CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA E FITOQUÍMICA DAS FLORES DE TERMINALIA CATAPPA L. (COMBRETACEAE)

DOI: 10.5281/zenodo.14885138

Francisco José Mininel¹
Silvana Márcia Ximenes Mininel²

RESUMO

Compostos fenólicos, como por exemplo, os taninos são estruturas complexas e constituem-se de recursos vegetais importantes, abundantes no gênero Terminalia. Várias espécies de Terminalia têm desempenhado um papel importante no sistema de medicina tradicional. Este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização farmacognóstica das flores de Terminalia catappa L., ainda pouco explorada. Em relação à prospecção fitoquímica, constatou-se a presença de variedade de compostos, dentre eles, heterosídeos flavonoides e saponínicos, esteróides, triterpenóides, taninos, cumarinas na amostra coletada. A amostra de flores de T. catappa L., apresentaram teor de cinzas totais e de cinzas insolúveis em ácido igual a 11,44% e 8,72%, respectivamente, e o teor de umidade foi de 9,03%. O teor de flavonoides totais observado foi de 1,32% para a amostra coletada. O teor de taninos totais verificado na amostra foi de 9,89%, e de 14,72%. Na análise por FIA-ESI-IT-MS, detectou-se vários compostos com

interesse farmacológico, tais como punicalagina, punicalina, ácido galágico, ácido elágico, ácido gálico entre outros. Em pesquisas futuras, os pesquisadores devem prestar mais atenção às espécies e às substâncias ativas como os taninos aqui detectados.

Palavras-chave: Flores de T. catappa L. Compostos fenólicos. Caracterização farmacognóstica. Taninos.

ABSTRACT

Phenolic compounds, such as tannins, are complex structures and constitute important plant resources, abundant in the genus Terminalia. Several species of Terminalia have played an important role in the traditional medicine system. This study aimed to perform the pharmacognostic characterization of the flowers of Terminalia catappa L., still little explored. Regarding the phytochemical prospecting, the presence of a variety of compounds was found, among them, flavonoid and saponin heterosides, steroids, triterpenoids, tannins, and coumarins in the collected sample. The sample of T. catappa L. flowers presented total ash and acidinsoluble ash contents equal to 11.44% and 8.72%, respectively, and the moisture content was 9.03%. The total flavonoid content observed was 1.32% for the collected sample. The total tannin content found in the sample was 9.89% and 14.72%. In the analysis by FIA-ESI-IT-MS, several compounds with pharmacological interest were detected, such as punicalagin, punicalin, galagic acid, ellagic acid, gallic acid, among others. In future research, researchers should pay more attention to the species and active substances such as tannins detected here.

Keywords: Flowers of T. catappa L. Phenolic compounds. Pharmacognostic characterization. Tannins.

1 INTRODUÇÃO

Terminalia catappa L. (COMBRETACEAE) é facilmente reconhecida por apresentar fruto suculento, fibroso, não-alado e folhas largamente obovadas com base cordada. A espécie é comumente cultivada e naturalizada na América Central e do Sul (STACE, 2010).

Apresenta inflorescência do tipo espigas de forma alongada em posição axilar e padrão das flores na inflorescência do tipo andro hermafroditas (Figura 1). Flores hipanto inferiores glabros; hipanto superiores cupuliformes. Lobos do cálice conspícuos; androceu estames inseridos em dois verticilos/filetes filiformes alongados e indumento do estilete glabro (MARQUETE & LOIOLA, 2015).



Figura 1. Aspectos da inflorescência de Terminalia catappa L. (COMBRETACEAE) (Fonte: https://acquaticos.blogspot.com/2010/08/folhas-magicas.html)

A espécie Terminalia catappa L., também conhecida como amendoeira-dapraia, uma espécie de árvore tropical, prospera principalmente nas regiões costeiras e próximas ao litoral da Ásia e do Pacífico, evidenciando uma distribuição natural que abrange vários continentes. A planta foi introduzida em várias localidades nas Américas e na África, onde agora é comumente encontrada. É cultivada em inúmeras áreas subtropicais e tropicais para diversos fins, indicando um amplo status de cultivo. Enquanto amendoeira-da-praia se harmoniza com alguns ecossistemas, em certas áreas é às vezes considerada moderadamente invasiva, onde pode ter impacto sobre os ecossistemas locais, embora seu nível de ameaça geralmente dependa do contexto (Figura 2).



Figura 2. Mapa de distribuição de Terminalia catappa L. (COMBRETACEAE). (Fonte: https://www.picturethisai.com/pt/wiki/Terminalia_catappa.html)

As sementes de amendoeira-da-praia têm um sabor semelhante ao das amêndoas verdadeiras, embora as duas plantas não sejam relacionadas. Até o seu óleo pode ser utilizado de maneira similar ao óleo de amêndoas e ainda tem o benefício adicional de durar mais antes de estragar. Extratos da casca e da madeira podem ser usados para criar corantes pretos e amarelos. Essa madeira é frequentemente utilizada na fabricação de móveis e ferramentas (LOPES, 2021).

Este trabalho teve o objetivo de contribuir para a caracterização farmacognóstica da espécie T. catappa L., bem como analisar a presença de

metabólitos nas inflorescências da planta através de espectrometria de massas utilizando a técnica de FIA-ESI-IT-MS.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A espécie Terminalia catappa L. (T. catappa L) é uma espécie comumente encontrada em regiões tropicais e subtropicais, principalmente nas áreas costeiras de muitos países. A espécie é nativa da Ásia e foi introduzida no Brasil como árvore ornamental, sendo bastante conhecida pela sombra que proporciona e pelos seus frutos que são geralmente consumidos pelas crianças. Amendoeira-da-praia, amendoeira-da-índia e amendoeira tropical são algumas das suas denominações em vários países; no Brasil a espécie é amplamente conhecida como chapéu-de-sol, guarda-sol, árvore de anoz, castanholeira e castanhola (MUJAWDIYA & KAPUR, 2020).

Na prática popular, Terminalia catappa L. é utilizada no tratamento de doenças associadas ao estômago, principalmente suas folhas. As folhas caídas são empregadas na preparação de infusões como bebidas recreacionais, pelo fato de as folhas verdes apresentarem um sabor muito adstringente, devido à presença do alto teor de taninos (BELINA et al, 2019). Diversas pesquisas estão sendo realizadas sobre as atividades biológicas de Terminalia catappa L., já tendo sido comprovada as ações antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, antiviral, antidiabética. Tais atividades são atribuídas, basicamente, a existência de compostos fenólicos, dos quais alguns compostos já foram isolados e caracterizados (SANTOS; LORENZO & LANNES, 2015).

T. catappa tem sido utilizada na aquicultura em virtude de suas propriedades imuno terapêuticas, antiparasitárias, bactericidas e antifúngicas; e estudadas por pesquisadores da Tailândia, Índia e China que utilizam tanto as folhas como os frutos (SANTOS et al., 2013).

Um dos aspectos mais pesquisados de T. catappa é sua utilidade fitoquímica e etnobotânica. Ele contém vários fitoquímicos como carboidratos, flavonoides, polifenóis, fitoesteróis, taninos e saponinas. As sementes de T. catappa secas ao ar contêm 52,02% de gordura, 25,42% de proteína, 14,6% de fibra e 5,98% de açúcar. Outro aspecto importante desta árvore é a composição de ácidos graxos de seu óleo de semente, comumente conhecido como Óleo de semente de T. catappa (DARAN et al, 2021).

Os Elagitaninos (ET) são uma família de polifenóis presentes em nozes e frutas, como nozes, morangos e romãs. Seu consumo tem sido amplamente estudado em relação à promoção da saúde devido às suas propriedades benéficas anti-inflamatórias, antiaterogênicas e antioxidantes, entre outras (ESPIN & GARCIA-CONESA, 2012). Os mais abundantes desses polifenóis ET são Punicalagina (PC) e Ácido Elágico (EA), encontrados amplamente em T. catappa. (GIL et al, 2000). No entanto, PC e EA não são facilmente detectados em tecidos humanos ou plasma após o consumo de uma grande quantidade de produtos de romã (MERTENS et al, 2006). Sabese agora que após a ingestão de romã ou produtos à base de romã, os polifenóis ET são mal absorvidos pelo intestino porque são grandes (por exemplo, peso molecular de 1084,71 g/mol para PC) e hidrofóbicos, e a

microbiota intestinal os transforma em metabólitos potentes chamados urolitinas (Uro) (GARCIA-VILLALBA et al, 2017). O modelo de simulação gastrointestinal TWIN-SHIME mostra diferenças entre os metabólitos da urolitina humana na composição da microbiota intestinal, no metabolismo do polifenol da romã e no transporte ao longo do trato intestinal (Figura 3). Devido à baixa biodisponibilidade de PC e EA e ao extenso catabolismo intestinal, foi sugerido que Uro, em vez de EA e PC, são as moléculas bioativas reais (GARCIA-VILLALBA et al, 2013). A circulação e distribuição de PC, EA e seus metabólitos foram estudadas em diferentes tecidos em humanos e animais, incluindo porcos, ovelhas, pássaros, roedores e insetos (ESPIN et al, 2007). Além disso, descobriu-se que o Uro se acumula significativamente no plasma e nos tecidos (ESPIN et al, 2013). Conforme mostrado na Figura 3, o PC de romãs e outras fontes é principalmente hidrolisado em EA no ambiente ácido do estômago. O EA então passa por uma série de transformações metabólicas pela microbiota intestinal para formar Uro, com Uro A e Uro B sendo os dois principais produtos finais.

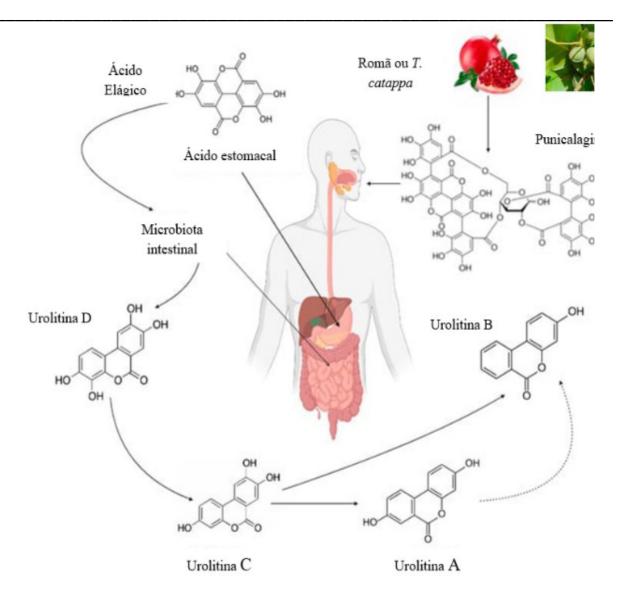


Figura 3. Produtos da degradação punicalagina (PC) de Terminalia catappa L. no organisi vivo.

(Fonte: https://www.mdpi.com/1422-0067/24/10/8476)

3 METODOLOGIA

3.1 Prospecção fitoquímica

O material botânico (inflorescências), aproximadamente 1,0 Kg, foi seca em estufa de circulação de ar, a 40°C, e moído em moinho de facas para a realização das análises fitoquímicas. A pesquisa dos metabólitos secundários foi realizada através de testes de prospecção fitoquímica de acordo com metodologias adaptadas de Costa (1982), Matos (1988). Os constituintes do metabolismo secundário pesquisados foram: antraquinonas, esteróides e triterpenóides, heterosídeos flavonóides, heterosídeos saponínicos, taninos, alcalóides, cumarinas e resinas.

3.2 Testes de pureza

A partir do material botânico pulverizado, foram determinados os teores de cinzas totais, insolúveis em ácido, e a umidade. Os ensaios para a determinação desses parâmetros de qualidade foram realizados em triplicata, conforme técnica adaptada da Farmacopeia Brasileira (1988).

3.3 Testes quantitativos

Com base nos resultados obtidos na prospecção fitoquímica foram realizados os doseamentos de flavonoides (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2002) e taninos totais (WATERMAN & MOLE, 1994), com três repetições para cada amostra.

3.4 Análise da infusão de flores por FIA-ESI-IT-MS

O desenvolvimento de métodos analíticos que combinam menor tempo de análise, maior sensibilidade e seletividade, simplicidade de manuseio, baixo custo e potencialidade adequada para automação constitui-se num

campo de pesquisa amplo e em constante expansão na área de Química Analítica. Nesse contexto, a análise por injeção em fluxo, FIA - Flow Injection Analysis tem sido explorada com sucesso na análise de grande diversidade de substâncias, proporcionando várias vantagens, tais como, uso de instrumentação versátil, baixo custo dos componentes do sistema, elevada freqüência de amostragem, consumo reduzido de reagentes e amostras e, conseqüentemente, redução na geração de resíduos (RUZICKA & HANSEN, 2008; DANET et al.,2001). Além disto, o sistema FIA pode ser automatizado, minimizando os riscos de intoxicação do analista devido a uma menor exposição aos reagentes e amostras em comparação aos procedimentos manuais.

Em vista do exposto e conhecendo, em parte, a composição química da planta, foi realizada nesta etapa do estudo, a caracterização dos metabólitos secundários presentes no extrato hidroalcóolico das flores de Terminalia catappa L. por FIA-ESI-IT-MSⁿ

Foi utilizado 1 mg dos extratos secos em etanol 70% dissolvendo-os em 1 mL de metanol grau HPLC. A solução foi filtrada em membrana de PTFE com poro de 0,45 µm. A solução filtrada foi introduzida diretamente na fonte de ESI por meio de uma seringa de vidro impulsionada por meio de um sistema de bombeamento em fluxo de 5 µL min⁻¹.

Escolheu-se o modo negativo para geração e análise dos espectros de massas em primeira-ordem (MS), bem como para os demais experimentos em múltiplos estágios (MSⁿ).

O primeiro evento foi uma varredura completas (full-scan) do espectro de massas para adquirir os dados dos íons na faixa m/z estabelecida. A partir dos dados da primeira varredura, obteve-se os próximos eventos (experimentos MSⁿ para íons precursores pré-selecionados com energia de colisão entre 25 e 30% da energia total do instrumento.

Utilizou-se o software Xcalibur versão 1.3 (Thermo Finnigan®) durante a aquisição e processamento dos dados espectrométricos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Devido à grande importância dos produtos vegetais para o tratamento de diversas doenças, a química e a medicina desenvolveram rapidamente os seus campos específicos para identificar as substâncias biotivas e consequentemente introduzi-las em tratamentos terapêuticos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Na pesquisa de metabólitos secundários foi detectada a presença de heterosídeos flavonoides e saponínicos, esteróides, triterpenóides, taninos, cumarinas na amostra coletada.

A amostra de flores de T. catappa L., apresentaram teor de cinzas totais e de cinzas insolúveis em ácido igual a 11,44% e 8,72%, respectivamente, e o teor de umidade foi de 9,03%.

O teor de flavonoides totais observado foi de 1,32% para a amostra coletada. O teor de taninos totais verificado na amostra foi de 9,89%, e de 14,72%.

A Figura 4 indica que o primeiro evento foi uma varredura completas (fullscan) do espectro de massas para adquirir os dados dos íons na faixa m/z estabelecida. A partir dos dados da primeira varredura, obteve-se os próximos eventos (experimentos MSⁿ para íons precursores préselecionados com energia de colisão entre 25 e 30% da energia total do instrumento.

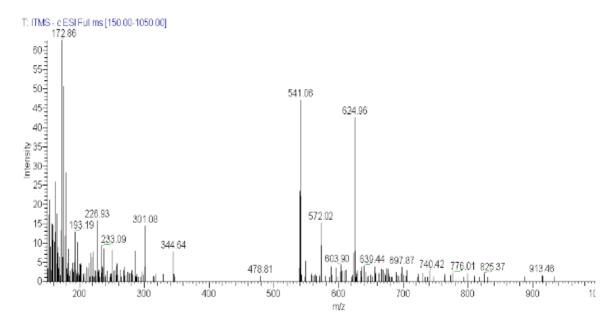


Figura 4. Espectro de massas em modo full-scan da infusão das flores de T. catappa L. (Fonte: Os autores)

Na análise dos espectros de massas em full-scan da infusão destacam-se vários íons precursores $[M - H]^-$ em modo negativo (Figura 4).

Tabela 1. Compostos detectados na infusão de flores de T. catappa L.

Compostos	Ms^n	Nome do composto		
REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672				

detectados (m/z)	(fragmentos)	
541	301, 781, 601, 532, 275	Isômeros da Punicalagina
1083	781, 601, 301	Punicalagina
781	601, 301	Punicalina
301	301, 257, 229, 185	Ácido Elágico
173	57, 67, 111	Fragmento de ácido químico
625	301, 271, 255	Quercetina-3,4`-di-O- glicosídeo
601	542, 466, 301,	Ácido galágico

	275	
169	169, 125,109	Ácido gálico
193	149	Ácido ferúlico
603	301	Derivado da quercetina
739	563, 417, 285	Canferol di- ramnosídeo- hexosídeo
741	609, 433	Quercetina-pentosideo- rutinosidio
227	212, 185, 157, 143	Resveratrol

O íon em m/z 169, corresponde a molécula desprotonada do ácido gálico, conforme indicado na Figura 5.

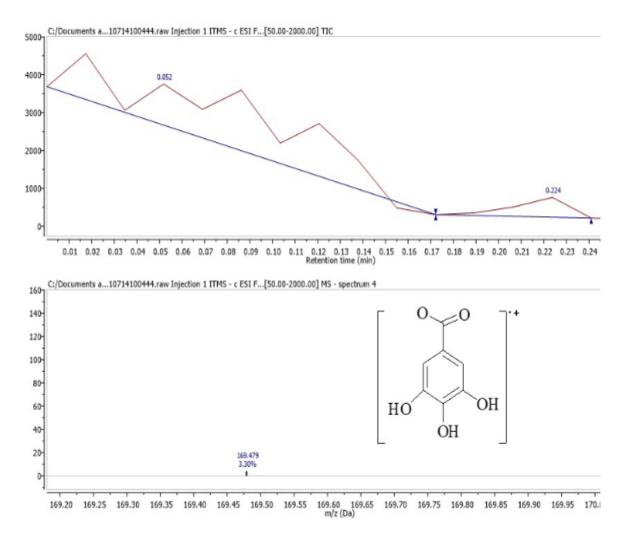


Figura 5. Pico em m/z 169 (proveniente da perda de m/z 102). (Fonte: Os autores)

O íon em m/z 301, corresponde à molécula desprotonada do ácido elágico, conforme indicado na Figura 6.

A partir da perda de dióxido de carbono (CO₂) chega-se ao íon produto com m/z 257. O íon em m/z 257 perde uma molécula de monóxido de carbono (CO) formando o fragmento com m/z 229 (Figura 6).

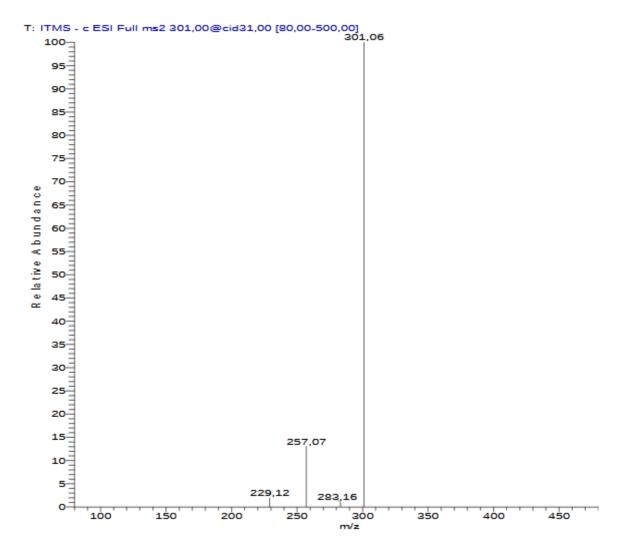


Figura 6. Pico em m/z 301 (ácido elágico). (Fonte: Os autores)

Punicalagina foi detectada como uma espécie de íon duplamente carregado, exibindo um íon [M - 2H]²⁻ em m/z 541, que é equivalente a um peso

molecular de 1084 Da. O fragmento em m/z 601 (Figura 7) no experimento MS² indicou a perda de uma fração de ácido galágico (Figura 8) (FISCHER et al., 2011).

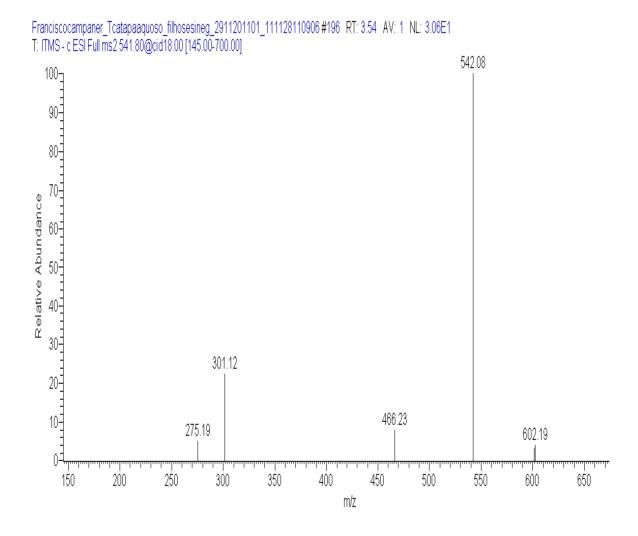


Figura 7. Pico em m/z 601 (ácido galágico).

Figura 8. Compostos derivados da punicalagina (m/z 1083). (Fonte: Os autores)

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos na prospecção fitoquímica, nos testes de pureza e quantitativos, forneceram parâmetros padrões que poderão ser utilizados no controle de qualidade de amostras de flores de T. catappa L. que possam vir a ser comercializadas futuramente.

Em relação à análise da infusão por FIA-ESI-IT-MS, detectou-se uma variedade de compostos fenólicos, todos com potentes atividades biológicas, tais como antioxidantes, antinflamatórios, antiucerogênicos etc. Taninos foram analisados, e as regras de fragmentação destes taninos foram especuladas, o que poderia fornecer referências para a análise estrutural de medicamentos naturais e seus análogos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELINA, M. C. da. et al. Abordagem fitoquímica e farmacológica das folhas Terminalia catappa LINN (COMBRETACEAE). Desafios e soluções da sociologia; v. 2. Cap. 2. Atena Editora, 2019.

COSTA, A.F. Farmacognosia. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982.

DARAM, P.S.R.; JITTA, C.S.; SHREEDHARA, C.S.; MISRA, K.; GOURISHETTI, R. LOBO. Investigation of anti-inflammatory and anti-arthritic potentials of Terminalia catappa bark using in vitro assays and carrageenan-induced inflammation, complete Freund's adjuvant induced arthritis model in rats. South African J. Bot. 141, 2021.

ESPÍN, J.C; GONZÁLEZ-BARRIO, R.; CERDÁ, B.; LÓPEZ-BOTE, C.; REY, A.I.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Porco ibérico como modelo para esclarecer pontos obscuros na biodisponibilidade e metabolismo de elagitaninos em humanos. J. Agric. Food Chem., 2007.

ESPIN, JC; GARCIA-CONESA, M.T. Os metabólitos do elagitanino, o glicuronídeo da urolitina A e sua aglicona urolitina A, melhoram a inflamação induzida por TNF e os marcadores moleculares associados em células endoteliais aórticas humanas. Mol. Nutr. Food Res., 2012.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. São Paulo: Atheneu, v. 1., 1988.

FISCHER, U.A; CARLE, R; KAMMERER, D.R. Identificação e quantificação de compostos fenólicos da casca, mesocarpo, arilo e sucos produzidos de forma diferente por HPLC-DAD–ESI/MSn de romã (Punica granatum L.), FOOD CHEM., 2011

GARCIA-VILLALBA, R.; VISSENAEKENS, H.; PITART, J.; ROMO-VAQUERO, M.; ESPÍN, JC; GROOTAERT, C.; SELMA, MV; RAES, K.; SMAGGHE, G.; POSSEMIERS, S. O modelo de simulação gastrointestinal TWIN-SHIME mostra diferenças entre os metabólitos da urolitina humana na composição da microbiota intestinal, no metabolismo do polifenol da romã e no transporte ao longo do trato intestinal. J. Agric. Food Chem., 2017.

LOPES, Caroline Brasil et al. Composição física e físico-química de frutos da Terminalia catappa Linn variedades roxa e amarela e de suas amêndoas,

2021.

MARQUETE, N., LOIOLA, M.I.B. Combretaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

MUJAWDIYA, Pavan K.; KAPUR, Suman. Triagem de atividades antioxidantes e inibitórias de α-glucosidase de plantas medicinais indianas. Current Enzyme Inhibition, v. 16, n. 2, p. 145-154, 2020.

MATOS, F.J.A. Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza/CE: Edições UFC, 1988.

MERTENS-TALCOTT, SU; JILMA-STOHLAWETZ, P.; RIOS, J.; HINGORANI, L.; DERENDORF, H. Absorção, metabolismo e efeitos antioxidantes de polifenóis de romã (Punica granatum L.) após ingestão de um extrato padronizado em voluntários humanos saudáveis. J. Agric. Food Chem., 2006.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos ssecundários vegetais e benefícios antioxidantes. Journal of Biotechnology and Biodiversity. Vol. 3, nº 4: p. 146-152, 2012.

SANTOS, O. V., LORENZO, N. D., LANNES, S. C. S. Chemical, morphological, and thermogravimetric of Terminalia catappa Linn. Food Science and Technology, 36(1), 151- 158, 2016.

SANTOS, D.M.; SANTOS, E.L.; SOUZA, A.P.L.; TEMOTEO, M.C.; CAVALCANTI, M.C.A.; SILVA, F.C.B.; PONTES, E.C. Uso de extrato da

folha desidratada da amendoeira (Terminalia catappa) no cultivo de Betta splendes. PUBVET 7(4), 2013.

STACE, C.A. Flora Neotropica, Monograph, v.107, p.170-176, 2010.

WATERMAN, P.G., MOLE, S. Methods in ecology: analysis of phenolic plant metabolites. Victoria/Australia: Blackwell Scientific Publications, 1994.

- ¹ Docente do Curso Superior de Farmácia da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP. Doutor em Química pelo Instituto de Química da 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 (PPGQUIM/UNESP). E-mail: Silvana.mininel@ub.edu.br