

REVISTA TÓPICOS

ESTUDO FITOQUÍMICO DE DROGAS DAS FOLHAS DE *TERMINALIA MYRIOCARPA* VAN HEURCK & MÜLL. ARG. E DETERMINAÇÃO DE PUNICALAGINA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

DOI: 10.5281/zenodo.16258076

Francisco José Mininel¹

Silvana Márcia Ximenes Mininel²

RESUMO

Terminalia myriocarpa Van Heurck & Müll. Arg. é uma árvore de 10 a 40 m de altura e 0,7 a 4 m de circunferência. A casca é marrom, apresentando escamas irregulares, com cerca de 2 cm de espessura, pendentes. A casca interna é fibrosa, marrom-avermelhada. As pontas dos galhos pendem para baixo. Os galhos e brotos jovens apresentam pêlos grossos, duros, marrom-claros, bastante densos. As inflorescências são racemos paniculados ou ramificados, surgindo das axilas das folhas e ramos terminais, todo o racemo tem 7-12 cm de comprimento, todas as partes densamente cobertas com pêlos curtos marrom-avermelhados. A espécie é conhecida por produzir uma variedade de compostos do metabolismo secundário, incluindo taninos, flavonoides, triterpenos e alcaloides. Esses compostos têm diversas funções

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

ecológicas e potenciais aplicações farmacológicas. Este trabalho teve como objetivo quantificar o composto majoritário punicalagina através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os resultados obtidos mostraram que o método adaptado mostrou-se satisfatório para análise de identificação e quantificação por CLAE da punicalagina em amostras de folhas de *Terminalia myriocarpa*.

Palavras-chave: *Terminalia myriocarpa* Van Heurck & Müll. Arg. Punicalagina. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

ABSTRACT

Terminalia myriocarpa Van Heurck & Müll. Arg. is a tree 10–40 m tall and 0.7–4 m in circumference. The bark is brown, with irregular scales, about 2 cm thick, hanging down. The inner bark is fibrous, reddish-brown. The tips of the branches hang downwards. The branches and young shoots have thick, stiff, light brown, quite dense hairs. The inflorescences are paniculate or branched racemes, arising from the axils of the leaves and terminal branches, the entire raceme is 7–12 cm long, all parts densely covered with short reddish-brown hairs. The species is known to produce a variety of secondary metabolic compounds, including tannins, flavonoids, triterpenes and alkaloids. These compounds have diverse ecological functions and potential pharmacological applications. This study aimed to quantify the major compound punicalagin through High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results obtained showed that the adapted method was satisfactory for HPLC identification and quantification analysis of punicalagin in leaf samples of *Terminalia myriocarpa*.

REVISTA TÓPICOS

Keywords: *Terminalia myriocarpa* Van Heurck & Müll. Arg. Punicalagin. High Performance Liquid Chromatography.

INTRODUÇÃO

Terminalia myriocarpa são árvores grandes que ocorrem em regiões tropicais de todo o planeta. Algumas delas são cultivadas, inclusive ao longo de ruas. O nome científico *Terminalia* deriva da palavra para “fim” ou “fronteira”, em referência ao fato de as folhas dessas espécies nascerem da ponta de seus brotos.

A espécie *Terminalia myriocarpa* possui uma distribuição que abrange as regiões subtropicais e tropicais do Sudeste Asiático e do subcontinente indiano. É nativo das florestas tropicais e regiões de monções em grande parte da Ásia e foi introduzido em partes da América do Sul e Central, onde se adaptou aos ecossistemas locais. Constituem-se em árvores perenes, até 35 m de altura; tronco com até 2,8 m de diâmetro, com grandes contrafortes. Ramos cilíndricos, com pecíolos glabros, diminutos e hirsutos acastanhados quando jovens, ou raramente hirsutos, longos e densos, acastanhados e rígidos. As folhas são opostas; pecíolo de 0,5 a 1,5 cm, robusto, com duas glândulas pedunculadas no ápice; lâmina foliar oblongo-elíptica ou oblongo-lanceolada, tão longa quanto larga, espessamente papirácea, esparsamente hirsuta acastanhada abaxialmente e nas nervuras adaxialmente quando jovem, glabrescente ou posteriormente glabra, ou raramente aprimida castanho-amarelada serícea quando jovem, posteriormente esparsamente (exceto nas nervuras) pilosa abaxialmente e subglabra adaxialmente, base obtusa, margem inteira ou ligeiramente ondulada, raramente conspicuamente

REVISTA TÓPICOS – ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

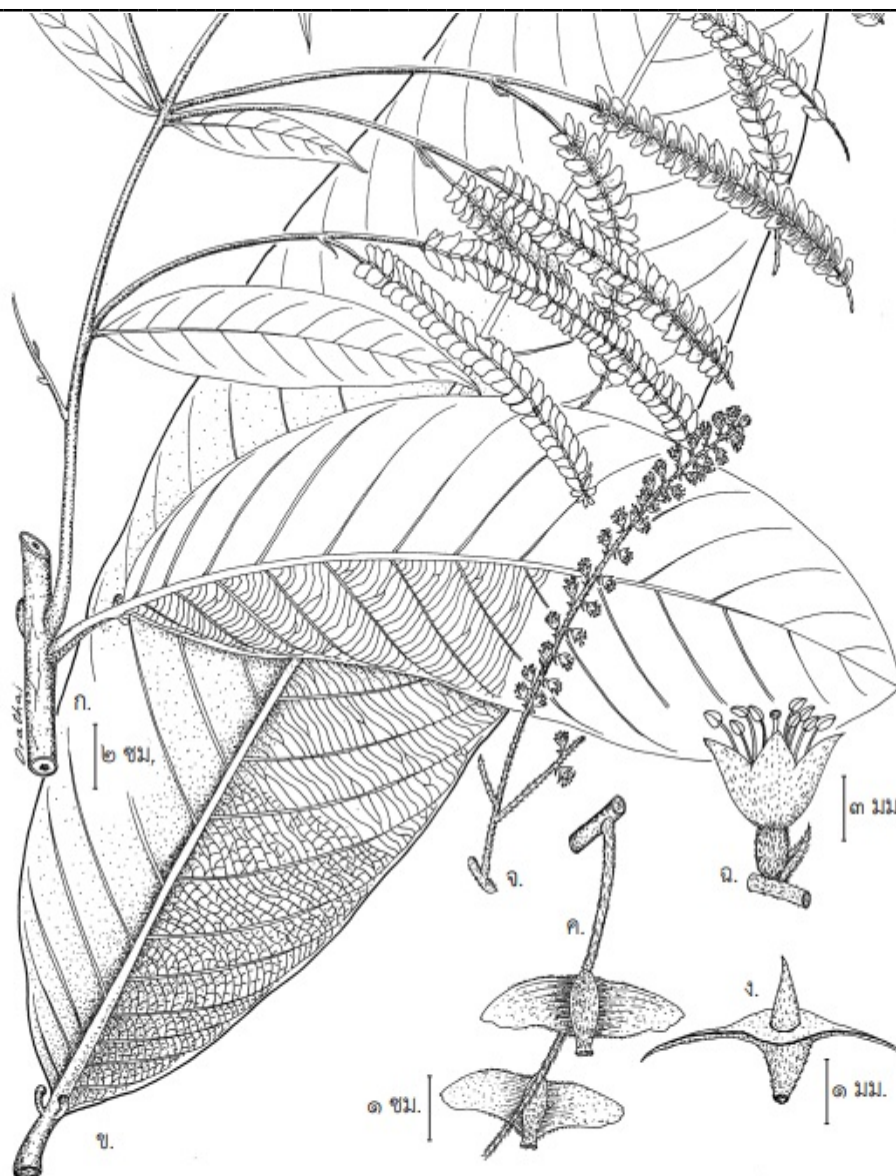
dentada, ápice com ponta curta e oblíqua; nervura central amarela adaxialmente; nervuras laterais em 15-35 pares (Figura 1). Inflorescências terminais ou axilares, simples ou compostas, espigas longas e delgadas, muitas agrupadas no ápice do raminho e formando uma grande panícula de 18-30 (-50) cm; eixos densamente amarelos tomentosos. Tubo do cálice distalmente cupular, 2,5-3 mm, abaxialmente tomentoso no ovário, glabro na parte cupular, adaxialmente tomentoso; 5 lobos. 10 estames, estendidos, 2-3 mm. O fruto não estipitado, amarelado quando seco, alado, 0,3-0,6 × 0,8-1,2 cm (mais largo que longo); asas opostas, oblongas, iguais, membranosas, esparsamente pubescentes, glabrescentes, às vezes com uma asa rudimentar situada entre elas (LORENZI, 2008).

Terminalia myriocarpa (Figura 2), é conhecida por produzir uma variedade de compostos do metabolismo secundário, incluindo taninos, flavonoides, triterpenos e alcaloides. Esses compostos têm diversas funções ecológicas e potenciais aplicações farmacológicas. A concentração desses compostos pode variar dependendo de fatores como idade da planta, condições ambientais e parte da planta analisada. Mais pesquisas são necessárias para elucidar completamente a composição química da *Terminalia myriocarpa* e explorar seu potencial biotecnológico.



REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS



ช่าง *Terminalia myriocarpa* van Heurck et Müll. Arg. var. *hirsuta* Craib
ก. กิ่งและช่อผล ข. ใบและต่อมโคนใบ ค. ช่อผล (ขยาย) ง. ผล (ตัดขวาง) จ. ช่อดอก ฉ. ดอก

Figura 1. Aspecto geral das folhas e inflorescências de *Terminalia myriocarpa*.

REVISTA TÓPICOS



REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Figura 2. Aspectos de folhas de *Terminalia myriocarpa*.

Fonte: <https://www.sementesarbocenter.com.br/>

Tabela 1. Classificação botânica de *Terminalia myriocarpa*.

Reino:	Plantae
Ordem:	Myrtales
Família:	Combretáceas
Gênero:	<i>Terminalia</i>
Espécies:	<i>T. myriocarpa</i>
Nome binomial	

REVISTA TÓPICOS – ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS



Terminalia myriocarpa

Van Heurck e Mull.Arg.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os compostos fenólicos metil (S)-flavogalonato, ácido gálico, metil galato, etilgalato, 2,3di-O-[(S)-4,5,6,4',5',6'-hexahidroxibifenil-2,2'-diildicarbonil]-(α/β) glucopiranoose, vitexina, isovitexina, orientina, iso-orientina, kaempferol- 3-O- β D rutinosídeo, rutina, neosaponarina, ácido elágico, ácido flavogalônico e (α/β) punicalagina podem ser isolados das folhas de *T. myriocarpa* (MARZOUK, 2002).

Punicalagina (*Pyuni-cala-jen*) é um elagitanino, um tipo de composto fenólico. É encontrado como isômeros alfa e beta em romãs (*Punica granatum*), *Terminalia catappa*, *Terminalia myriocarpa*, e em *Combretum molle*, o salgueiro aveludado, uma espécie de planta encontrada na África do Sul. Estes três gêneros são todos Myrtales e os dois últimos são ambos Combretaceae (ASRES et al, 2001).

Em trabalho realizado por Mohamed et al (2002), foi isolado um novo elagitanino, metil (S)-flavogalonato junto com quatorze compostos conhecidos, ácido gálico, metil galato, etil galato, 2,3-di-O-[(S)-4,5,6,4',5',6'-hexahidroxibifenil-2,2'-diildicarbonil]-(alfa/beta)-D-glucopiranoose (4), vitexina, isovitexina, orientina, iso-orientina, kaempferol 3-O-beta-D-rutinosídeo, rutina, neosaponarina, ácido elágico, ácido flavogalônico (13) e (alfa/beta)-punicalagina (15) foram isolados das folhas de *Terminalia myriocarpa* Heurck.

O efeito protetor dos compostos principais e do novo composto isolado contra a hepatotoxicidade induzida por CCl₄ foi avaliado e comparado,

REVISTA TÓPICOS

utilizando ratos machos adultos pesando 200-250 g. Os níveis séricos de transaminase glutâmico-oxalacética (GOT), transaminase glutâmico-pirúvica (GPT), peróxido lipídico e produção de óxido nítrico foram significativamente aumentados pela administração de CCl₄ a ratos e, em seguida, reduzidos significativamente apenas pelo tratamento com os compostos isolados de forma dose-dependente. A comparação das propriedades protetoras desses compostos mostrou que o composto isolado é mais potente que o composto 15 do que o 4 e que o composto 13 tem um efeito não significativo nas duas doses utilizadas (MOHAMED et al, 2002).

METODOLOGIA

Abordagem fitoquímica - reações genéricas de identificação de classes de substâncias (MATOS, 1998).

O material vegetal de folhas de *Terminalia myriocarpa* foi separado para estudos de detecção de constituintes químicos (classes de substâncias).

Material destinado ao estudo fitoquímico de folhas.

O material vegetal de *Terminalia myriocarpa* importado por <https://www.ebay.com/itm/234815590998>, correspondeu a cerca de 2 kg de folhas. Após fragmentações adequadas dos materiais e secagem em estufa com circulação de ar, por um período de 15 dias, foram triturados em um moinho de faca fixa obtendo-se um pó semi-fino, segundo a Farmacopéia Brasileira Segunda Edição (NEMITZ, 2016).

REVISTA TÓPICOS

A partir do material seco e triturado, realizaram-se duas extrações sequenciais de 1 hora cada com solução hidroalcoólica 80°GL, sob refluxo, para cada amostra. Os extratos brutos, filtrados a vácuo, foram concentrados a 45°C em rotaevaporador. A abordagem fitoquímica foi realizada segundo MATOS (1998), avaliando-se as classes de substâncias.

Processamento da matéria-prima para a determinação de punicalagina por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).

As folhas de *Terminalia myriocarpa* foram importadas pelo setor de pós-graduação da Universidade Brasil, localizada em Fernandópolis-SP. As folhas ainda verdes foram higienizadas com água potável. As folhas foram fatiadas com faca no sentido longitudinal em dimensões aproximadas de 1 cm, colocadas em uma bandeja e levadas a um secador de cabine para desidratar a 40°C por 24 horas. As folhas desidratadas foram trituradas e posteriormente acondicionadas em embalagens de alumínio e polietileno (*stand up pouch*), seladas a vácuo e mantidas a 7 °C até o momento das determinações analíticas.

Extração da amostra

A etapa de extração foi feita segundo metodologia descrita por Kim e Lee (2002). O extrato foi obtido a partir de 1 g de folhas desidratadas de *Terminalia myriocarpa*, com uma solução de metanol 80% em água, sendo a amostra submetida em seguida a etapas de sonificação e centrifugação. Repetiu-se três vezes a lavagem da amostra com a solução.

REVISTA TÓPICOS

Método cromatográfico

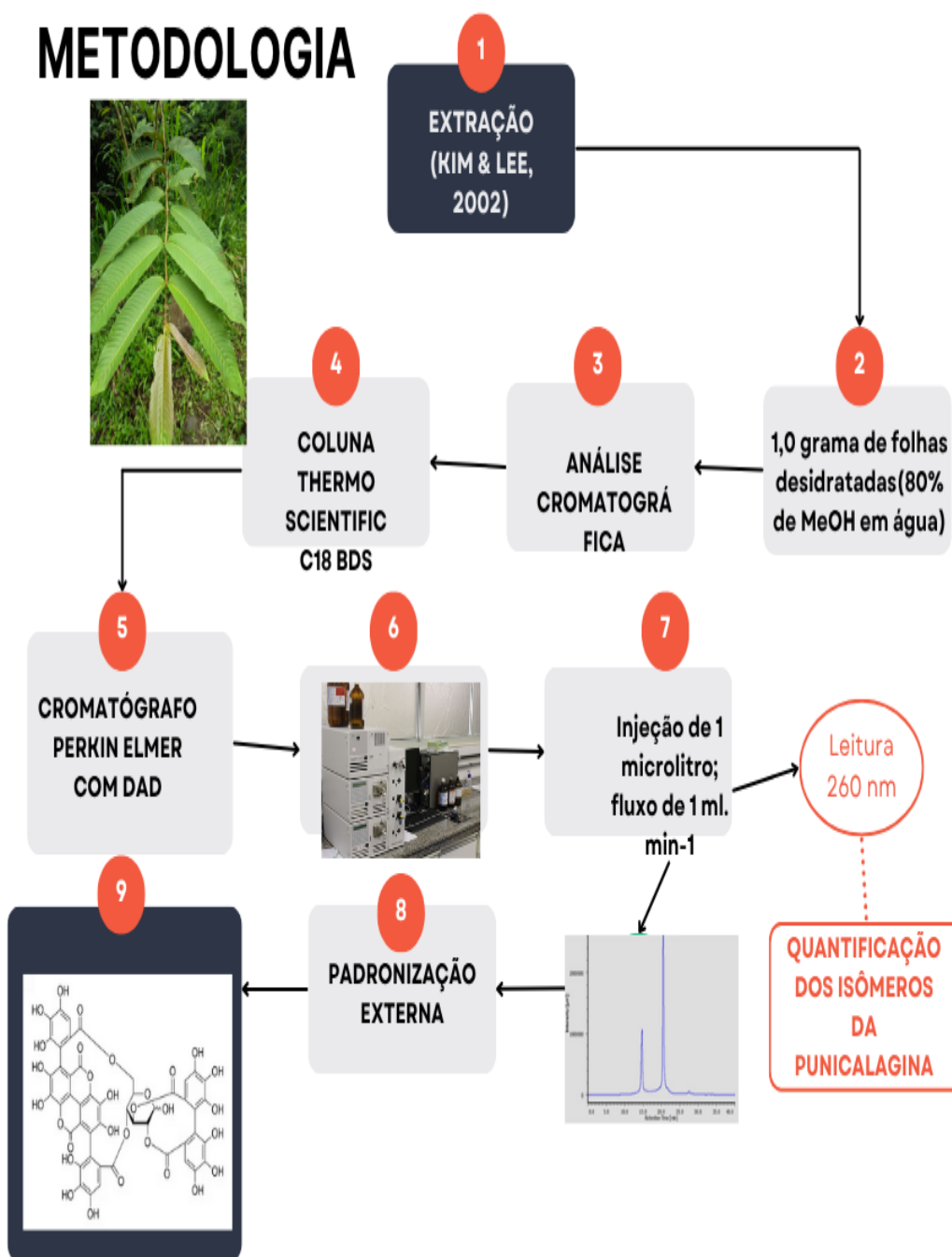
Para a análise cromatográfica, foram realizadas adaptações na metodologia descrita por Luque-Rodríguez et al. (2007), tendo sido modificadas as dimensões da coluna e o gradiente de eluição.

Neste trabalho, visando à caracterização da punicalagina, utilizou-se uma coluna Thermo[®] Scientific C18 BDS (100 mm x 4,6 mm; 2,4 µm) com temperatura do forno a 40°C, em um cromatógrafo líquido de alta eficiência da PerkinElmer (modelo Flexar) com detector de arranjo de diodos (DAD), volume de injeção de 1 µL, fluxo de 1 mL.min⁻¹ e leituras no comprimento de onda de 260 nm.

A fase móvel foi eluída em modo gradiente composta por soluções de acetonitrila (solução A) e de ácido fórmico a 1% em água (solução B), conforme descrito a seguir: 0-5 min, 97-95%B; 5-10 min, 95-85%B; 10-16 min, 85-70%B; 16-18 min, 70-97%B; 18-25 min, 97%B (Figura 3). A quantificação do composto foi realizada por padronização externa, a partir da construção de curva analítica com o padrão de punicalagina (mistura de isômeros) da marca Sigma-Aldrich[®], disponível comercialmente (SANTIAGO et al., 2024).

REVISTA TÓPICOS

METODOLOGIA



REVISTA TÓPICOS

Figura 3. Metodologia adotada para quantificação de punicalagina de *Terminalia myriocarpa*

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Numerosos métodos de extração e estudo de compostos, oriundos de plantas, têm sido sugeridos pela literatura (MATOS, 1998). Realizar um estudo fitoquímico é um desafio a ser realizado pelo farmacêutico, visto que o uso das espécies vegetais para fins medicinais é crescente e preocupante. É necessário analisar o maior número possível de espécies, tendo em vista o grande número que falta a ser estudado para a flora brasileira, sempre com a preocupação de validar plantas medicinais consagradas pela medicina popular. As análises fitoquímicas fornecem informações relevantes à cerca da presença de metabólitos secundários nas plantas, para que assim possa chegar ao isolamento de princípios ativos importantes na produção de novos fitoterápicos.

Pesquisa de classes de substâncias nas drogas de folhas de *Terminalia myriocarpa*.

Caracterização biológica de extratos simples das drogas de folhas.

Tabela 2. Resultado da reação indicativa de taninos por hemoaglutinação.

	Folha	
Hemoaglutinação	+	

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

+ = positivo

Resultado das reações gerais indicativas da presença de taninos.

Tabela 3. Reações gerais indicativas da presença de taninos.

	Folha
Solução de sais de alcaloides	+++
Solução de acetato de chumbo	+++
Solução de acetato de cobre	+++
Solução aquosa de cloreto férrico	+++

+ = formação de precipitado com intensidade baixa.

++ = formação de precipitado com intensidade média

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

+++ = formação de precipitado com muita intensidade

Resultado das reações específicas indicativas da presença de taninos.

Tabela 4. Reações específicas indicativas da presença de taninos.

	Folha
Solução aquosa de acetato de chumbo e ácido acético glacial	+
Reativo de Wasicky	+
Reativo de molibdato de amônio	+
Reativo de floroglucina-clorídrica	+

+ = positivo

Caracterização de alcaloides em extratos simples das drogas de folha e frutos.

REVISTA TÓPICOS – ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Tabela 5. Resultado das reações gerais indicativas da presença de alcaloides.

	Folha
Reativo de Dragendorff	-
Reativo de Bertrand	-
Reativo de Bouchardat	-

- = negativo

Caracterização de antraderivados através da reação geral de Borntraeger em extratos simples.

Tabela 6. Resultado da reação geral indicativa da presença de compostos antraquinônicos.

	Folha
Reativo de Borntraeger	-

REVISTA TÓPICOS – ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

- = negativo

Tabela 7. Resultado das reações químicas e microquímicas presença de compostos antraquinônicos.

	Folha
Reativo de Borntraeger	-

- = negativo

A Tabela 8 indica a caracterização de alcaloides em extratos simples das drogas e os resultados das reações realizadas.

Tabela 8. Resultado das reações indicativas da presença de alcaloides.

Partes do vegetal	Folha
Reativo de Dragendorff	-

REVISTA TÓPICOS – ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Reativo de Bertrand	-
Reativo de Bouchardat	-

- = negativo.

Tabela 9. Reações indicativas da presença de flavonoides.

	Folha
Reação de Shinoda	+
Reação de Cloreto de Alumínio	+
Reação de Cloreto Férrico	+
Reação Hidróxido de Sódio	+
Reação Oxalo-bórico	-

REVISTA TÓPICOS – ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

+ = **positivo**

- = **negativo**

A identificação da punicalagina nas amostras analisadas foi realizada através da comparação dos tempos de retenção e dos espectros de absorção UV/Visível do padrão comercial (Figura 4) e do extrato da casca de romã (Figura 3), além da comparação com dados da literatura, como os estudos realizados por Gil et al. (2000) e Çam e Hişil (2010).

REVISTA TÓPICOS

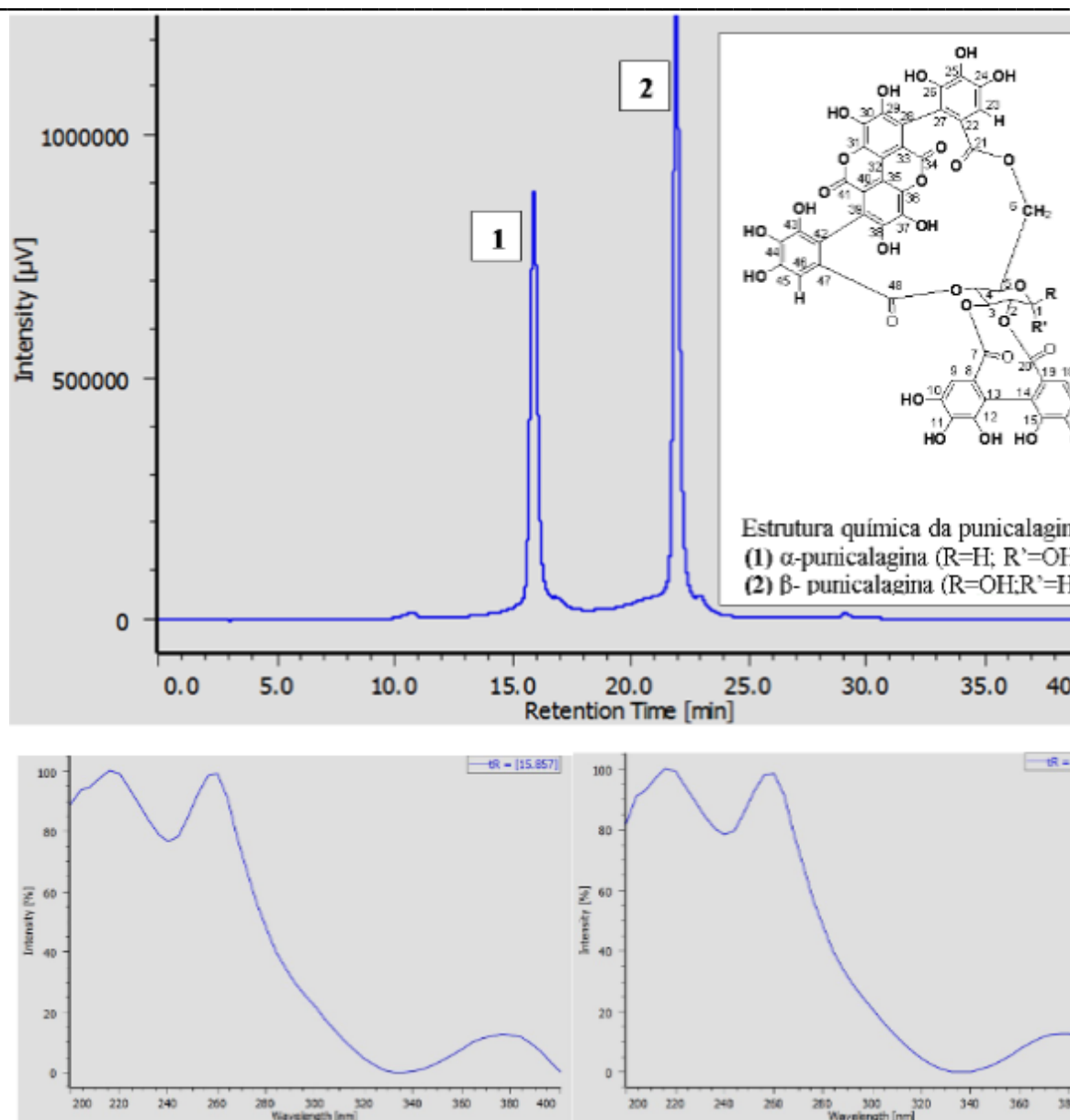


Figura 4. Cromatograma CLAE: Picos 1 e 2 dos isômeros da punicalagina - (1) α -punicalagina (R=H; R'=OH); (2) β - punicalagina (R=OH;R'=H).

Gil et al. (2000), dentre os diversos compostos fenólicos presentes na casca de romã, encontraram resultados semelhantes, identificando os isômeros da punicalagina. A partir da curva analítica construída com o padrão comercial

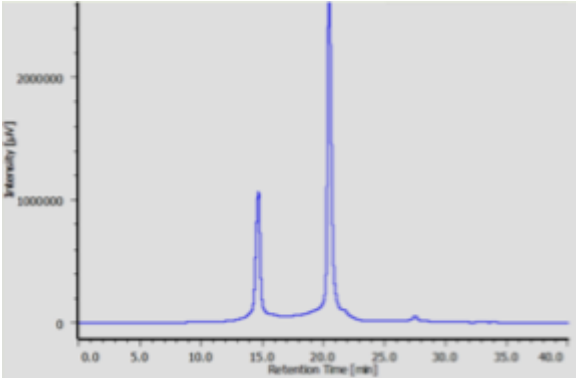
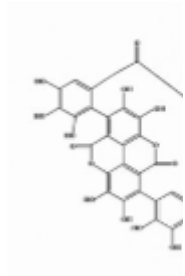
REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

na faixa de trabalho igual a 0,05 a 0,80 mg.mL⁻¹, foi possível quantificar as concentrações de punicalagina na casca de romã liofilizada. Çam e Hişil (2010) encontraram uma concentração total de punicalagina igual a 11,66 g.100g⁻¹ na casca de romã, próximo ao valor encontrado no presente trabalho para as folhas de *Terminalia myriocarpa*.

Os resultados obtidos mostraram que o método adaptado mostrou-se satisfatório para análise de identificação e quantificação por CLAE da punicalagina em amostras de folhas de *Terminalia myriocarpa*.

Tabela 10. Concentração de punicalagina na droga de folhas de *Terminalia myriocarpa*.

Amostra		P	P
		u	u
		n	n
		i	i
		c	c
		a	a
		l	l
		a	a
		g	g
		i	i
		n	n
		a	a
		α	β

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

	(p i c o 1)	(p i c o 2)	
	(g . 1 0 0 g - 1)	(g . 1 0 0 g - 1)	
Pó de folhas (drogas)	4 , 0 2	6 , 9 8	

REVISTA TÓPICOS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A punicalagina é um tanino hidrolisável (elagitanino), com atividades antioxidante e anti-inflamatória reconhecidas, se destacando como uma promissora molécula multifuncional.

A identificação da punicalagina nas amostras analisadas foi realizada através da comparação dos tempos de retenção e dos espectros de absorção UV/Visível do padrão comercial e do extrato de folhas de *Terminalia myriocarpa*. O método utilizado foi bastante satisfatório e pode chegar ao resultado de quantificação de punicalagina total (soma dos isômeros α e β) igual a 11,00 g.100g⁻¹ nas drogas de folhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASRES, K.; BUCAR, F.; KNAUDER, E.; YARDLEY, V.; KENDRICK, H.; CROFT, SL. [Atividade antiprotozoária in vitro do extrato e compostos da casca do caule de Combretum molle](#). Pesquisa em Fitoterapia . 15 (7): 613–617, 2001.

ÇAM, M.; HIŞIL, Y. Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels. **Food Chemistry**, v. 123, n. 3, p. 878-885, Dec, 2010.

GIL, M. I.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; HESS-PIERCE, B.; HOLCROFT, D. M.; KADER, A. A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 10, p. 4581-4589, Oct., 2000.

REVISTA TÓPICOS

LUQUE-RODRIGUEZ, J. M.; LUQUE DE CASTRO, M. D.; PÉREZ-JUAN, P. Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 14, p. 2705-2713, Oct., 2007.

MARZOUK, Mohamed SA et al. Pharmacologically active ellagitannins from *Terminalia myriocarpa*. **Planta medica**, v. 68, n. 06, p. 523-527, 2002.

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

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MATOS, F. J. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. Fortaleza; Edições UFC, 1998.

NEMITZ, Marina Cardoso; MALLMANN, Litieri; STEPPE, Martin. Evolução dos métodos quantitativos empregados para plantas medicinais ao longo das edições da farmacopeia brasileira. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 13, n. 1, p. 18-27, 2016.

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 -

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Araraquara-SP). E-mail: Silvana.mininel@ub.edu.br

REVISTA TÓPICOS – ISSN: 2965-6672