

# REVISTA TÓPICOS

---

## DETECÇÃO DE ÁCIDO ELÁGICO E DERIVADO DAS FOLHAS DE TERMINALIA FAGIFOLIA MART. ET ZUCC UTILIZANDO ESPECTROMETRIA DE MASSAS (FIA-ESI-IT-MS)

DOI: 10.5281/zenodo.14627070

Francisco José Mininel<sup>1</sup>

Silvana Márcia Ximenes Mininel<sup>2</sup>

### RESUMO

*Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc é uma planta encontrada no cerrado, distribuída pela Bahia, Ceará, Goiás, Distrito Federal, Piauí, São Paulo, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. É conhecida popularmente como capitão-do-mato. Diversos estudos realizados com *T. fagifolia* demonstraram que a espécie apresenta atividades citotóxica e antioxidante. Portanto, este trabalho teve como objetivo estudar infusões das folhas da planta a partir de amostras pré-tratadas e analisadas por espectrometria de massas em tandem acoplado a um íon trap com interface de ionização por electrospray, usando o modo de inserção direta da amostra (FIA-ESI-IT-MS). Foram detectados os compostos ácido elágico com  $m/z$  301 e um derivado do ácido elágico, o composto com  $m/z$  463, correspondente ao ácido elágico hexosídeo, ambos com forte capacidade antioxidante.

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

Palavras-chave: *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. Antioxidante. Ácido elágico. Ácido elágico hexosídeo.

## ABSTRACT

*Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. is a plant found in the cerrado, distributed throughout Bahia, Ceará, Goiás, Distrito Federal, Piauí, São Paulo, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul and Minas Gerais. It is popularly known as Capitão-do-mato. Several studies carried out with *T. fagifolia* have shown that the species presents cytotoxic and antioxidant activities. Therefore, this work aimed to study infusions of the plant's leaves from pre-treated samples and analyzed by tandem mass spectrometry coupled to an ion trap with an electrospray ionization interface, using the direct sample insertion mode (FIA-ESI-IT-MS). The compounds ellagic acid with  $m/z$  301 and an ellagic acid derivative, the compound with  $m/z$  463, corresponding to ellagic acid hexoside, were detected, both with strong antioxidant capacity.

Keywords: *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. Antioxidant. Ellagic acid. Ellagic acid hexoside.

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Terminalia*, pertencente à família Combretaceae, é conhecido por ser rico em metabólitos secundários, tais como triterpenos pentacíclicos e seus derivados glicosilados, taninos, flavonóides e outros compostos aromáticos. Devido ao fato de muitas plantas deste gênero serem consideradas medicinais, têm sido efetuados diversos estudos de espécies de *Terminalia*, os quais levaram ao isolamento de metabólitos secundários

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

com atividades biológicas significativas, destacando-se: anticancerígena, antimalárica, antifúngica, hepatoprotetora, antibacteriana, anti-herpes e anti-HIV (GARCEZ, 2003).

A espécie *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc (Figura 1), faz parte da família Combretaceae, o qual é constituída por aproximadamente 600 espécies distribuídas em 18 gêneros, sendo o gênero *Terminalia* composto por cerca de 200 espécies (PETTIT et al., 1996; LAWRENCE, 1951).

Popularmente é conhecida como capitão do mato, mirindiba e pau de bicho no cerrado brasileiro (AYRES et al., 2009). Também chamada vulgarmente de “camaçari”, “cachaporra do gentio”, “capitão do seco” (LORENZI, 1998).

As plantas do gênero *Terminalia* são ricas em triterpenos pentacíclicos e seus derivados glicosilados, flavonoides, taninos e outros compostos aromáticos (ARAÚJO & CHAVES, 2005). Apresentam diversas atividades farmacológicas, tais como antifúngica, anti-helmíntica, antimalárica, anticancerígena, hipoglicêmica, anti-inflamatória, antibacteriana, antioxidante, antiulcerogênica, antiviral, antidepressora, tripanocida, moluscicida, imunomodulatória e efeitos hepatoprotetor, cardioprotetor, dentre outros (DWIVEDI, 2007).

# REVISTA TÓPICOS

---



Figura 1. Aspecto geral da espécie *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. (Fonte: <https://www.scielo.br/j/rod/a/x98mtfRffLHGyDMZPJyszGy/>)

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA OU REVISÃO DA LITERATURA

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

*Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc é uma planta encontrada no cerrado, distribuída pela Bahia, Ceará, Goiás, Distrito Federal, Piauí, São Paulo, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. É conhecida popularmente como capitão, capitão-do-mato, capitão-do-cerrado, capitão-do-campo, mirindiba e pau-de-bicho. A árvore é melífera e ornamental, sendo seus frutos utilizados no artesanato e a madeira pode ser empregada na marcenaria e construção civil. Na medicina popular a casca do caule é usada no combate a aftas e tumores (ALMEIDA et al.,1998).

A espécie *Terminalia fagifolia* é uma árvore hermafrodita de até 10 m densamente fulvo-vilosa, exceto os frutos acráceos ou acinzentado-pubescentes e o androceu e gineceu glabrosos. Folhas alternadas congestas com 3 a 8 x 1 a 3 cm, oboval, oblanceolado ou elíptico, membranáceo; ápice mucronado, obtuso ou agudo; nervuras secundárias ascendentes, mais ou menos ocultas pelo indumento; pecíolo com até 8 mm de comprimento, biglanduloso. Inflorescência racemo axilar pêndulo, congesto, bracteado, com aproximadamente 15 flores. Flores com cerca de 7 mm de comprimento, hermafroditas ou masculinas, sésseis; cálice 31 campanulado com 4 a 5 lobos ovais; pétalas livres, rudimentares, logo caducas; estames 8 a 10, exsertos, em duas séries; filetes longos, anteras rimosas, elípticas, com conectivo apiculado; ovário ínfero, unilocular, anguloso, com uma constrição logo abaixo do cálice, com 2 a 3 óvulos pêndulos. Fruto samaroide em torno de 7 mm de comprimento, transversaelíptico, bialado; núcleo seminífero central imperfeitamente delimitado; alas descentralizadas, papiráceas, finamente estriadas; semente adnata ao endocarpo (ALMEIDA et al., 1998)

# REVISTA TÓPICOS

---

Ensaio microbiológicos avaliando a atividade antibacteriana do extrato etanólico e frações da casca da *Terminalia fagifolia* foram realizados por Araújo et al. (2015), sendo que apresentaram atividade antibacteriana para os microrganismos *Staphylococcus aureus* Rosenbach, e *Staphylococcus epidermidis* Evans, (WINSLOW & WINSLOW, 1908).

Estudos realizados com *Terminalia fagifolia* demonstraram que o extrato etanólico das cascas apresenta atividades citotóxica e antioxidante, bem como a ocorrência de flavonoides (flavanonas, chalconas e flavanas), 1,3-diarilpropanos, triterpenos pentacíclicos glicosilados e não-glicosilados e um esteroide, o sitosterol. O extrato etanólico das folhas apresenta forte potencial antioxidante no ensaio do DPPH (SOUSA et al, 2007).

Os antioxidantes podem bloquear ou retardar as ações dos radicais livres. Essas ações podem ser basicamente de duas categorias: naturais e sintéticas. Na categoria dos sintéticos estão incluídos o BHA (butil-hidroxi-anisol) e o BHT (butil-hidroxi-tolueno), frequentemente utilizados em alimentos contendo lipídios, porém apresentam problemas de segurança e toxicidade. Desta forma, as pesquisas têm-se voltado no sentido de encontrar produtos naturais com potencial antioxidante que possam substituí-los ou serem usados em associação (SOUSA, 2007).

Os extratos da casca e das folhas da *T. fagifolia* apresentaram halos de inibição maiores que 10 mm. Este fato é importante, pois a maioria dos antibióticos de uso clínico é ativa contra microrganismos sensíveis a partir de halos superiores a este valor (GONÇALVES et al., 2006).

# REVISTA TÓPICOS

---

Os ensaios realizados no teste de difusão em ágar pela técnica dos poços os extratos da casca e das folhas da *T. fagifolia* apresentaram atividade inibitória contra o microrganismo *S. aureus*. No que se refere ao extrato da casca o resultado está de acordo com o estudo realizado por Araújo et al. (2015).

De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), mais da metade dos habitantes do planeta, especialmente aqueles de países pobres e em desenvolvimento, fazem uso de algum tipo de erva na busca de alívio de sintomatologia dolorosa ou desagradável. Desse total pelo menos 30% ocorrem por indicação médica (ESTRELA, 1995). Há informações de que os produtos naturais e as preparações fitoterápicas são responsáveis por 25% do receituário médico nos países desenvolvidos e cerca de 80% nos países em desenvolvimento (COSTA, 2010). Diante desse panorama, a OMS vem estimulando os países, ricos em biodiversidade, a elaborarem políticas e a desenvolverem produtos de qualidade para o uso na saúde pública (PIMENTA et al. 2012).

## 3 METODOLOGIA

Este trabalho envolve a investigação de extratos orgânicos polares por técnicas analíticas. Extração em fase sólida (SPE) e/ou extração líquido-líquido (LLE) foram utilizadas na etapa de clean-up para que açúcares livres e oligômeros de proantocianidinas fossem separados da matriz vegetal bruta. As amostras pré-tratadas foram então analisadas por espectrometria de massas em tandem acoplado a um íon trap com interface

# REVISTA TÓPICOS

---

de ionização por electrospray, usando o modo de inserção direta da amostra (FIA-ESI-IT-MS).

As folhas de *Terminalia fagifolia* foram coletadas no horto da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP. Depois de coletadas, as folhas foram secadas em estufa a 50°C, moídas em moinhos de facas, sendo posteriormente pesadas, embaladas, etiquetadas e armazenadas em local seco.

Vários trabalhos vêm demonstrando que análises por MS usando o modo de inserção direta da amostra (FIA), sem a necessidade de complexas etapas de preparação e clean-up (resguardando apenas as etapas mais simples que envolvem: filtração, diluição e/ou adição de um modificador para auxiliar a ionização), tem se destacado como a forma mais representativa e rápida de estabelecer a composição química de uma determinada matriz e essa abordagem tem sido empregada no controle de qualidade e na verificação da autenticidade de diversos tipos de amostras, incluindo bebidas, alimentos e até mesmo extratos de plantas (MAURI & PIETTA, 2000; GOODACRE et al., 2002; CATHARINO et al., 2006).

A infusão de *Terminalia fagifolia* foi obtida com 1 g de folhas. O material triturado foi mantido em contato com 10 mL de água aquecida (80°C) por 10 min. A mistura contendo a solução e o material particulado foi filtrado em papel de filtro e resfriado a temperatura ambiente, em seguida uma alíquota da solução foi novamente filtrada, agora em membrana de PTFE com poro de 0,45 µm. A infusão filtrada (500 µL) foi diluída com MeOH para o volume final de 1 mL e a solução introduzida diretamente na fonte

# REVISTA TÓPICOS

---

de ESI por meio de uma seringa de vidro impulsionada por um sistema de bombeamento em fluxo de  $5 \mu\text{L min}^{-1}$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES OU ANÁLISE DOS DADOS

Catequinas e taninos condensados são frequentemente analisados nos modos positivo (WU et al., 2005) e negativo (GU et al., 2003) e várias são as interfaces empregadas para a geração desses íons, sendo a ionização por electrospray (ESI) a interface mais utilizada. Ela é reconhecida como uma técnica de ionização branda e possibilita a investigação dos mais diversos tipos de matrizes em fase gasosa, incluindo analitos que exibem alta polaridade, viabilizando assim a caracterização estrutural com quantidades mínimas de uma determinada amostra (ARDREY, 2003).

A Figura 2 mostra o espectro de massas em full-scan apresentando os íons precursores das moléculas desprotonadas ( $[M - H]^-$ ) da infusão de *Terminalia fagifolia*.

# REVISTA TÓPICOS

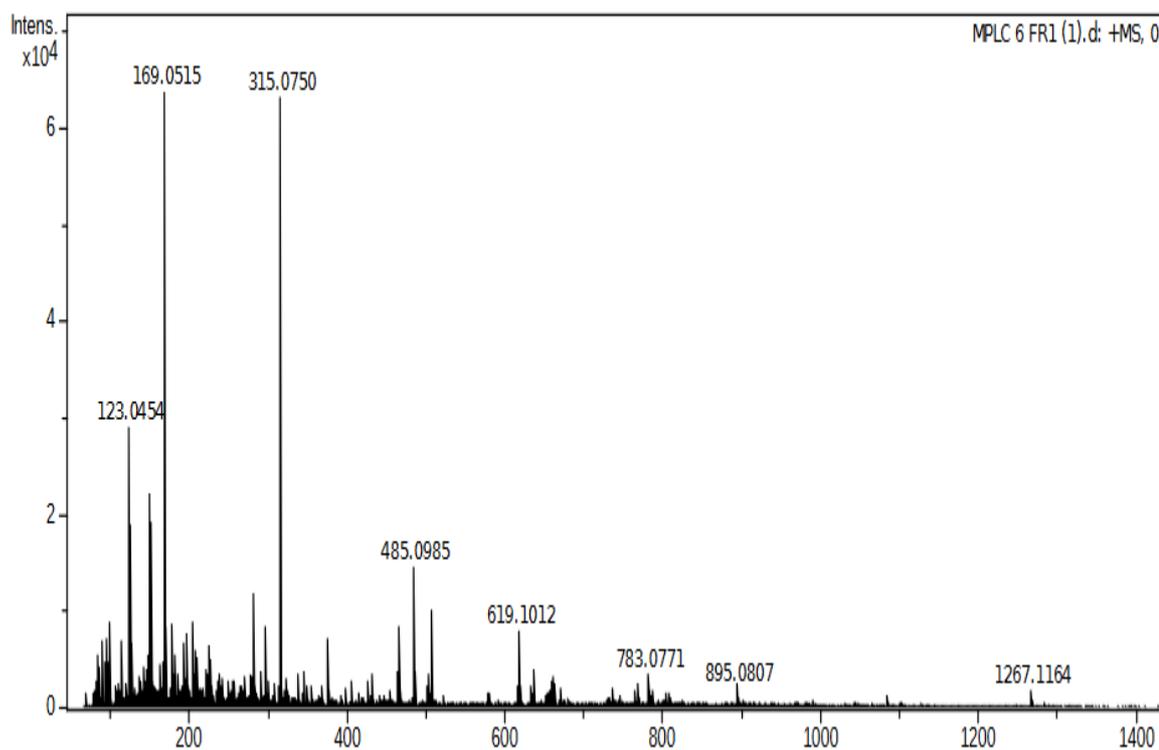


Figura 2. Espectro de massas em full-scan apresentando os íons precursoros das moléculas desprotonadas ( $[M - H]^-$ ) da infusão de *Terminalia fagifolia*.  
(Fonte: os autores)

Fragmentação de segunda-ordem (MS/MS) para cada um desses íons levou à identificação de diversos metabólitos, conforme discutido a seguir e a nomenclatura utilizada seguiu as recomendações sugeridas por MURRAY e coautores (2006).

A análise por ESI-MS mostrou um pico de íon molecular proeminente em 300 correspondendo ao ácido elágico, conforme indicado na Figura 3. O ácido elágico possui propriedades antioxidantes devido à sua capacidade de neutralizar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. A sua estrutura

# REVISTA TÓPICOS

polifenólica é composta por uma porção hidrofílica e uma porção lipofílica, o que lhe permite receber elétrons de diferentes substratos.

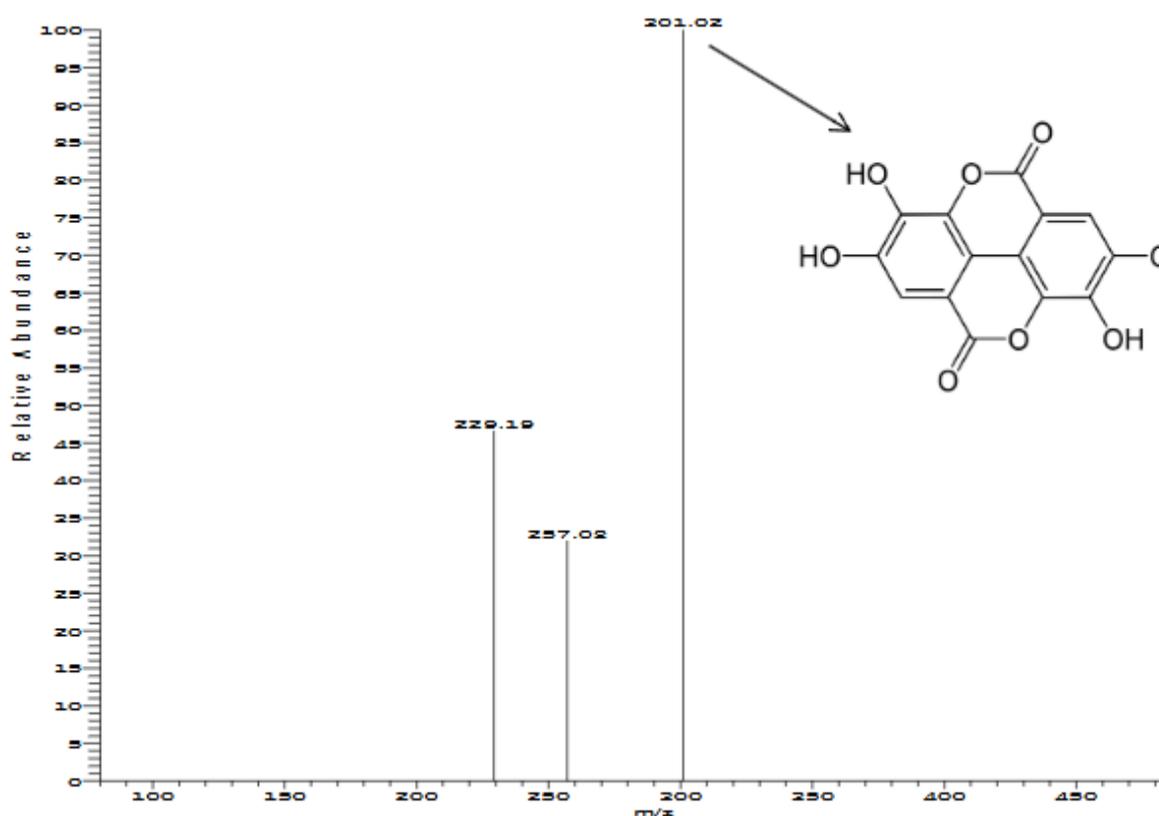


Figura 3. Espectro de segunda ordem do ácido elágico (m/z 301).  
(Fonte: os autores)

O padrão de fragmentação do ácido elágico constitui-se basicamente das perdas no espectro de segunda ordem (Figura 3) de 44 Da ( $\text{CO}_2$ ) e 28 Da (CO) (SANTOS et al., 2003). Estes íons foram detectados a partir do íon precursor m/z 301, originando os íons m/z 257 [ $\text{M} - \text{H} - \text{CO}_2$ ]<sup>-</sup>, m/z 229 [ $\text{M} - \text{H} - \text{CO}_2 - \text{CO}$ ]<sup>-</sup> e m/z 185 [ $\text{M} - \text{H} - 2\text{CO}_2 - \text{CO}$ ]<sup>-</sup> (Figura 4), respectivamente (MULLEN et al., 2003; SEERAM et al., 2006).

# REVISTA TÓPICOS

---

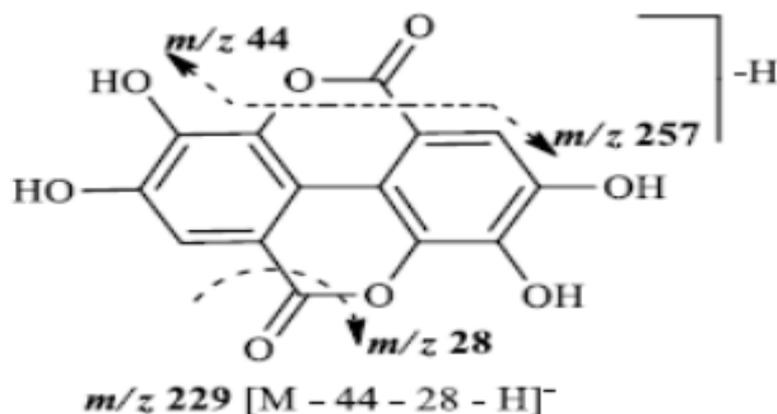


Figura 4. Padrão de fragmentação do ácido elágico ( $m/z$  301).  
(Fonte: os autores)

Figura 4. Padrão de fragmentação do ácido elágico ( $m/z$  301).

(Fonte: os autores)

O espectro de segunda ordem para o íon em  $m/z$  463, indica a perda de fragmentos em  $m/z$  415,  $m/z$  353 e um pico bastante proeminente em  $m/z$  301, indicativo do ácido elágico, formado a partir da perda de uma hexose, portanto pelo padrão de fragmentação pode-se inferir que se trata de um derivado do ácido elágico, o ácido elágico-hexosídeo (Figura 5).

# REVISTA TÓPICOS

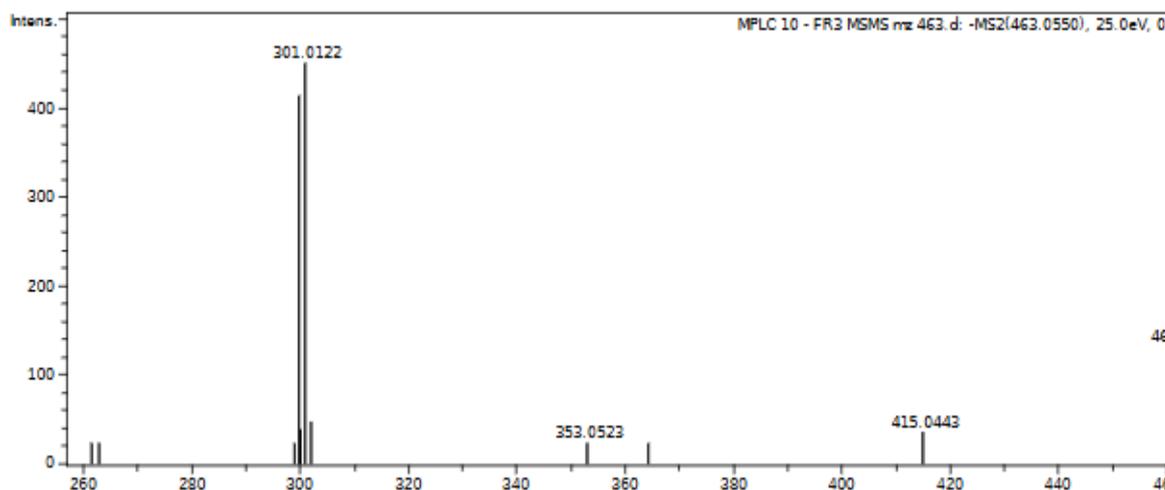


Figura 5. Padrão de fragmentação do ácido elágico hexosídeo (m/z 463).  
(Fonte: os autores)

A Figura 6 indica o padrão de fragmentação do íon em m/z 463 e a perda do íon em m/z 301, correspondente ao ácido elágico.

# REVISTA TÓPICOS

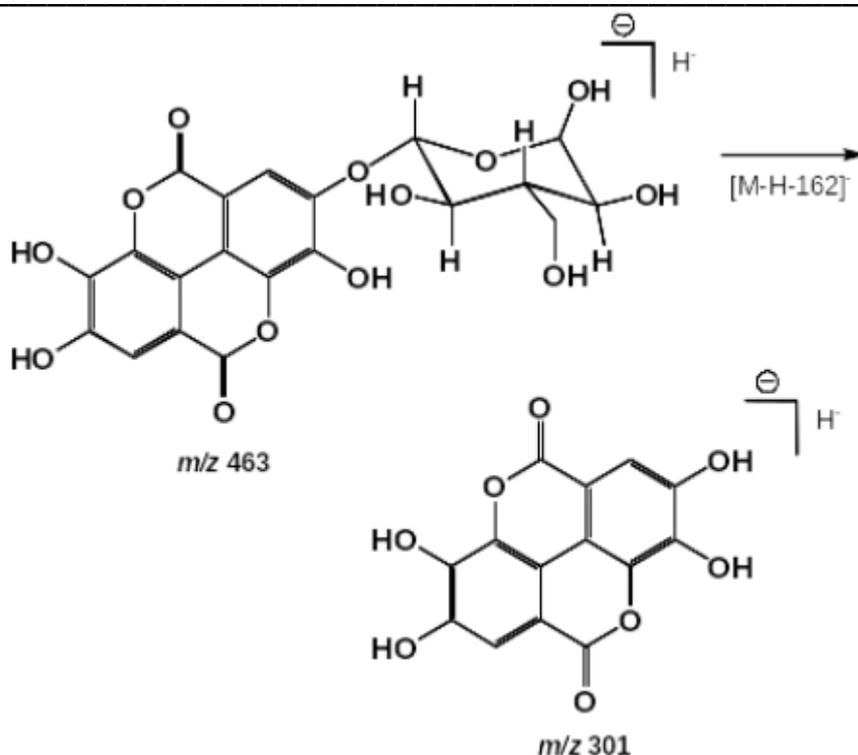


Figura 6. Fragmentação do ácido elágico hexosídeo ( $m/z$  463).  
(Fonte: os autores)

Os resultados obtidos vão de encontro aos dados da literatura, uma vez que

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O gênero *Terminalia*, pertencente à família Combretaceae, é conhecido por ser rico em metabólitos secundários, tais como triterpenos pentacíclicos e seus derivados glicosilados, taninos, flavonóides e outros compostos aromáticos. A investigação química do gênero é importante pois devido ao fato de muitas plantas deste gênero serem consideradas medicinais, têm sido efetuados diversos estudos de espécies de *Terminalia*, os quais levaram ao isolamento de metabólitos secundários com atividades

# REVISTA TÓPICOS

---

biológicas significativas, destacando-se: anticancerígena, antimalárica, antifúngica, hepatoprotetora, antibacteriana, anti-herpes e anti-HIV.

Dessa forma, nesse trabalho, buscamos estudar a espécie *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc a partir da análise por espectrometria de massas em tandem acoplado a um ion trap com interface de ionização por electrospray, usando o modo de inserção direta da amostra (FIA-ESI-IT-MS).

A partir das análises realizadas foram detectados os compostos ácidos elágico e um derivado do mesmo, o ácido elágico hexosídeo, ambos com pronunciada atividade antioxidante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P. et al. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA CPAC, 1. p. 287 – 556, 1998.

ARAÚJO, D. S.; CHAVES, M. H.; Triterpenóides Pentacíclicos das Folhas de *Terminalia brasiliensis*. *Quim. Nova*, 2005.

ARDREY, R. E. *Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction*. San Francisco: John Wiley & Sons, 2003. 289 p.

ARAUJO, A. R., P. V. QUELEMES, M. L. G. PERFEITO, L. I. DE LIMA, M. C. SÁ, P. H. M. NUNES, G. A. JOANITTI, P. EATON, M. J. S. SOARES & J. R. S. A. LEITE. Antibacterial, antibiofilm and cytotoxic activities of *Terminalia fagifolia* Mart. extract and fractions. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, v.14: nº 1, 2015.

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

AYRES, M. C. C., M. H. CHAVES, D. RINALDO, W. VILEGAS, & G. M. V. JÚNIOR. 2009. Constituintes químicos e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. *Química Nova*, 32, 2009.

BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim. Nova*, 2007.

CATHARINO, R. R.; CUNHA, I. B. S.; FOGAÇA, A. O.; FACCO, E. M. P.; GODOY, H. T.; DAUDT, C. E.; EBERLIN, M. N.; SAWAYA, A. C. H. F. Characterization of must and wine of six varieties of grapes by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 41, n. 2, p. 185-190, 2006.

COSTA - LOTUFO, L. V. et al. A contribuição de produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: Estudos no laboratório nacional de oncologia experimental da Universidade Federal do Ceará. *Revista Virtual Química*, vol. 2, n.1, p. 47-58, 2010.

DWIVEDI, S. *Terminalia arjuna* Wight & Arn. Um medicamento útil para distúrbios cardiovasculares, *J. Ethnopharmacol.*, 2007.

ESTRELA, E. Tratado de Cooperação Amazônica – Secretaria Protempore, *Plantas medicinales Amazônicas: Realidad y Perpectativas*, Lima: TCA, 1995. 302 p.

GONÇALVES, A. L., A. ALVES FILHO & H. MENEZES. Atividade antimicrobiana de algumas plantas medicinais nativas contra bactérias

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

encontradas em úlceras de decúbito. *O Biológico*. 68: 133, 2006.

GARCEZ F.R, GARCEZ W.S, MARTINS M, LOPES F.A. Triterpenoids, lignan and flavans from *Terminalia argentea* (Combretaceae). *Biochem System and Ecol*, 31:229-232, 2003.

GOODACRE, R.; VAIDYANATHAN, S.; BIANCHI, G.; KELL, D. B. Metabolic profiling using direct infusion electrospray ionisation mass spectrometry for the characterisation of olive oils. *The Analyst*, v. 127, n. 11, p. 1457-1462, 2002.

GU, L.; KELM, M. A.; HAMMERSTONE, J. F.; ZHANG, Z.; BEECHER, G.; HOLDEN, J.; HAYTOWITZ, D.; PRIOR, R. L. Liquid chromatographic/electrospray ionization mass spectrometric studies of proanthocyanidins in foods. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 38, n. 12, p. 1272-1280, 2003.

LAWRENCE, G. H. M. *Taxonomy of Vascular Plants* Macmillan. New York: The Macmillan Company. 823 p., 1951.

MAURI, P.; PIETTA, P. Electrospray characterization of selected medicinal plant extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 23, n. 1, p. 61-68, 2000.

MURRAY, K. K.; BOYD, R. K.; EBERLIN, M. N.; LANGLEY, G. J.; LI, L.; NAITO, Y.; TABET, J. C. Standard definitions of terms relating to mass spectrometry. *Pure and Applied Chemistry*, 2006.

**REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672**

# REVISTA TÓPICOS

---

PETTIT, G. R., M. S. HOARD, D. L. DOUBEK, J. M. SCHMIDT, R. K. PETTIT, L. P. TACKETT & J. C. CHAPUIS. Antineoplastic agents 338. The cancer cell growth inhibitory. Constituents of Terminalia arjuna (Combretaceae). J. Ethnopharmacol. 53: 5763, 1996.

PIMENTA, A. F. G. et al. Economia verde, sustentabilidade e as plantas medicinais de Minas Gerais. XV Seminário sobre Economia Mineira – 30 anos. Diamantina, 2012.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003. cap. 24, p. 615-656.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Química Nova, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

WINSLOW C. EA , WINSLOW A. R. As relações sistemáticas das Coccaceae. John Wiley e Filhos; Nova Iorque: 1– 300, 1908.

WU, Q.; WANG, M.; SIMON, J. E. Determination of proanthocyanidins in fresh grapes and grape products using liquid chromatography with mass spectrometric detection. Rapid Communications in Mass Spectrometry, v. 19, n. 14, p. 2062-2068, 2005.

<sup>1</sup> Docente do Curso Superior de Farmácia da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP. Doutor em Química pela UNESP, Campus de Araraquara-SP, e-mail: [kmininel17@gmail.com](mailto:kmininel17@gmail.com)

# REVISTA TÓPICOS

---

<sup>2</sup> Docente do Curso Superior de Farmácia da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP. Mestre em Química (PPGQUIM/UNESP), e-mail: [silvana.mininel@ub.edu.br](mailto:silvana.mininel@ub.edu.br)

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672