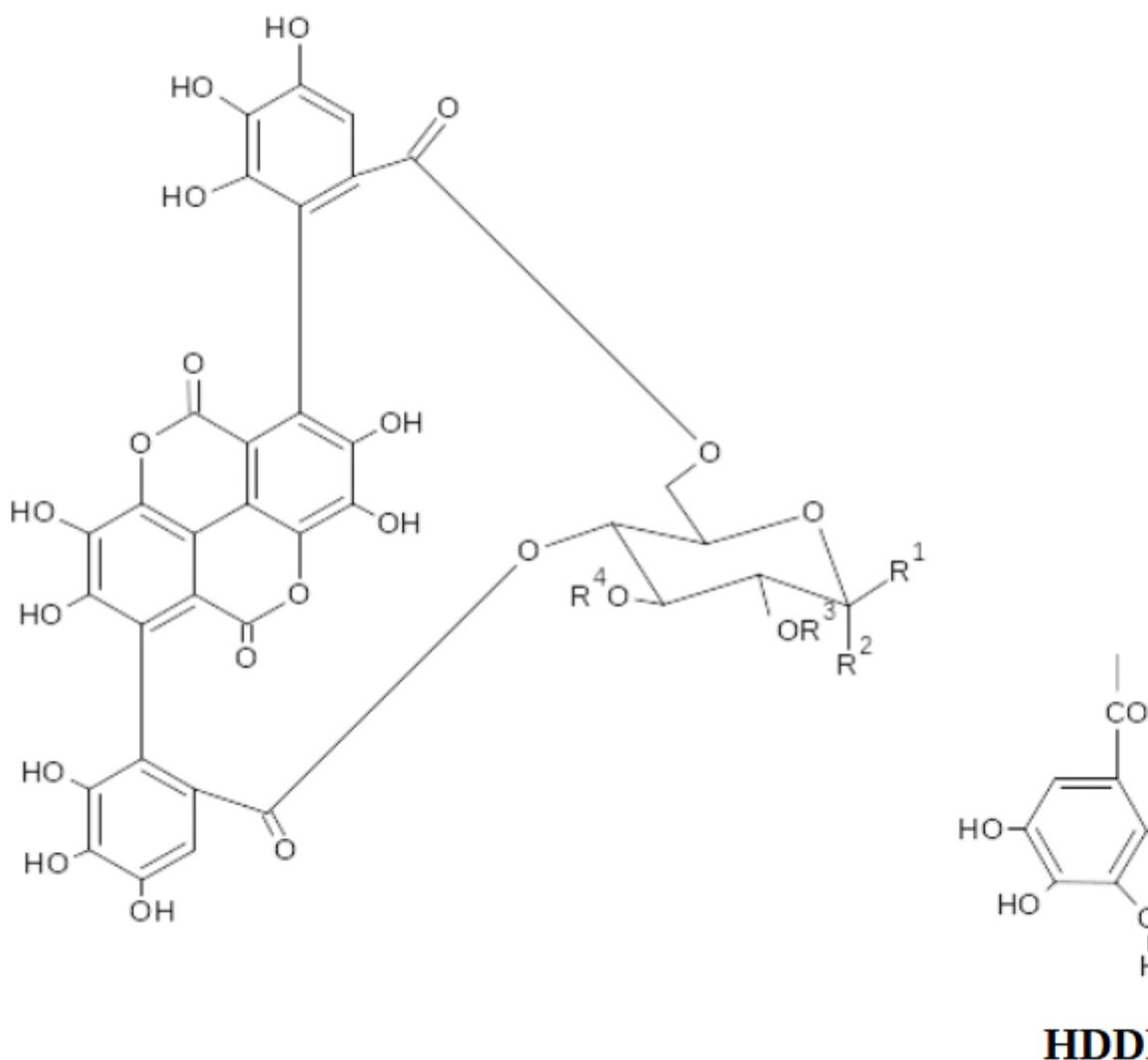
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Várias atividades biológicas já foram descritas para a planta, como antioxidante (CHYAU et al., 2002; CHYAU et al., 2006; LIN, HSU & LIN, 1997; LIN, HSU & LIN, 1999), anti-inflamatória (FAN et al., 2004; LIN et al., 1997; CHEN et al., 2000, CHEN & LI, 2006), antitumoral (CHEN et al., 2000) e antidiabética (NAGAPPA et al., 2003).

Essas atividades foram atribuídas, principalmente, à presença de compostos fenólicos, sendo que alguns destes já foram isolados e caracterizados. Os taninos hidrolisáveis são os principais compostos associados à atividade antioxidante (CHEN et al., 2000), sendo a punicalina e a punicalagina (Figura 2) os compostos mais abundantes, encontrados nas folhas, associados a este tipo de ação. Além destes, outros compostos fenólicos menos abundantes têm sido isolados e associados à atividade antioxidante da *T. catappa*, como também ácidos benzóicos e cumáricos e seus derivados (CHYAU et al., 2006). A punicalina e a punicalagina também têm sido associadas à atividade antitumoral (CHEN, et al., 2000) e antiviral, que pode ser uma consequência da atividade antioxidante destes compostos. A

REVISTA TÓPICOS

atividade antiinflamatória tem sido associada à presença de ácidos triterpênicos, principalmente o ácido ursólico e seu derivado (FAN et al., 2004). A atividade antidiabética também já foi descrita para os taninos, mas existem estudos que a associam à presença de β -caroteno (NAGAPPA et al., 2003).



1 R¹ = H; R² = OH; R³; R⁴ = HDDP

2 R¹ = OH; R² = H; R³; R⁴ = HDDP

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Figura 2 – Punicalina (1) e punicalagina (2). (Fonte: os autores)

3 METODOLOGIA

3.1. Obtenção dos taninos totais

A obtenção dos taninos totais foi realizada seguindo as seguintes etapas: pesou-se 1,0 Kg de polpa dos frutos de *Terminalia catappa* L. Promoveu-se a percolação com 5 L de água por 1 hora e na sequência, filtrou-se para obtenção do extrato aquoso. Preparou-se uma coluna XAD-16 para cromatografia pré-lavando a coluna com MeOH e em seguida a mesma foi pré-equilibrada com H₂O por 12 horas. Dividiu-se o extrato aquoso em porções de 200 mL (Figura 3). Essa porções foram adsorvidas na coluna por aspiração a vácuo e eluiu-se a coluna com quantidade suficiente de água destilada (4 L). Descartou-se esse primeiro eluato e removeu-se a água remanescente por aspiração a vácuo. Eluiu-se os taninos adsorvidos com MeOH (2 X 400 mL) e removeu-se o metanol por rotaevaporação à temperatura de 37° C para obtenção dos TANINOS TOTAIS. A coluna XAD-16 foi regenerada com água para reuso (cerca de 100 minutos) (Figura 4), sendo que a eficiência de recuperação calculada para a punicalagina deve ficar em torno de (77 – 85%) e ácido galágico (80 – 95%).

REVISTA TÓPICOS

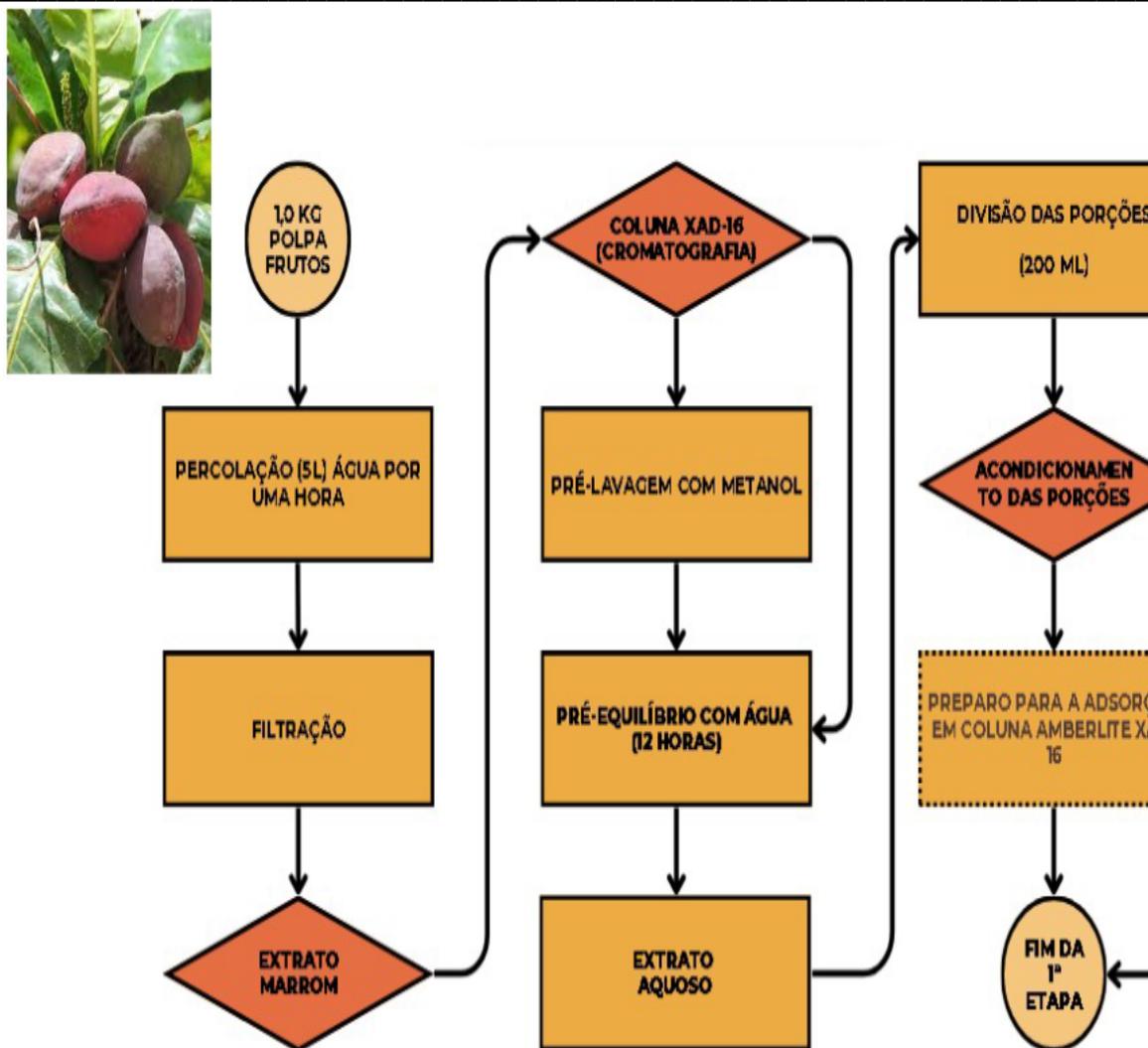


Figura 3 – Purificação do extrato da polpa dos frutos de *T. catappa* L.
(Fonte:os autores)

REVISTA TÓPICOS

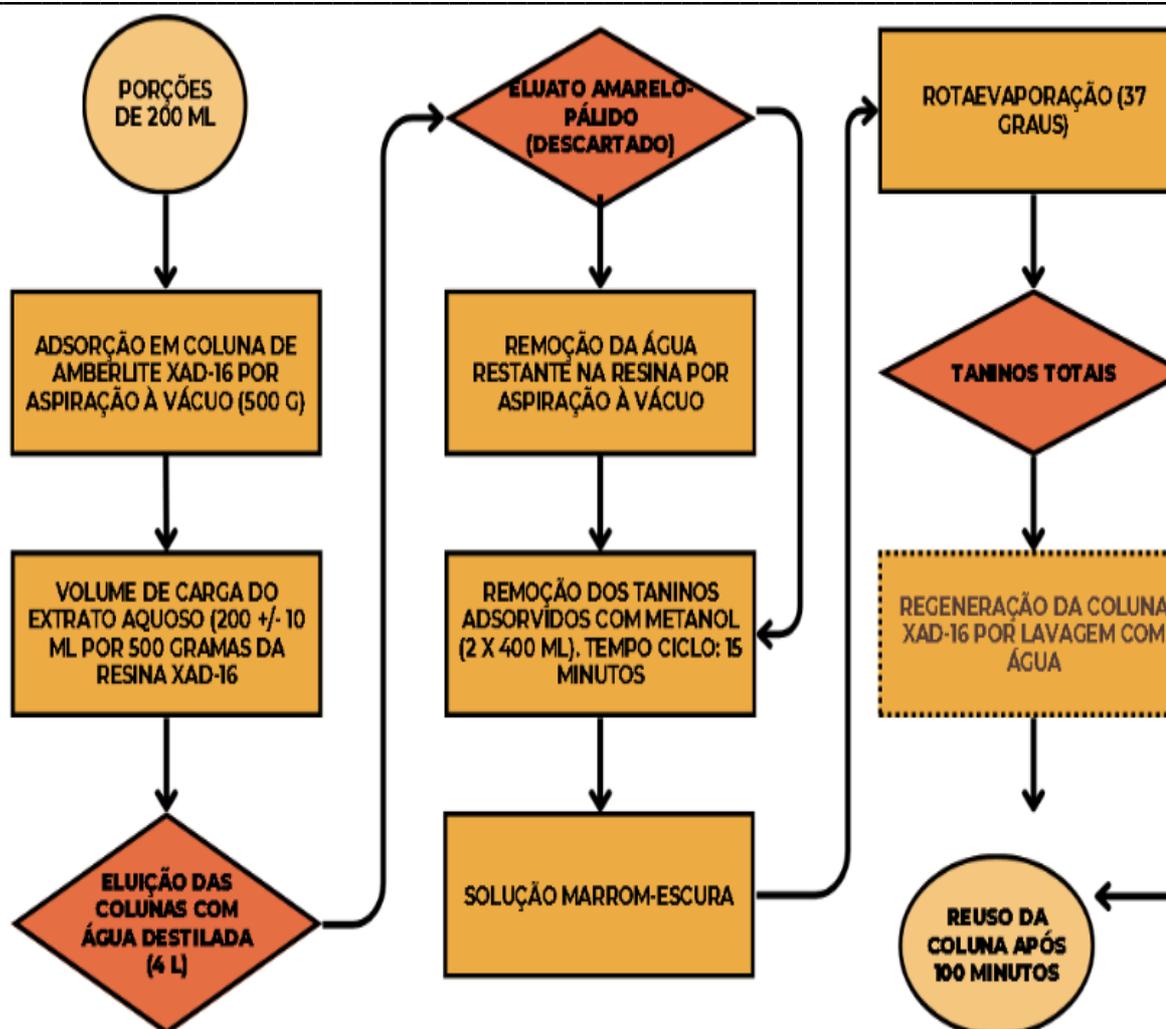


Figura 4 – Obtenção de taninos totais da polpa dos frutos de *T. catappa* L.
(Fonte:os autores)

3.2. Purificação da punicalagina e do ácido galágico

A purificação dos taninos punicalagina e ácido galágico seguiu as seguintes etapas:

REVISTA TÓPICOS

1. Pré-equilibrar uma coluna de Sephadex LH-20 com H₂O : MeOH (8 : 2 v/v);
2. Adsorver na coluna de Sephadex LH-20 cerca de 300 g de TANINOS TOTAIS;
3. Eluir com quantidades crescentes de MeOH;
4. Analisar por LC-ES/MS.

3.3. Detecção dos taninos por LC-ES/MS

1. Utilizar coluna Symmetry C-18, 100 mm x 2.1 i.d., 3,5 µm, (Waters Corp., Milford, MA).
2. Solventes: A (HCOOH/H₂O) e B (2% HCOOH/MeOH)
3. Gradiente % de B em A: 99%, 30 minutos, 80 % 45 minutos, 60%, 60 minutos e 5%, 60 minutos com fluxo de 0.15 mL/ min e volume de injeção de 20 µL.
4. Parâmetros para M/S: eletrospray (ES) em modo negativo, scan range: 120-1500 amu; scan rate: 1 scan/seg; voltagem do cone: 17 eV; Temperatura: 275 ° C.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A colheita do material vegetal foi feita no horto da Universidade Brasil, na cidade de Fernandópolis-SP. Foram colhidas cerca de 5,0 kg de frutos

REVISTA TÓPICOS

maduros, em perfeito estado, por volta das 8:00 horas da manhã, logo após terem sido secas pelo sol, pois ainda estavam molhados pelo orvalho. A colheita foi feita em fevereiro de 2024.

Após colheita, a polpa dos frutos foi retirada e a semente descartada. Na etapa seguinte partiu-se para a secagem que foi realizada à sombra (PRISTA, 1995) em laboratório e com umidade controlada em cerca de 60%. Após 5 dias, as folhas estavam completamente secas e a perda média de umidade foi de 70%.

Na sequência, procedeu-se a purificação do extrato da polpa dos frutos de *T. catappa* L., conforme descrito anteriormente na Figura 3. Após a obtenção de taninos totais da polpa dos frutos procedeu-se a purificação da punicalagina e ácido galágico, conforme descrito anteriormente.

O material obtido foi analisado através de um espectrômetro de massas LQC Deca, equipado com dispositivo para inserção direta da amostra em fluxo contínuo (FIA). O modo negativo foi escolhido para análise dos espectros. Foi feita um varredura completa (full-scan) a fim de se detectar compostos de interesse químico-farmacológico (punicalagina e ácido galágico).

A partir da análise por espectrometria de massas, pôde-se perceber a presença de um composto majoritário (punicalagina), um tanino hidrolisável com m/z 1083 e a presença de um composto com m/z 601 (ácido galágico), conforme indicado no espectro em full-scan (Figura 5).

REVISTA TÓPICOS

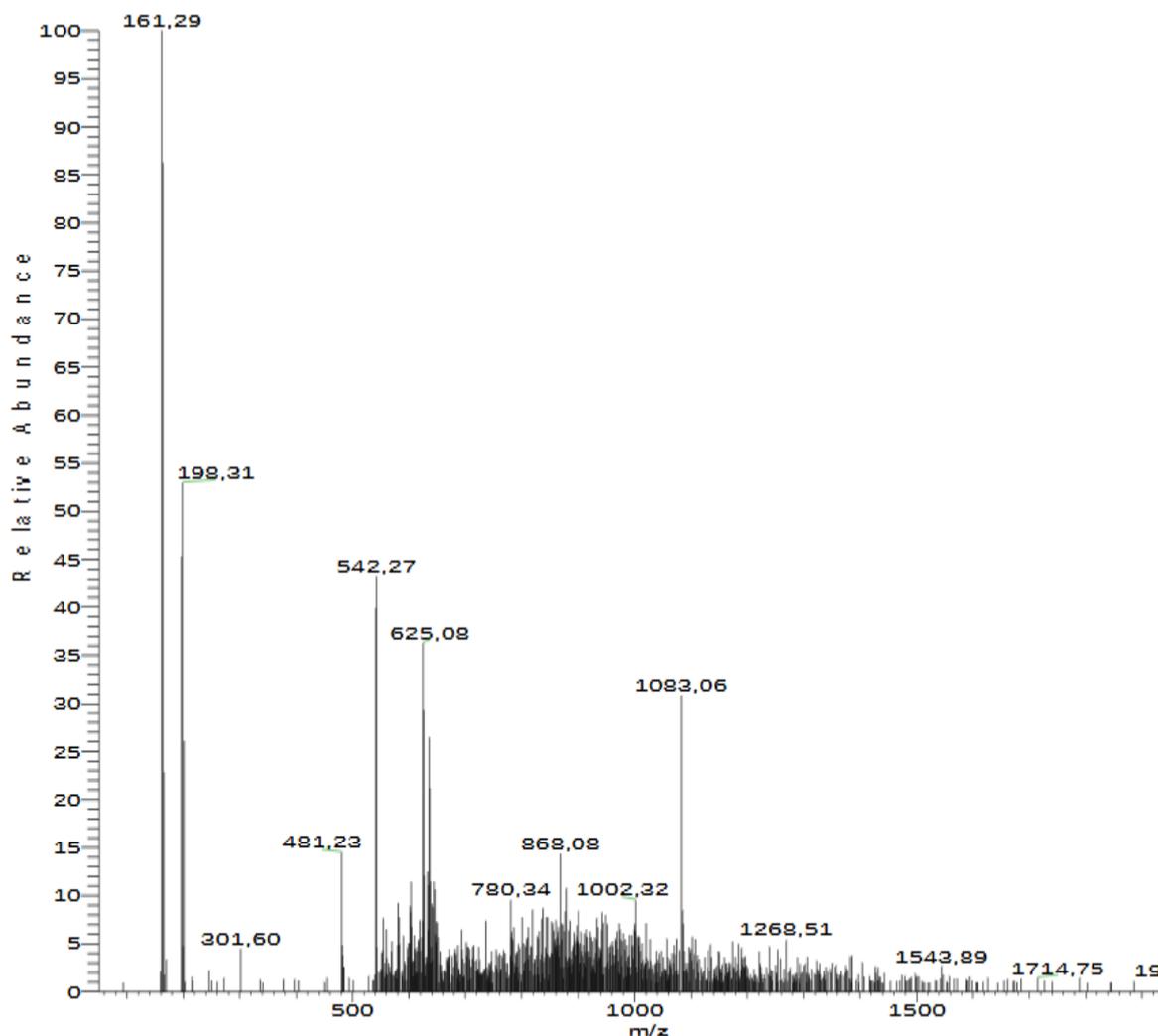


Figura 5. Espectro de massas em modo full-scan do extrato aquoso da polpa frutos de *T. catappa* L.

(Fonte: os autores)

Os dados de MS² para os íons m/z 1083 e m/z 601 (ácido galágico), revelam as fragmentações descritas nas Figuras 6 (punicalagina) e Figura 7 (ácido galágico).

REVISTA TÓPICOS

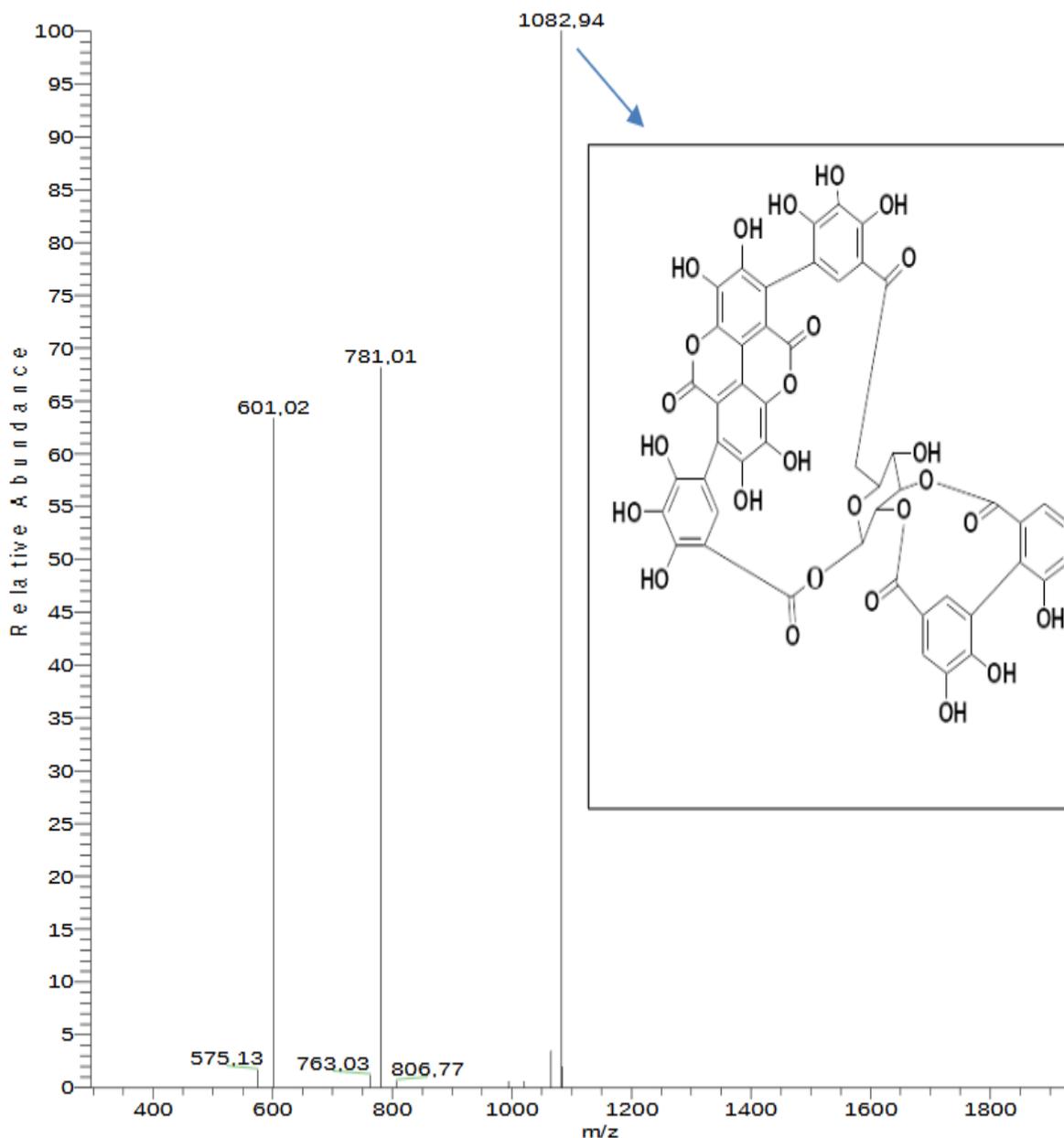


Figura 6. Fragmentação MS2 do íon m/z 1083 (punicalagina).
(Fonte: os autores)

REVISTA TÓPICOS

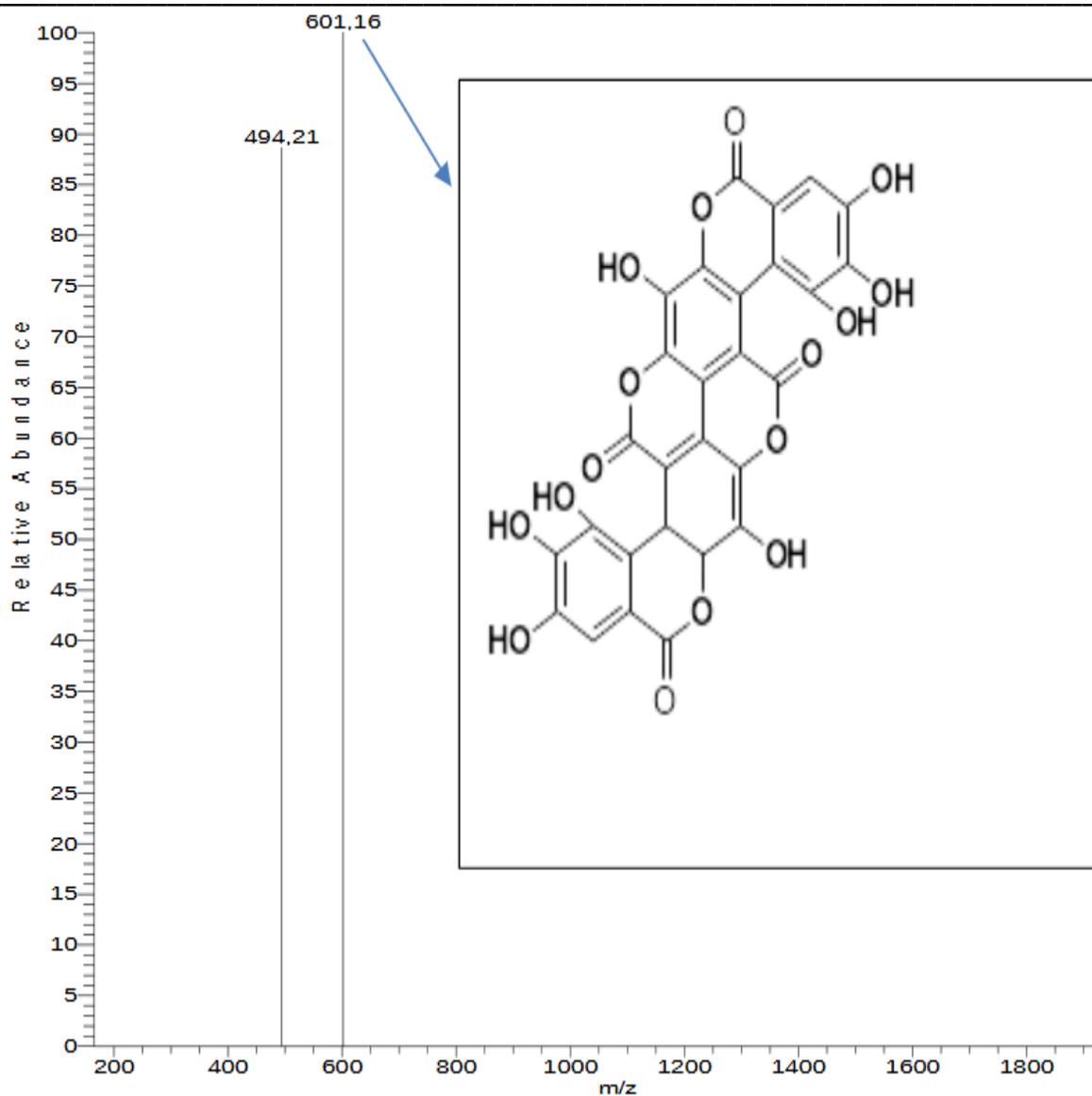
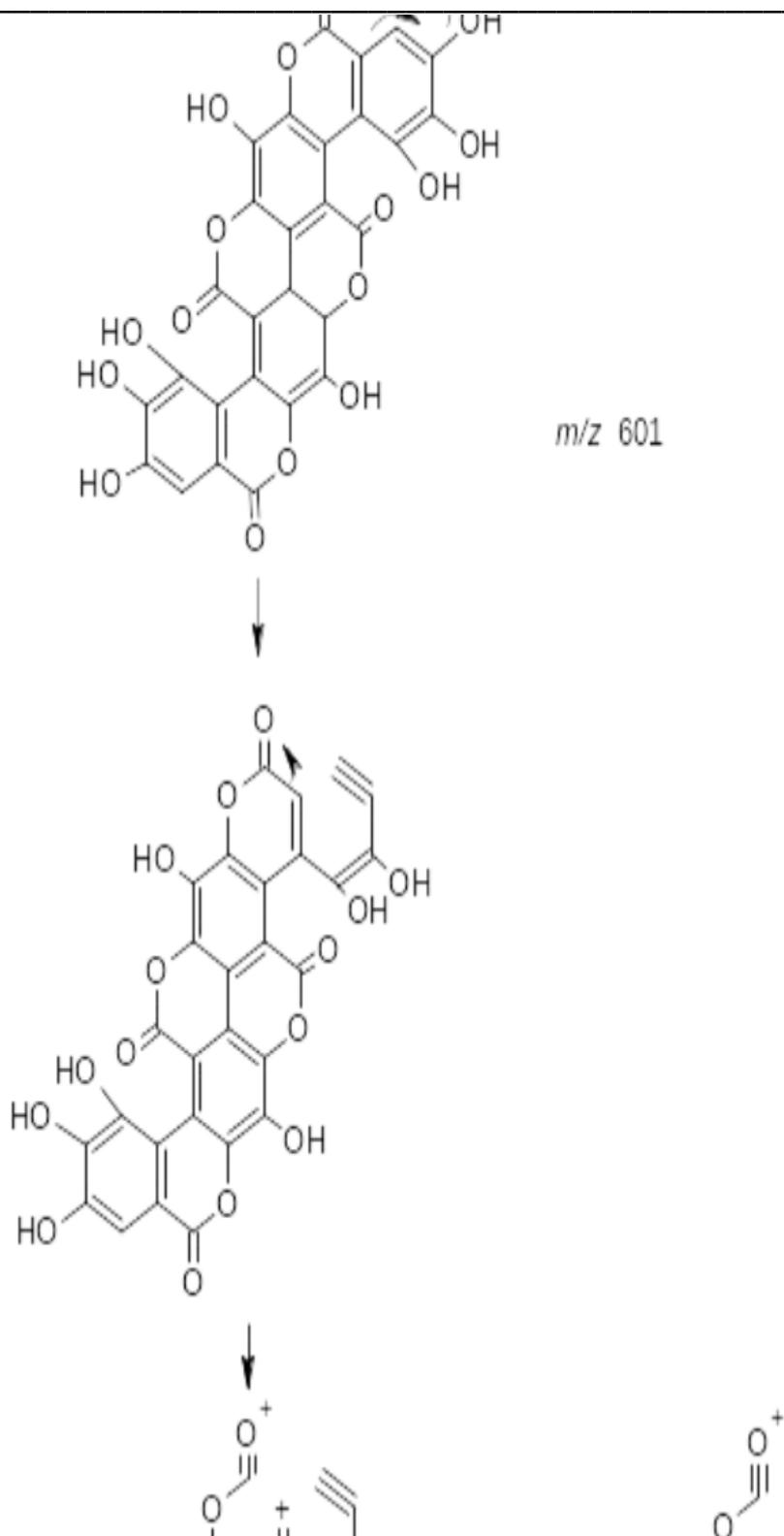


Figura 7. Fragmentação MS2 do íon m/z 601 (ácido galágico).
(Fonte: os autores)

A Figura 8 indica o padrão de fragmentação do ácido galágico, conforme demonstrado abaixo.



REVISTA TÓPICOS



REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

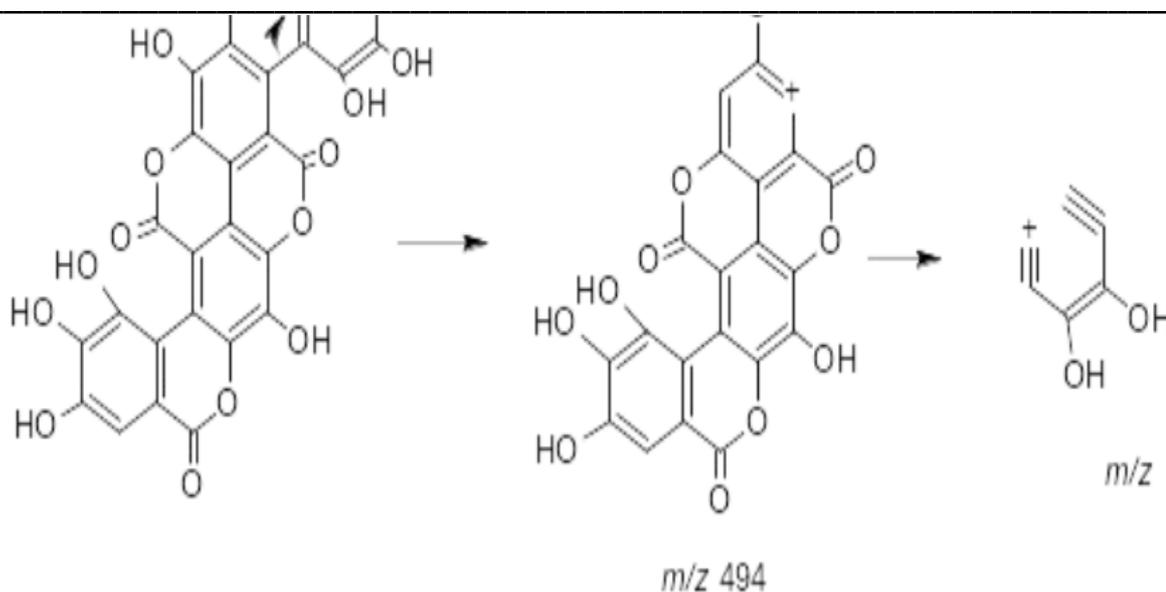


Figura 8 – Proposta de fragmentação para o íon precursor m/z 601.
(Fonte: os autores)

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise fitoquímica de *Terminalia catappa* L. feita no Laboratório de Fitoquímica da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP, confirmou os dados apresentados pela literatura, indicando que a metodologia de obtenção de taninos totais foi bastante eficiente. Os compostos majoritários encontrados foram os taninos hidrolisáveis como a punicalagina e ácido galágico. Esses compostos possuem atividade antioxidante mais forte dentro do grupo de taninos da espécie. Desta forma, esses compostos presentes nos frutos de *Terminalia catappa* L. podem ser promissores terapêuticos com aplicações variadas dentro da Medicina Tradicional e cuja matéria-prima é abundante e de fácil acesso.

REVISTA TÓPICOS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHEN, P.S.; LI, J.H.; LIU, T.Y.; LIN, T.C. Folk medicine Terminalia catappa and its major tannin component, punicalagin, are effective against bleomycin-induced genotoxicity in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Letters* 152, 115-122, 2000.

CHEN, P.S.; LI, J.H. Chemopreventive effect of punicalagin, a novel tannin component isolated from Terminalia catappa, on H-ras-transformed NIH373 cells. *Toxicol. Letters*, 163(1): 44-53, 2006.

CHYAU, C.C.; TSAI, S.Y.; KO, P.T.; MAU, J.L. Antioxidant properties of solvent extracts from Terminalia catappa leaves. *Food Chem.* 78, 483-488, 2002.

CHYAU, C.C.; KO, P.T.; MAU, J.L. Antioxidant properties of aqueous extracts from Terminalia catappa leaves. *LWT – Food Sc. and Techn.* 39(10), 1099-1108, 2006

FAN, Y.M.; XU, L.Z.; GAO, J.; WANG, Y.; TANG, X.H.; ZHAO, X.N.; ZHANG, Z.X. Phytochemical and anti-inflammatory studies on Terminalia catappa. *Fitoterapia* 75, 253-260, 2004.

LIN, C.C.; CHEN, Y.L.; LIN, J.M.; UJIE, T. Evaluation of the antioxidant and hepatoprotective activity of Terminalia catappa. *Am. J. of Chinese Med.* 25, 153-161, 1997.

REVISTA TÓPICOS

LIN, C.C.; HSU, Y.F.; LIN, T.C. Effects of punicalagin and punicalin on carrageenan-induced inflammation in rats. *Am. J. of Chinese Med.* 27, 371-376, 1999.

NAGAPPA, A. N.; THAKURDESAI, P. A.; VENKAT RAO, N.; JIWAN-SINGH, S. Antidiabetic activity of Terminalia catappa Linn fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 88, n. 1, p. 45-50, 2003.

PETERSON, S; JOHNSON, A.H. *Encyclopaedia of Food Science* Vol. 3, The Avi Publishing Co, Westport, CT, p. 461, 1978.

PRISTA, L. V. N., ALVES, C. A., MORGADO, R. M. R. *Tecnologia Farmacêutica*. 5ª edição. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995.

THOMSON, L.; EVANS, B. *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry: Terminalia catappa (Tropical Almond)*, 2006. <http://www.agroforestry.net/tti/T.catappa-tropical-almond.pdf>>.

Acesso em 28 de outubro de 2024.

¹ Docente do Curso Superior de Farmácia da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP. Doutor em Química pelo Instituto de Química, UNESP-Campus de Araraquara-SP. E-mail: kmininel17@gmail.com

² Docente do Curso Superior de Farmácia da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP. Mestre em Química (PPGQUÍMICA/UNESP), Campus de Araraquara-SP). E-mail: silvana.mininel@ub.edu.br