



Identificação dos constituintes químicos e ensaio biológico do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae)

Identification of chemical constituents and biological testing of the essential oil of *Pectis elongata* Kunth (Asteraceae)

Graciliano Rosa Silva¹, Leandro da Silva Nascimento^{1,2}, Jonkácio Almeida de Melo¹, Francisco das Chagas do Nascimento¹

¹Universidade Federal de Roraima, Laboratório de Produtos Naturais (UFRR)
Código Postal – 69312-000 – Boa Vista – RR – Brasil

²Colégio de Aplicação da Universidade Federal de Roraima (CAp/UFRR)
Código Postal – 69312-000 – Boa Vista – RR - Brasil

{graciliano-silva@uol.com.br, lrhesus@gmail.com, fitoquimico1@gmail.com, fnascimento31@hotmail.com}

Abstract. *The potential of medicinal plants for the treatment of diseases has long been known. The vast Brazilian flora have promoted the discovery of many drugs. Many people have a predilection for using medicinal plants in Brazil. In Roraima, medicinal plants are frequently used in local communities for the treatment of tropical diseases, such as malaria. Pectis elongata Kunth belongs to the Asteraceae family, and is known as "cuminho-bravo," "alecrim," and "alecrim-bravo." It is used medicinally by traditional communities for stomach ache, cramps, hypertension, flu, and common cold. This work aimed to identify the constituents of the essential oil from P. elongata Kunth to determine its antimicrobial, anticholinesterase, and antioxidant activities and toxicity. The fresh aerial parts of P. elongata Kunth were collected at the Federal University of Roraima - UFRR Cauamé campus. Through a hydrodistillation system, the essential oil was extracted, the yield was calculated, and the chemical constituents were identified by GC-MS and GC-FID. Then, anticholinesterase activity was measured by Ellman assay, antibacterial activity was determined by the microplate dilution method, and antioxidant activity was determined by the DPPH method. Eleven mono- and sesquiterpenes were identified, with the major compound being geranial (50.3%), followed by neral (35.2%), geranil acetate (2.6%), linalol (1.8%), and carvil acetate (1.6%). Geranial and neral compounds are stereoisomers, and together, they are named citral. In the evaluation of antibacterial activity, the essential oil of P. elongata Kunth showed the greatest inhibition against Candida albicans (ATCC 18804), Bacillus cereus (ATCC 11778), and Listeria monocytogenes (ATCC 15313). No antibacterial activity against Citrobacter freundii (ATCC 8090) and Escherichia coli (ATCC 25922) was observed at a concentration of 250 µL/mL. The antioxidant activity (DPPH) of the oil presented an EC₅₀ value of 21.644,72 µg/mL, which was much higher than that obtained for the standards quercetin (64.13 µg/mL) and ascorbic acid (98.35*



$\mu\text{g/mL}$). Therefore, the potential for antioxidant activity was not detected. The oil had an LD_{50} of $24.06 \mu\text{g/mL}$ for the assay against *Artemia salina*, and thus, it may be considered highly toxic ($\text{LD}_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$).

Resumo. O potencial das plantas medicinais para o tratamento de doenças é conhecido há muito tempo. A vasta flora brasileira promoveu a descoberta de muitos medicamentos. Muitas pessoas têm uma predileção pelo uso de plantas medicinais no Brasil. Em Roraima, plantas medicinais são frequentemente usadas nas comunidades locais para o tratamento de doenças tropicais, como a malária. *Pectis elongata* Kunth pertence à família Asteraceae e é conhecido como "cuminho-bravo", "alecrim" e "alecrim-bravo". É usado medicinalmente pelas comunidades tradicionais para dores de estômago, câibras, hipertensão, gripe e resfriado comum. Este trabalho teve como objetivo identificar os constituintes do óleo essencial de *P. elongata* Kunth para determinar suas atividades e toxicidade antimicrobiana, anticolinesterásica e antioxidante. As partes aéreas frescas de *P. elongata* Kunth foram coletadas no campus da Universidade Federal de Roraima - UFRR Cauamé. Através de um sistema de hidrodestilação, o óleo essencial foi extraído, o rendimento calculado e os constituintes químicos foram identificados por GC-MS e GC-FID. Em seguida, a atividade anticolinesterase foi medida pelo teste de Ellman, a atividade antibacteriana foi determinada pelo método de diluição da microplaca e a atividade antioxidante foi determinada pelo método DPPH. Onze mono- e sesquiterpenos foram identificados, sendo o principal composto geranial (50,3%), seguido por neral (35,2%), acetato de geranil (2,6%), linalol (1,8%) e acetato de carvil (1,6%). Os compostos geranial e neral são estereoisômeros e, juntos, são denominados citral. Na avaliação da atividade antibacteriana, o óleo essencial de *P. elongata* Kunth apresentou a maior inibição contra *Candida albicans* (ATCC 18804), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313). Não foi observada atividade antibacteriana contra *Citrobacter freundii* (ATCC 8090) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) na concentração de $250 \mu\text{L/mL}$. A atividade antioxidante (DPPH) do óleo apresentou um valor de CE_{50} de $21.644,72 \mu\text{g/mL}$, valor muito superior ao obtido para os padrões quercetina ($64,13 \mu\text{g/mL}$) e ácido ascórbico ($98,35 \mu\text{g/mL}$). Portanto, o potencial de atividade antioxidante não foi detectado. O óleo apresentou um LD_{50} de $24,06 \mu\text{g/mL}$ para o teste contra *Artemia salina* e, portanto, pode ser considerado altamente tóxico ($\text{DL}_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$).

1. Introdução

A utilização de plantas medicinais no tratamento e cura de enfermidade é conhecida desde os tempos da origem da espécie. Este conhecimento estendeu-se por geração em geração até os dias de hoje. Esta observação popular denominada de conhecimento empírico ou senso comum contribuiu de forma relevante para que pesquisadores com o desenvolvimento da ciência e através de seus recursos tecnológicos, ratificassem as propriedades terapêuticas destas plantas medicinais [Junior et al. 2005; Neves et al. 2018].



Os vegetais além de servirem como alimentos, são utilizados como medicamentos. A partir das plantas, grande parte das enfermidades são tratadas através de chás, sucos, banhos, tinturas e unguentos [Kerrigan et al. 2011].

A biodiversidade da flora brasileira apresenta uma variedade de espécies de plantas medicinais e por este motivo muitas destas plantas não tiveram suas propriedades terapêuticas estudadas, proporcionando um grande risco a quem se utiliza visto que, assim como a cura de enfermidades, estas plantas também possuem propriedades tóxicas [Junior et al. 2005]. Pensando nisso, tornou-se necessário o isolamento destas substâncias naturais existentes nestes vegetais.

A química de produtos naturais envolve várias áreas entre elas a fitoquímica, que trata especificamente dos vegetais que se dedica principalmente a caracterização da estrutura, avaliação de propriedades e investigação biossintéticas de substâncias naturais produzidas pelo metabolismo secundário dos organismos vivos. Os vegetais produzem compostos com princípio ativo que são conhecidos como metabólicos primários como carboidratos, aminoácidos e lipídeos e os secundários tais como: compostos fenólicos, terpenóides, óleos essenciais, alcalóides entre outros. No entanto, estes compostos são produzidos em pequena escala pelos vegetais sendo necessário o isolamento destes compostos através dos métodos fitoquímicos para determinação de sua estrutura. Com a estrutura deste produto natural, os pesquisadores podem sintetizá-los e produzi-los em grande quantidade pela indústria farmacêutica [Junior et al. 2005; Filho, 2010; Shulha e Zidorn, 2019; Hulley et al. 2019].

Um campo de relevante importância no estudo dos produtos naturais são os óleos essenciais obtidos a partir de plantas aromáticas por diferentes técnicas extrativas. Estes óleos possuem uma vasta aplicabilidade na indústria de cosméticos, perfumarias e na farmacêutica como fonte de matéria prima de produtos de higiene, limpeza, alimentos e tintas. Possuem também propriedades medicinais ou tóxicas agindo como bactericida, antivirótico, cicatrizante, analgésico, relaxante, expectorante e antiespasmódico [Filho, 2010; Neves et al. 2018; Hulley et al. 2019; Michalska et al. 2019].

O presente trabalho tem como objetivo analisar a composição química do óleo essencial das partes aéreas frescas de *Pectis elongata* Kunth, assim como determinar suas atividades biológicas.

2. Materiais e Métodos

2.1. Coleta e preparo do material vegetal

As partes aéreas frescas (Folhas, flores e galhos) de *Pectis elongata* Kunth, foram coletadas na Universidade Federal de Roraima – UFRR no Campus do Cauamé em junho de 2019, próximo a BR 174, município de Boa Vista. A identificação taxonômica foi feita por José Ferreira de Ramos, no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA, onde a exsicata está depositada sob o registro de nº 26366-9. Há também um registro nº 41621-3 no Sistema de Autorização e informação em



Biodiversidade – SisBio do Instituto Chico Mendes, Ministério do Meio Ambiente – ICMBio/MMA [Nascimento et al. 2016; Soares et al. 2018].

2.2. Extração e Rendimento do Óleo

Após a coleta, de acordo com a distribuição natural e disponibilidade da espécie. A extração do óleo essencial da espécie vegetal foi feita no Laboratório de Produtos Naturais do Programa de Pós-Graduação em Química – PPGQ, localizado na Universidade Federal de Roraima – UFRR, campus Paricarana no município de Boa Vista.

O óleo essencial de *Pectis elongata* (OEPE) foi obtido das partes aéreas da espécie vegetal fresca, que foram cortadas em partes menores e pesadas para cálculo de rendimento. Em seguida, o óleo foi extraído no equipamento do tipo Clevenger por hidrodestilação, composto de um balão de 5 L, onde foi adicionado 490 g do material vegetal e água destilada até a cobertura total do material.

O balão foi colocado em uma manta aquecedora permanecendo por aquecimento a temperatura de 100 °C por quatro horas. Todo o sistema foi coberto com papel alumínio. Em seguida, o óleo obtido foi seco em sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e mantido sob refrigeração. O cálculo do rendimento foi determinado através da fórmula:

$$R(\%) = M_{\text{óleo}}/M_{\text{planta}} \times 100$$

R(%) = rendimento da produção de óleo essencial;

M_{óleo} = massa de óleo obtida (em g);

M_{planta} = massa das partes aéreas (em g).

2.3. Identificação dos Constituintes Químicos do óleo de *Pectis elongata*

O óleo foi analisado no Laboratório de cromatografia do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob a orientação da Dr^a Vany Ferraz.

2.3.1. Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS)

As análises foram realizadas em equipamento GCMS-QP2010 ULTRA (Shimadzu). Coluna: Rxi-1MS 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm (Restek). Temp coluna: 50 °C (3 min), 3 °C/min, até 220 °C. Injetor: 220 °C Split (1:10), Interface CG-MS a 220 °C. Detector MS (Impacto eletrônico a 70eV) a 220 °C. Gás de arraste: Hélio a 2.0 mL/min. Volume de injeção: 1 μL. Software de aquisição de dados: GCMS Solution (Shimadzu). Biblioteca espectral: NIST11. Arquivos *.qgd.

2.3.2. Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CG-FID)

Cromatógrafo a Gás HP 7820A (Agilent). Coluna: HP5 30 m x 0,32 mm x 0,25 μm (Agilent). Temp.: Coluna: 50 °C (0min), 3 °C/min, até 200 °C. Injetor: 220 °C Split (1:50). Detector FID: 220 °C. Gás de arraste: H₂ a 3 mL/min. Volume de injeção: 1 μL. Software de aquisição de dados: EZChrom Elite Compact (Agilent). Arquivos.dat.

2.4. Bioensaio do óleo de *Pectis elongata*

2.4.1. Atividade Antioxidante

Foi observado o comportamento das amostras nas concentrações 250 µg/mL, 200 µg/mL, 150 µg/mL, 100 µg/mL e 50 µg/mL, na mesma razão de 0,1 mL da amostra para 3,9 mL da solução de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) a 60 µg/ml, utilizada na análise quantitativa. Após 30 minutos não houve alteração na coloração da solução de DPPH (60 µg/mL), inicialmente púrpura para tons de púrpura mais claro até o amarelo. Foi utilizada como controle negativo a mistura de 0,1 mL de metanol a 3,9 mL da solução de DPPH (60 µg/mL) e como controle positivo utilizou-se a Vitamina C (VC) e Quercetina (QC). Este teste também foi utilizado para definir a faixa de concentração das diluições a serem utilizadas na determinação quantitativa da atividade antioxidante.

A partir da solução metanólica inicial de DPPH (60 µM), foram preparadas diluições dessa solução para obtenção de diferentes concentrações 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 µM, onde transferiu-se uma alíquota de aproximadamente 4 mL de cada solução de DPPH, para cubetas de vidro e realizou-se a leitura das absorbâncias das soluções, em triplicata, em espectrofotômetro UV-VIS/Shimadzu – 1800 a 515 nm [Nascimento et al. 2016].

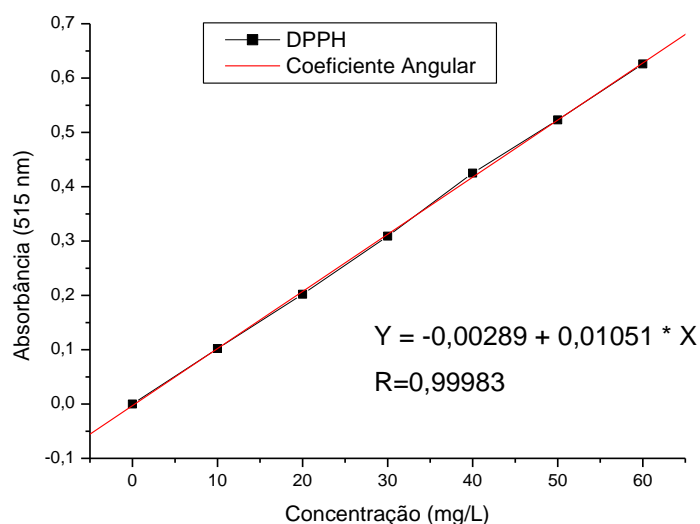


Figura 1. Curva padrão de DPPH

Utilizou-se álcool metílico como branco. Foi construída a curva padrão de DPPH (Figura 1) plotando-se o valor médio das absorbâncias obtidas x concentração da solução. Assim, efetuou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-Vis a 515 nm [Gontijo et al. 2014; Nascimento et al. 2016; Gunes et al. 2019].

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) foi determinada a partir dos valores de absorção de todas as concentrações das amostras testadas no tempo de 30 min., conforme a equação:

$$\%AA = 100 - (Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100 / (Abs_{controle} - Abs_{branco})$$

Onde: $Abs_{amostra}$ = Absorbância da amostra; $Abs_{controle}$ = Absorbância do controle; Abs_{branco} = Absorbância do branco.



A atividade sequestrante do radical livre DPPH também foi expressa em termos de CE_{50} (concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% da concentração inicial do DPPH), através da média obtida nos gráficos que relacionam o percentual de atividade (AA%) contra a concentração da substância ensaiada. Desta forma, quanto menor o seu valor, maior é a capacidade antioxidante das substâncias presentes [Narayana et al. 2001].

2.4.2. Bioensaio da Toxicidade frente ao crustáceo *Artemia salina*

Os cistos de *A. salina* (100 mg) foram colocados em água de mar artificial e expostos à luz de uma lâmpada de 40 W, com pH entre 8 e 9, e temperatura monitorada e torno de 28 °C. Após um período de 24 h, partindo de uma solução de 11 mL contendo 2420 $\mu\text{g/mL}$ da amostra de *Pectis elongata* Kunth, solubilizado a 1% de tween 80 e água salina, foram selecionados e transferidos com pipeta de Pasteur 10 náuplios de *Artemia salina*, para cada tubo de ensaio com diferentes concentrações diluídas de (D1) 220; (D2) 110,0; (D3) 55,0; (D4) 27,5; (D5) 13,75 e (D6) 6,87 $\mu\text{g/mL}$ da solução da amostra do óleo essencial, com volume final de 11 mL. Os testes foram feitos em triplicata para cada concentração. Utilizou-se uma solução salina como controle positivo (D7) também em triplicata. O número de sobreviventes foi contado e a porcentagem de morte calculada [Meyer et al. 1982; Nascimento et al. 2016; Ramos et al. 2007].

2.4.3. Bioensaio de inibição da Acetilcolinesterase (AChE)

Foi adicionado 25 μL da solução de trabalho (amostra do OEPE em DMSO 10 mg/mL) aos poços da placa de Elisa do teste e dos controles negativo e positivo. Nos cinco primeiros poços da coluna do controle positivo, adicionaram-se 25 μL da solução de galantamina (10mg/mL em tampão Tris/HCl pH 8,0), nos poços do controle positivo adicionaram-se 25 μL do solvente usado para a dissolução da amostra. A cada poço, 25 μL de solução de Iodeto de Acetilcolina (Acetylthiocholineiodide, ATCI), 125 μL da solução de DTNB (5',5-dithio-bis-(2-nitrobenzoate, Sigma) e 50 μL de Tris/HCl (50 mM) com albumina sérica bovina foram adicionados. A absorbância foi medida a 405 nm a cada 1 min por 8 vezes (8 min no total). Adicionaram-se 25 μL da solução de AChE (0,222 U/mL) em Tris/HCl ao poço. Mediu-se a absorbância a 405 nm por 10 vezes (10 min no total) em leitora de microplacas. Para dissolver a amostra, utilizou-se DMSO/5% Tween [Montero et al. 2014].

2.4.4. Bioensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a Jacqueline A. Takahashi. Foram selecionados cinco microrganismos para a análise, sendo a levedura *Candida albicans* (ATCC18804), bactérias gram positivas *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) e gram negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Citrobacter freundii* (ATCC 8090).

Foi preparado um pré-inóculo, no qual as leveduras estocadas em tubos de ensaios



foram transferidas com alça de platina para tubos de ensaios contendo 3,0 mL de meio de cultura Sabouraud. Em seguida, os tubos foram incubados em estufa a 37 °C por 36 h. Com o auxílio de uma micropipeta, 500 µL deste pré-inóculo foram transferidos para tubos de ensaio contendo água destilada estéril. Os tubos foram homogeneizados e a concentração ajustada a 600 nm até atingir uma transmitância entre 74-76% (correspondente à escala 0,5 de McFarland de turbidez padrão, ou seja, 10⁸ células/mL), obtendo-se assim, os inóculos utilizados no bioensaio.

A amostra foi pesada e solubilizada em dimetilsulfóxido (DMSO) (12,5 mg/mL). Uma alíquota de 40 µL desta solução foi adicionada a 960 µL do meio de cultura Sabouraud para o preparo da solução de trabalho.

Os bioensaios foram realizados em placas de 96 micropoços, contendo 100 µL de meio de cultura por poço (exceto no primeiro; ver adiante), em duplicata. No primeiro poço foram adicionados 200 µL da solução de trabalho. A solução resultante foi homogeneizada e 100 µL foram retirados e desprezados. Em seguida, foram adicionados 100 µL do inóculo padronizado em cada poço. Quatro controles foram feitos, um para controle de crescimento do microorganismo (para verificar a viabilidade celular); o branco, em que não se adicionou o inóculo bacteriano (para se eliminar o efeito da coloração da solução da substância teste), um controle positivo (substituindo a solução-trabalho por um antibiótico padrão) e o controle de esterilidade do meio de cultura, contendo 100 µL de meio de cultura e 100 µL de água destilada estéril. As microplacas foram incubadas em estufa a 37 °C e após 24 h foi realizada a leitura do teste em leitor tipo Elisa (600 nm). Os antibióticos utilizados para o controle de qualidade do ensaio foram: miconazol e nistatina para leveduras e ampicilina para as bactérias. As soluções de trabalho contendo estes padrões foram preparadas conforme descrito anteriormente.

3. Resultados e Discussão

3.1. Rendimento

O rendimento obtido do óleo essencial das partes aéreas frescas de *Pectis elongata* Kunth, foi de 0,74%.

Fazendo-se uma comparação com Silva (2016), que obteve um rendimento de 0,7% da espécie coletadas no estado do Pará, sendo superior ao valor deste estudo. No estudo realizado por Maia (2007), a espécie coletada na Amazônia, obteve um rendimento de 1,5%. Silva (2005), com espécies coletadas na capital Belém, na estrada Bajarú região do estado do Pará e na vila Ajuru concelho de Ferreira Gomes (Amapá), os rendimentos foram de 0,7%, 1,3% e 1,5% para as amostras respectivamente, sendo também acima do rendimento obtido neste estudo.

Segundo Burt (2004), variações no rendimento de óleo essencial entre plantas pertencentes à mesma espécie podem ser atribuídas, principalmente, a diferenças de época de colheita, tipo de solo, clima da região e umidade relativa do ar.

3.2. Constituintes Químicos

Foram identificados 11 compostos com predominância de mono e sesquiterpenos (Tabela 1), dos quais estão presentes como majoritários: geranial (50,3%), seguido de neral (35,2%), geranil Acetato (2,6%), linalol (1,8%) e carvil acetato (1,6%). Os outros constituintes identificados apresentaram um valor de 5,4%.

Tabela 1. Constituintes Químicos de OEPE*

Pico	IR*	% Relativo	Substância
1	1006	0,4	Mirceno
2	1102	1,8	Linalol
3	1159	0,4	Mentenol
4	1177	0,8	Crisantenol
5	1239	35,2	Neral
6	1272	50,3	Geranial
7	1291	0,5	Carveol
8	1340	1,6	Acetato de Carvila
9	1379	2,6	Acetato de Geranila
10	1574	0,5	Oxido de Cariofileno
11	1599	0,5	Viridiflorol
		5,4	Outros

*OEPE = Óleo Essencial de *Pectis elongata*; *IR = Índice de Retenção

Estes dois compostos majoritários (Geranial e Neral), são isômeros, que juntos constitui o Citral. Somados esses dois constituintes representam 85,5% do óleo essencial da planta. Assim, o Citral é uma mistura isomérica de Geranial (2E) 3,7-dimetilocta-2,6-dienal; Citral A ou isômero (E) e neral (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal; Citral B ou isômero (Z). Estes compostos estão representados na figura 2 abaixo.

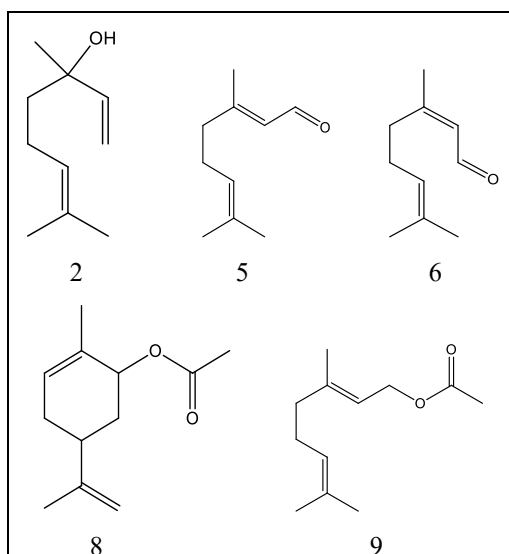




Figura 2. Estrutura química dos constituintes majoritários: linalol (2), neral (5), geranial (6), acetato de carvila (8) e acetato de geranila (9).

Silva (2016), em seu trabalho para avaliar o teor e composição química do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth (alecrim-limão) visando a inserção desta espécie na lista de plantas estudadas e cultivadas no projeto Farmácia Viva, identificou 99% dos constituintes químicos, sendo que o óleo essencial de *P. elongata* apresentou como componentes majoritários geranial 55,87% seguido de Z-citral 40,53%.

Os principais compostos do óleo de *P. apodocephala* são geranial (43-45%) e neral (32-34%), seguidos por α -pineno (10-11%) e limoneno (6-7%), enquanto os compostos mais prevalentes detectados nos óleos de *P. oligocephala* foram p-cimeno (50-71%) e timol [Albuquerque et al. 2007]. Silva (2005), diferentemente deste estudo, identificou em 2 amostras de *P. elongata* coletadas no estado do Pará, constituintes majoritários perialdeído (51,7% e 64,6%) e limoneno (43,7% e 33,7%) e em uma amostra no estado do Amapá, perialdeído (81,9%).

A diversidade química encontrada na composição do óleo essencial de diferentes espécies, provavelmente se deve a variações envolvendo diferentes biomas e condições climáticas em que estão sob pressão. Em partes aéreas frescas de espécies norte-americanas, verificou-se que *P. texana* apresenta 48% do conteúdo de óleo composto por timol, enquanto as plantas de *P. elongata* apresentaram o óleo essencial que compreende a 40-60% de citral. Por outro lado, a porcentagem de cumaldeído no óleo de *P. papposa* é aproximadamente a mesma que no óleo de cominho 47%, seguida por pineno 27% e carvona 12% [Marques et al. 2013]

3.3. Atividade Antioxidante

Para a avaliação da atividade antioxidante pela redução do DPPH, ao fixar um H (hidrogênio), abstraído do antioxidante em estudo, observa-se uma diminuição na absorvância, o que permite calcular, após estabelecimento do equilíbrio da reação, a quantidade de antioxidante gasta para reduzir 50% do DPPH (CE₅₀) [Alpiovezza et al. 2013]. Na tabela 2, estão apresentados os dados e valores das análises feitas nas amostras para cálculo da Atividade Antioxidante (AA%).

Tabela 2. Valores da média (*) de Absorvância, desvio padrão (\pm), AA% e CE₅₀ do OE *P. elongata* Kunth.

Amostra	Atividade Antioxidante (AA%)					Regressão Linear Y = A + B * X \pm DP	CE ₅₀ ($\mu\text{g/mL}^{-1}$)
	Concentração ($\mu\text{g/mL}^{-1}$)						
	50	100	150	200	250		
OEPE	0,31*	0,48*	0,64*	0,80*	0,64*	Y = 0,21714 + 0,0023 * X \pm 0,11083	21644,72
Querc.	49,75	90,98	92,27	92,43	92,75	Y = 28,763 + 0,3311*X \pm 22,88933	64,13
Vit. C	25,44	56,36	88,88	93,07	93,55	Y = 11,539 + 0,39103 * X \pm 13,52655	98,35

Utilizando o software Origin 6.0, a análise de regressão linear entre as concentrações avaliadas do OEPE (Óleo essencial *Pectis elongata* Kunth) e a sua atividade



antioxidante percentual (capacidade em sequestrar radicais livres), o que possibilitou a determinação da equação da reta $y = 0,21714 + 0,0023.X$.

Através desta equação, pode-se encontrar a concentração eficiente (CE_{50}), que é a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%. A correlação linear $R = 0,90842$ representa a linearidade da reta; as distorções observadas podem ter sido ocasionadas por erros do operador ou do equipamento. Este (R) mostra que a reta teve uma linearidade de aproximadamente 90%.

3.4. Bioensaio de toxicidade sobre *Artemia salina*

Na tabela 3 estão expostos os resultados obtidos para o bioensaio frente à *Artemia Salina* para o óleo essencial de *Pectis elongata* kunth.

Tabela 3. Mortalidade média de *Artemia salina*

Diluições	*D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
	M*	M	M	M	M	M	M
A (amostra)	10	10	10	08	04	01	0
D (duplicata)	10	10	10	05	03	02	0
T (triplicata)	10	10	08	04	02	03	0
MÉDIA	10	10	9,3	5,6	3	2	0
DP*	0	0	6,1	6,2	3,3	2,2	0

*DP = Desvio Padrão; M = Mortos; D = Diluição

Quanto menor o valor de DL_{50} (Dose Letal), mais tóxico é o composto frente a um organismo-teste, e maior é sua atividade citotóxica [Meyer et al. 1982].

Através da fórmula de regressão linear $Y = A + BX$, podemos calcular a DL_{50} . Onde: $Y=50$, $A=41,746$, $B=0,34291$ encontrando o valor de $X=24,068 \mu\text{g/mL}$.

Pelas análises dos dados apresentados, utilizou-se a regressão linear onde encontrou-se o valor de $DL_{50} = 24,06 \mu\text{g/mL}$. Por este valor encontrado, verifica-se que o óleo de *Pectis elongata* Kunth, apresentou letalidade frente a *A. salina*. Pois, considera-se amostras tóxicas ou ativas as que apresentarem $DL_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ [Ramos et al. 2007].

3.5. Atividade Anticolinesterásica (AChE)

O óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth nos resultados *in vitro* não apresentou ação inibitória, indicando inatividade sobre a enzima acetilcolinesterase. Este bioensaio resultou numa baixa atividade AChE, onde foi observado apenas 20,04% de inibição. Assim, o óleo essencial pode ser classificado de baixa inibição de AChE (menor que 30%), inibição moderada (de 30 a 50%) e alta inibição de AChE (maior que 50%) [Vinutha et al. 2007], quando comparada a outro gênero e família, no caso *Abiu* o qual apresentou atividade moderada a alta [Montero et al. 2014; Filho et al. 2018].



3.6. Atividade Antimicrobiana

O óleo essencial (OE) de *Pectis elongata* Kunth, não apresentou ação inibitória sobre os microrganismos utilizados na concentração de 250 $\mu\text{L/mL}$, sendo inferior a 50% impossibilitando o cálculo do IC_{50} .

O OE de *Pectis elongata* Kunth, foi analisado inicialmente na concentração de 250 $\mu\text{L/mL}$, apresentando ação inibitória inferior a 50% sobre os microrganismos utilizados, não havendo necessidade de diluições das concentrações para o cálculo do IC_{50} .

A tabela 4 demonstra os resultados obtidos na análise do OE, onde apresentou uma maior inibição para a levedura *Candida albicans* e para as bactérias *Bacillus cereus* e *Listeria monocytogenes*. Enquanto que para as bactérias *Citrobacter freundii* e *Escherichia coli*, não apresentou nenhuma atividade antibacteriana. Sendo assim, o OEPE não apresenta potencial antimicrobiano sobre as espécies analisadas.

Tabela 4. Atividade Antimicrobiana do OEPE*

Micro-organismo	CIM % (Conc. 250 $\mu\text{L/mL}$)
Leveduras	
<i>Candida albicans</i>	47,8 \pm 0,4
Bactérias	
<i>Citrobacter freundii</i>	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	15,1 \pm 0,3
<i>Bacillus cereus</i>	29,2 \pm 5,6
<i>Escherichia coli</i>	<u>0</u>

*OEPE = Óleo Essencial de *P. elongata*

Prudent (2011), em análises com o óleo essencial da espécie *Pectis elongata* Kunth, obteve uma CIM de 0,25-0,50 mg/mL para *C. albicans* e 0,5-1,00 mg/mL para *E. coli*. O óleo da folha de *P. elongata* teve uma CIM de 0,5 mg / mL para *S. aureus*, *E. coli* e *M. smegmatis* e 1 mg/mL para *S. faecalis* e *P. aeruginosa*. Os extratos solventes tiveram menor atividade do que o óleo com CIM em torno de 4 mg/mL para a maioria das cepas bacterianas. O extrato de cloreto de metileno teve maior atividade contra *S. aureus* e *M. smegmatis* com CIM em torno de 0,5 e 2,0 mg / mL, respectivamente. Atividade semelhante foi observada para as cepas finais com um MIC de cerca de 0,25 mg/mL para o óleo. A 4 mg/mL, os extratos solventes não tiveram atividade para quatro cepas, mas a uma CIM de 1 mg/mL, alguma atividade para *C. muli* e *S. sclerotiorum* foi observada [Prudent et al. 2011].

Marques e Kaplan (2013), analisando a atividade antimicrobiana no óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*, planta do mesmo gênero, verificou que o citral (25-200 $\mu\text{g/mL}$) é capaz de inibir o crescimento micelial de *C. albicans*, sugerindo que o valor potencial de óleos ricos em citral para o tratamento de candidíase cutânea.



4. Conclusão

O rendimento (0,74%) do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth coletada em Boa Vista, se apresentou de acordo com os resultados encontrados na literatura para a espécie. Para a enzima acetilcolinesterase, não foi possível verificar ação inibitória por parte do óleo (inibição 20,04%). O teste de toxicidade sobre *A. salina* foi considerado tóxico, pois o DL₅₀ foi menor que 1000 µg/mL. Já a atividade antioxidante, indicou uma baixa capacidade de capturar radicais livres.

O óleo de *P. enlongata* apresentou uma baixa atividade antimicrobiana para os organismos *Candida albicans*, *Bacillus cereus* e *Listeria monocytogenes*. E nenhuma atividade para as bactérias *Citrobacter freundii* e *Escherichia coli*. Os resultados obtidos com o óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth, não apresentaram em algumas análises os resultados esperados. No entanto, este trabalho contribuiu para ampliar o conhecimento da composição química dos óleos voláteis da espécie *Pectis elongata* Kunth, presente no Estado de Roraima.

Referências

- Albuquerque, M. R. J.; Costa, S. M. O; Bandeira, P. N.; Santiago, G. M. P.; Andrade, N. M.; Silveira, E. R.; Pessoa, O. D. L. (2007) “Nematicidal and larvicidal activities of the essential oils from aerial parts of *Pectis oligocephala* and *Pectis apodocephala* Baker”. Anais da Academia Brasileira de Ciências v. 79, n. 2, p. 209-213.
- Alpiovezza, A. R.; Pinto, M. S.; Gonçalves, I. D.; Barbosa, A. P.; Araujo, F. R. C.; Mendonça, S.; Marcucci, M. C.; Marques, L.C. (2013) “Avaliação Farmacognóstica da Droga Vegetal Flores de Jasmim”. Revista Fitos, v.7, p.216-224.
- Burt, S. (2004) “Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review”. International Journal of Food Microbiology, v. 94, n.3, p. 223-253.
- Filho, R. B. (2010) “Contribuição da Fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente”. Química Nova, v. 33, n. 1, p. 229-239.
- Filho, A. A. M.; Costa, A. M. D. C.; Fernandez, I. M.; Santos, R. C.; Chagas, E. A.; Chagas, P. C.; Takahashi, J. A.; Ferraz, V. P. (2018) “Fatty Acids, Physical-Chemical Properties, Minerals, Total Phenols and Anti-Acetylcholinesterase of *Abiu* Seed Oil”. Chemical Engineering Transactions, v. 64, p. 283-288.
- Gontijo, D. C.; Fietto, L. C.; Leite, J. P. V. (2014) “Avaliação fitoquímica e atividade antioxidante, antimutagênica e toxicológica do extrato aquoso das folhas de *Ocimum gratissimum* L”. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 16, n. 4, p. 874-880.
- Gunes, A.; Kordali, S.; Turan, M.; Bozhuyuk, A.U. (2019) “Determination of antioxidant enzyme activity and phenolic contents of some species of the Asteraceae family from medicinal plants”. Industrial Crops and Products, v. 137, p. 208-213.
- Hulley, I. M.; Ozek, G.; Sadgrove, N. J.; Tilney, P. M.; Ozek, T.; Baser, K. H. C.; Van Wyk, B. E. (2019) “Essential oil composition of a medicinally important Cape species: *Pentzia punctata* (Asteraceae)”. South African Journal of Botany, v. 127, p. 208-212.



- Junior, V. F. V.; Pinto, A. C.; Maciel, M. A. M. (2005) “Plantas Medicinais: Cura Segura?”. *Química Nova*, v. 28, n. 3, p. 519-528.
- Kerrigan, R. A.; Craven, L. A.; Dunlop, C. R. (2011) “Flora of the Darwin Region Northern Territory Botanical Bulletin”. National Library of Australia, n. 37, p. 19.
- Maia, J. G. (2007) “Química e Atividade Biológica de Óleos Essenciais da Amazônia”. IV Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais. Fortaleza – Ceara.
- Marques, A. M.; Lima, C. H. P.; Alvino, D. S.; Alvino, C. S.; Esteves, R. L.; Kaplan, M. A. C. (2013) “Traditional use, chemical composition and antimicrobial activity of *Pectis brevipedunculata* essential oil: A correlated lemon grass species in Brazil”. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, v. 25, n. 10, p. 798-808.
- Marques, A. M.; Kaplan, M. A. C. (2013) “Preparative isolation and characterization of monoterpene isomers present in the citral essential oil of *Pectis brevipedunculata*”. *Journal of Essential Oil Research*, v. 25, p. 210-215.
- Meyer, B. N.; Ferrigni, N. R.; Putnam, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nichols, D. E.; McLaughlin, J. L. (1982) “Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents”. *Planta Medica*, v.45, p.31-34.
- Michalska, K.; Malarz, J.; Paul, W.; Stojakowska, A. (2019) “Natural products from *Tolpis barbata* (L.) Gaertn. (Asteraceae, Cichorieae)”. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 86, p. 103-122.
- Montero, I. F.; Silva, F. S.; Costa, H. N. R.; Melo Filho, A. A.; Santos, R. C.; Costa, G. V.; Lima, C. A. C. (2014) “Actividad Biológica de *Combretum laurifolium*”. *Journal of Chemistry*, v.6, p.233-239.
- Narayana, K. R.; Reddy, M. S.; Chaluvadi, M. R.; Krishna, D. R. (2001) “Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential”. *Indian Journal of Pharmacology*, v. 33, p. 2-16.
- Nascimento, L. S. N.; Rabelo, S. A. C.; Silva, G. R.; Nascimento, F. C.; Santos, R. C. (2016) “Atividade biológica de *Davilla kunthii* A. St. -Hi. (Dilleniaceae)”. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 1, p. 172-179.
- Neves, B. M.; Teixeira, H. F.; Poser, G. L. (2018) “The genus *Pterocaulon* (Asteraceae) – A review on tradicional medicinal uses, chemical constituents and biological properties”. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 224, p. 451-464.
- Prudent, D.; Perineau, F.; Bessiere, J. M.; Michel, G. (2011) “Analysis of the Essential Oil of *Pectis enlogata* Kunth”. *Journal of Essential Oil Research*, v. 7, p. 195-199.
- Ramos, D. D.; Cardoso, C. A. L.; Yamamoto, N. T. (2007) “Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Camponesia adamantium* (Cambess.) O.Berg (Myrtaceae)”. *Revista Brasileira de Biociência*, v. 5, n. 2, p. 774-776.
- Silva, L. A.; Bezerra, A. N. S.; Batista, C. R.; Barata, L. E. S.; De Oliveira, R. B.; Mourão, R. H. V. (2016) “Teor e composição química do óleo essencial de *Pectis elongata* Kunth procedente do projeto farmácia viva – Santarém – PA”. *Anais da 63ª Reunião Anual da SBPC*, Belém.



- Silva, M. H. L.; Andrade, E. H. A.; Maia, J. G. S. (2005) "The essential oil of *Pectis elongata* Kunth occurring in north Brazil". *Flavour and Fragrance Journal*, v. 20, p. 462-464.
- Shulha, O.; Zidorn, C. (2019) "Sesquiterpene lactones and their precursors as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae revisited: An update (2008-2017)". *Phytochemistry*, v. 163, p. 149-177.
- Soares, I. J.; Melo, J. A.; Nascimento, L. S.; Nascimento, F. C. (2018) "Estudo Fitoquímico e Ensaio Biológico de *Martiodendron excelsum* (Benth.)". *Revista de Ciência e Tecnologia*, v. 4, n. 6, p. 1-10.
- Vinutha, B.; Prashanth, D.; Salma, K.; Sreeja, S. L.; Pratiti, D.; Padmaja, R.; Radhika, S.; Amit, A.; Venkateshwarlu, K.; Deepak, M. (2007) "Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity". *Journal of Ethnopharmacology*, v.109, p.359-363.