

REVISTA TÓPICOS

ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE COMBRETUM ASSIMILE EICHLER. E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

DOI: 10.5281/zenodo.15055114

Francisco José Mininel¹

Silvana Márcia Ximenes Mininel²

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi analisar os componentes fitoquímicos do extrato hidroalcoólico das folhas de Combretum assimile Eichler., utilizando a técnica de espectrometria de massas (LC-MS), avaliando as evidências da eficácia de sua atividade antibacteriana contra cepas de Staphylococcus aureus utilizando o extrato hidroalcoólico. Observou-se através da análise por LC-MS a presença de variedade de compostos de interesse farmacológico, especialmente substâncias fenólicas, como por exemplo, o ácido elágico, rutina, quercetina entre outros. Através da técnica de difusão em ágar pelo método hole plate em meio Mueller-Hinton, foi possível verificar o efeito do extrato hidroalcoólico sobre a linhagem S. aureus através da observação do aparecimento de halos de inibição. Diante disso, conclui-se que as folhas de Combretum assimile Eichler. têm um grande potencial para serem usadas no tratamento de

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

doenças infecciosas causadas por *S. aureus*.

Palavras-chave: *Combretum assimile* Eichler. Espectrometria de massas. *Staphylococcus aureus*. Atividade antibacteriana.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the phytochemical components of the hydroalcoholic extract of *Combretum assimile* Eichler. leaves using the mass spectrometry technique (LC-MS), evaluating the evidence of the efficacy of its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* strains using the hydroalcoholic extract. The presence of a variety of compounds of pharmacological interest was observed through LC-MS analysis, especially phenolic substances, such as ellagic acid, rutin, quercetin, among others. Through the agar diffusion technique by the hole plate method in Mueller-Hinton medium, it was possible to verify the effect of the hydroalcoholic extract on the *S. aureus* strain by observing the appearance of inhibition halos. Therefore, it is concluded that the leaves of *Combretum assimile* Eichler. have great potential to be used in the treatment of infectious diseases caused by *S. aureus*.

Keywords: *Combretum assimile* Eichler. Mass spectrometry. *Staphylococcus aureus*. Antibacterial activity.

1 INTRODUÇÃO

Combretum assimile Eichler. apresenta-se como árvores ou lianas 8-25 m de altura, esparsamente cobertos por tricomas lepidotos. Folhas 6,5-21 × 2,5-13 cm, lâmina estreita a largamente elíptica, ápice agudo, obtuso ou curtamente acuminado, base cuneada a subcordada; venação geralmente

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

eucamptódroma-boquidódroma, às vezes eucamptódroma ou broquidódroma, 6-12 pares de nervuras secundárias; pecíolo 6-15 mm compr. Inflorescências 5,5-30 cm compr., racemos terminais. Flores (12-)15-24,5 mm compr.; hipanto inferior 4-8,5 mm comprimento, infundibiliforme a buciniforme; hipanto superior 8-16 mm compr., campanulado; lobos do cálice ausentes ou 4, muito curtos; pétalas 4; estames 8, inclusos, todos do mesmo tamanho; filetes (16,5-) 23-33,5 mm compr.; anteras 0,4-0,5 × 0,5-0,6 mm, cordiformes; estilete (18-)31-47 mm, filiforme; estigma plano. Fruto 2,7-4 × 2,3-3,7 cm, oblongo-elíptico ou estreitamente elíptico a orbicular; alas 4, 1-1,6 cm comprimento, planas, delgadas (STACE, 2010).

Distribuição Geográfica

Ocorrências confirmadas:

Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Roraima)

Sudeste (Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo)

Domínios Fitogeográficos

Amazônia, Mata Atlântica

Tipo de Vegetação

Área Antrópica, Floresta de Igapó, Floresta Ombrófila (Floresta Pluvial).

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS



Figura 1. Mapa de distribuição geográfica de *Combretum assimile* Eichler.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A Família Combretaceae faz parte da ordem Myrtales, compreendendo 20 gêneros e cerca de 600 espécies de plantas, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo, existindo na América, Ásia e África, sendo o último continente seu maior centro de diversidade. Os dois gêneros mais comuns desta família são *Combretum* e *Terminalia*, com cerca de 370 e 200 espécies, respectivamente. No Brasil, a família é representada por cinco gêneros e 64 espécies, sendo 13 espécies endêmicas.

Várias classes de metabólitos secundários são descritas no gênero *Combretum*, como triterpenos, saponinas, fenantrenos, bibenzilas, estilbenos, flavonoides, taninos e outros compostos aromáticos. Este

REVISTA TÓPICOS

gênero é encontrado em vários domínios fitogeográficos, incluindo Mata Atlântica, Pantanal, Amazônia, Caatinga e Cerrado.



Figura 2. Aspecto geral de *Combretum assimile* Eichler.

Fonte: Robin B. Foster, (C) Field Museum of Natural History - CC BY-NC 4.0

As espécies do gênero *Combretum*, dentre elas *Combretum assimile* Eichler., têm despertado interesse nas últimas décadas devido o isolamento de alguns compostos com atividades bastante significativas em modelos anticancerígenos e anti-infecciosos, tornando-se um grupo muito importante para a pesquisa de compostos bioativos (GOSSAN et al., 2016). Plantas deste gênero são empregadas tradicionalmente no tratamento de dores de cabeça, dores no corpo, distúrbios abdominais, febre, úlceras

REVISTA TÓPICOS

gástricas, diarreia, dor de garganta, sífilis, pneumonia, câncer, diabetes, conjuntivite, picadas de cobra e escorpião, infertilidade e malária (MAPFUNDE et al., 2016; KATERERE et al., 2012; DAWE et al., 2013).

O uso de plantas, para fins medicinais, é uma das práticas mais antigas da humanidade e ainda hoje têm sido usadas e comercializadas em todo o mundo. Além de seu consumo popular para tratar e curar diversas doenças, os produtos derivados de plantas desempenham papéis importantes como fonte de agentes terapêuticos importantes contra vários tipos doenças (UJOWUNDU et al., 2015).

As espécies pertencentes à família Combretaceae são amplamente comercializadas no mercado de medicina tradicional na África Meridional. Plantas desta família são também usadas para fins medicinais no resto da África e Ásia com várias indicações medicinais. Muitas destas indicações estão relacionadas ao tratamento de infecções (ELOFF et al., 2008).

Estudos farmacológicos têm comprovado diversas atividades biológicas, tais como imunoestimulante, antimalárica, hipoglicêmica, antibacteriana, antifúngica, 35 antitripanossômica, antidiabética, anti-inflamatória, moluscicida, antitumoral, antiviral, cardiovascular, citotóxica, analgésico, hepatoprotetora e gastrointestinal (DAWE et al., 2013; LIMA et al., 2012). Estudos fitoquímicos da casca do caule, semente e folhas de plantas do gênero Combretum têm demonstrado a ocorrência de muitas classes de metabólitos secundários incluindo triterpenos e flavanoides (KATERERE et al., 2003), bifenila (ADNYANA et al, 2001), fenantrenos (CIRLA & MANN, 2003), lignanas (LETCHER & NHAMO,1971), alcaloides (ELOFF

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

et al., 2008) e taninos (JOSSANG et al., 1994), sendo os triterpenos os mais frequentes do gênero *Combretum*.

Neste contexto, as folhas da espécie *Combretum assimile* Eichler. foram selecionadas para realização da documentação química e biológica em virtude da escassez de estudos com esta espécie e objetivando contribuir para o conhecimento do potencial de plantas medicinais da família Combretaceae.

3 METODOLOGIA

3.1. Coleta das folhas de *Combretum assimile* Eichler. e obtenção do extrato hidroalcoólico.

As folhas da espécie *Combretum assimile* Eichler. foram coletadas no município de Fernandópolis-SP (Campus da Universidade Brasil). Uma exsicata do material botânico foi depositada no acervo do Herbário da Universidade Brasil, devidamente enumerada e catalogada.

O material vegetal foi submetido à secagem em estufa à 45 °C por um período de 14 dias e, em seguida, triturado com o auxílio de um moinho de facas. Para obtenção do extrato hidroalcoólico das folhas de *Combretum assimile* Eichler., foi utilizado 180 g do material vegetal para 500 mL de solução etanol/água 70% (v/v) e submetido à 44 extração por maceração exaustiva por um período de 72 horas em temperatura ambiente. Posteriormente, o extrato obtido foi filtrado, o solvente etanólico foi totalmente retirado através de um evaporador rotativo à baixa pressão e

REVISTA TÓPICOS

depois liofilizado para remoção completa da água. O rendimento final do extrato foi calculado de acordo com a fórmula: $RE (\%) = [\text{Peso do extrato liofilizado (g)} / \text{Peso do pó utilizado na preparação do extrato (g)}] \times 100$.

3.2. Análise por FIA-ESI-MSⁿ de compostos presentes no extrato hidroalcóólico de *Combretum assimile* Eichler.

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

Em vista do exposto e conhecendo, em parte, a composição química da planta, foi realizada nesta etapa do estudo, a caracterização dos metabólitos secundários presentes no extrato hidroalcóólico das folhas de *Combretum assimile* Eichler. por FIA-ESI-IT-MSⁿ

REVISTA TÓPICOS

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

Escolheu-se o modo negativo para geração e análise dos espectros de massas em primeira-ordem (MS), bem como para os demais experimentos em múltiplos estágios (MS^n). O primeiro evento foi uma varredura completas (full-scan) do espectro de massas para adquirir os dados dos íons na faixa m/z estabelecida. A partir dos dados da primeira varredura, obteve-se os próximos eventos (experimentos MS^n para íons precursores pré-selecionados com energia de colisão entre 25 e 30% da energia total do instrumento.

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

3.3. Avaliação da atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana foi avaliada segundo a técnica de difusão em ágar pelo método hole plate em meio Mueller-Hinton (Himedia[®]) (BAUER et al., 1966). Após crescimento por 24 h a 37°C, a suspensão bacteriana foi diluída para a concentração final de 10⁶ UFC mL⁻¹ acrescida a 20 mL de meio Ágar Mueller-Hinton. Após solidificação, furos de aproximadamente 5 mm de diâmetro e 3 mm de altura foram feitos no ágar. Foram inoculados em cada poço 8-10 μL de extrato vegetal de folhas de Combretum assimile

REVISTA TÓPICOS

Eichler, na concentração de 50 mg mL^{-1} , DMSO (controle negativo) e ciclopirox olamina (5 mg mL^{-1} diluído em DMSO, controle positivo). As placas foram colocadas em estufa de crescimento a $37 \text{ }^\circ\text{C}$, overnight. Após esse período, os halos de inibição foram medidos em milímetros. O teste foi realizado em triplicata. As médias e os desvios padrões dos halos de inibição foram calculados e uma análise de variância (ANOVA) com teste de Tukey a 5% de significância foi feita pelo Excel.

A Figura mostra o método de difusão de disco de Kirby-Bauer. O método envolve colocar discos de papel impregnados com antibióticos em uma placa de Petri contendo bactérias crescendo em um meio de ágar que é então incubado durante a noite. A quantidade de espaço ao redor de cada disco mostra o grau em que o antibiótico conseguiu inibir o crescimento bacteriano. Neste caso, o disco C contém o antibiótico mais poderoso, enquanto o disco A não mostra efeito.

REVISTA TÓPICOS

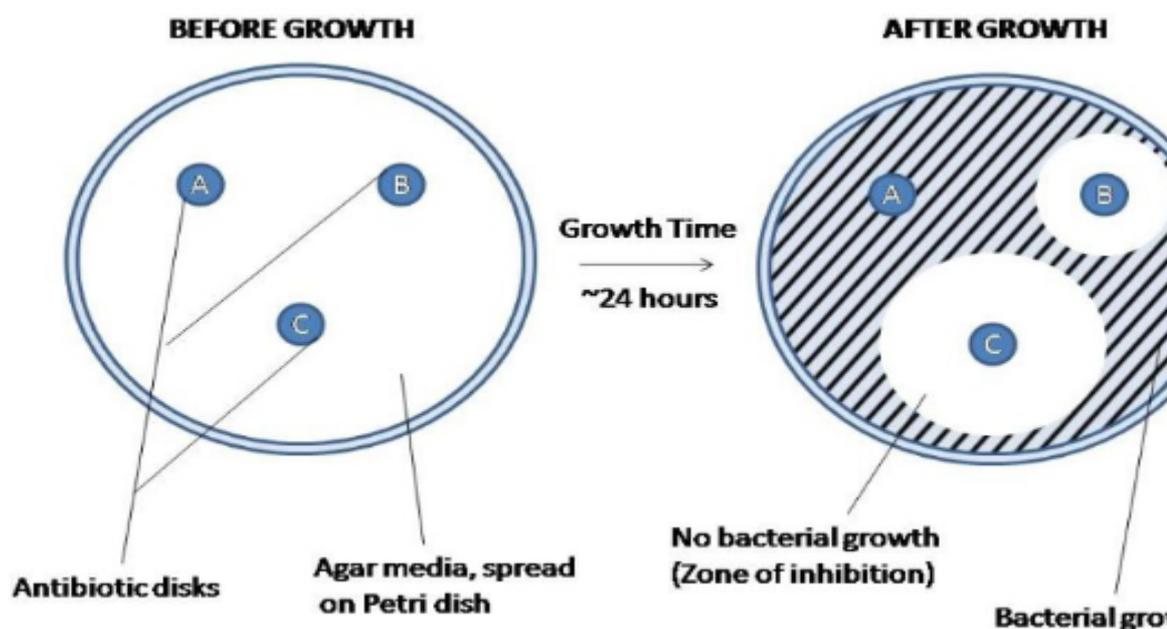


Figura 3. Técnica de difusão em ágar pelo método hole plate em meio Mueller-Hinton.
Fonte: (BAUER et al., 1966).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 5 mostra o espectro de massas em full-scan apresentando os íon precursores das moléculas desprotonadas ($[M - H]^-$) do extrato EtOH 70% das folhas de Combretum assimile Eichler.

O modo full scan, ou varredura completa, é uma técnica de espectrometria de massas que analisa a composição de uma amostra e funciona da seguinte maneira:

1. A amostra é atomizada em partículas muito pequenas.
2. As partículas são ionizadas por um feixe de elétrons de alta energia.

REVISTA TÓPICOS

3. As partículas são separadas de acordo com a razão entre a massa e a carga (m/z).
4. A abundância relativa dos íons gerados é analisada.

Na Figura 4, encontramos um cromatograma LC-MS, ou seja, um resultado obtido através da técnica de cromatografia líquida-espectrometria de massas (LC-MS). Esta técnica analítica separa, identifica e quantifica compostos em misturas complexas, como no caso, o extrato hidrolacóico de *Combretum assimile* Eichler.

REVISTA TÓPICOS

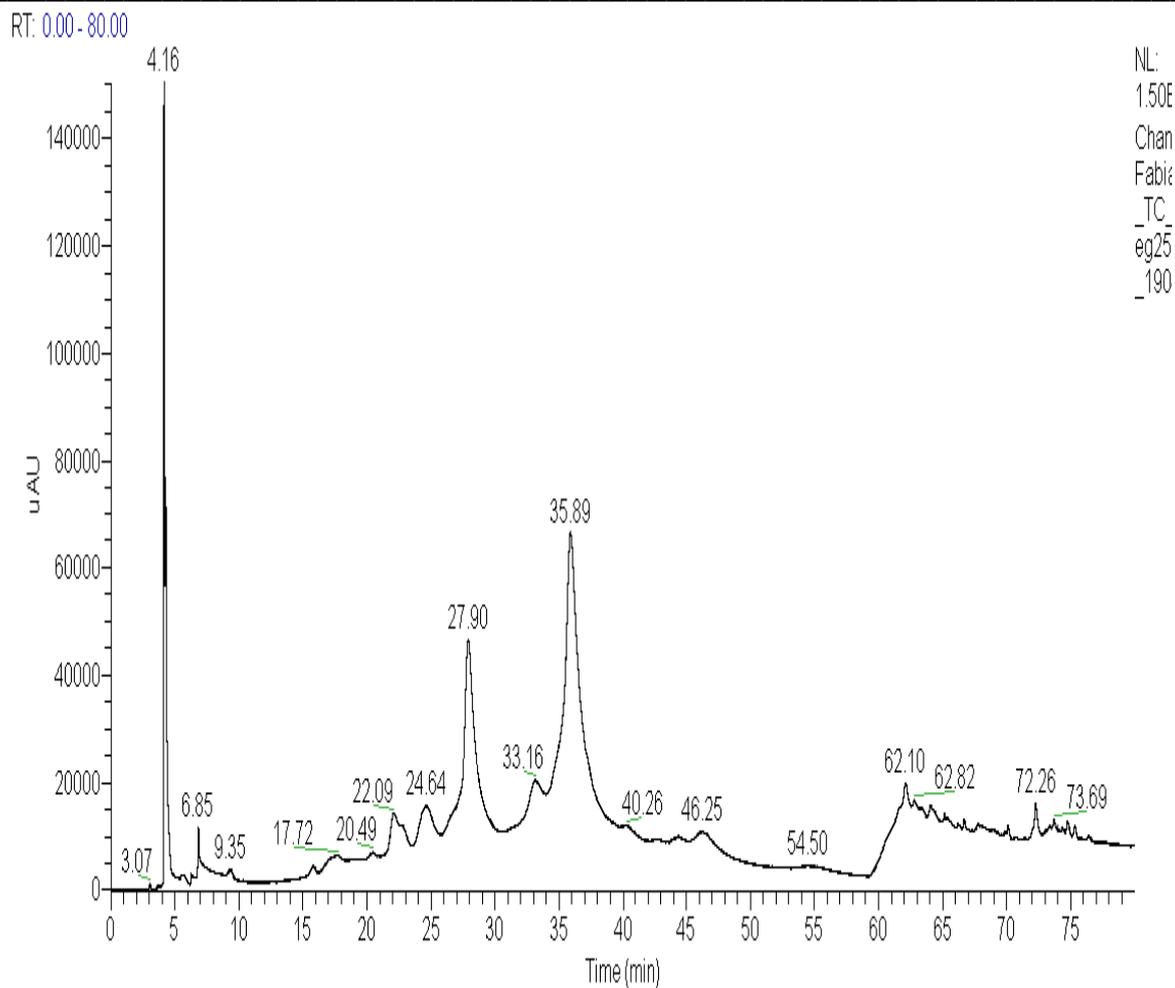


Figura 4. LC-MS do extrato hidrolacóico de *Combretum assimile* Eichler.

REVISTA TÓPICOS

Fabianavigas_TC_LCMSesineg25V_TCgrad_19042011#203-6293 RT: 2.56-79.54 AV: 6091 NL: 6.16E1

T: ITMS - c ESI Full ms [150.00-1050.00]

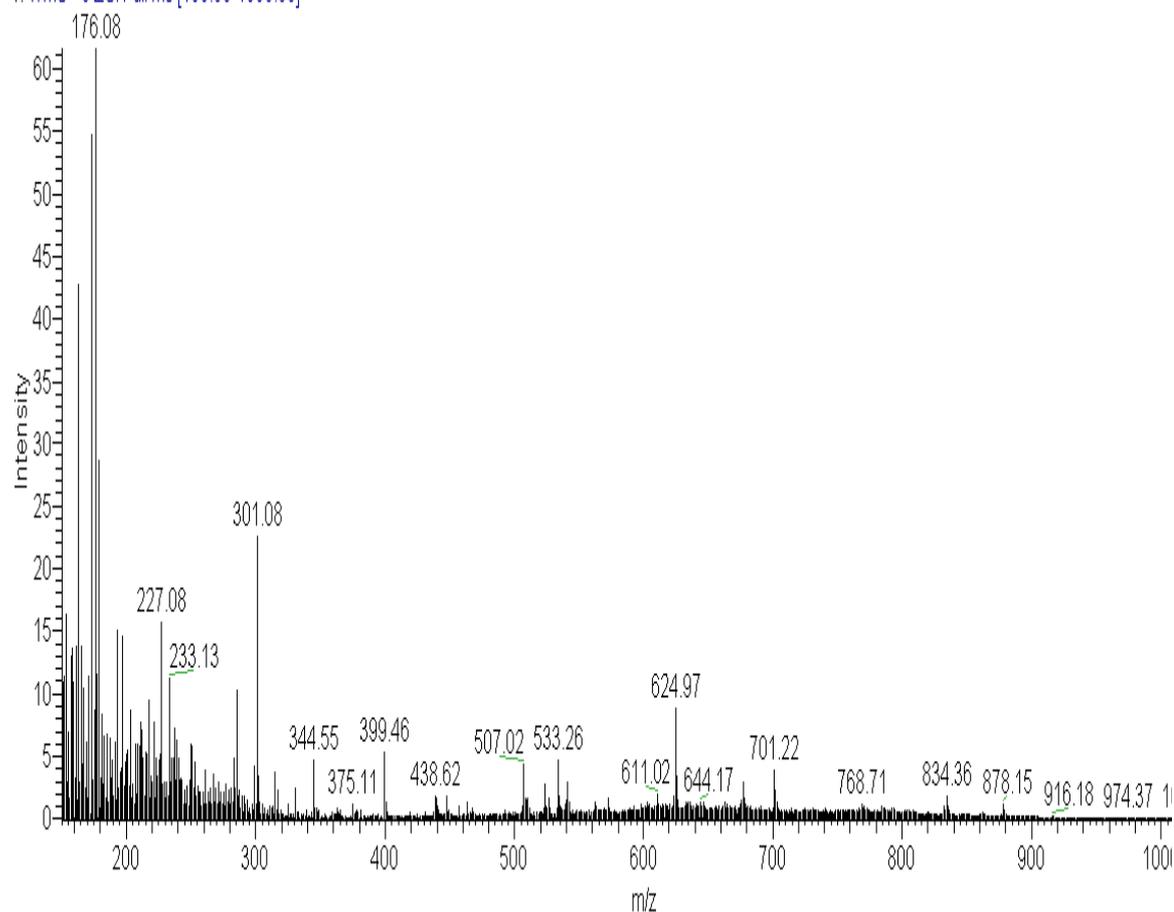


Figura 5. Análise por FIA-ESI-IT-MS do extrato hidrolacóico de Combretum assimile Eic

Tabela 1. Substâncias detectadas por FIA-ESI-IT-MS na infusão de folhas de Combretum assimile Eichler.

SUBSTÂNCIA	m/z [M-H]

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

Quercetina-7- β -O-diglucosídeo	625
Rutina	611
Guaiacil ácido ferúlico hexosídeo	533
Coumaroil galoil do ácido cítrico	507
Metil galato hexosídeo	345
Ácido elágico	301
Digaloil hexosídeo	438
Unidade de resveratrol	227

O íon precursor m/z 301 (Figura 6) corresponde a molécula desprotonada do ácido elágico. De acordo com dados obtidos no espectro de massas, o

REVISTA TÓPICOS

ácido elágico mostra um íon pseudomolecular em m/z 301 e fragmentos MS^2 em m/z 257 [M-HCO₂] e 229 [M-H-CO₂-CO].

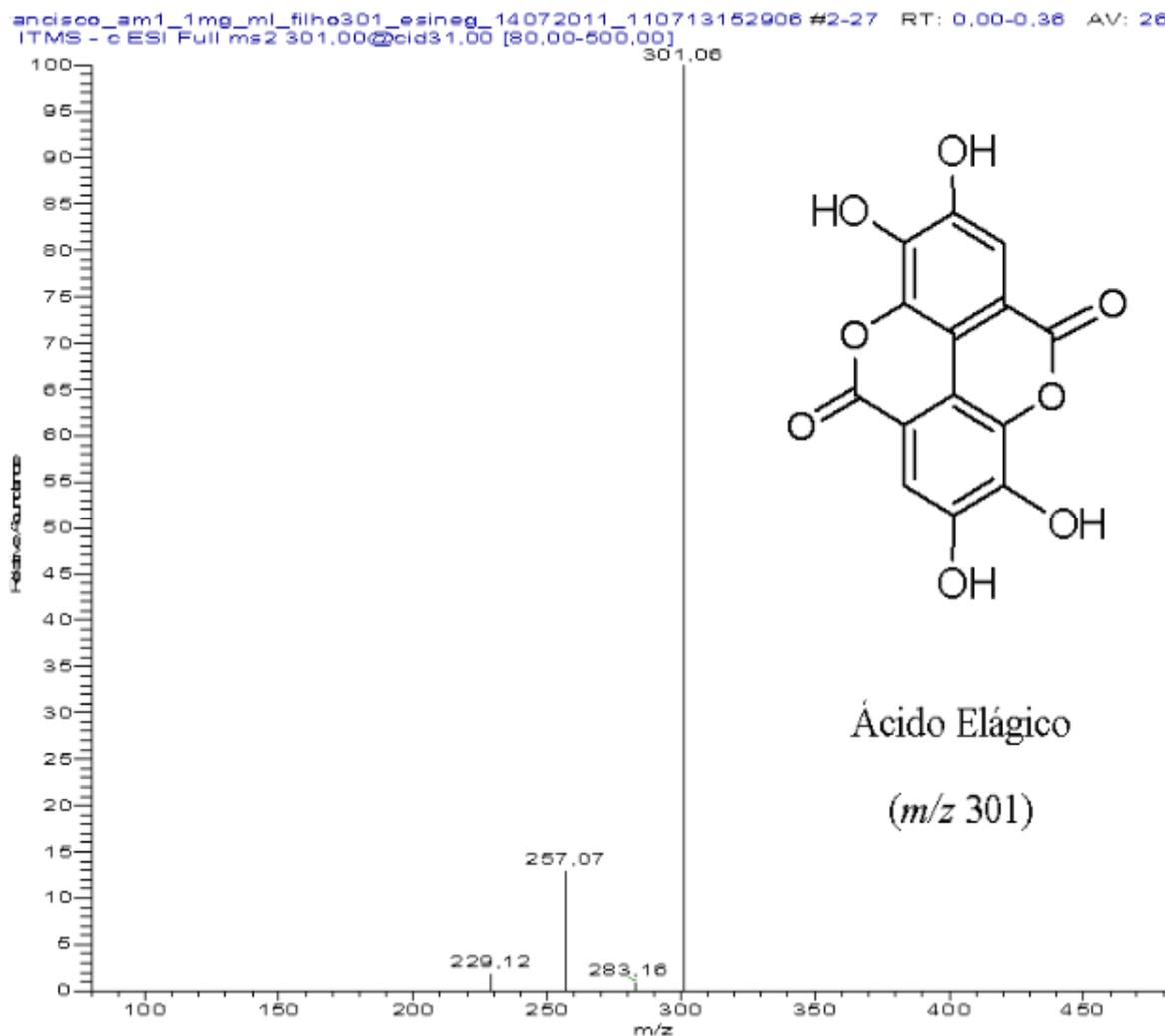


Figura 6. Análise do espectro de massas (MS^2) do íon em m/z 301 (ácido elágico).

Nas folhas de *Combretum assimile* Eichler, foi detectada, portanto, a presença significativa de ácido elágico. O ácido elágico é um polifenol encontrado em frutas e vegetais, incluindo amoras, framboesas, morangos,

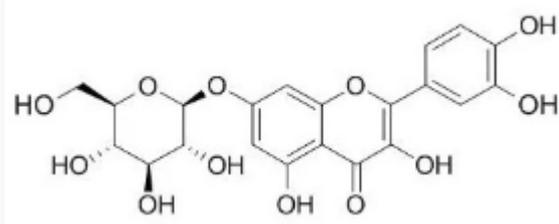
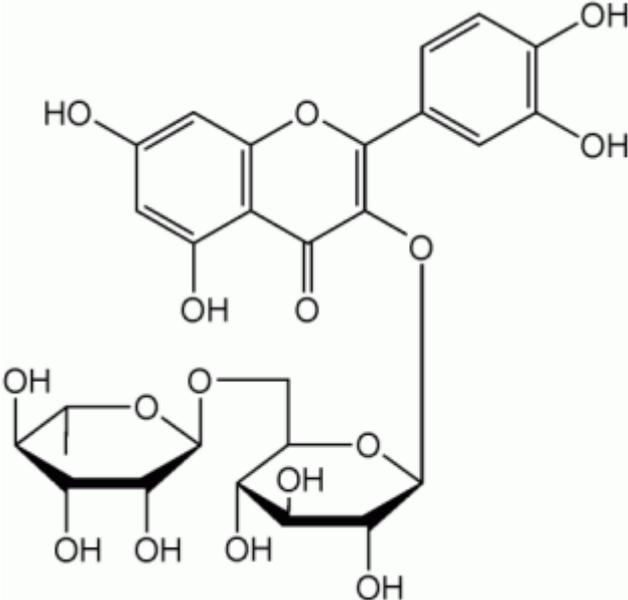
REVISTA TÓPICOS

nozes, romãs e outros alimentos vegetais, é um fitoquímico altamente investigado . Ele possui propriedades antioxidantes, antimutagênicas e anticancerígenas. Com relação aos efeitos benéficos do ácido elágico na pancreatite aguda , estudos demonstraram que alimentar ratos Wistar Bonn/Kobori com uma dieta suplementada com ácido elágico (um modelo experimental de pancreatite crônica espontânea) por dez semanas foi eficaz na prevenção da pancreatite.

Quando comparados aos controles que receberam ácido elágico observou-se níveis reduzidos de inflamação e fibrose pancreáticas . Além disso, houve um aumento no peso pancreático e diminuições na atividade da mieloperoxidase (um índice de infiltração de neutrófilos), conteúdo de colágeno, expressão do fator de crescimento transformador beta1 (TGF- β 1) e o número de células alfa-actina de músculo liso positivas (células estreladas pancreáticas ativadas) e células ED-1 positivas (macrófagos/monócitos). Estudos in vitro também mostraram que o ácido elágico inibiu a ativação de PSCs, um importante tipo de célula pró-fibrogênica no pâncreas. Estudos mecanísticos mostraram que o ácido elágico inibiu a produção de espécies reativas de oxigênio em PSCs, em resposta ao TGF- β 1 ou fator de crescimento derivado de plaquetas. Juntas, essas observações indicam claramente os efeitos protetores do ácido elágico na pancreatite crônica (SALDANHA et al., 2018) .

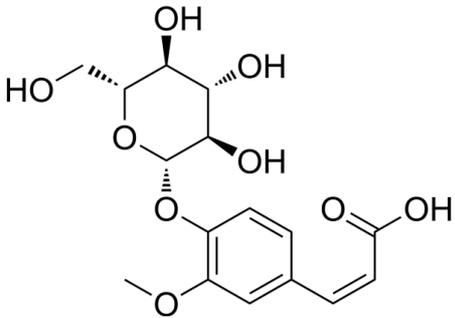
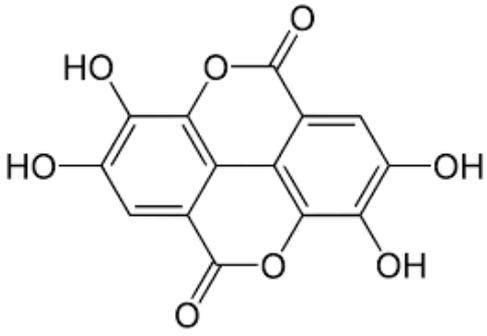
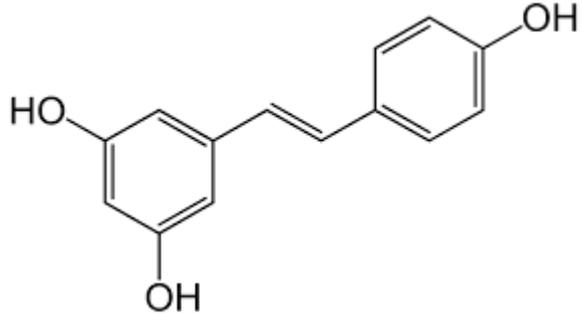
Tabela 2. Algumas das substâncias detectadas por FIA-ESI-IT-MS e respectivas fórmulas estruturais.

REVISTA TÓPICOS

SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS POR FIA-ESI-IT-MS	FÓRMULAS ESTRUTURAIS
Quercetina-7- β -O-diglicosídeo	 <p>The image shows the chemical structure of Quercetin-7-O-beta-D-glucopyranoside. It consists of a quercetin aglycone (a flavonol with a 3,5-dihydroxyphenyl group at C-3 and a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at C-7) linked via an oxygen atom at the C-7 position to a beta-D-glucopyranose sugar. The glucose is shown in its cyclic pyranose form with hydroxyl groups at C-2, C-3, and C-6.</p>
Rutina	 <p>The image shows the chemical structure of Rutin. It features a quercetin aglycone core, which is a flavonol with a 3,5-dihydroxyphenyl group at C-3 and a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at C-7. This aglycone is linked via an oxygen atom at the C-7 position to a diglycoside chain. The chain consists of a beta-D-glucopyranose sugar linked to a beta-D-glucopyranose sugar at the C-6 position of the second glucose unit.</p>
Guaiacil ácido ferúlico	

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

hexosídeo	 <p>The image shows the chemical structure of a hexoside derivative. It consists of a six-membered pyranose ring with four hydroxyl groups attached at different positions. One of the hydroxyl groups is on the anomeric carbon (C1), which is linked to a glucose unit. The glucose unit is further linked to a galactose unit, which is in turn linked to a gallic acid moiety. The gallic acid moiety consists of a benzene ring with three hydroxyl groups and a propenoic acid side chain.</p>
Ácido elágico	 <p>The image shows the chemical structure of Ellagic acid. It is a dimeric compound consisting of two gallic acid units linked together via a central oxygen atom. Each gallic acid unit has a benzene ring with three hydroxyl groups and a propenoic acid side chain.</p>
Resveratrol	 <p>The image shows the chemical structure of Resveratrol. It is a stilbenoid compound consisting of two phenolic rings linked together by a double bond. Each phenolic ring has two hydroxyl groups attached at different positions.</p>

REVISTA TÓPICOS

O extrato de folhas de Combretum assimile Eichler. foi avaliado em relação a sua atividade antimicrobiana através do método de Hole Plate utilizando-se o microrganismo S. aureus. Foi possível visualizar o efeito do extrato sobre a linhagem S. aureus através da observação do aparecimento de halos de inibição, que foram medidos em milímetros.

Portanto, os resultados obtidos por este trabalho permitem concluir que o extrato de Combretum assimile Eichler. apresentou atividade antibacteriana contra as linhagens testadas de S.aureus.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos estudos realizados neste trabalho, conclui-se que as folhas de Combretum assimile Eichler. apresentam em sua composição uma diversidade de compostos fitoquímicos, conferindo a esta planta vários efeitos terapêuticos, dentre eles, a atividade antibacteriana. Os taninos, flavonoides, triterpenos, fenóis e alcaloides foram os compostos fitoquímicos mais encontrados no extrato hidroalcoólico. Além disso, o extrato hidroalcoólico das folhas de Combretum assimile Eichler. mostraram eficácia significativa em relação à atividade contra cepas de S. aureus, indicando possivelmente, que os compostos presentes nas folhas apresentam mecanismos contra bactérias patogênicas. Diante disso, verifica-se que as folhas de Combretum assimile Eichler. tem um grande potencial para serem usadas no tratamento de doenças infecciosas causadas por S. aureus, mais especificamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

ADNYANA, K.; TEZUKA, Y.; AWALE, S.; BANSKOTA, A. H.; TRAN, K. Q.; KADOTA, S. 1-O-galloyl-6-(4-hydroxyl-3,5-dimetoxy) banzoyl- β -D-glucose, a new hepatoprotective constituents from *Combretum quadrangulare*. *Plant. medica*, v.67. n.4, p. 370-371, 2001.

BAUER, A.W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 45: 493-6, 1966.

CIRLA, A.; MANN, J. Combretastatins: from natural products to drud Discovery. *Nat. Prod. Reports*, v.20, p.558-564, 2003.

DANET, Guénahel H. et al. Dissociation between stem cell phenotype and NOD/SCID repopulating activity in human peripheral blood CD34⁺ cells after ex vivo expansion. *Experimental hematology*, v. 29, n. 12, p. 1465-1473, 2001.

DAWE, A.; PIERRE, S.; TASLA, E. D.; HABTTEMARIAM, S. Phytochemical Constituents of *Combretum Loeffl.* (Combretaceae). *Pharma. Crops*, v. 4, p. 38-59, 2013.

ELOFF, J. N.; KATERERE, D. R.; MAC GAW, L. J. The biological activity and chemistry of the southern African Combretaceae. *J. Ethnopharmacol.* v. 119, p. 686- 699, 2008.

GOSSAN, D. P. A.; MAGID, A. A.; YAO-KOUASSI, P. A.; JOSSE, J.; GANGLOFF, S. C.; MORJANI, H.; VOUTQUENNE-NAZABADIOKO, L. Antibacterial and cytotoxic triterpenoids from the roots of *Combretum racemosum*. *Fitoterapia.* v. 110, p. 89-95, 2016.

REVISTA TÓPICOS - ISSN: 2965-6672

REVISTA TÓPICOS

JOSSANG, A.; POUSSET, J. L.; BODO, B. Combreglutinin, a hydrolyzable tanin from *Combretum glutinosum*. *J. Nat. Prod.*, v. 57, p. 732–737, 1994.

KATERERE, D. R.; GRAY, A. I.; NASH, R. J.; WAIGH, R. D. Phytochemical and antimicrobial investigations of stilbenoids and flavonoids isolated from three species of Combretaceae. *Fitoterapia*. v. 83, p. 932-940, 2012.

KATERERE, D. R.; GRAY, A. I.; NASK, R. J.; WAICH, R. D. Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African Combretaceae. *Phytochemistry*, v. 63, p.81-88, 2003.

LETCHER, R. M.; NHAMO, L. R. M. Chemical constituents of the Combretaceae. Part I. Substitued phenanthrenes and 9,6-dehydropheanthrenes from the heartwood of *Combretum apiculatum*. *Jorn. of Chem. Society*, p. 3071-3076, 1971

LIMA, G. R. M; SALES, I. R. P.; CALDAS FILHO, M. R. D.; JESUS, N. Z. T.; FALCÃO, H. S.; BARBOSA FILHO, J. M.; CABRAL, A. G. S.; SOUTO, A. L.; TAVARES, J. F.; BATISTA, L. M.; Bioactivities of the Genus *Combretum* (Combretaceae): A Review. *Molecules*, v. 17, p. 9142-9206, 2012.

MAPFUNDE, S.; SITHOLE, S.; MUKANGANYAMA, S. In vitro toxicity determination of antifungal constituents from *Combretum zeyheri*. *BMC Complementary Altern. Med.*, v. 16, p. 1-11, 2016.

REVISTA TÓPICOS

RUZICKA, Jaromir; HANSEN, Elo Harald. Retro-review of flow-injection analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 27, n. 5, p. 390-393, 2008.

SALDANHA, Elroy et al. Health effects of various dietary agents and phytochemicals (Therapy of acute pancreatitis). In: *Therapeutic, probiotic, and unconventional foods*. Academic Press, 2018. p. 303-314.

STACE, C. A. *Combretaceae*. *Flora Neotropica* 107. New York: The New York Botanical Garden Press, 2010.

UJOWUNDU, F. N.; UKOHA, A. L.; OJIAKO, A. O.; NWAOGUIKPE, R. N. Gas chromatographic characterization of the flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins isolated from *C. dolichopentalum* leaves. *Jorn. of Chem. Pharm. Res*, p. 1094-1103, 2015.

¹ Docente do Curso Superior de Farmácia e Biomedicina da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP. Doutor em Química pelo Instituto de Química da UNESP- Campus de Araraquara-SP. E-mail: kmininel17@gmail.com

² Docente do Curso Superior de Farmácia da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis-SP. Mestre em Química (PPGQUIM/UNESP), Campus de Araraquara-SP. E-mail: Silvana.mininel@ub.edu.br