

# Quimiodiversidade de Plantas dos Cerrados Piauienses

Ruth Raquel Soares de Farias  
(Organizadora)



**Atena**  
Editora  
Ano 2020

# Quimiodiversidade de Plantas dos Cerrados Piauienses

Ruth Raquel Soares de Farias  
(Organizadora)



**Atena**  
Editora  
Ano 2020

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação:** Geraldo Alves

**Edição de Arte:** Lorena Prestes

**Revisão:** Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná

Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília  
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Msc. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Dr. Adailson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Profª Msc. Bianca Camargo Martins – UniCesumar  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Msc. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Profª Msc. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
 Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
 Prof. Msc. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
 Prof. Msc. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
 Prof<sup>a</sup> Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
 Prof. Msc. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco  
 Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Prof<sup>a</sup> Msc. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
 Prof<sup>a</sup> Msc. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
 Prof. Msc. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
 Prof. Msc. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual de Maringá  
 Prof. Msc. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
 Prof<sup>a</sup> Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
 Prof<sup>a</sup> Msc. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
Q6	<p>Quimiodiversidade de plantas dos cerrados piauienses [recurso eletrônico] / Organizador Ruth Raquel Soares de Farias. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF            Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader            Modo de acesso: World Wide Web            Inclui bibliografia            ISBN 978-65-86002-34-8            DOI 10.22533/at.ed.348200503</p> <p>1. Plantas – Identificação – Piauí. I. Farias, Ruth Raquel Soares de.</p> <p style="text-align: right;">CDD 577.098122</p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
 Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

“[...] Animais agem, plantas produzem.”

Swain (1974)

A biodiversidade brasileira é vista nacional e mundialmente como uma moeda de poder e riqueza, mas isso é preocupante para aqueles que pensam na preservação e devido esta inquietude, os pesquisadores envolvidos com esta publicação buscaram por meio dos estudos químicos e biológicos até então conhecidos, valorizar os Cerrados Piauienses por intermédio de algumas de suas espécies de relevância.

As espécies de Combretaceae são de interesse ímpar devido ao histórico de potencialidades farmacológicas, já conhecido, em especial dos gêneros *Combretum* Loefl. e *Terminalia* L. O presente trabalho teve como objetivo investigar a quimiodiversidade e o possível potencial biológico dos extratos das folhas de *Combretum duarteanum* Cambess, *C. mellifluum* Eichler e *Terminalia actinophylla* Mart. coletadas nos Cerrados Setentrional e Meridional do estado do Piauí, principalmente por conta das suas amplas e significativas distribuições geográficas.

Considerando que os metabólitos secundários de plantas são ferramentas valiosas para a compreensão da biossíntese e desenvolvimento de novos fármacos e, em face das atividades descritas para plantas da família Combretaceae, faz-se necessário o seu estudo fitoquímico nos Cerrados do Piauí, procurando fornecer dados que contribuam para a amplitude fitogeográfica daquelas espécies, vantajosa ou não, além de atualizar suas performances quanto ao caráter se dominantes, intermediárias ou raras em termos de padrões de abundância e evidenciar características fitoquímicas importantes para o conhecimento associado.

As espécies estão distribuídas nos Cerrados Setentrional (norte) e Meridional (sul), mas de forma espaçadas, em áreas devolutas (áreas não preservadas). *Combretum duarteanum* e *C. mellifluum*, por serem espécies de pequeno porte, arbustivas, frequentemente sofrem com ações antrópicas (desmatamentos, queimadas etc.) e *Terminalia actinophylla*, embora apresente um porte arbóreo frondoso, simplesmente é valorizada pela qualidade de sua madeira, passando por um constante processo de desbaste para utilização em construção civil.

Outras espécies dos cerrados piauienses e outras escalas de distribuição precisam dar continuidade, fortalecendo, ou não, nossa hipótese de partida, que além de inédita e, apoiada por este trabalho, chama a atenção sobre o fato de que as condições abióticas influenciam, podendo até mascarar, os resultados fitoquímicos que se quer pesquisar, ou, erradamente, sustentar alguma ‘falta de importância

econômica e social, dependendo da distribuição geográfica de alguma espécie da flora dos cerrados piauienses.

Após a divulgação desses estudos, espera-se de um lado que um maior número de ensaios sejam desenvolvidos tanto em *in vitro* como *in vivo*, que os mesmos contribuam para a descoberta de novas substâncias biologicamente ativas favorecendo P&D&I, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de pesquisas na perspectiva de cada vez mais agregar valor à biodiversidade por meio do conhecimento químico para uma utilização sustentável dessas plantas e que os cerrados marginais e ecótonos associados sejam cada vez mais valorizados, por biólogos, químicos etc..

Ruth Raquel Soares de Farias  
Antonio Alberto Jorge Farias Castro

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
<b>QUIMIODIVERSIDADE COMPARATIVA E POTENCIAL BIOLÓGICO DE <i>Combretum duarteianum</i> CAMBESS. EM DUAS REGIÕES DO CERRADO PIAUIENSE</b>	
Ruth Raquel Soares de Farias	
Erika Thalyta Veras Pereira	
Mariana Helena Chaves	
Paulo Michel Pinheiro Ferreira	
Chistiane Mendes Feitosa	
Claudia do Ó Pessoa	
George Laylson da Silva Oliveira	
Rusbene Bruno Fonseca de Carvalho	
Jéssica Pereira Costa	
Antonio Alberto Jorge Farias Castro	
Samara Raquel de Sousa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3482005031</b>	
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>19</b>
<b>PERFIL FITOQUÍMICO DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DE <i>Combretum mellifluum</i> EICHLER DE DUAS ÁREAS DE CERRADO</b>	
Ruth Raquel Soares de Farias	
Erika Thalyta Veras Pereira	
Mariana Helena Chaves	
Paulo Michel Pinheiro Ferreira	
Chistiane Mendes Feitosa	
Claudia do Ó Pessoa	
George Laylson da Silva Oliveira	
Rusbene Bruno Fonseca de Carvalho	
Jéssica Pereira Costa	
Antonio Alberto Jorge Farias Castro	
Samara Raquel de Sousa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3482005032</b>	
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>38</b>
<b>ANÁLISE COMPARATIVA DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE <i>Terminalia actinophylla</i> MART. DE DUAS ÁREAS DE CERRADO: POTENCIAL FARMACOLÓGICO</b>	
Ruth Raquel Soares de Farias	
Erika Thalyta Veras Pereira	
Mariana Helena Chaves	
Paulo Michel Pinheiro Ferreira	
Chistiane Mendes Feitosa	
Claudia do Ó Pessoa	
George Laylson da Silva Oliveira	
Rusbene Bruno Fonseca de Carvalho	
Jéssica Pereira Costa	
Antonio Alberto Jorge Farias Castro	
Márcia Denise Alves Veras	
Carlos Humberto Aires Matos Filho	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3482005033</b>	
<b>SOBRE A ORGANIZADORA.....</b>	<b>59</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO .....</b>	<b>60</b>



# Capítulo 1

QUIMIODIVERSIDADE COMPARATIVA E POTENCIAL BIOLÓGICO DE *Combretum duarteanum* CAMBESS. EM DUAS REGIÕES DO CERRADO PIAUIENSE



## QUIMIODIVERSIDADE COMPARATIVA E POTENCIAL BIOLÓGICO DE *Combretum duarteanum* CAMBESS. EM DUAS REGIÕES DO CERRADO PIAUIENSE

Data de aceite: 02/12/2019

### **Ruth Raquel Soares de Farias**

Faculdade de Ensino Superior do Piauí - FAESPI  
Teresina-PI

### **Erika Thalyta Veras Pereira**

Universidade Federal de São Carlos -UFSCar São  
Carlos-SP

### **Mariana Helena Chaves**

Universidade Federal do Piauí, UFPI Teresina-PI

### **Paulo Michel Pinheiro Ferreira**

Universidade Federal do Piauí, UFPI Teresina-PI

### **Chistiane Mendes Feitosa**

Universidade Federal do Piauí, UFPI Teresina-PI

### **Claudia do Ó Pessoa**

Universidade Federal do Ceará, UFC Fortaleza-  
CE

### **George Laylson da Silva Oliveira**

Instituto Federal de Educação Ciência e  
Tecnologia de Mato Grosso, IFMT, Brasil

### **Rusbene Bruno Fonseca de Carvalho**

Universidade Federal do Piauí, UFPI Teresina-PI

### **Jéssica Pereira Costa**

Universidade Federal do Piauí, UFPI Teresina-PI

### **Antonio Alberto Jorge Farias Castro**

Universidade Federal do Piauí, UFPI Teresina-PI

### **Samara Raquel de Sousa**

Universidade Federal do Piauí, UFPI Teresina-PI  
BioTEN

**RESUMO:** A espécie *Combretum duarteanum* Cambess. é de relevante interesse devido ao histórico de potencialidades farmacológicas, já conhecida na família Combretaceae e no gênero *Combretum*. O presente trabalho teve como objetivo investigar a quimiodiversidade e o potencial biológico dos extratos hexânico, etanólico e aquoso das folhas de *C. duarteanum* coletadas no Cerrado Setentrional e Meridional do estado do Piauí. O perfil químico dos extratos foi obtido por cromatografia líquida de alta eficiência. A atividade antioxidante foi avaliada pelos ensaios dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), hidroxila e óxido nítrico, substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e redução do íon  $Fe^{3+}$  à  $Fe^{2+}$ . A determinação do teor de fenóis totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu e de flavonoides totais por redução com cloreto de alumínio. A atividade anticolinesterásica foi investigada pelo método de Ellman e citotoxicidade pelo método de brometo de 3-(4,5dimetildiazol-2-il)-2,5difeniltretrazolium (MTT), frente as linhagens de células tumorais humanas (côlon, ovário e glioblastoma). O extrato aquoso de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional apresentou o maior potencial antioxidante nos ensaios testados. Os extratos etanólicos de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional e Meridional apresentaram atividade citotóxica frente as três linhagens.

Todos os extratos de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional e o extrato etanólico de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional demonstraram atividade anticolinesterásica. Os ensaios realizados demonstram que há uma diferença no perfil químico e biológico dos espécimes, sugerindo que as relações ecológicas devem ser levadas em consideração em estudos químico/farmacológico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Atividade antioxidante. Atividade anticolinesterásica. Atividade citotóxica. Fitogeografia. Fitoquímica.

## COMPARATIVE CHEMODIVERSITY AND BIOLOGICAL POTENTIAL OF *Combretum duarteanum* CAMBESS. FROM TWO REGIONS OF CERRADO OF PIAUÍ STATE

**ABSTRACT:** The species *Combretum duarteanum* Cambess. is of relevant interest due to its history of pharmacological potential, already known in the family Combretaceae and in the genus *Combretum*. This study aimed to investigate the chemodiversity and the biological potential of hexane, ethanolic and aqueous extracts of the leaves of *C. duarteanum* collected in the northern and southern cerrados at the state of Piauí. The chemical profile of the extracts was obtained by high-performance liquid chromatography (HPLC). The antioxidant activity was evaluated by the test of the radicals 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), hydroxyl and nitric oxide, reactive substances to thiobarbituric acid (TBARS), and reduction of  $Fe^{3+}$  to  $Fe^{2+}$ . The determination of total phenolic and flavonoid content was performed by the method of Folin-Ciocalteu and by reduction with aluminum chloride, respectively. The anticholinesterase activity was performed by Ellman's method. The cytotoxicity activity was tested by MTT assay (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium) against human tumor cell lines (colon, ovary and glioblastoma). The aqueous extract of *C. duarteanum* from northern cerrado presented the highest antioxidant potential in the test trials. The ethanol extracts of *C. duarteanum* from northern and southern cerrado exhibited cytotoxic activity against the three cell lines. All extracts of *C. duarteanum* from northern cerrado and the ethanol extract of *C. duarteanum* from southern cerrado showed acetylcholinesterase activity. The tests demonstrated that there is a difference in the chemical and biological potential among the species studied. This may suggest that the ecological relationships should be taken into consideration in chemical and pharmacological studies.

**KEYWORDS:** Antioxidant Activity. Anticholinesterase Activity. Cytotoxic Activity. Phytochemistry. Phytochemistry.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os cerrados do Piauí distribuem-se entre as latitudes de 03°58' a 08°51" S, longitudes 41°43' a 04°15" W e altitudes de 70 a 430 m.n.m. Na região norte do Estado, encontram-se os Cerrados Setentrionais e, na região sul, os Cerrados Meridionais, denominados assim por Castro et al. (2010).

Combretaceae e *Combretum* têm ampla distribuição geográfica tanto nos Cerrados Setentrional como no Meridional, inclusive em termos de representação

populacional (FARIAS et al., 2014).

É importante destacar que as espécies do gênero *Combretum* Loefl. possuem diversas atividades biológicas comprovadas, como: atividade anticolinesterásica para *Combretum hartmannianum* Schweinf. (ELDEEN; VAS STADEN, 2007), antioxidante para *C. decandrum* Jacq. (PANNANGPETCH; TAEJARERNWIRIYAKUL; KONGYINGYONES, 2008) e citotóxica para as espécies *C. apiculatum* Sond., *C. fragrans* F. Hoffm., *C. hereroense* Schinz, *C. padoides*, Engl. & Diels, *C. psidioides* Welw., *C. zeyheri* Sond., *C. collinum* Fresen. (FYHRQUIST et al., 2006) e *C. comosum* G. Don. (LAMIDI et al., 2005).

Com isso as potencialidades farmacológicas já conhecidas para Combretaceae e *Combretum*, associadas às características ecológicas peculiares do estado do Piauí e à ampla distribuição geográfica da espécie *Combretum duarteanum* Cambess., inclusive, em áreas de transição, suportam a ideia de quimiodiversidade.

Na medicina popular *C. duarteanum* é utilizada como expectorante (ALBUQUERQUE et al., 2007) e no tratamento de dor e como sedativo (GOUVEIA et al., 2011). Estudos relatam que o extrato etanólico das folhas desta espécie *C. duarteanum* possui atividade antinociceptiva (QUINTANS et al., 2014), antioxidante, anti-inflamatória (GOUVEIA et al., 2011), gastroprotetora (LIMA et al., 2013) e antimicrobiana (NASCIMENTO; CHIAPPETA; LIMA, 1990) e a fração hexânica do extrato etanólico das folhas possui atividade antinociceptiva (QUINTANS et al., 2014) e gastroprotetora (LIMA et al., 2013).

Diante do exposto o objetivo do estudo foi investigar a quimiodiversidade e o potencial biológico dos extratos hexânico, etanólico e aquoso das folhas de *C. duarteanum* coletadas em áreas de Cerrado Setentrional e Meridional do estado do Piauí.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material Vegetal

O material vegetal utilizado foram folhas de *Combretum duarteanum* Cambess., coletadas no estado do Piauí, Brasil, em janeiro de 2012 nos municípios de Jatobá do Piauí (área de Cerrado Setentrional), nas coordenadas 04° 51' 48.5" S, 42° 04' 21.0" W e 90 m.n.m. e de Floriano (área Cerrado Meridional), nas coordenadas 07° 04' 34.3" S, 43° 08' 46.2" W e 198 m.n.m. Os exemplares testemunhos (vouchers) foram incorporados ao acervo do Herbário Graziela Barroso (TEPB) da Universidade Federal do Piauí, sob os números TEPB 27.960 e TEPB 30.118, respectivamente. A determinação botânica ao nível de espécie foi realizada pela Dra. Maria Iracema Bezerra Loiola da Universidade Federal do Ceará - UFC, especialista na Família Combretaceae.

## 2.2 Preparação dos extratos

As folhas foram desidratadas à temperatura ambiente em local arejado, em seguida moídas, em moinho de facas e submetidas ao procedimento de extração por maceração por três vezes, com hexano, etanol e água sucessivamente. Cada extração teve a duração de 72 horas. Após o solvente ser removido por destilação em rotaevaporador, a água residual foi removida por liofilização. Foram obtidos os seguintes extratos: Extrato hexânico de *Combretum duarteanum* do cerrado Setentrional (EHCduaS 19,76 g; 2,30%), Extrato etanólico de *C. duarteanum* do cerrado Setentrional (EECduaS 72,05 g; 8,40%), Extrato aquoso de *C. duarteanum* do cerrado Setentrional (EACduaS 49,30 g; 4,93%), Extrato hexânico de *Combretum duarteanum* do cerrado Meridional (EHCduaM 3,71 g; 0,43%), Extrato etanólico de *C. duarteanum* do cerrado Meridional EECduaM (44,04 g; 5,15%), Extrato aquoso de *C. duarteanum* do cerrado Meridional EACduaM (49,44 g; 5,78%).

## 2.3 Atividade antioxidante pelo ensaio de DPPH

A atividade antioxidante (AA) foi realizada pelo ensaio do radical DPPH<sup>•</sup> como descrito por Sousa et al. (2007), em triplicata, tendo como controle positivo a Rutina. As amostras foram realizadas nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200 e 250 µg/mL, no comprimento de onda de 516 nm. Os valores da AA foram expressos em porcentagem de atividade antioxidante. A concentração eficiente capaz de reduzir em 50% o DPPH<sup>•</sup>, foi calculada com o auxílio do programa *IBM SPSS Statistic 20*, por meio de uma curva exponencial de primeira ordem, obtida plotando-se no eixo x as concentrações da amostra (µg/mL) e no eixo y, a porcentagem de atividade antioxidante.

## 2.4 Determinação do nível de peroxidação lipídica (TBARS)

A atividade antioxidante *in vitro* por substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico método de TBARS foi avaliada como descrita por Silva et al. (2007). As amostras foram analisadas nas concentrações 0,9; 1,8; 3,6; 5,4 e 7,2 µg/mL. O veículo (tween 80 a 0,05%, dissolvido em salina 0,9%), foi utilizado como controle negativo e o Trolox, nas mesmas concentrações da amostra, como controle positivo. As absorbâncias foram lidas à 532 nm em um espectrofotômetro UV-Vis e os resultados expressos como porcentagem de TBARS formada a partir do AAPH (controle induzido).

## 2.5 Determinação do nível de inibição da produção do radical hidroxila

A atividade antioxidante no ensaio do radical hidroxila (OH<sup>•</sup>) foi avaliada a partir da reação de Feton como descrito na metodologia de Lopes, Schulman e Hermes-Lima (1999). O método consiste em quantificar o malondialdeído, produto

da degradação oxidativa do açúcar 2-desoxiribose, por sua condensação com o ácido tiobarbitúrico. As amostras foram analisadas nas concentrações 0,9; 1,8; 3,6; 5,4 e 7,2  $\mu\text{g/mL}$  e as absorbâncias foram medidas à 532 nm. O Trolox, nas mesmas concentrações da amostra, foi utilizado como controle positivo. Os resultados foram expressos como equivalentes do malondialdeído formado por  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

## 2.6 Determinação do potencial sequestrador do radical óxido nítrico

A quantificação do óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ) produzido foi realizada a partir da decomposição espontânea do nitroprussiato de sódio (NPS) em tampão fosfato 20 mM (pH 7,4) de acordo com a metodologia descrita por Nogueira Neto, Sousa e Freitas (2013) utilizando reagente de Griess (GREEN et al., 1982). As amostras foram analisadas nas concentrações de 0,9; 1,8; 3,6; 5,4 e 7,2  $\mu\text{g/mL}$ . A absorbância do cromóforo foi medida a 540 nm. A percentagem de inibição do óxido nítrico gerado foi medida por meio da comparação dos valores de absorbância do controle negativo (NPS 10 mM e veículo) e das amostras. O Trolox, nas mesmas concentrações da amostra, foi utilizado como controle positivo. Os resultados foram expressos em percentagem de nitrito formado por NPS isoladamente.

## 2.7 Avaliação do potencial redutor

O potencial redutor dos extratos foi avaliado pela redução direta do ferricianeto de potássio (III) [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ] à ferrocianeto de potássio (II) [ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ], conforme metodologia descrita por Singhal, Paul e Singh (2014), com algumas modificações. As amostras foram testadas nas concentrações de 0,9; 1,8; 3,6; 5,4 e 7,2  $\mu\text{g/mL}$ , com 1 mL de ferrocianeto de potássio 1% e 1 mL de tampão fosfato de sódio (0,2 M, pH 6,6). A mistura reacional foi incubada a 50°C durante 20 minutos, e em seguida adicionou-se 1 mL de ácido tricloroacético 10%. A mistura resultante foi centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos. Ao sobrenadante da mistura reacional foi acrescentado 1 mL de água destilada e 0,5 mL de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) 0,1%. As absorbâncias foram medidas a 700 nm contra o branco que continha apenas tampão fosfato. O mesmo procedimento experimental foi utilizado com o controle positivo Trolox.

## 2.8 Teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu de acordo com Sousa et al. (2007). As medidas de absorbância das soluções (1  $\mu\text{g/mL}$ ) foram medidas no comprimento de onda de 750 nm. O resultado foi definido pela interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico e expressa por  $A = 0,1185c - 0,0453$ , com

coeficiente de correlação linear igual a 0,999, em que “*c*” é a concentração do ácido gálico e “*A*” é absorvância. O resultado é apresentado em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg de EAG/g).

## 2.9 Determinação do teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado conforme Peixoto Sobrinho et al. (2010) e Ferreira et al. (2014). As medidas de absorvâncias das soluções das amostras (1 µg/mL) foram feitas no comprimento de onda de 420 nm. O resultado foi calculado por interpolação da absorvância das amostras contra uma curva de calibração construída com o padrão rutina. A curva de calibração é expressa por  $A = 0,02618c - 0,00717$ , em que “*A*” é a absorvância da amostra e “*c*” a concentração da rutina, com um coeficiente de correlação linear igual a 0,999. O resultado foi expresso em miligrama de equivalente de rutina (mg ER/g de extrato).

## 2.10 Atividade anticolinesterásica

A detecção do poder de inibição qualitativa da enzima acetilcolinesterase foi verificada pelo teste de Ellman et al. (1961), modificado por Rhee et al. (2001). Alíquotas de 1,5-2,5 µL das soluções metanólicas das amostras (10 mg/mL) foram aplicadas em placa gel de sílica e eluída em clorofórmio/metanol 9:1. A placa foi revelada com reagente de Ellman sendo borrifada com DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico])/ATCI (Iodeto de acetiltiocolina) (1 mM DTNB e 1 mM ATCI em tampão) até a saturação. Após um repouso de 3 a 5 minutos, para que a placa secasse, 5 units/mL da enzima acetilcolinesterase foi borrifada sobre a placa. Aguardou-se aproximadamente 5 minutos para a observação dos resultados. A resposta positiva do teste foi a observação de manchas brancas semelhantes ao padrão, cafeína.

## 2.11 Atividade citotóxica

A avaliação da citotoxicidade foi realizada a partir do método brometo de 3-(4,5dimetildiazol-2-il)-2,5difeniltretrazolium (MTT) descrito por Mosmann (1983) seguindo Almeida et al. (2014), com o controle positivo dexorubicina. Para a análise foi utilizado as linhagens de células tumorais humanas HCT-116 (colorretal), OVCAR-8 (ovário) e SF-295 (glioblastoma), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA) e cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>. As amostras foram diluídas em DMSO PA estéril. Os extratos foram testados na concentração de 50 µg/mL. As linhagens celulares utilizadas foram plaqueadas nas concentrações de 0,1 x 10<sup>6</sup> células/mL (HCT-116 e OVCAR-8) e 0,7 x 10<sup>5</sup> células/mL (SF-295). A absorvância foi medida em espectrofotômetro de placa

a um comprimento de onda de 595 nm.

## 2.12 Análise estatística

As análises foram realizadas utilizando os programas *Microcal Origin 8.0*, ou *IBM SPSS Statistic 20* para o cálculo das  $CE_{50}$ . A comparação estatística dos resultados obtidos foi realizada aplicando-se ANOVA e comparações múltiplas pelo teste de Tukey ( $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ ). Todos os testes foram realizados em triplicata.

## 2.13 Cromatografia líquida de alta eficiência

Os perfis cromatográficos dos extratos foram obtidos por meio de análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em escala analítica, com equipamento *Shimadzu Prominence System* com sistema binário de bombas LC-6AD, detector UV SPD-20A e injetor manual. A coluna utilizada foi a C18 Shim-pack CLCDS(M) de 250 x 4,6 mm e partícula de 5  $\mu$ m. As amostras analisadas foram submetidas a um tratamento, utilizando membrana filtrante de 0,45  $\mu$ m. A eluição foi realizada com MeOH/H<sub>2</sub>O, em modo gradiente modo (5 → 100% em 60 min), em vazão de 1,0 mL/min, a temperatura ambiente (25 °C) e uma injeção de 20  $\mu$ L de solução do extrato em uma concentração de 5,0 mg/mL. Os cromatogramas foram monitorados a 254 nm.

## 2.14 Análise multivariada

A análise multivariada foi aplicada sobre a tabela contendo os resultados dos ensaios antioxidantes e das atividades biológicas estudadas, devido às diferentes escalas de grandeza das variáveis, os dados foram centrados na média e escalonados segundo os seus respectivos desvios padrão.

A Análise de Componentes Principais (*Principal Components Analysis* - PCA) foi realizada com 6 Componentes Principais (*Principal Components* - PC), peso 1 para todas as variáveis e amostras, validação cruzada com uma amostra por segmento e sem rotação, o programa Unscrambler® X 10.2 (Camo, Noruega) foi utilizado para a realização da análise multivariada e o programa Excel foi utilizado para a construção das tabelas. Nenhuma amostra ou variável foi considerada discrepante.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etanólico de *Combretum duarteanum* do Cerrado Setentrional (EECduaS) apresentou o maior rendimento (8,4%). Os extratos hexânico e aquoso de maior rendimento foram para o *C. duarteanum* do Cerrado Meridional, com 3,71% e 5,78% respectivamente.



### 3.1 Atividade antioxidante

No ensaio de DPPH a espécie *C. duarteanum* coletada no Cerrado Setentrional é mais ativa que a coletada no Cerrado Meridional, como pode ser observado pelos valores de  $CE_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ), uma vez que quanto menor a  $CE_{50}$ , maior a atividade antioxidante (Tabela 1). Esta distinção pode ser atribuída à diferença de concentração e/ou de substâncias antioxidantes.

Dentre os extratos testados o aquoso de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional (EACduaS) exibiu a maior atividade antioxidante ( $CE_{50} = 68,98 \pm 0,65 \mu\text{g/mL}$ ), contudo inferior ao controle positivo, rutina, ( $CE_{50} = 47,08 \pm 4,65 \mu\text{g/mL}$ ). Para os EHCduaS, EHCduaM e EECduaM não foi possível calcular a  $CE_{50}$ , pois a maior concentração testada ( $250 \mu\text{g/mL}$ ) não foi capaz de reduzir os radicais DPPH em 50%.

No ensaio de inibição do radical hidroxila ( $\text{OH}\cdot$ ) na ordem de atividade antioxidante observada foi EACduaS > EECduaS > EHCduaM > EACduaM > EECduaM > EHCduaS. A maior atividade antioxidante foi verificada para o EACduaS ( $CE_{50} = 1,58 \mu\text{g/mL}$ ), porém é menor quando comparado do controle positivo ( $CE_{50} = 0,76 \mu\text{g/mL}$ ). A comparação entre os valores de  $CE_{50}$  para o extrato da espécie coletada nos dois cerrados indica que as amostras possuem potencial antioxidante significativamente diferentes.

Na avaliação da atividade sequestradora do radical óxido nítrico, os extratos etanólico (EECduaS  $CE_{50} = 5,04 \mu\text{g/mL}$ ) e aquoso (EACduaS  $CE_{50} = 1,94 \mu\text{g/mL}$ ) foram os mais ativos, sendo que EACduaS apresentou maior atividade sequestradora que o controle positivo (trolox,  $CE_{50} = 3,23 \mu\text{g/mL}$ ). Os extratos de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional apresentaram maior potencial antioxidante que os extratos de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional.

A ordem de atividade antioxidante no ensaio TBARS foi EACduaS > EECduaS > EACduaM > EECduaM > EHCduaM > EHCduaS. O EECduaS ( $CE_{50} = 4,52 \mu\text{g/mL}$ ) e EACduaS ( $CE_{50} = 2,10 \mu\text{g/mL}$ ) exibiram os maiores potenciais antioxidantes, porém menor que o observado para o Trolox ( $CE_{50} = 0,23 \mu\text{g/mL}$ ). Gouveia et al. (2011) relataram atividade antioxidante pelo ensaio TBARS, para as folhas de *C. duarteanum* coletada em uma região da caatinga (Serra Branca-PB, Brasil), sendo que os percentuais de AA foram menores que do controle, trolox, em concordância com os obtidos para a espécie das duas regiões de cerrado do Piauí.

Para o ensaio de redução do ferricianeto de potássio à ferrocianeto de potássio os EECduaS ( $CE_{50} = 0,49 \mu\text{g/mL}$ ) e EACduaS ( $CE_{50} = 1,50 \mu\text{g/mL}$ ) apresentaram potencial antioxidante maior que o controle positivo ( $CE_{50} = 2,13 \mu\text{g/mL}$ ). Observou-se uma acentuada diferença entre os extratos de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional e Setentrional, sobretudo para o aquoso, uma vez que a  $CE_{50}$  do EACduaM foi  $167,27 \mu\text{g/mL}$  enquanto que a de EACduaS foi  $1,5 \mu\text{g/mL}$ . Os resultados obtidos mostram

que a espécie *C. duarteanum* coletada no Cerrado Setentrional é mais ativa que a coletada no Cerrado Meridional, exceto para os extratos hexânicos.

Extrato/ Ensaio antioxidante	DPPH	Hidroxila	Oxido nítrico	TBARS	Fe <sup>3+</sup> /Fe <sup>2+</sup>
EHCduaS	ND	19,55	9,46	19,04	43,13
EECduaS	267,541	5,24	5,04	4,52	0,49
EACduaS	68,98	1,58	1,94	2,10	1,50
EHCduaM	ND	16,08	15,51	13,01	6,26
EECduaM	ND	17,82	19,15	9,67	4,89
EACduaM	160,93	17,51	19,15	7,82	167,27
Rutina	47,08	-	-	-	-
Trolox		0,76	3,23	0,23	2,13

Tabela 1 – Atividade antioxidante (CE<sub>50</sub>, µg/mL) dos extratos hexânicos, etanólicos e aquosos de *Combretum duarteanum* do Cerrado Setentrional e Meridional do estado do Piauí

EHCduaS: Extrato hexânico de *Combretum duarteanum* do Cerrado Setentrional; EECduaS: Extrato etanólico de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional; EACduaS: Extrato aquoso de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional; EHCduaM: Extrato hexânico de *Combretum duarteanum* do Cerrado Meridional; EECduaM: Extrato etanólico de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional; EACduaM: Extrato aquoso de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; ND: não determinada.

### 3.2 Teor de fenóis e flavonoides totais

O EECduaS (117,61±0,97 mg EAG/g) apresentou maior teor do que EECduaM (88,69±0,25 mg EAG/g), o mesmo acontece para o EACduaS (243,35±4,71 mg EAG/g) e EACduaM (221,04±5,95 mg EAG/g) (Tabela 2).

Os maiores teores de fenóis totais foram para os extratos de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional, demonstrando uma correlação positiva com a atividade antioxidante nos ensaios com os radicais de DPPH, hidroxila, óxido nítrico e frente a TBARS. Este comportamento é esperado, pois os compostos fenólicos são potenciais sequestradores de radicais livres, portanto antioxidantes (FERREIRA et al., 2014).

Os teores de flavonoides totais (FLAT) nos extratos hexânicos foram os mais altos (Tabela 2). Este comportamento é atípico, uma vez que os extratos hexânicos geralmente são constituídos por substâncias alifáticas de baixa polaridade, dentre estas os carotenoides, que absorvem no mesmo comprimento de onda do teste realizado (420 nm) sendo assim um interferente.

Extrato	FT mg de EAG/g Extrato	FLAT mg de ER/g Extrato
EHCduaS	70,58±0,46	267,24±0,95
EECduaS	117,61±0,97	164,84±4,21
EACduaS	243,35±4,71	67,95±0,89
EHCduaM	70,47±1,43	262,18±2,10

EECduaM	88,69±0,25	254,14±4,14
EACduaM	221,04±5,95	34,59±0,64

Tabela 2 – Teores de fenóis totais (FT), flavonoides totais (FLAT) dos extratos hexânicos, etanólicos e aquosos de *C. duarteanum* dos Cerrados Setentrional e Meridional

FLAT: Flavonoides totais; EAG: Equivalente de ácido gálico; ER: Equivalente de rutina; EHCduaS: Extrato hexânico de *Combretum duarteanum* do Cerrado Setentrional; EECduaS: Extrato etanólico de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional; EACduaS: Extrato aquoso de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional; EHCduaM: Extrato hexânico de *Combretum duarteanum* do Cerrado Meridional; EECduaM: Extrato etanólico de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional; EACduaM: Extrato aquoso de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional.

Excluindo os extratos hexânicos, os maiores teores de FLAT foram dos extratos etanólicos, sendo que EECduaM (254,14±4,14) foi maior que EECduaS (164,84±4,21). Estes resultados não apresentam correlação positiva com a atividade antioxidante, visto que EECduaS é sempre mais o ativo nos ensaios antioxidantes. No entanto, os teores de flavonoides totais possuem correlação com a altitude em que as espécies foram coletadas. O EECduaM (198 m.n.m) está em uma altitude maior que o EECduaS (90m.n.m), estudos relatam que quanto maior a altitude maior a produção de flavonoides (POLLE; DENNENBERG, 1992; ZIDORN; STUPPNER, 2001).

Isso é decorrente desta classe de substâncias, que são conhecidas por sua proteção aos raios UV-B, o que confere uma defesa às plantas.

Os baixos teores de flavonoides totais para os EACduaS (67,95±0,89 mg de ER/g) e EACduaM (34,59±0,64 mg de ER/g), sugerem que os potenciais antioxidantes observados para estes extratos são decorrentes de outra classe de substâncias fenólicas, como cumarinas, estilbenos, ácidos fenólicos dentre outras já descritas no gênero *Combretum* Loeft. (DAWE et al., 2013).

### 3.3 Atividade anticolinesterásica

Os extratos hexânico (EHCduaS), etanólico (EECduaS) e aquoso (EACduaS) de *Combretum duarteanum* do Cerrado Setentrional apresentaram indicativo de resultado positivo na inibição da enzima acetilcolinesterase. O mesmo não foi observado nos extratos de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional, onde apenas o extrato etanólico (EECduaM) mostrou atividade. Isto sugere que *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional possui substâncias anticolinesterásicas tanto de caráter polar como apolar, enquanto que a do Cerrado Meridional possui substâncias apenas de caráter polar.

A atividade anticolinesterásica já foi observada no gênero *Combretum* Loeft. por Eldeen e Vas Staden (2007) no extrato etanólico das folhas, cascas e raízes e extrato diclorometano da raiz da espécie *C. hartmannianum* Schweinf.. Os autores sugerem que a atividade pode ser decorrente de dois alcaloides frequentemente encontrados no gênero *Combretum*, a Combrestatinina A e B (combretines A e B), os

alcaloídes são conhecidos por possuírem atividade anticolinesterásica.

### 3.4 Atividade citotóxica

Todos os extratos estudados de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional, apresentaram percentuais de atividade citotóxica mais altos quando comparados com os extratos de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional (Tabela 3).

Os dois extratos etanólicos (EECduaS e EECduaM) apresentaram elevado potencial citotóxico, acima de 75%, frente às três linhagens de células tumorais testadas. Para a linhagem SF-295 os extratos etanólicos apresentaram potencial citotóxico mais elevado que o controle positivo, Doxorrubucina. Estes valores reforçam o potencial citotóxico de espécies do gênero *Combretum*, relatado por Fyhrquist et al. (2006) e Lamidi et al. (2005).

Aplicando-se ANOVA e teste de Tukey observou-se uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os extratos EECduaS (73,32%) e EECduaM (94,48%) frente à linhagem OVCAR-8 e entre EECduaS (95,87%) e EECduaM (100,63%) frente a linhagem HCT-116. Os extratos hexânicos (EHCduaS e EHCduaM) e aquosos (EACduaS e EACduaM) não mostraram atividade citotóxica frente a nenhuma das linhagens celulares testadas.

Extrato/ linhagem	HCT-116	OVCAR-8	SF-295
EHCduaS	0,66±1,09	-5,21±5,26	6,47±2,10
EECduaS	95,87±3,67*	73,32±11,60*	95,46±5,45*
EACduaS	-2,61±2,11	12,60±6,14	27,50±1,79
EHCduaM	49,57±3,46	38,64±16,37	42,66±1,86
EECduaM	100,63±0,51*	94,48±2,89*	97,11±0,25*
EACduaM	26,09±9,88	52,18±6,85	52,30±3,35
Doxorrubucina	96,80±4,60	100,0±0,70	83,60±3,00

Tabela 3 – Porcentagem da atividade citotóxica dos extratos hexânicos, etanólicos e aquosos de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional e Meridional frente a três linhagens celulares

EHCduaS: Extrato hexânico de *Combretum duarteanum* do Cerrado Setentrional; EECduaS: Extrato etanólico de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional; EACduaS: Extrato aquoso de *C. duarteanum* do Cerrado Setentrional; EHCduaM: Extrato hexânico de *Combretum duarteanum* do Cerrado Meridional; EECduaM: Extrato etanólico de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional; EACduaM: Extrato aquoso de *C. duarteanum* do Cerrado Meridional. Linhagens celulares HCT-116 (colorretal humano), OVCAR-8 (ovário humano) e SF-295 (glioblastoma humano).

### 3.5 Perfis cromatográficos

A similaridade entre os perfis cromatográficos obtidos para *C. duarteanum* nas duas diferentes regiões do cerrado, foi avaliada por meio da comparação dos tempos de retenção e intensidade dos sinais cromatográficos, obtidos de 254 nm, conforme apresentado nas Figuras 1 e 2.

A partir dos perfis cromatográficos é possível observar a similaridade química entre *C. duarteanum* do cerrado Setentrional e *C. duarteanum* do cerrado Meridional, o que é esperado tratando-se da mesma espécie.

Considerando as seis bandas majoritárias nos extratos etanólicos (Figura 1), que significam pelo menos seis substâncias diferentes, observamos que no EECduaS as bandas 1 ( $t_r = 30,9\text{min}$ ), 2 ( $t_r = 32,5\text{min}$ ), 3 ( $t_r = 35,4\text{min}$ ) e 4 ( $t_r = 38,0\text{min}$ ) possuem maior intensidade, ou seja, estão em maior concentração; entretanto a banda 6 ( $t_r = 49,7\text{min}$ ) possui maior intensidade no EECduaM e a banda 5 ( $t_r = 43,4\text{min}$ ) possui igual intensidade.

Os perfis cromatográficos dos extratos aquosos, EACduaS e EACduaM, são bastante similares. Para a maioria das bandas não foi observado variação significativa na intensidade. A banda 2 ( $t_r = 30,6\text{min}$ ) e 3 ( $t_r = 34,6\text{min}$ ) possuem maior intensidade para o extrato EACduaS, as bandas 3 ( $t_r = 32,1\text{min}$ ), 5 ( $t_r = 37,5\text{min}$ ) e 6 ( $t_r = 42,5\text{min}$ ) possuem maior intensidade no perfil do extrato EACduaM e a banda 1 ( $t_r = 18,7\text{min}$ ) apresenta a mesma intensidade.

Os perfis cromatográficos nos mostram respostas químicas distintas, em termos de quantidade, devido ao ambiente em que as plantas foram coletadas, essa diferença também pode ser observada no potencial das atividades farmacológica.

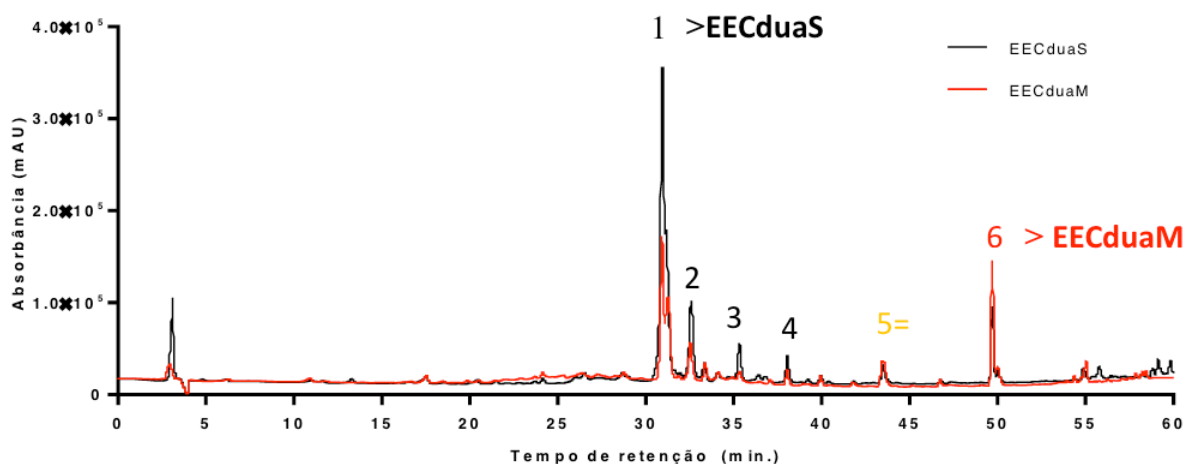


Figura 1. Perfil Cromatográfico obtido por CLAE do extrato etanólico de *Combretum duarteanum* do cerrado Setentrional e Meridional. Coluna C18 (250 x 4,6 mm 5  $\mu\text{m}$ ) eluído em gradiente com MeOH/H<sub>2</sub>O 10%-100% em 60min, 1 mL/min, 254 nm).

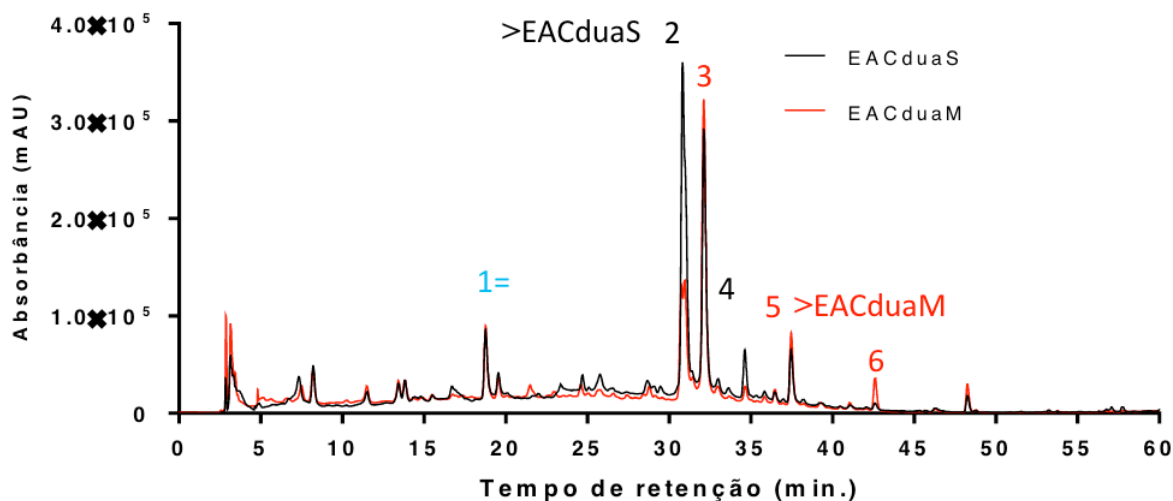


Figura 2. Perfil Cromatográfico obtido por CLAE do extrato aquoso de *Combretum duarteanum* do cerrado Setentrional e Meridional. Coluna C18 (250 x 4,6 mm 5  $\mu$ m) eluído em gradiente com MeOH/H<sub>2</sub>O 5%-100% em 60min, 1 mL/min, 254 nm).

### 3.6 PCA *Combretum duarteanum* Cambess

Foi realizada uma Análise de Componentes Principais (PCA) sobre as Tabelas 1, 2 e 3 contendo os resultados dos testes farmacológicos realizados com os extratos de *C. duarteanum* coletados na região Meridional (CduaM) e na região Setentrional (CduaS) do estado do Piauí. A PCA aplicada foi capaz de explicar 76,4% da variância total dos dados. A Figura 3 mostra o resultado da PCA por meio do gráfico bi-plot (*scores* e *loading*) sob a perspectiva da PC-1 (45,0%) e da PC-2 (31,4%). Nenhuma variável e nenhuma amostra foi considerada discrepante.

Constata-se (Gráfico 1) que a separação entre o EHCduaS do EHCduaM se dá através PC-2 em função dos testes farmacológicos Fe<sup>+3</sup>/Fe<sup>+2</sup>, FLAT, DPPH, Óxido nítrico, Hidroxila e TBARS, sendo as 5 primeiras mais relacionadas à amostra EHCduaM e apenas TBARS sendo correlacionada à EHCduaS. Verifica-se na Tabela 1, uma maior CE<sub>50</sub> no ensaio TBARS para o EHCduaS.

Os extratos etanólicos foram separados por meio da PC-1. A separação deu-se principalmente pelas variáveis hidroxila, óxido nítrico, TBARS, flavonoides totais e DPPH, com maiores valores para os testes com EECduaM (Tabelas 1 e 2). Sendo assim o EECduaS é o mais promissor para o desenvolvimento de produtos com atividade antioxidante.

A PC-1 faz a diferenciação dos extratos aquosos meridional e setentrional, esta distinção se dá principalmente pelas variáveis relacionadas às atividades antioxidantes e citotóxicas. Verifica-se pelo gráfico e Tabelas 1 e 3 que o EACduaM possui maior atividade citotóxica e menor atividade antioxidante evidenciada pelos ensaios.

O gráfico dos escores do PC-1 *versus* PC-2 com variância total explicada de 76,4%, nos mostra diferença entre os extratos das espécies coletadas no cerrado

Setentrional e Meridional. A partir de uma visão mais ampla da PC-1 comparando os extratos de origem Setentrional e Meridional é possível notar que há uma atribuição de maiores scores para os extratos Meridional. Ao se analisar os dados de *loadings* nota-se uma maior correlação de altos valores de scores com altos valores dos resultados nos testes relacionados às atividades antioxidantes (FLAT, DPPH, óxido nítrico, hidroxila, TBARS) e citotóxicas (HCT-116, OVCAR-8 e SF-295). Esses dados retratam que o conhecimento taxonômico não é suficiente para uma descrição fitoquímica da espécie, pois fatores ecológicos podem influenciar na resposta química ao ambiente.

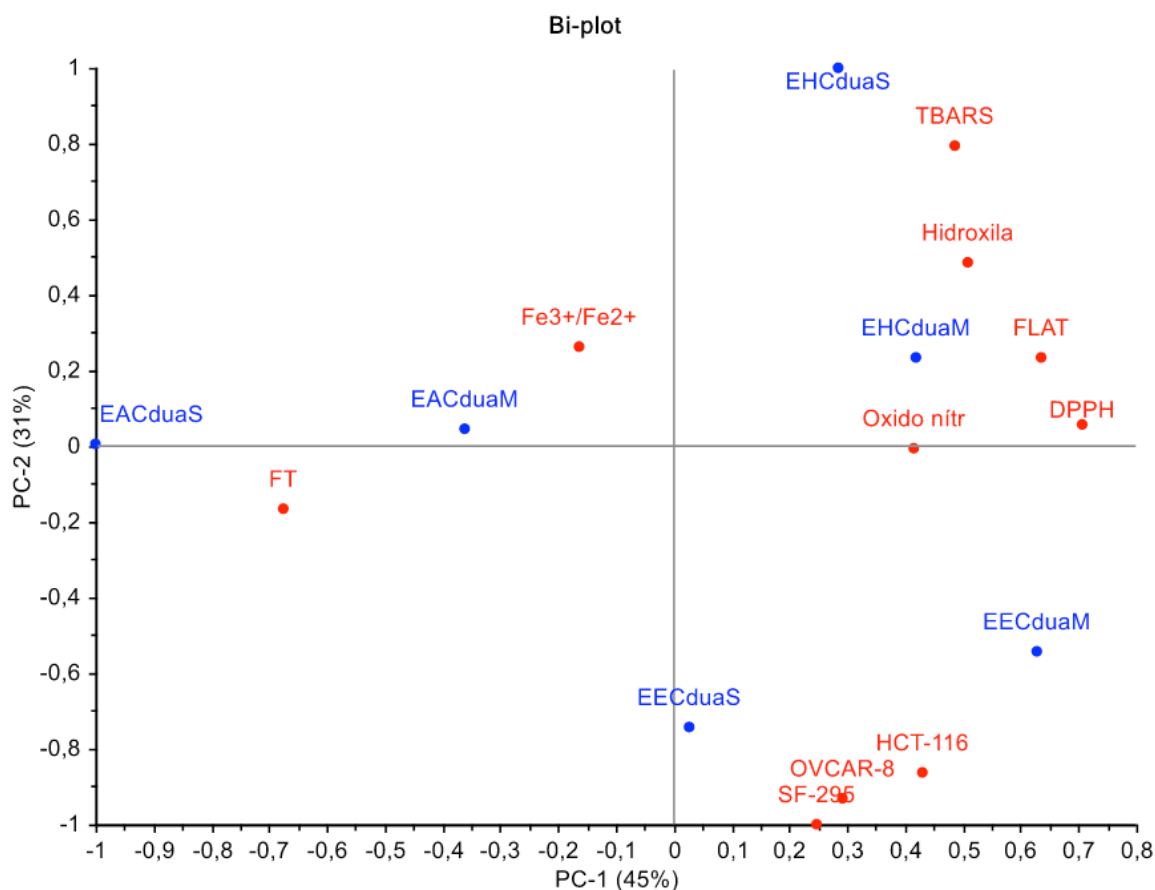


Gráfico 1. Gráfico biplot entre os dois primeiros componentes principais para os seis extratos de *Combretum duarteanum*.

#### 4 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos na análise comparativa dos extratos hexânico, etanólico e aquoso de *Combretum duarteanum* coletada nos Cerrados Setentrional e Meridional apresentam potencial antioxidante, citotóxico e anticolinesterásico diferentes.

Os teores de fenóis e flavonoides totais obtidos indicam que estudos fitoquímicos comparativos de uma mesma espécie de áreas geográficas distintas podem mostrar a diversidade química, demonstrando a relevância desse tipo de trabalho para estudos biológicos, como: genética, molecular, taxonomia (quimiotaxonomia), manejo, dentre

outros, agregando valor à biodiversidade no contexto da biologia da conservação.

Desta forma fica claro que relações ecológicas devem ser levadas em consideração em estudos químicos e farmacológicos, sempre que possível, pois o conhecimento da espécie apenas botanicamente, ou apenas quimicamente, contribui pouco para o desenvolvimento sustentável que devemos perseguir.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 325-354, 2007.
- ALMEIDA, J. R. G. S.; CAMILA DE SOUZA ARAÚJO; PESSOA, C. Ó.; COSTA, M. P.; PACHECO, A. G. M. Atividade antioxidante, citotóxica e antimicrobiana de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. sept., p. 258-264, 2014.
- BAST, A.; HAENEN, G. R. M. M.; DOELMAN, C. J. A. Oxidants and Antioxidants: State of the Art. **The American Journal of Medicine**, v. 91, p. 3-13, sept. 30, 1991.
- CASTRO, A. A. J. F.; BARROS, J. S.; COSTA, J. M.; SANTOS, M. P. D.; PIRES, M. F. O.; MENDES, M. R. A.; CASTRO, N. M. C. F.; FARIAS, R. R. S.; SOUSA, S. R. **Cerrados marginais do nordeste e ecótonos associados**: Sítio 10 do PELD (período 2001/2011). Teresina: EDUFPI/Gráfica do Povo, 2010.
- DAWE, A.; PIERRE, S.; TSALA, D. E.; HABTEMARIAM, S. Phytochemical Constituents of *Combretum* Loefl. **Pharmaceutical Crops**, v. 4, p. 38-59, 2013.
- ELDEEN, I. M. S.; VAS STADEN, J. *In vitro* pharmacological investigation of extracts from some trees used in Sudanese traditional medicine. **South Africa Journal of Botany**, v. 73, p. 435-440, 2007.
- ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES JR., V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 88-95, Jul. 1961.
- FARIAS, R. R. S.; CASTRO, A. A. J. F.; LOIOLA, M. I. B.; CHAVES, M. H.; PEREIRA, E. T. V. Botânica (aspectos morfológicos) e distribuição geográfica de três espécies de Combretaceae nos cerrados do Piauí, nordeste do Brasil. **Publicações Avulsas em Conservação de Ecossistema**, Teresina, n. 31, p.1-23, nov. 2014.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.
- FERREIRA, É. L. F.; MASCARENHAS, T. S.; OLIVEIRA, J. P. C.; CHAVES, M. H.; ARAÚJO, B. Q.; CAVALHEIRO, A. J. Phytochemical investigation and antioxidant activity of extracts of *Lecythis pisonis* Camb. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 8, p. 353-360, Feb. 2014.
- FYHRQUIST, P.; MWASUMBI, L.; HAEGGSTRÖM, C. A.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R.; VUORELA, P. Ethnobotanical and antimicrobial investigation on some species of *Terminalia* and *Combretum* (Combretaceae) growing in Tanzania. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 169-177, Feb. 2002.
- FYHRQUIST, P.; MWASUMBI, L.; VUORELA, P.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R.; MURPHY, C.; ADLERCREUTZ, H. Preliminary antiproliferative effects of some species of *Terminalia*, *Combretum* and *Pteleopsis* collected in Tanzania on some human cancer cell lines. **Fitoterapia**, v. 77, p. 358-366, Jul. 2006.



- GOUVEIA, M. G. S.; XAVIER, M. A.; BARRETO, A. S.; GELAIN, D. P.; SANTOS, J. P. A.; ARAÚJO, A. A. S.; SILVA, J. F. A.; QUINTANS, U. S.; AGRA, M. F.; CABRAL, A. G. S.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Antioxidant, Antinociceptive, and Anti-inflammatory Properties of the Ethanolic Extract of *Combretum duarteanum* in Rodents. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, p. 1389-1396, Nov. 2011.
- GREEN L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPE, P. L.; WISHNOK, J. S.; TANNENBAUM, S. R. Analysis of Nitrate, Nitrite, and [15N] Nitrate in Biological Fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 126, p. 131-138, Oct. 1982.
- LAMIDI, M.; DIGIORGIO, C.; DELMAS, F.; FAVEL, A.; EYELE MVE-MBA, C.; RONDI, M. L.; OLLIVIER, E.; NZE-EKEKANG, L.; BALANSARD, G. *In vitro* cytotoxic, antileishmanial and antifungal activities of ethnopharmacologically selected Gabonese plants. **Journal Ethnopharmacology**, v. 102, p. 185-190, 2005.
- LIMA, G. R. M.; MONTENEGRO, C. A.; FALCÃO, H. S.; JESUS, N. T.; CABRAL, A. G. S.; GOMES, I. F. F.; AGRA, M. F.; TAVARES, J. F.; BATISTA, L. M. Gastroprotective activity of the ethanolic extract and hexane phase of *Combretum duarteanum* Cambess (Combretaceae). **Journal of Natural Medicines**, v. 67, p. 492-502, Jul. 2013.
- LOPES, G. K. B.; SCHULMAN, H. M.; HERMES-LIMA, M. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1472, p. 142-152, 1999.
- MOSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.
- NASCIMENTO, S. C.; CHIAPPETA, A. A.; LIMA, R. M. O. C. Antimicrobial and cytotoxic activities in plants from Pernambuco, Brazil. **Fitoterapia**, v. 61, p. 353-355, 1990.
- NOGUEIRA NETO, J. D.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Avaliação do potencial antioxidante *in vitro* do nerolidol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas Aplicada**. v. 34, n. 1, p. 125-130, 2013.
- PANNANGPETCH, P.; TAEJARERNWIRIYAKUL, O.; KONGYINGYONES, B. Ethanolic extract of *Combretum decandrum* Roxb. decreases blood glucose level and oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 79, p. 107-108, 2008.
- PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; GOMES, T. L. B.; CARDOSO, K. C. M.; AMORIM, E. L. C. Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Química Nova**, v. 33, p. 288, 2010.
- POLLE, A.; DENNENBERG, H. Field studies on Norway spruce trees at high altitudes. II Defence systems against oxidative stress in needles. **New Phytol.**, v. 121, p. 635-642, 1992.
- POULSEN, H. E.; PRIME, H.; LOFT, S. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 7, p. 9-16, 1998.
- QUINTANS, J. S. S.; COSTA, E. V.; TAVARES, J. F.; SOUZA, T. T.; ARAÚJO, S. S.; ESTEVAM, C. S.; BARISON, A.; CABRAL, A. G. S.; SILVA, M. S.; SERAFINI, M. R.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Phytochemical study and antinociceptive effect of the hexanic extract of leaves from *Combretum duarteanum* and friedelin, a triterpene isolated from the hexanic extract, in orofacial nociceptive protocols. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 60-66, Jan./Feb. 2014.
- RHEE, I. K.; MEENT, M. V.; INGANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography**. v. 915, p. 217-223, 2001.

SILVA, D. C.; CERCHIARO, G.; HONÓRIO, K. M. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 300-305, 2011.

SILVA, E. G.; BEHR, G. A.; ZANOTTO-FILHO, A.; LORENZI, R.; PAS-QUALI, M. A. B.; RAVAZOLO, L. G.; BORDIGNON, C. L.; SILVA, F. A.; ABOY, A. L.; BASSANI, V. L.; HENRIQUES, A. T.; REGINATTO, F. H.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J. C. F. Antioxidant activity-Antioxidant activity-ties and free radical scavenging potential of *Bauhinia microstachya* (Rad-di) Macbr (Caesalpinaceae) extracts linked to their polyphenol content. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30 n. 8, p. 1488-1496, 2007.

SINGHAL, M.; PAUL, A.; SINGH, H. P. Synthesis and reducing power assay of methyl semicarbazone derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, p. 121-127, 2014.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. G.; VIEIRA-JR. G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

ZIDORN, C.; STUPPNER, H. Evaluation of Chemosystematic Characters in the Genus *Leontodon* (Asteraceae). **Taxon**, v. 50, n. 1, p. 115-133, Feb. 2001.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Anticholinesterase activity 2, 20, 39

Antioxidant activity 2, 15, 20, 34, 39, 57

Antioxidante 1, 2, 3, 4, 8, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 22, 24, 25, 26, 27, 33, 34, 35, 36, 38, 39, 42, 46, 47, 48, 49, 50, 56, 57, 58

Atividade anticolinesterásica 1, 2, 3, 6, 10, 11, 19, 23, 28, 39, 51

Atividade antioxidante 1, 2, 4, 8, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 22, 24, 25, 26, 27, 33, 34, 36, 38, 42, 46, 47, 48, 49, 50, 56, 57, 58

Atividade citotóxica 1, 2, 6, 11, 13, 23, 29, 38, 44, 51, 52

### B

Biodiversidade 15, 20, 35, 39, 40, 59

Biodiversity 20, 39

### C

Cerrados do nordeste 20, 39

Cerrados of Northeast 20, 39

Chemistry variability 20

Cytotoxic activity 2, 39

### F

Fitogeografia 2

Fitoquímica 2, 14, 32, 57

Fotoproteção 39

### P

Phytochemistry 2, 35

Phytogeography 2

### V

Variabilidade química 20

 **Atena**  
Editora

**2 0 2 0**