

# 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* Loeft. 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

### CAPÍTULO 1 ..... 1

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

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

**DOI 10.22533/at.ed.3482005031**

### CAPÍTULO 2 ..... 19

#### PERFIL FITOQUÍMICO DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DE *Combretum mellifluum* EICHLER DE DUAS ÁREAS DE CERRADO

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

**DOI 10.22533/at.ed.3482005032**

### CAPÍTULO 3 ..... 38

#### ANÁLISE COMPARATIVA DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Terminalia actinophylla* MART. DE DUAS ÁREAS DE CERRADO: POTENCIAL FARMACOLÓGICO

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

**DOI 10.22533/at.ed.3482005033**

### SOBRE A ORGANIZADORA..... 59

### ÍNDICE REMISSIVO ..... 60

# Capítulo 2

PERFIL FITOQUÍMICO DE ATIVIDADES  
FARMACOLÓGICAS DE *Combretum mellifluum*  
EICHLER DE DUAS ÁREAS DE CERRADO



## PERFIL FITOQUÍMICO DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DE *Combretum mellifluum* EICHLER DE DUAS ÁREAS DE CERRADO

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**

UFPI - Universidade Federal do Piauí, UFPI  
Teresina-PI BioTEN

variabilidade fitogeográfica, química e farmacológica dos extratos hexânico, etanólico e aquoso das folhas da espécie *Combretum mellifluum* Eichler. como contribuição para a caracterização química e farmacológica dos Cerrados Setentrional e Meridional 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  $Fe^{3+}$  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 a citotoxicidade pelo método de brometo de 3-(4,5dimetildiazol-2-il)-2,5difeniltretrazolium (MTT), frente a linhagens de células tumorais humanas (cólon, ovário e glioblastoma). O extrato aquoso *C. mellifluum* (Meridional) apresentou atividade antioxidante ( $CE_{50}$   $46,50 \pm 1,43$  mg/mL) maior do que o controle rotina no ensaio do DPPH. O extrato aquoso de *C. mellifluum* (Setentrional) apresentou alta atividade antioxidante na redução dos radicais óxido nítrico ( $0,47 \pm 0,11$  mg/mL) e hidroxila ( $0,76 \pm 0,13$  mg/mL). Os extratos hexânicos e etanólicos exibiram resultados positivos para o teste qualitativo

**RESUMO:** O presente estudo relata

de inibição da acetilcolinesterase. O extrato etanólico (Setentrional) foi fortemente ativo frente as três linhagens de células OVCAR-8 (carcinoma de ovário), HCT-116 (colonretal – humano) e SF-295 (glioblastoma – humano), com percentuais de inibição de  $95,87\pm 0,32$ ;  $83,89\pm 1,39$ ;  $89,00\pm 1,18$  respectivamente. Os extratos etanólicos e aquosos apresentaram alto teor de fenóis e flavonoides totais. A análise dos perfis cromatográficos mostraram a variedade química, evidenciada também pela diferença na resposta das atividades biológicas dentro de uma mesma espécie.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biodiversidade. Cerrados do Nordeste. Variabilidade Química.

## PHYTOCHEMICAL PROFILE OF PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF *Combretum mellifluum* EICHLER FROM TWO CERRADO AREAS

**ABSTRACT:** This study reports for the first time the phytogeographic, chemical, and pharmacological variability of hexane, ethanolic and aqueous extracts from leaves of the species *Combretum mellifluum* Eichler. as a contribution to the chemical characterization of the Northern and Southern cerrado 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 was measured by MTT cell proliferation assay against human tumor cell lines (colon, ovary and glioblastoma). The aqueous extract of *C. mellifluum* (Southern) presented higher antioxidant activity ( $EC_{50}$   $46.50\pm 1.43$  mg/mL) than the routine (control) in the DPPH assay. The aqueous extract of *C. mellifluum* (Northern) showed high antioxidant activity in the reduction of radical nitric oxide ( $0.47\pm 0.11$  mg/mL) and hydroxyl ( $0.76\pm 0.13$  mg/mL). The hexane and ethanol extracts showed positive results for the qualitative test of inhibition of acetylcholinesterase. The ethanol extract (Northern) was strongly active against the three cell lines: OVCAR-8 (ovarian carcinoma), HCT-116 (colorectal - human) and SF-295 (glioblastoma - human), with inhibition percentage of  $95.87\pm 0.32$ ;  $83.89\pm 1.39$ ;  $89.00\pm 1.18$  respectively. The aqueous and ethanol extracts showed high concentration of total phenols and flavonoids. The analysis of chromatographic profiles revealed the chemical variety, which was also evidenced by the difference in the response of the biological activities within the same species.

**KEYWORDS:** Biodiversity. Cerrados of Northeast. Chemistry variability.

## 1 | INTRODUÇÃO

A presença de metabólitos secundários nas plantas está relacionada com várias funções ecológicas, entre elas: a defesa contra ataques de herbívoros e de patógenos, atrativo (odor, cor e sabor) para animais polinizadores, dispersores de sementes e microrganismos simbiotes, alelopatia, função estrutural e proteção

contra estresses bióticos (radiação solar, mudanças de temperaturas, deficiência de nutrientes minerais) (DALBONE; LANDO, 2010).

Com isso, fatores como desenvolvimento da planta e sazonalidade; índice pluviométrico e estacionalidade; temperatura e altitude, entre outros, apresentam correlações entre si e não atuam isoladamente, podendo influir em conjunto no metabolismo secundário (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

A diversidade biológica (riqueza, proporção de abundância dos indivíduos etc.) e química podem variar em função da amplitude (ou gradiente) latitudinal. Por isso é que há a necessidade de se considerar de forma conjunta a morfologia e o metabolismo, cada vez mais, para que aumente a eficiência da busca de produtos naturais específicos por uma abordagem biogeográfica (GOTTLIEB; KAPLAN; BORIN, 1996).

As mudanças morfológicas e químicas da flora angiospérmica ocorrem com maior frequência via ecótonos, que são repentinas transições geográficas com faixas limítrofes turbulentas, semelhantes às transições de fase físico-químicas. Nessas zonas ecogeográficas de tensão caracterizada pela quebra dos gradientes morfo-químicos surge maior complexidade estrutural e molecular (GOTTLIEB; BORIN, 1997a, b)

A flora piauiense apresenta uma diversidade bastante significativa e peculiar, devido os cerrados ocuparem uma posição marginal norte-nordeste ao cerrado central, apresentando também, uma das maiores extensões deste Bioma e de áreas de transição cerrado, caatinga e carrasco do Nordeste (CASTRO, 1994a, b).

*Combretum* Loeft. é o maior e mais difundido gênero de Combretaceae. Compreende aproximadamente 250 espécies distribuídas em todas as regiões tropicais, principalmente na África e Ásia (LOIOLA; SALES, 1996; JOLY, 2002; KATERERE, 2003; STACE, 2010).

Devido ao aumento de investigações químicas e farmacológicas, *Combretum* Loeft. mostrou seu potencial como fonte de vários metabólitos secundários. Os extratos de *Combretum* tem mostrado bioatividades *in vitro*, como antibacterianas, antifúngicas, anti-hiperglicêmica, citotoxicidade contra várias linhas de tumor de células humanas, anti-inflamatória, antiofídica, antimaláricas e efeitos antioxidantes. Em estudos *in vivo* através de vários modelos animais também têm mostrado resultados promissores. No entanto, constituintes químicos e bioatividades da maioria das espécies deste gênero altamente diversificadas não foram investigadas (DAWE et al., 2013).

O presente trabalho tem como objetivo relatar o potencial farmacológico e o perfil químico comparativo de extratos das folhas de *Combretum mellifluum* Eichler., em diferentes áreas de Cerrado do Piauí, contribuindo para auxiliar nas informações sobre interações ecológicas do vegetal com seu ambiente.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

O Material vegetal utilizado foram folhas de *Combretum mellifluum* Eichler, coletadas em janeiro de 2012 nos municípios de Campo Maior - PI (área de Cerrado Setentrional), coordenadas 04°46'08.8" S, 42°17'45.6" W e altitude de 90 m.n.m. e Bom Jesus - PI (área de Cerrado Meridional), 09°18'45.5" S, 44°32'43.6" W e altitude de 370 m.n.m. Os exemplares testemunhos foram incorporados ao acervo do Herbário Graziela Barroso (TEPB) da Universidade Federal do Piauí, sob os números TEPB 28.192 e TEPB 28.344, 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 mellifluum* do cerrado Setentrional (EHCmelS 8,88 g; 0,94%), Extrato etanólico de *C. mellifluum* do cerrado Setentrional (EECmelS 70,62 g; 7,46%), Extrato aquoso de *C. mellifluum* do cerrado Setentrional (EACmelS 48,85 g; 5,16%), Extrato hexânico de *Combretum mellifluum* do cerrado Meridional (EHCmelM 4,83 g; 0,41%), Extrato etanólico de *C. mellifluum* do cerrado Meridional (EECmelM 67,97 g; 5,83%), Extrato aquoso de *C. mellifluum* do cerrado Meridional (EACmelM 46,11 g; 2,96%).

### 2.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante *in vitro* foi avaliada por meio do ensaio de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (SILVA et al., 2007), radical hidroxila (LOPES; SCHULMAN; HERMES-LIMA, 1999), óxido nítrico (NOGUEIRA NETO; SOUSA; FREITAS, 2013) e potencial redutor (SINGHAL et al., 2014) nas concentrações de 0,9, 1,8, 3,6, 5,4, 7,2 µg/mL, bem com o DPPH (SOUSA et al., 2007) nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200 e 250 µg/mL.

### 2.4 Teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi realizado de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (SOUSA et al., 2007). A leitura das absorbâncias das soluções foi realizada no comprimento de onda de 700 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, onde “c” é a concentração de ácido gálico e “A” é a absorbância, sendo apresentado em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg de EAG/g).

## 2.5 Teor de flavonoides

O teor de flavonoide totais das soluções dos extratos (1  $\mu\text{g/mL}$ ) foi determinado pela medida das absorbâncias em comprimento de onda de 420 nm (PEIXOTO SOBRINHO et al., 2010; FERREIRA et al., 2014). O resultado foi calculado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com o padrão rutina, expressa por  $A = 0,02618c - 0,00717$ , onde “A” é a absorbância da amostra e “c” é a concentração da rutina, com um coeficiente de correlação linear igual a 0,999 e expresso em miligrama de equivalente de rutina por grama de extrato (mg de ER/g).

## 2.6 Atividade anticolinesterásica

O teste qualitativo para a inibição da enzima acetilcolinesterase foi realizado utilizando soluções metanólicas dos extratos (10 mg/mL) aplicadas em placa de gel de sílica eluída em clorofórmio/metanol (9:1) e reveladas com reagente de Ellman (ELLMAN et al., 1961; RHEE et al., 2001). O resultado é observado por meio da comparação entre os spots das amostras e do padrão cafeína.

## 2.7 Atividade citotóxica

A atividade citotóxica foi avaliada frente as linhagens celulares HCT-116 (colorretal humano), OVCAR-8 (ovário humano) e SF-295 (glioblastoma humano), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), conforme o método brometo de 3-(4,5dimetildiazol-2-il)-2,5difeniltretrazolium (MTT) descrito por Mosmann (1983) seguindo Almeida et al. (2014).

## 2.9 Cromatografia líquida de alta eficiência

Os perfis cromatográficos foram obtidos em Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em escala analítica com equipamento *Shimadzu Prominence System* - 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  $\mu\text{m}$ . As amostras analisadas foram submetidas a um tratamento, utilizando membrana filtrante de 0,45  $\mu\text{m}$ . A eluição foi realizada com MeOH/H<sub>2</sub>O em modo gradiente (5  $\square$  100% em 60min), com fluxo de 1,0 mL/min, temperatura ambiente (25

°C) e injeção de 20  $\mu$ L de solução do extrato em uma concentração de 5,0 mg/mL. Os cromatogramas foram obtidos no comprimento de onda de 254 nm.

## 2.9 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de seis tratamentos, com três repetições. Os resultados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) pelo teste *F* e as médias comparadas pelo teste de Tukey adotando-se nível de significância a 5% de probabilidade. Na determinação da atividade antioxidante (AA) pelo ensaio DPPH foi utilizado o DIC em esquema fatorial 4 x 6 x 2 (4 extratos, 6 concentrações e 2 áreas de cerrado). A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa ASSISTAT, versão 7.7 (2009), licenciado pela Universidade Federal de Campina Grande. Utilizou-se os programas *Microcal Origin 8.0* e/ou *IBM SPSS Statistic 20* para o cálculo das  $CE_{50}$ .

A fim de avaliar a similaridade das atividades farmacológicas entre os extratos das folhas de *C. mellifluum* foram realizadas análises de componentes principais (PCA). Foi empregada nesta análise multivariada, o software programa Unscrambler® X, versão 10.2 (Camo, Noruega).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Atividade antioxidante pelo ensaio de DPPH

Nos últimos anos são inúmeros os estudos sobre radicais livres e novos métodos para avaliação de atividade antioxidante. Acredita-se que o impulso a busca por novas substâncias capazes de prevenir ou minimizar os danos oxidativos às células vivas, dá-se às descobertas do efeito deletério dos radicais livres sobre as células e sua relação com certas doenças (ALVES et al., 2013).

O potencial dos diferentes extratos da espécie *C. mellifluum* em sequestrar radicais livres foi expresso como concentração final do extrato necessária para inibir a oxidação do radical DPPH em 50%, e os resultados são descritos nas Figuras 1 e 2.

Os extratos aquosos da espécie *C. mellifluum* apresentaram baixo  $CE_{50}$  tanto para o Cerrado Setentrional como para o Cerrado Meridional. O EACmeIM, exibe a maior atividade antioxidativa ( $CE_{50} = 46,50 \pm 1,43 \mu\text{g/mL}$ ), mostrando-se comparável ao controle positivo, rutina, ( $CE_{50} = 47,08 \pm 4,65 \mu\text{g/mL}$ ), essa performance pode ser atribuída à habilidade de sequestrar radicais livres por meio da doação de hidrogênio, visto que o extrato mencionado apresentou alto teor de compostos fenólicos. Enquanto o EECmeIM apresentou o maior valor de  $CE_{50}$  ( $380,87 \pm 11,88 \mu\text{g/mL}$ ), conseqüentemente a menor atividade antioxidante. Para os EHCmeIS e EHCmeIM

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%.

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante (%AA) dos extratos de *C. mellifluum* (folhas) e do controle positivo para o Cerrado Setentrional e Meridional, (Gráficos 1 e 2), mostrou que todos os extratos da espécie têm atividade sequestradora do radical DPPH, contudo o EHCmeIS foi o menos ativo nas seis concentrações. As demais amostras de extratos, na concentração de  $250 \mu\text{g/mL}$ , apresentaram atividade antioxidante superior a 80%, atingindo um máximo de  $94,93 \pm 0,41\%$  para o EACmeIS contra  $94,14 \pm 0,22\%$  da rutina.

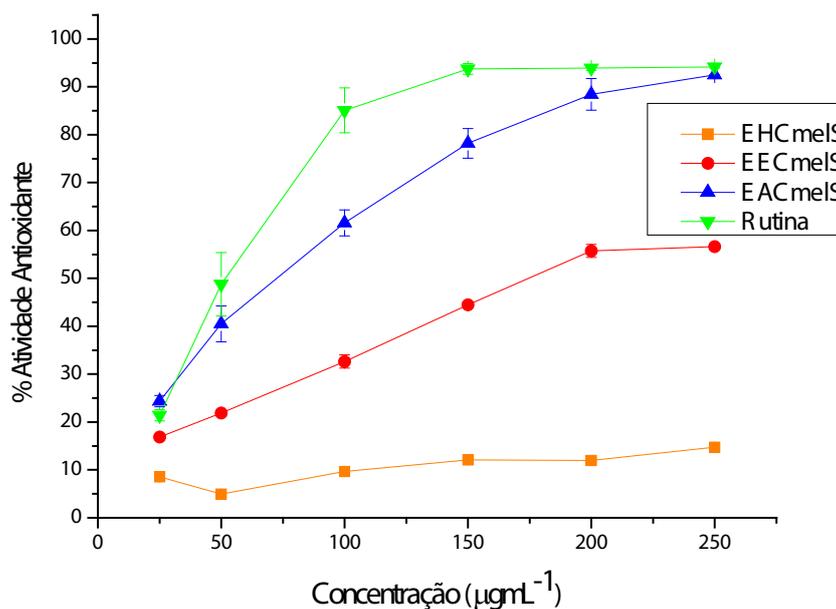


Gráfico 1 - Porcentagem de atividade antioxidante dos extratos hexânico (EHCmeIS), etanólico (EECmeIS) e aquoso (EACmeIS) das folhas de *Combretum mellifluum* Eichler. do Cerrado Setentrional e do padrão Rutina.

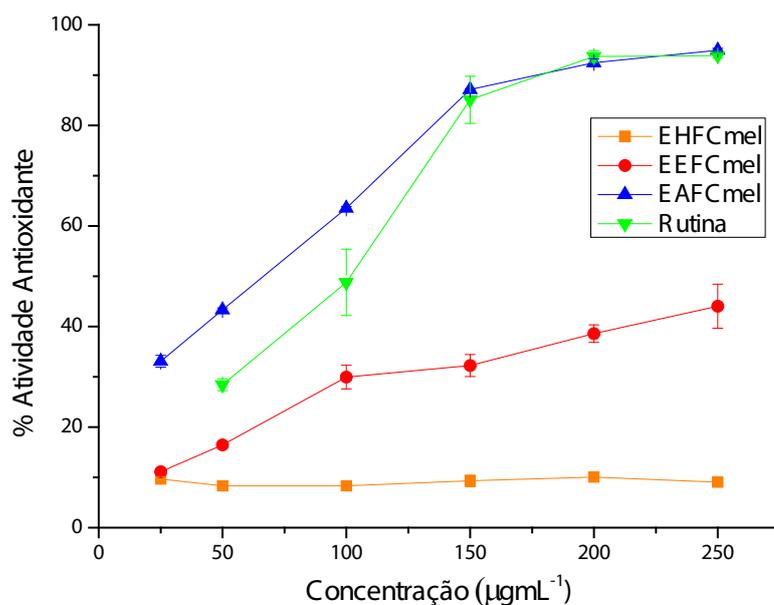


Gráfico 2. Porcentagem de atividade antioxidante dos extratos hexânico (EHFcmel), etanólico (EEFCmel) e aquoso (EAFcmel) das folhas de *Combretum mellifluum* do Cerrado Meridional e do padrão Rutina.

### 3.2 Avaliação do potencial antioxidante contra a formação de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Nos extratos houve redução da peroxidação lipídica em relação ao controle Trolox (0,23 µg/mL), tendo destaque por possuir maior atividade antioxidante o EACmelS (0,51 µg/mL). A ordem decrescente da atividade antioxidante no ensaio TBARS para os extratos de *Combretum mellifluum* Eichler, foi a seguinte: EACmelS > EACmelM > EEFCmelM > EEFCmelS > EHFcmelM e > EHFcmelS (Tabela 2).

### 3.3 Avaliação do potencial antioxidante contra a formação do radical hidroxila

Os resultados evidenciaram uma diminuição significativa na degradação da 2-desoxiribose, este fato, sugere que extratos de *C. mellifluum* são capazes de sequestrar o radical hidroxila e bloquear a reação de produção do malonaldeído (MDA) que ao reagir com o ácido tiobarbitúrico forma cromógeno que absorve no comprimento de onda 532 nm.

Os extratos aquosos dos espécimes do Cerrado Setentrional e Meridional apresentaram maior atividade antioxidante. O EACmelS mostrou resultado igual ao do controle positivo Trolox ( $CE_{50} = 0,76 \mu\text{g/mL}$ ), sendo o extrato com a maior atividade antioxidante. O EACmelM, embora apresentando boa atividade ( $CE_{50} = 0,83 \mu\text{g/mL}$ ), manteve-se inferior ao do controle positivo (Tabela 2).

A comparação entre os valores de  $CE_{50}$  para os extratos da espécie *C. mellifluum* coletada nos dois cerrados indica que os extratos hexânicos apresentaram a menor atividade antioxidante, com resultados de  $CE_{50} = 3,79 \mu\text{g/mL}$  e  $3,13 \mu\text{g/mL}$  para o

EHCmeIS e o EHCmeIM, respectivamente (Tabela 1).

### 3.4 Avaliação do potencial antioxidante contra a formação do radical óxido nítrico

A avaliação dos extratos de *C. mellifluum* como substância sequestradora do radical óxido nítrico (NO·) também foi testada pela sua capacidade de remoção do nitrito pelo método de Griess (RAMOS et al., 2006). Os resultados apresentados da Tabela 2 demonstram que os extratos etanólicos e aquosos, tanto do Cerrado Setentrional como do Meridional, foram os mais ativos, sendo superiores ao controle positivo Trolox ( $CE_{50} = 3,23 \mu\text{g/mL}$ ). O EACmeIS se destacou com maior potencial antioxidante ( $CE_{50} = 0,47 \mu\text{g/mL}$ ). Novamente, os extratos hexânicos dos dois cerrados apresentaram as menores atividades antioxidantes, em concordância com os outros testes de atividade antioxidante.

### 3.5 Avaliação do potencial redutor

Nesse caso, os extratos das folhas de *C. mellifluum*, apresentaram valores de  $CE_{50}$  variando de  $9,13 \pm 0,15$  à  $10,00 \pm 0,18 \text{ } \mu\text{g/mL}$ , para o EACmeIM e EHCmeIS, respectivamente, enquanto o valor encontrado para o Trolox foi de  $2,13 \text{ } \mu\text{g/mL}$  (Tabela 1). Dessa forma, os resultados apontam baixos valores em relação a capacidade doadora de elétrons.

Extrato/ Ensaio antioxidante	DPPH	Hidroxila	Oxido nítrico	TBARS	Fe <sup>3+</sup> /Fe <sup>2+</sup>
EHCmeIS	ND	3,79±0,18	3,76±0,15	3,65±0,18	10,00±0,18
EECmeIS	193,77±6,75	1,53±0,25	1,14±0,21	1,39±0,24	9,42±0,15
EACmeIS	69,27±8,62	0,76±0,13	0,47±0,11	0,51±0,11	9,19±15,30
EHCmeIM	ND	3,13±0,26	3,34±0,22	3,08±0,24	9,63±0,10
EECmeIM	380,87±11,88	1,18±0,22	0,74±0,15	0,71±0,15	9,27±0,13
EACmeIM	46,50±1,43	0,83±0,17	0,77±0,15	0,63±0,09	9,13±0,15
*Rutina	47,08±4,65	±	±	±	±
*Trolox		0,76	3,23	0,23	2,13

Tabela 1 – Atividade antioxidante ( $CE_{50}$ ) dos extratos hexânicos, etanólicos e aquosos de *Combretum mellifluum* do Cerrado Setentrional e Meridional do estado do Piauí

EHCmeIS: Extrato hexânico de *Combretum mellifluum* do Cerrado Setentrional; EECmeIS: Extrato etanólico de *C. mellifluum* do Cerrado Setentrional; EACmeIS: Extrato aquoso de *C. mellifluum* do Cerrado Setentrional; EHCmeIM: Extrato hexânico de *C. mellifluum* do Cerrado Meridional; EECmeIM: Extrato etanólico de *C. mellifluum* do Cerrado Meridional; EACmeIM: Extrato aquoso de *C. mellifluum* do Cerrado Meridional; ND: não determinado.

### 3.6 Avaliação do teor de fenóis e flavonoides totais

A Tabela 2 apresenta os teores encontrados de fenólicos totais (FT) e flavonoides

totais (FLAT) dos extratos de *C. mellifluum* analisados. Os teores encontrados variaram de  $73,81 \pm 1,56$  a  $342,76 \pm 1,91$  mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato para fenólicos totais e de  $128,30 \pm 2,08$  a  $511,40 \pm 5,08$  mg equivalente de rutina por grama de extrato para flavonoides totais.

Extrato	FT mg de EAG/g Extrato	FLAT mg de ER/g Extrato
EHCmeIS	$73,81 \pm 1,56$ <sup>f</sup>	$179,10 \pm 5,11$ <sup>d</sup>
EECmeIS	$180,63 \pm 4,23$ <sup>c</sup>	$511,40 \pm 5,08$ <sup>a</sup>
EACmeIS	$342,76 \pm 1,91$ <sup>a</sup>	$136,24 \pm 0,39$ <sup>e</sup>
EHCmeIM	$113,54 \pm 2,32$ <sup>d</sup>	$358,24 \pm 5,44$ <sup>b</sup>
EECmeIM	$86,86 \pm 3,41$ <sup>e</sup>	$128,30 \pm 2,08$ <sup>e</sup>
EACmeIM	$212,22 \pm 1,04$ <sup>b</sup>	$202,87 \pm 1,79$ <sup>c</sup>

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

FLAT: Flavonoides totais; EAG: Equivalente de ácido gálico; ER: Equivalente de rutina; EHCmeIS: Extrato hexânico de *Combretum mellifluum* do Cerrado Setentrional; EECmeIS: Extrato etanólico de *C. mellifluum* do Cerrado Setentrional; EACmeIS: Extrato aquoso de *C. mellifluum* do Cerrado Setentrional; EHCmeIM: Extrato hexânico de *C. mellifluum* do Cerrado Meridional; EECmeIM: Extrato etanólico de *C. mellifluum* do Cerrado Meridional; EACmeIM: Extrato aquoso de *C. mellifluum* do Cerrado Meridional. Os resultados acima são a média  $\pm$  desvio padrão (n=3). Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si significativamente pelo teste F (ANOVA) a 5% de probabilidade.

Todos os teores de fenois e flavonoides totais para os extratos de *C. mellifluum* mostraram diferença estatística significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As variações nas concentrações de fenólicos totais e de flavonoides totais ocorre em função de diferentes fatores, como a ecologia da vegetação (PARK et al., 2002) e pela flora local e região da coleta (BANKOVA, 2005; SOUSA et al., 2007).

O extrato que apresentou o teor mais elevado de fenólicos totais foi o EACmeIS ( $342,76 \pm 1,91$  mg, equivalente de ácido gálico por grama de extrato). Quanto aos flavonoides totais, o extrato que apresentou o teor mais elevado foi o EECmeIS ( $511,40 \pm 5,08$  mg, equivalente de rutina por grama de extrato). Cabe ressaltar que o Cerrado Setentrional apresentou os extratos mais ricos em teores totais de fenois e flavanoides.

### 3.7 Atividade anticolinesterásica

A resposta positiva do teste, foi a observação de manchas brancas semelhantes ao padrão cafeína nas placas de cromatografia em camada delgada. Essa atividade foi evidenciada nos extratos hexânicos e etanólicos do Cerrado Setentrional e Meridional (EHCmeIS, EECmeIS, EHCmeIM e EECmeIM).

Os extratos aquosos, tanto do Cerrado Setentrional como do Meridional não apresentaram essa atividade.

### 3.8 Atividade citotóxica

A citotoxicidade dos extratos hexânicos, etanólicos e aquosos das folhas de *C. mellifluum* foi avaliada frente a três linhagens de células, HCT-116 (colorectal – humano), OVCAR-8 (carcinoma de ovário) e SF-295 (glioblastoma – humano). Os resultados são apresentados em porcentagem de atividade citotóxica (Tabela 3). Percentuais entre 1-50% são considerados fracos, entre 50-75% moderados e entre 75-100% fortes.

Extrato/ Linhagem	HCT-116	OVCAR-8	SF-295
EHCmelS	45,31±6,03 <sup>b</sup>	36,90±34,45 <sup>ab</sup>	37,00±2,79 <sup>b</sup>
EECmelS	95,87±0,32 <sup>a</sup>	83,89±1,39 <sup>ab</sup>	89,00±1,18 <sup>a</sup>
EACmelS	68,35±3,85 <sup>b</sup>	57,93±1,07 <sup>ab</sup>	41,65±3,91 <sup>b</sup>
EHCmelM	1,94±5,97 <sup>c</sup>	-8,24±3,90 <sup>b</sup>	10,37±11,52 <sup>c</sup>
EECmelM	49,09±17,77 <sup>b</sup>	37,81±43,87 <sup>ab</sup>	89,48±3,84 <sup>a</sup>
EACmelM	10,83±9,40 <sup>c</sup>	21,96±13,06 <sup>ab</sup>	35,70±18,02 <sup>b</sup>
*Doxorrubicina	96,80±4,60 <sup>a</sup>	100,0±0,70 <sup>a</sup>	83,60±3,00 <sup>a</sup>

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

EHCmelS: Extrato hexânico de *Combretum mellifluum* do Cerrado Setentrional; EECmelS: Extrato etanólico de *C. mellifluum* do Cerrado Setentrional; EACmelS: Extrato aquoso de *C. mellifluum* do Cerrado Setentrional; EHCmelM: Extrato hexânico de *C. mellifluum* do Cerrado Meridional; EECmelM: Extrato etanólico de *C. mellifluum* do Cerrado Meridional; EACmelM: Extrato aquoso de *C. mellifluum* do Cerrado Meridional; HCT-116: colorretal humano; OVCAR-8: ovário humano; SF-295: glioblastoma humano. Os resultados acima são a média ± desvio padrão (n=3). Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si significativamente pelo teste F (ANOVA) a 5% de probabilidade.

O extrato etanólico de *C. mellifluum* do Cerrado Setentrional (EECmelS), apresentou forte atividade citotóxica em todas as células testadas, com 95,87%, 89,00% e 83,89% para HCT-116, SF-295 e OVCAR-8, respectivamente. O EECmelM foi o único do Cerrado Meridional que promoveu a inibição de crescimento celular em 89,48% frente a linhagem SF-295 (glioblastoma humano), mostrando-se superior ao controle positivo Doxorrubicina.

### 3.9 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os perfis cromatográficos dos extratos etanólicos, EECmelS e EECmelM, são bastante similares. A diferença se encontra na intensidade das bandas em 31,6; 35,8 e 39,9min que são mais intensas no EECmelS. Bandas com mesmo tempo de retenção, mas com diferença de intensidade significa que a substância que as bandas representam estão em concentração diferente, quanto mais alta a banda cromatográfica, maior a concentração (Figura 1).

A análise dos perfis cromatográficos dos extratos aquosos, EACmelS e

EACmeIM, sugere que há pouca similaridade entre eles. As bandas com tempo de retenção de 13,2; 16,1; 18,8; 33,3; 37,7 e 42,8min possuem maior intensidade no extrato aquoso de *Combretum mellifluum* Meridional (EACmeIM), indicando maior concentração das substâncias neste extrato. Além disto a banda em 10,2min, é a mais intensa no EACmeIS (Figura 2).

A diversidade observada nos perfis cromatográficos ressalta a diferença nos extratos da espécie em estudo, devido às condições ambientais quando as folhas foram coletadas, o que foi observado também nas atividades farmacológicas.

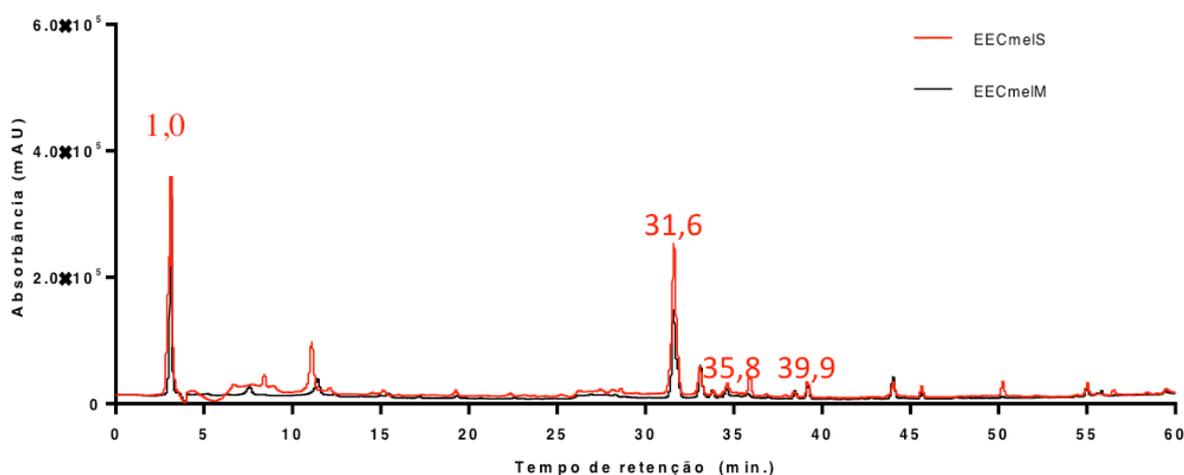


Figura 1 - Perfil cromatográfico obtido por CLAE do extrato etanólico de *Combretum mellifluum*. Coluna C18 (250 x 4,6 mm 5  $\mu$ m) eluído em gradiente com MeOH/H<sub>2</sub>O 5%-100% em 60min, 1mL/min, 254 nm).

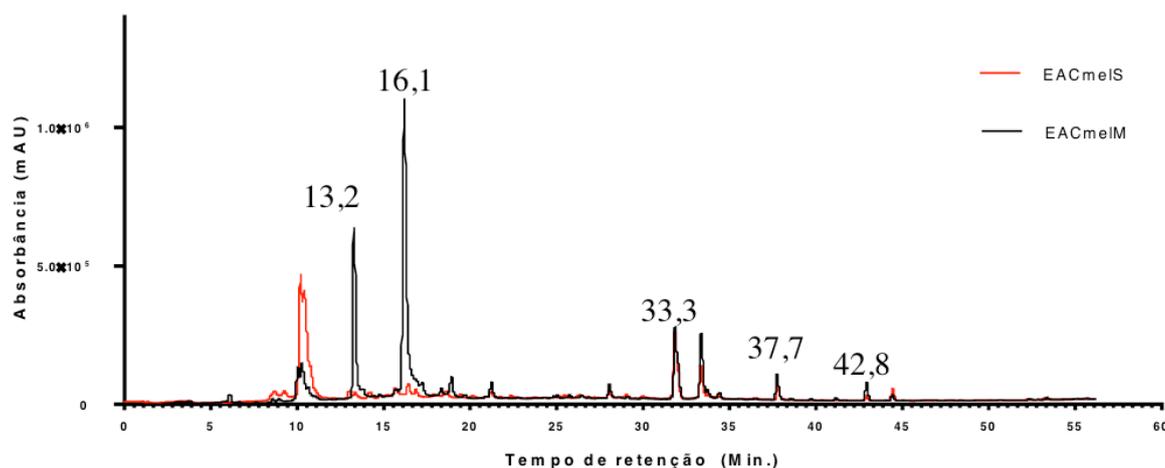


Figura 2 - Perfil Cromatográfico obtido por CLAE do extrato aquoso de *Combretum mellifluum*. Coluna C18 (250 x 4,6 mm 5  $\mu$ m) eluído em gradiente com MeOH/H<sub>2</sub>O 5%-100% em 60min, 1mL/min, 254 nm).

### 3.10 Análise de Componentes Principais (PCA)

Os dois componentes principais juntos possibilitaram uma ordenação bidimensional dos extratos e atividades farmacológicas, o que permitiu a construção de um gráfico biplot. A quantidade da informação total das variáveis originais, retida

pelos dois componentes principais, foi 78%, sendo 52% correspondente ao primeiro componente principal (PC1) e 26% ao segundo componente principal (PC2).

A análise dos dados químicos e farmacológicos pela técnica de PCA permitiu agrupar quimicamente as amostras em três grupos, de modo a expressar e evidenciar suas semelhanças e diferenças (Gráficos 3, 4 e 5).

A análise do gráfico de scores (Gráfico 3) mostra a separação das amostras em três grupos, ou seja, o grupo I (extratos hexânicos), localizados à direita da PC1 (correlações positivas), grupo II (extratos etanólicos) e grupo III (extratos aquosos), ambos localizados à esquerda da PC1 (correlações negativas).

De acordo com o primeiro componente principal (PC1) pode-se observar que houve separação em função do grau de polaridade do solvente, os extratos obtidos com solvente apolar (hexânico) encontram-se no primeiro e no quarto quadrante, enquanto que os extratos obtidos por solventes mais polares encontram-se no segundo (etanólico) e no terceiro quadrante (aquoso).

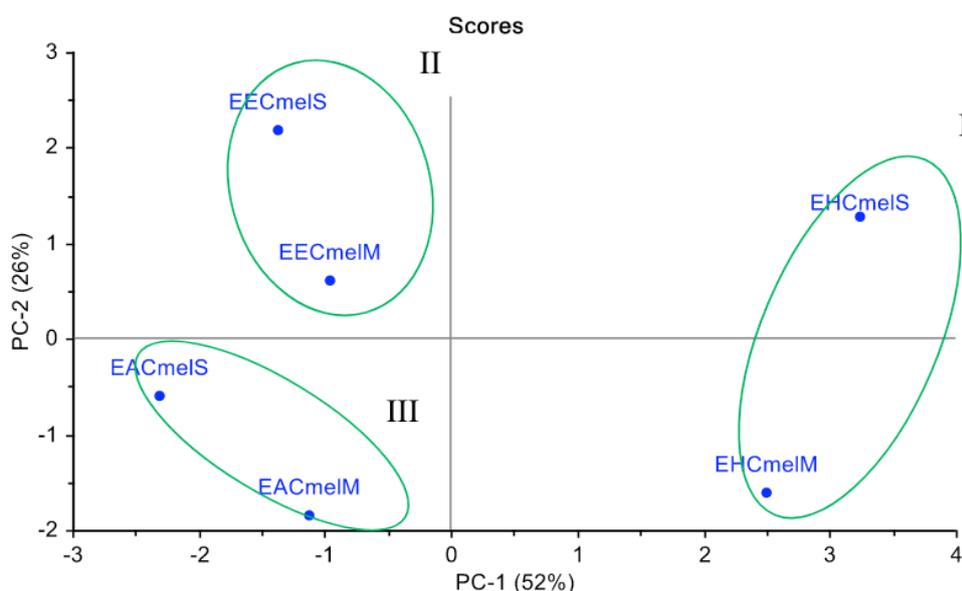


Gráfico 3 - Gráfico bidimensional PC1 x PC2 dos scores para diferentes extratos da espécie *C. mellifluum* coletadas no Cerrado Setentrional e Meridional no estado do Piauí

Pode-se afirmar que o grau de polaridade do solvente escolhido para a extração resulta em uma separação mais significativa dos extratos, já que isso foi observado na PC1 que representou 52% das informações.

A análise do gráfico de loadings (Gráfico 4) mostra a separação das atividades farmacológicas das amostras em três grupos, ou seja, o grupo I (FLAT, DPPH,  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ , Hidroxila, TBARS, Oxido nítrico), grupo II (HCT-116, OVCAR-8, SF-295) e grupo III (FT).

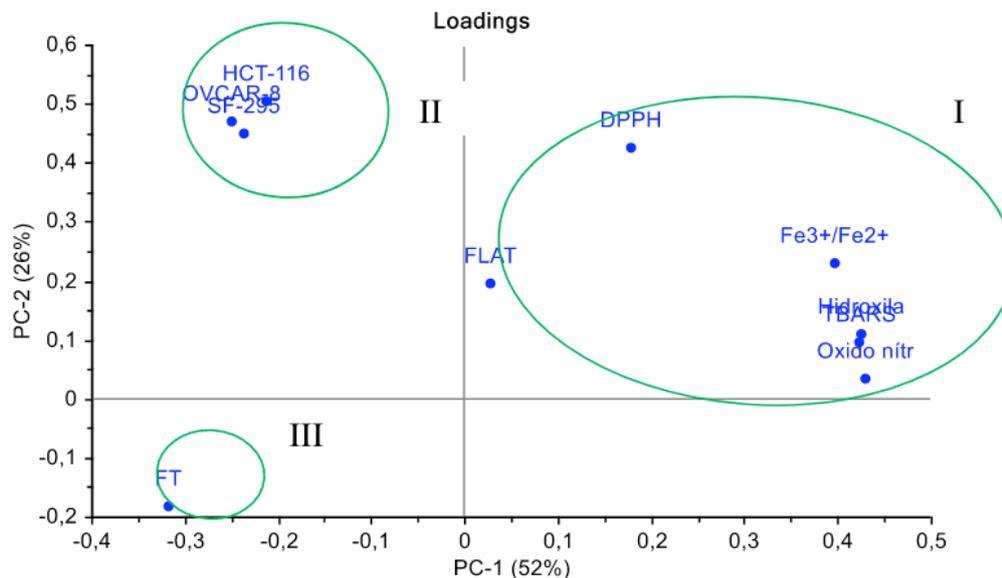


Gráfico 4 - Gráfico bidimensional PC1 x PC2 dos *loadings* para diferentes atividades farmacológicas da espécie *C. mellifluum* coletadas no Cerrado Setentrional e Meridional no estado do Piauí

A análise dos dados *loadings* revela uma maior correlação de altos valores de scores com altos valores dos resultados nos ensaios relacionados às atividades antioxidantes (DPPH, Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>, Hidroxila, TBARS, Oxido Nítr e FLAT), bem como das atividades citotóxicas (HCT-116, OVCAR-8, SF-295), retratando que o conhecimento taxonômico não é suficiente para a descrição fitoquímica da espécie em estudo, uma vez que fatores ecológicos podem influenciar a resposta química da mesma frente ao ambiente. Os compostos fenólicos totais (FT) foram os mais divergentes.

No Gráfico 5 apresenta-se o gráfico biplot PC1 x PC2 dos *loadings* e scores, relacionando os dados das atividades farmacológicas da espécie *Combretum mellifluum*, com os próprios extratos das folhas, de modo a correlacioná-los, agrupando-os em três grupos.

Observa-se que a separação dos extratos hexânicos, grupo I (EHCmeIS e EHCmeIM) se dá através da PC1 em função das atividades antioxidantes e dos flavonoides totais (FLAT, DPPH, Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>, Hidroxila, TBARS, Oxido nítr), sendo que o EHCmeIM destaca-se em todos os ensaios em decorrência da concentração de flavonoides totais.

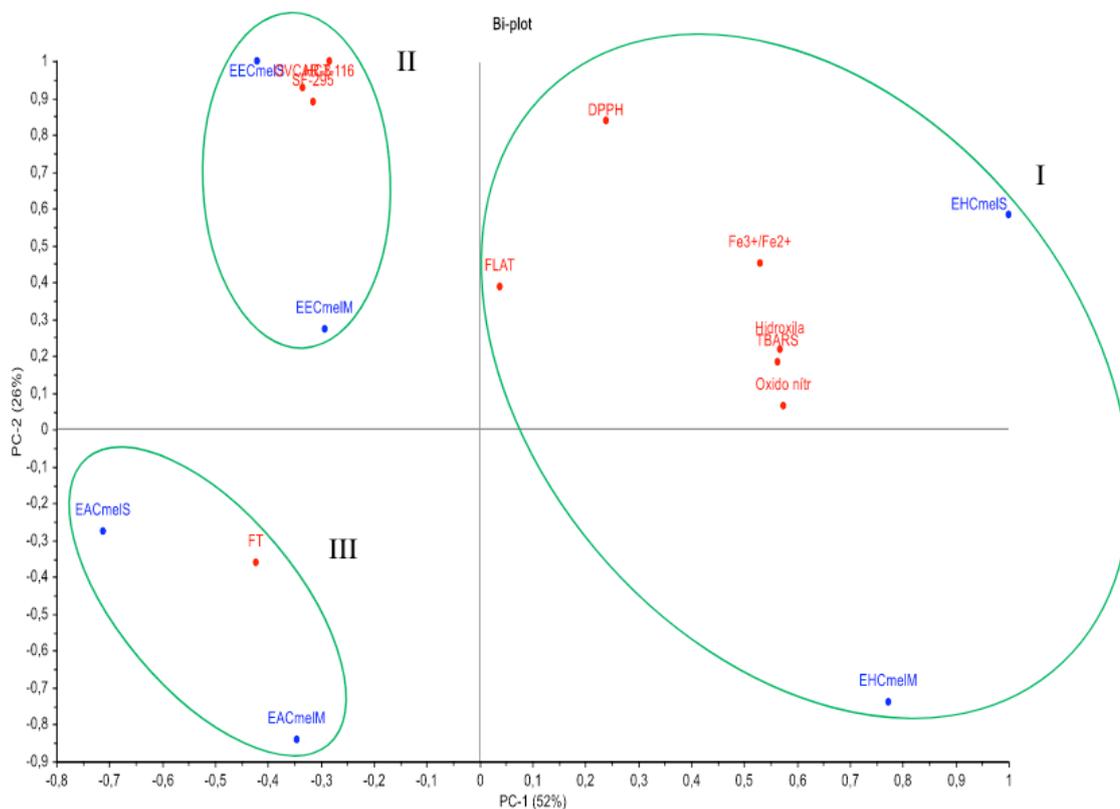


Gráfico 5 - Gráfico de *scores* obtido por PCA das triplicatas dos extratos das folhas de *C. mellifluum* coletadas no Cerrado Setentrional e Meridional

Os extratos etanólicos, grupo II (EECmelS e EECmelM) foram separados através da PC2 em função das atividades citotóxicas (HCT-116, OVCAR-8, SF-295), onde o EECmelS apresentou os maiores valores frente à três linhagens de células tumorais.

Em relação ao grupo III, os extratos aquosos (EACmelS e EACmelM) são separados pela PC2 em função do teor de fenóis totais (FT), apresentando o EACmelS com o maior teor.

#### 4 | CONCLUSÃO

O extrato aquoso das folhas de *Combretum mellifluum* Eichler, do Cerrado Meridional (EACmelM) apresentou uma  $CE_{50}$  menor do que o padrão rotina e consequentemente, uma maior atividade antioxidante avaliada no ensaio do DPPH, entretanto, nos ensaios TBARS, OH e NO o EACmelS foi o mais ativo. Os extratos hexânicos da área meridional exibiram os maiores teores de flavonoides, provavelmente devido a presença de carotenoides que agem como interferentes. Os extratos hexânicos e etanólicos exibiram resultados positivos para o teste qualitativo de inibição da acetilcolinesterase. O extrato etanólico do Cerrado Sententrional mostrou-se fortemente ativo frente as três linhagens de células testadas, OVCAR-8

(carcinoma de ovário), HCT-116 (côlon – humano) e SF-295 (glioblastoma – humano).

A diferença observada nos resultados das atividades biológicas pode estar relacionada com a composição química, qualitativa e quantitativa, que embora os cromatogramas tenham se mostrado ora similares, ou não, há diferenças na concentração dos constituintes, influenciando sobre as diferenças nas atividades. As condições ambientais abióticas, por exemplo, provavelmente têm influência sobre essas diferenças, o que precisa ser mais intensamente averiguado.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. R. G. S.; ARAÚJO, C. S.; PESSOA, C. Ó.; COSTA, M. P.; ALESSANDRA, A. G. M. Atividade antioxidante, citotóxica e antimicrobiana de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36. n.spe1, p. 258-264, 2014.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; MARCUS V. BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 37-41, 2013.

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 114-117, 2005.

CASTRO, A. A. J. F. **Comparação florístico-geográfica (Brasil) e fitossociologia (Piauí-São o Paulo) de amostras de cerrado**. 520p. 1994a. Tese (Doutorado). UNICAMP.

\_\_\_\_\_. Comparação florística de espécies do cerrado. **Silvicultura**, São Paulo, v. 15, n. 58, p. 16-18, nov./dez. 1994b.

CASTRO, A. A. J. F.; MARTINS, F. R.; FERNANDES, A. G. The woody flora of cerrado vegetation in the state of Piauí, northeastern Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 55, n. 3, p. 455-472, 1998.

CASTRO, A. A. J. F.; MARTINS, F. R. Cerrados do Brasil e do Nordeste: caracterização, área de ocupação e considerações sobre a sua fitodiversidade. **Pesquisa em Foco**, v. 7, n. 9, p. 147-178, 1999.

DAWE, A.; PIERRE, S.; TSALA, D. E.; HABTEMARIAM, S. Phytochemical Constituents of *Combretum* Loefl. **Pharmaceutical Crops**, v. 4, p. 38-59, 2013.

DALBONE, C. A. C.; LANDO, R. L. Importância ecológica e evolutiva dos principais grupos de metabólitos secundários nas espécies vegetais. In: **Anais**. X Congresso de Educação do Norte Pioneiro. p. 396 -404. Jacarezinho, 2010.

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, p. 88-95, 1961.

FERREIRA, E. 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 *Lecythispisonis* Camb. **Journal of Medicinal Plants Research**, v, 8, n. 8, p. 353-360, 2014.

- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B. Natural Products Research in Brazil. **Ciência & Cultura**, v. 49 n. 5/6, p. 315-320, 1997b.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B. Shamanism *versus* Science in the Search for Useful Natural Products. In: VEROTTA, L. **Virtual Activity, Real Pharmacology: Different Approaches to the Search for Bioactive Natural Compounds**. Trivandrum: Research Signpost, 1997a.
- GOTTLIEB, O. R.; KAPLAN, M. A. C.; BORIN, M. R. M. B. **Biodiversidade**: um enfoque químico-biológico. Rio de Janeiro: UFRJ, 1996.
- KATERERE, D. R.; GRAY, A. I.; NASH, R. J.; WAIGH, R. D. Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African Combretaceae. **Phytochemistry**, v. 63, p. 81-88, 2003.
- JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia. 13. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002.
- LOPES, G. K. B.; SCHULMAN, H. M.; HERMES-LIMA, M. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions **Biochim Biophys Acta**, v. 1472, p. 142-152, 1999.
- LOIOLA, M. I. B.; SALES, M. F. Estudos taxonômicos do gênero *Combretum* Loefl. (Combretaceae R. Br.) em Pernambuco-Brasil. **Arquivos do Jardim Botânico**, v. 34, p. 173-188, 1996.
- MATOS, G. D.; TARLEY, C. R. T.; ARRUDA, M. A. Z.; FERREIRA, S. L. C. Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens. **Review of Analytical Chemistry**, v. 6, p. 38-50, 2003.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983
- NOGUEIRA NETO, J. D.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Avaliação do potencial antioxidante *in vitro* do nerolidol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 125-130, 2013.
- PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; SCAMPARINI, A. R. P.; AGUIAR, C. L. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 997-1003, 2002.
- PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S. P.; GOMES, T. L. B.; CARDOSO, K. C. M.; AMORIM, E. C. Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Química Nova**, v. 33, p. 288, 2010.
- RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, C. C. S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determinação de nitrito em águas utilizando extrato de flores. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1114- 1120, 2006.
- RHEE, I. K.; MEENT, M. V.; INGGANINAN, 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, E. G.; BEHR, G. A.; ZANOTTO-FILHO, A.; LORENZI, R.; PASQUALI, M. A. B.; RAVAZOLO, L. G.; BORDIGNON Jr., 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 Activities and Free Radical Scavenging Potential of *Bauhinia microstachya* (RADDI) MACBR (Caesalpinaceae) Extracts Linked to Their Polyphenol Content. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 8, p. 1488-1496, 2007.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **Anais**. World Congress on Computers in Agriculture, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

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.; ROCHA E SILVA, H.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; 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.

SOUSA, J. P. B.; FURTADO, N. A. J. C.; JORGE, R.; SOARES, A. E. E.; BASTOS, J. K. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 85-93, 2007.

STACE, C. A. **Combretaceae: Terminalia and Buchenavia**. New York: The New York Botanic Garden Press, 2010.

## 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**