REVISTA TÓPICOS

ABORDAGEM FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE TERMINALIA MANTALY (COMBRETACEAE) POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

DOI: 10.5281/zenodo.15834169

Francisco José Mininel[1]
Silvana Márcia Ximenes Mininel[2]

RESUMO

A Sete Copas Africana (Terminalia mantaly) é uma árvore imponente e majestosa, que pode atingir até 20 metros de altura e apresenta uma copa densa e ampla, com sete grandes ramos principais que se estendem horizontalmente. Essa espécie é nativa do continente africano, mas pode ser encontrada em diversas regiões do mundo, incluindo o Brasil, onde é amplamente utilizada no paisagismo. Este trabalho teve como objetivos investigar as principais classes de substâncias no extrato hidroalcoólico de folhas. Os dados obtidos através da prospecção fitoquímica permitem concluir que os extratos hidroalcoólicos de T. mantaly possuem várias substâncias fenólicas e a análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) indicou a presença de metabólitos como a punicalagina, punicalina, ácido elágico e derivado. Portanto, as substâncias identificadas nas folhas apresentam potencial para serem empregadas no

desenvolvimento de novos fármacos pela indústria farmacêutica.
Palavras-chave: Terminalia mantaly. Prospecção fitoquímica. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

ABSTRACT

The African Seven-Cup Tree (Terminalia mantaly) is an imposing and majestic tree that can reach up to 20 meters in height and has a dense and wide crown with seven large main branches that extend horizontally. This species is native to the African continent, but can be found in several regions of the world, including Brazil, where it is widely used in landscaping. The objective of this study was to investigate the main classes of substances in the hydroalcoholic extract of leaves. The data obtained through phytochemical prospecting allow us to conclude that the hydroalcoholic extracts of T. mantaly contain several phenolic substances and the analysis by high-performance liquid chromatography (HPLC) indicated the presence of metabolites such as punicalagin, punicalin, ellagic acid and derivative. Therefore, the substances identified in the leaves have potential to be used in the development of new drugs by the pharmaceutical industry.
Keywords: Terminalia mantaly. Phytochemical prospecting. High-performance liquid chromatography (HPLC).

INTRODUÇÃO

Terminalia mantaly H. Perrier (Figura 1), também conhecida como amendoeira de Madagascar (Madagascar almold tree), Combretaceae, também chamada sete copas africana, é uma árvore de grandes dimensões

que pode atingir até 20 metros de altura. Sua origem é Madagascar. A árvore possui tronco reto. Suas sementes têm cor verde e amarela. Terminalia mantaly cresce 10-20 m com uma haste ereta e única, galhos dispostos em camadas. Casca pálida cinza, lisa e bastante malhada. Folhagem suave, verde brilhante quando jovem, em rosetas terminais de 4-9 folhas desencontradas em caules curtos e espessos; comprimento até 7 cm, ápice amplamente arredondado, base muito afilada, margem ondulada. As flores são pequenas, esverdeadas, em pontas eretas até 5 cm de comprimento. A fruta é pequena oval; sementes, cerca de 1,5 cm de comprimento sem asas óbvias.O nome genérico vem do latim "terminalis" (término) e refere-se a o hábito das folhas sendo amontoadas nas pontas dos brotos. Os ramos em camadas são uma característica desta espécies. Seu uso no Brasil é essencialmente no paisagismo (LORENZI, 2002). Muitos produtores, por desconhecimento, a comercializam como Terminalia catappa, que se trata na verdade da Amendoeira-da-praia.

Figura 1. Aspectos das folhas de Terminalia mantaly (COMBRETACEAE)
Fonte: https://plants.swtexture.com/2009/12/tree-terminalia-mantaly-madagascar.html

Esse trabalho teve como objetivo, traçar o perfil fitoquímico preliminar do extrato hidroalcoólico das folhas de Terminalia mantaly, através de reações clássicas de identificação e estabelecer o perfil cromatográfico do extrato por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Terminalia mantaly (H. Perrier) é fonte de tratamento para diversas doenças, incluindo malária e sintomas relacionados, em partes do sudoeste de Camarões. A espécie vegetal apresenta a seguinte classificação científica, conforme descrito na Tabela 1:

Tabela 1 – Classificação científica de Terminalia mantaly

Classificação científica de Terminalia mantaly (H. Perrier).	
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Myrtales
Família	Combretaceae
Gênero	Terminalia
Espécie	T. mantaly

Dados da literatura indicam que T. mantaly possui compostos antiplasmodiais altamente potentes com atividade significativa no

desenvolvimento intraeritrocítico de Plasmodium falciparum. Essas atividades a qualificam como fontes promissoras de novos compostos antiplasmodiais. Estudos adicionais de purificação e caracterização são esperados para revelar alvos moleculares em anéis e merozoítos (MBOUNA, et al., 2002).

Doenças fúngicas afetam anualmente de 3 a 4 milhões de pessoas em todo o mundo. De particular importância, a crescente resistência de leveduras oportunistas patogênicas aos medicamentos atuais é uma preocupação séria e tem atraído a atenção da comunidade científica. Medicamentos novos, seguros e econômicos, de origem natural ou sintética, estão sendo ativamente pesquisados. Dados epidemiológicos recentes destacam a crescente carga de leveduras patogênicas sobre pessoas em ambientes pobres. Espécies de Candida e Cryptococcus neoformans são as principais leveduras patogênicas e apenas alguns medicamentos antifúngicos foram desenvolvidos até o momento para tratar as infecções invasivas que causam. Plantas medicinais têm demonstrado credibilidade como fontes de tratamento para doenças infecciosas (NEWMAN & CRAGG, 2007).

A literatura indica o potencial inibitório de compostos isolados deste extrato MeOH contra algumas leveduras patogênicas e algumas enzimas de importância metabólica (TCHUENTE TCHUENMOGNE et al, 2017).

Em seu trabalho de pesquisa Tchuente Tchuenmogne et al (2017), detectaram variedade de constituintes químicos e isolaram do extrato MeOH (Figura 2) e todos apresentaram atividade antifúngica pronunciada. A investigação química do extrato metanólico anti-levedura da casca do

caule de Terminalia mantaly levou ao isolamento de sete compostos: ácido elágico 3-O-metil-4-O-α-ramnopiranosídeo (1), ácido 3-O-metilelágico (2), arjungenina ou ácido 2,3,19,23-tetrahidroxiolean-12-en-28-óico (3), arjunglucosídeo ou ácido 2,3,19,23-tetrahidroxiolean-12-en-28-óico glucopiranosídeo (4), ácido 2α,3α,24-trihidroxiolean-11,13(18)-dien-28-óico (5), estigmasterol (6), estigmasterol 3-O-β-D-glucopiranosídeo (7).

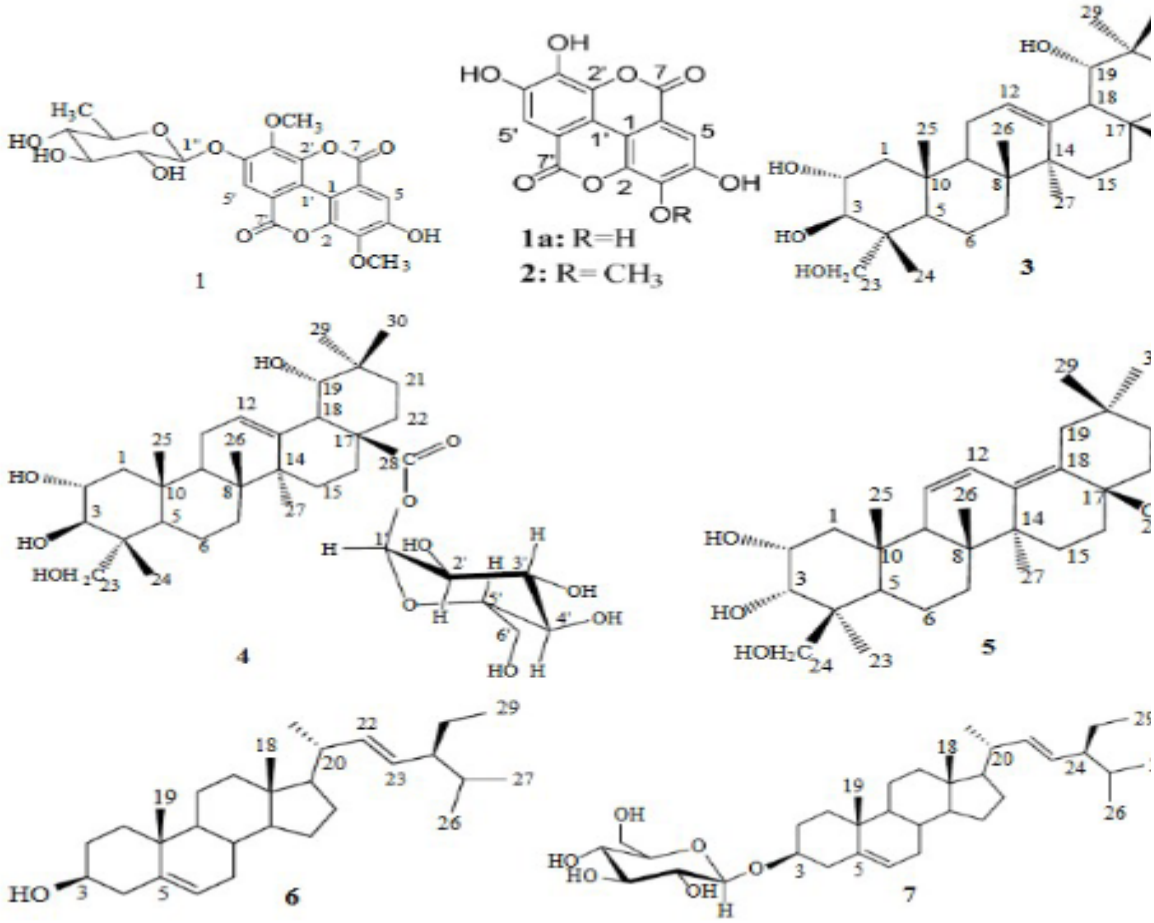

Figura 2. Estruturas dos compostos isolados 1-7 de Terminalia mantaly (Combretaceae)
Fonte: (TCHUENTE TCHUENMOGNE et al, 2017)

METODOLOGIA

A análise fitoquímica preliminar foi realizada segundo metodologia descrita por Matos (2009), com base em reações químicas de coloração, precipitação e formação de espuma, bem como fluorescência evidenciada, no caso das cumarinas , em câmara UV (modelo VA50, Prodicil, Brasil).

As separações cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (analítico, gradiente quaternário) modelo PU-2089 (Jasco®), acoplado a um detector de arranjo de foto diodos com faixa de varredura de 195-650nm e intervalo mínimo de 1 nm, modelo MD-2010 (Jasco®), bem como em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (analítico/preparativo, gradiente binário) acoplado a um detector de arranjo de foto diodos com faixa de varredura de 190-800nm e intervalo mínimo de 1 nm, modelo ProStar 210/330 (Varian®).

As folhas de Terminalia mantaly. foram coletadas no horto da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP.

As infusões foram utilizadas na preparação de extratos aquosos de folhas da espécie vegetal. Os infusos foram preparados na proporção de 10% (m/v), sendo adicionado ao material vegetal moído água a 80°C (DALLUGE et al.,1998). O recipiente foi mantido fechado e deixado em repouso por 10 min. Posteriormente, a solução do infuso foi filtrada em filtro de papel. O sobrenadante obtido foi filtrado em membrana de PTFE (Millex®) de 0,45 µm e analisado por HPLC ou ainda concentrado em liofilizador ou em fluxo de nitrogênio para posterior armazenamento na forma sólida. Estes foram preparados por maceração, sendo o processo acelerado por meio de ultrassom. Quantidades conhecidas das folhas secas

e pulverizadas da espécie vegetal foram primeiramente extraídas com 25 mL $CHCl_3$ em quatro etapas, a cada extração o extrato líquido foi separado e acondicionado em um frasco, ao final da quarta extração o material vegetal foi seco e submetido às mesmas etapas de extração em MeOH.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estudo da fitoquímica tem importância na elucidação dos metabólitos secundários, pois tem a finalidade de identificar, caracterizar a estrutura química e avaliar as propriedades biológicas, além de registrar as substâncias provenientes das drogas vegetais (BRAZ FILHO, 2010). A prospecção fitoquímica é um estudo preliminar que irá detectar a presença dos compostos de determinada planta e caracterizá-los. Por se tratar de um estudo básico para a investigação de plantas medicinais, é importante para orientar as etapas seguintes a serem realizadas na produção de fitoterápicos ou medicamentos de origem vegetal.

A Tabela 2 indica as principais classes de substâncias químicas presentes no extrato hidroalcoólico de Terminalia mantaly. Os testes fitoquímicos realizados nos extratos revelaram a presença de vários grupos de metabólitos secundários que podem contribuir para a identificação de marcadores químicos para as espécies estudadas, sendo estes indispensáveis para os testes de qualidade e integridade de fitoterápicos, conforme preconiza a Resolução - RDC n. 14/2010 - da Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA, ao Ministério da Saúde (ANVISA, 2010). Estas substâncias marcadoras características tornam a matéria prima mais conhecida, sendo fator importante para padronização de fitoterápicos,

especialmente mediante a grande variabilidade química das plantas medicinais (VILEGAS et al., 2009).

Tabela 2 – Perfil fitoquímico qualitativo dos extratos foliares de Terminalia mantaly.

Classe de Compostos	Presença (+) /Ausência (-)
Ácidos orgânicos	+
Açúcares redutores	-
Alcaloides	+
Antraquinonas	+
Catequinas	+
Cumarínicos	+

Depsídeos e Depsidonas	+
Fenóis	+
Flavonoides	+
Glicosídeos cardiotônicos	-
Polissacarídeos	-
Purinas	-
Saponinas espumídicas	+
Taninos	+

Pela análise do cromatograma (Figura 3), verifica-se a presença de isômeros da punicalagina e punicalina em (λmax 218, 260 e 379 nm),

respectivamente, e elágico e derivado, λmax 250, 306 e 368 nm (SEERAM et al., 2004). De acordo com dados da literatura, o composto punicalagina isolado anteriormente de Terminalia chebula Retz. com grupo (S)-HHDP (ligação às posições 2,3 do resíduo de glicose) possui a capacidade para inibir o vírus da Herpes Simplex tipo-1 (HSV-1) e HIV-1, ressaltando o seu valor potencial no tratamento de pacientes com AIDS, que também apresentam sintomas HSV-1 (WEAVER, 1992).

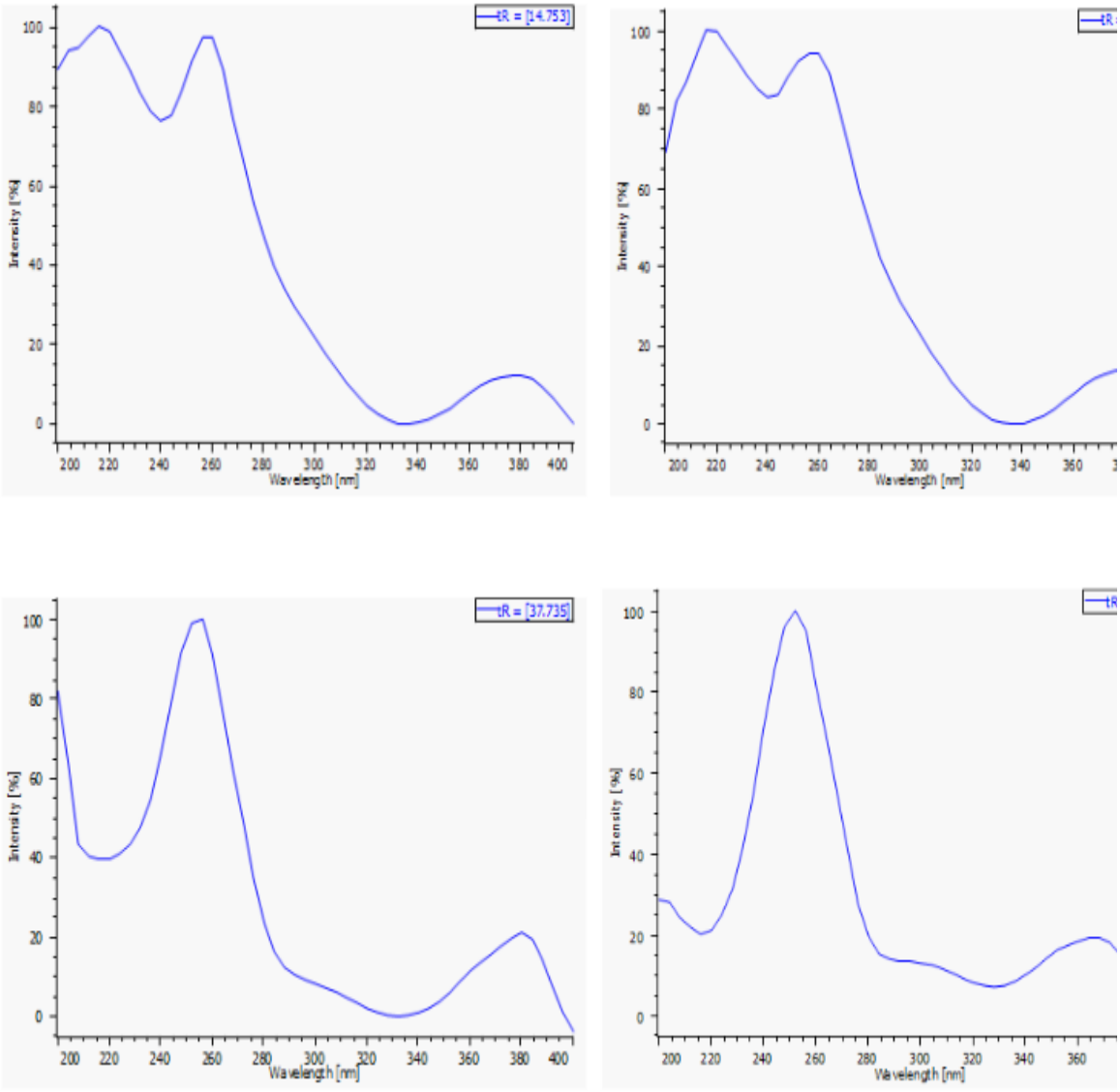

Figura 3. Extrato hidroalcoólico 70% de folhas de Terminalia mantaly, solubilizado em H2O:MeOH, 10 mg/mL. Coluna Hydro com fluxo de 1mL/min. Método gradiente 5-60%, min. a 270 nm. Tr = 14,75 (punicalagina); Tr = 18,86 (punicalina); Tr = 37,73 (ácido elágic Tr = 47,21 (derivado do ácido elágico).

Fonte: Os autores.

O ácido elágico atua como antioxidante, o que significa que pode neutralizar compostos nocivos conhecidos como radicais livres para proteger suas células contra danos e estresse oxidativo (ALI et al., 2020).

A punicalagina é um composto bioativo, mais especificamente um tanino hidrolisável (elagitanino), encontrado principalmente na casca e no mesocarpo (parte branca esponjosa) da romã (Punica granatum L.). É conhecida por suas potentes propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, sendo considerada uma molécula multifuncional com potenciais benefícios para a saúde. Existem suplementos alimentares que contêm extrato de romã com alta concentração de punicalagina.

A substância química combate o estresse oxidativo e protege as células contra danos causados pelos radicais livres. É um anti-inflamatório que pode ajudar a reduzir a inflamação no corpo, potencialmente auxiliando na prevenção de doenças crônicas.

A punicalagina é metabolizada pelas bactérias intestinais em ácido elágico e urolitinas, compostos que também possuem propriedades benéficas à saúde (SANTIAGO et al., 2014).

A punicalagina, um composto polifenólico encontrado na romã, é metabolizada no trato gastrointestinal, principalmente pelas bactérias intestinais, em ácido elágico e urolitinas, que são absorvidas e exercem seus efeitos benéficos no organismo (Figura 4).

O processo de metabolização da punicalagina (hidrólise no intestino delgado), libera o ácido elágico (GENOVESE, 2019).

As bactérias intestinais convertem o ácido elágico em urolitinas A e B, que são os principais metabólitos ativos da punicalagina. Dessa forma, as urolitinas são absorvidas no intestino e circulam no sangue, atingindo vários órgãos e tecidos, onde exercem seus efeitos.

No fígado, as urolitinas podem ser conjugadas antes de serem excretadas na urina. A conversão em urolitinas aumenta a biodisponibilidade da punicalagina, permitindo que o corpo utilize seus compostos ativos.

As urolitinas possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas, contribuindo para os benefícios da romã à saúde, circulando no sangue, alcançando diversos órgãos e exercendo seus efeitos em diferentes tecidos, como coração, cérebro e fígado.

Em resumo, a metabolização da punicalagina envolve sua conversão em ácido elágico e urolitinas pelas bactérias intestinais, aumentando sua biodisponibilidade e permitindo que seus metabólitos ativos exerçam seus efeitos benéficos no organismo (NUÑES-SÁNCHEZ et al, 2014).

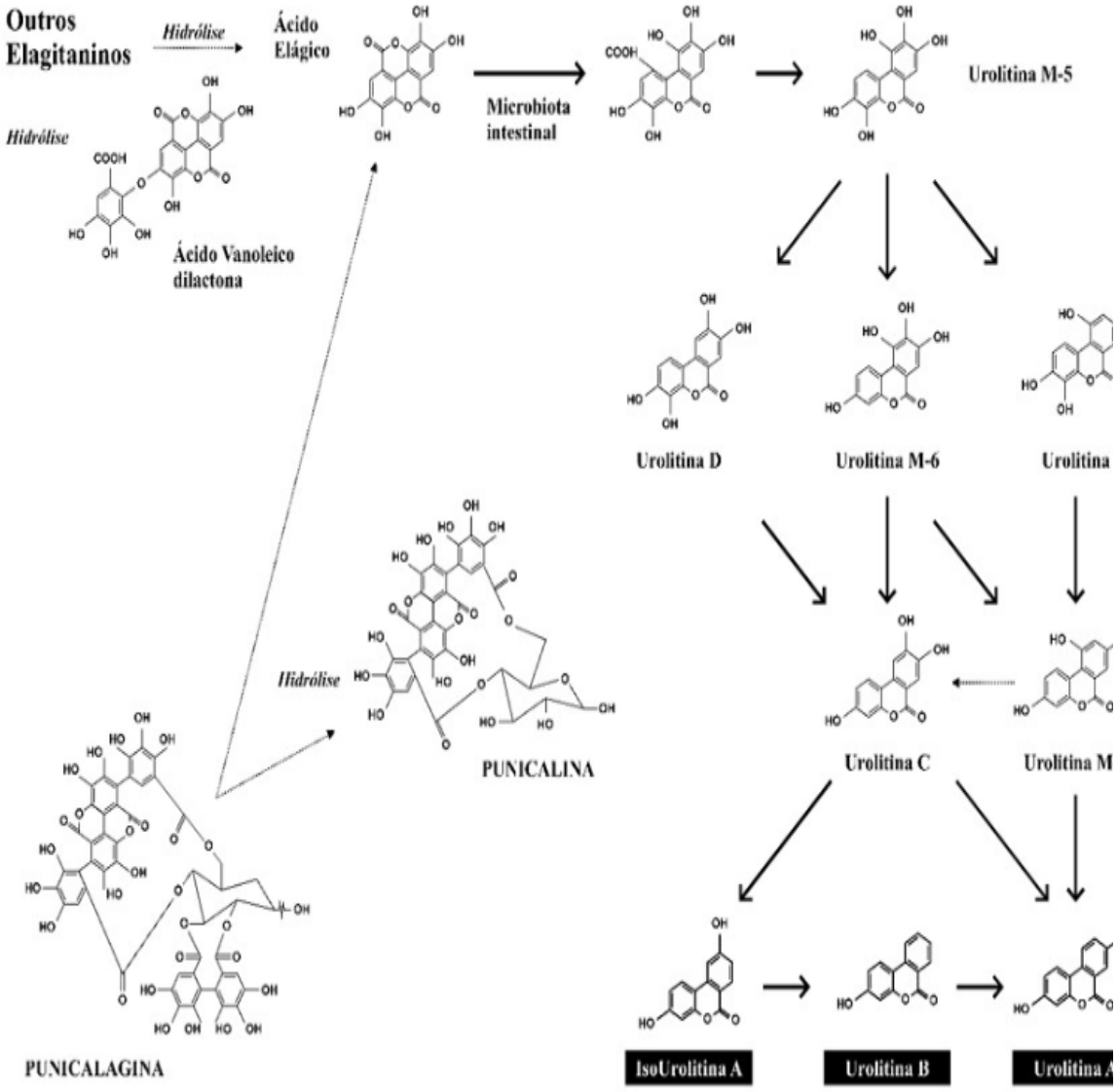

Figura 4. Bioconversão de elagitaninos a urolitinas.
Fonte: (NUÑES-SÁNCHEZ et al, 2014)

Por fim, conforme dados da literatura, dada a potência antifúngica desses compostos, e também a implicação das enzimas testadas em algumas disfunções metabólicas de importância para a saúde pública (obesidade, epilepsia etc), prevemos a necessidade de mais estudos para identificar

derivados de sucesso potentes que devem posteriormente entrar no processo de desenvolvimento de medicamentos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises de prospecção fitoquímica preliminar realizada na espécie vegetal Terminalia mantaly, foram positivas para a presença dos principais fitocompostos pertencentes à diferentes classes de metabólitos, tais como, ácidos orgânicos, alcaloides, antraquinonas, catequinas, cumarinas, depsídeos e depsidonas, fenóis simples, flavonoides, saponinas e taninos.

A análise do cromatograma indica a presença de variedade de compostos fenólicos com grande potencial farmacológico, tais como isômeros da punicalagina, punicalina, ácido, ácido elágico entre outros.

Portanto, os dados obtidos neste trabalho nos permitem concluir que os extratos hidroalcoólicos e infusões feitas com a folha de T. mantaly são potenciais anti-inflamatórios e antioxidantes e, assim, apresentam potencial para serem empregados no desenvolvimento de novos fármacos pela indústria farmacêutica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, Omnia M. et al. Synthesis of lactoferrin mesoporous silica nanoparticles for pemetrexed/ellagic acid synergistic breast cancer therapy. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 188, p. 110824, 2020.

ANVISA, Brasil et al. Farmacopeia brasileira. Fiocruz: Rio de Janeiro, Brazil, v. 2, 2010.

BRAZ FILHO, Raimundo. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. Química Nova, v. 33, p. 229-239, 2010.

DALLUGE, J. J.; NELSON, B. C.; THOMAS, J. B.; SANDER, L. C. Selection of column and gradient elution system for the separation of catechins in green tea using high performance liquid chromatography. Journal of Chromatography A, v. 793, n. 1, p. 265-274, 1998.

GENOVESE, Maria Inés. Biodisponibilidade dos compostos fenólicos de Eugenia dysenterica DC e efeito sobre as respostas glicêmica, insulinêmica e incretínica de indivíduos portadores de síndrome metabólica e disglicemia. Tese de Doutorado, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2019.

LORENZI, HARRI: Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil, vol. 1. Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP, 2002, 4 a. edição.

MATOS, FJ de A. Introdução à Fitoquímica Experimental, 3ª. Edição, UFC, Fortaleza, 2009.

MBOUNA, Cedric Derick Jiatsa et al. Specific sub fractions from Terminalia mantaly (H. Perrier) extracts potently inhibit Plasmodium falciparum rings, merozoite egress and invasion. Journal of Ethnopharmacology, v. 285, p. 114909, 2022.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. Journal of natural products, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.

NUÑES-SÁNCHEZ et al. Targeted metabolic profiling of pomegranate polyphenols and urolithins in plasma, urine and colon tissues from colorectal cancer patients. Molecular Nutrition, 2014.

SEERAM, Navindra P.; LEE, Rupo; HEBER, David. Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (Punica granatum L.) juice. Clinica chimica acta, v. 348, n. 1-2, p. 63-68, 2004.

SANTIAGO, MCP de A. et al. Determinação de punicalagina em romã (Punica granatum L.) por cromatografia líquida de alta eficiência, 2014.

TCHUENTE TCHUENMOGNE, Marthe Aimée et al. Compounds from Terminalia mantaly L. (Combretaceae) stem bark exhibit potent inhibition against some pathogenic yeasts and enzymes of metabolic significance. Medicines, v. 4, n. 1, p. 6, 2017.

VILEGAS, W.; CARDOSO, C.A.L; QUEVEDO, A.E.P. Controle químico de qualidade de fitoterápicos e plantas medicinais. In: YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. (orgs). Química de Produtos Naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia 2. ed., Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, 2009, p. 163-188.

WEAVER, J. L. et al. Prevention of binding of rgp120 by anti-HIV active tannins. Biochemical Pharmacology, v. 43, p. 2479-2480, 1992.

[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 (PPGQUIM/UNESP-Araraquara-SP). E-mail: Silvana. mininel@ub.edu.br