



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

LAISLA RANGEL PEIXOTO

**ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DA *Tacinga palmadora* (Britton &
Rose) N.P.Taylor & Stuppy (Cactaceae)**

CAMPINA GRANDE-PB

2018

LAISLA RANGEL PEIXOTO

ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DA *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stupp

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof.º Dr.º Harley da Silva Alves

CAMPINA GRANDE-PB

2018

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

P379e Peixoto, Laisla Rangel.
Estudo fitoquímico e biológico da *Tacinga palmadora*
(Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy (Cactaceae) [manuscrito]
: / Laisla Rangel Peixoto. - 2018.
135 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde, 2018.

"Orientação : Prof. Dr. Harley da Silva Alves, Coordenação
do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Plantas medicinais. 2. Quipá. 3. Raízes. 4. Cactaceae.
5. Droga vegetal.

21. ed. CDD 615.321

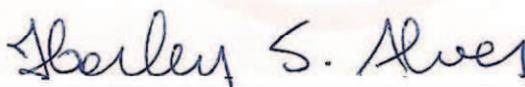
LAISLA RANGEL PEIXOTO

ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DA *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em 20/02/2018

BANCA EXAMINADORA



Prof.º Dr.º Harley da Silva Alves
Orientador



Prof.ª Dr.ª Lidiane Pinto Correia
Examinadora interna



Prof.º Dr.º Vicente Carlos de Oliveira Costa
Examinador externo

Dedico...

A **toda minha família**, pelo incentivo, carinho, companheirismo e exemplo de amor que me deram.
Obrigada por tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à **Deus**, pela presença em minha vida, sempre me guiou, e foi o grande responsável por esta conquista.

Aos meus pais, **Ricardo Peixoto e Aureny Rangel**, por sempre me apoiarem em todas as etapas da minha vida e pelo imenso amor que me deram! Sem vocês, este sonho não estaria sendo concretizado.

Às minhas queridas irmãs **Samantha, Samara e Larissa** pelo carinho e amizade ofertados à mim. Amo vocês!

Ao meu namorado **José Arthur**, por todo apoio, amor, paciência, carinho, pelo incentivo e por sempre me apoiar e estar sempre presente durante toda esta etapa.

Ao orientador **Harley da Silva Alves**, pelo aprendizado, atenção, disponibilidade e dedicação. Sou grata por me mostrar o caminho científico e por auxiliar no meu crescimento profissional e intelectual.

Aos **colegas de turma** por terem dividido as experiências vividas na pós graduação.

Aos professores do **Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UEPB**, por terem compartilhado seus conhecimentos, pela dedicação, estímulo, apoio, ensinamentos e experiências transmitidos.

Agradeço à **Secretária do Programa de Pós-Graduação, Dilma**, pela amizade, paciência, dedicação, disponibilidade, carinho e atenção dedicados a todos os alunos do mestrado.

Aos **professores da banca de qualificação e dissertação** pelo tempo disponibilizado e pela contribuição para enriquecimento do projeto.

Agradeço à **CAPES** pelo concessão da bolsa de estudos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa limite do Bioma Caatinga.	28
Figura 2	Distribuição geográfica do gênero <i>Tacinga</i> no estado da Paraíba.....	31
Figura 3	Espécie <i>Tacinga palmadora</i> (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy.....	32
Figura 4	Cistos de <i>Artemia Salina</i> Leach.....	38
Figura 5	Localização do Sítio Farinha – Paraíba.....	46
Figura 6	Microscopia eletônica de varredura da droga vegetal da <i>Tacinga palmadora</i> . a)400x b)500x c)1000x d)2000x e)3000x f)5000x.....	73
Figura 7	1º, 2º e 3º pontos selecionados da droga vegetal da <i>Tacinga palmadora</i>	74
Figura 8	Espectroscopia de Energia Dispersiva do 1º,2º e 3º pontos da droga vegetal da <i>Tacinga palmadora</i>	74
Figura 9	Espectroscopia na região de Infravermelho com Transformada de Fourier da droga vegetal da <i>Tacinga palmadora</i>	75
Figura 10	Curva de termogravimétrica da droga vegetal da <i>Tacinga palmadora</i> .	76
Figura 11	Curva térmica diferencial da droga vegetal da <i>Tacinga palmadora</i>	77
Figura 12	Derivado do Ácido Caféico (Tp-1).....	80
Figura 13	Espectro obtido em CDCL ₃ de RMN de ¹ H (400 MHz) do composto Tp-1.....	81
Figura 14	Espectro obtido em CDCL ₃ de RMN de ¹³ C (100 MHz) do composto Tp-1.....	82
Figura 15	Mapa de contorno HSQC - ¹ H x ¹³ C em CDCL ₃ do composto Tp-1.....	83
Figura 16	Mapa de contorno HMBC - ¹ H x ¹³ C em CDCL ₃ do composto Tp-1.....	84
Figura 17	5-Hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (Tp-2).....	87
Figura 18	Espectro obtido em Acetona d ₆ de RMN de ¹ H (400 MHz) do composto Tp-2.....	88
Figura 19	Espectro obtido em Acetona d ₆ de RMN de ¹³ C (100 MHz) do composto Tp-2.....	89
Figura 20	Mapa de contorno HSQC - ¹ H x ¹³ C em Acetona d ₆ do composto Tp-2.....	90

Figura 21	Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em Acetona d_6 do composto Tp-2	91
Figura 22	Espectro de massas do composto Tp-2.....	92
Figura 23	Ácido Vanílico (Tp-3).....	94
Figura 24	Espectro obtido em Acetona d_6 de RMN de ^1H (400 MHz) do composto Tp-3.....	95
Figura 25	Espectro obtido em Acetona d_6 de RMN de ^{13}C (100 MHz) do composto Tp-3.....	96
Figura 26	Mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em Acetona d_6 do composto Tp -3	97
Figura 27	Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em Acetona d_6 do composto Tp-3	98
Figura 28	Espectro de massas do composto Tp-3.....	99
Figura 29	Palmitato de etila (Tp-4).....	101
Figura 30	Espectro obtido em CDCl_3 de RMN de ^1H (400 MHz) do composto Tp-4	102
Figura 31	Espectro obtido em CDCl_3 de RMN de ^{13}C (100 MHz) do composto Tp- 4.....	103
Figura 32	Mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em CDCl_3 do composto Tp-4	104
Figura 33	Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em CDCl_3 do composto Tp-4	105
Figura 34	Fragmentograma da Tp-4.....	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classes e estruturas químicas dos compostos fenólicos.....	35
Tabela 2	Espécies de plantas da família Cactaceae e suas características.....	36
Tabela 3	Pesquisa de metabólitos secundários da <i>Tacinga palmadora</i>	52
Tabela 4	Fracionamento cromatográfico do extrato diclorometano das raízes da <i>Tacinga palmadora</i>	56
Tabela 5	Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano das raízes da <i>Tacinga palmadora</i>	58
Tabela 6	Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das raízes da <i>Tacinga palmadora</i>	60
Tabela 7	Fracionamento cromatográfico do extrato hidroalcolico nebulizado das raízes da <i>Tacinga palmadora</i>	61
Tabela 8	Parâmetro obtidos no ensaio de propriedades de fluxo da droga vegetal da <i>Tacinga palmadora</i>	71
Tabela 9	Dados da curva termogravimétrica da droga vegetal da <i>Tacinga palmadora</i>	76
Tabela 10	Dados da curva da análise térmica diferencial da droga vegetal da <i>Tacinga palmadora</i>	77
Tabela 11	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Tp-1, em comparação aos dados obtidos por De Araújo (2017).....	80
Tabela 12	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (400 e 100 MHz, Acetona d_6) de Tp-2, em comparação aos dados obtidos por Maia (2006).....	87
Tabela 13	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (400 e 100 MHz, Acetona d_6) de Tp-3, em comparação aos dados obtidos por Lopes (2014).....	94
Tabela 14	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Tp-4, em comparação aos dados obtidos por Feitosa (2007).....	101

Tabela 15	Principais fragmentos propostos para o Tp-4.....	106
Tabela 16	Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos da <i>Tacinga palmadora</i> frente a bactérias.....	109
Tabela 17	Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos da <i>Tacinga palmadora</i> frente a cepas fúngicas.....	110
Tabela 18	Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com o extrato diclorometano (CH ₂ Cl ₂) da <i>Tacinga palmadora</i>	112
Tabela 19	Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com o extrato acetato de etila (AcOEt) da <i>Tacinga palmadora</i>	112
Tabela 20	Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com o extrato etanolólico (EtOH) da <i>Tacinga palmadora</i>	113
Tabela 21	Porcentagem de Sequestro de radicais livres (SRL%) do extrato acetato de Etila.....	114
Tabela 22	Porcentagem de Sequestro de radicais livres (SRL%) do extrato diclorometano.....	114
Tabela 23	Atividade Antioxidante Total (%) dos extratos e dos padrões testes..	115
Tabela 24	Método do Tiocianato Férrico dos extratos e dos padrões testes.....	116

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Concentração letal média (CL ₅₀) do extrato hexanânico da raiz da <i>Tacinga palmadora</i>	107
Gráfico 2	Concentração letal média (CL ₅₀) do extrato diclorometano da raiz da <i>Tacinga palmadora</i>	107
Gráfico 3	Concentração letal média (CL ₅₀) do extrato acetato de etila da raiz da <i>Tacinga palmadora</i>	108
Gráfico 4	Concentração letal média (CL ₅₀) do extrato etanólico da raiz da <i>Tacinga palmadora</i>	108

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Fases obtidas por meio de uma partição líquida:líquida do EEB das raízes da <i>T.palmadora</i>	50
Esquema 2	Obtenção dos extratos da raiz da <i>T.palmadora</i>	51
Esquema 3	Isolamento do Tp-1 do extrato diclorometano das raízes de <i>T.palmadora</i>	55
Esquema 4	Isolamento do Tp-2 da fase diclorometano das raízes de <i>T.palmadora</i>	57
Esquema 5	Isolamento do Tp-3 do extrato acetato de etila das raízes de <i>T.palmadora</i>	59
Esquema 6	Isolamento do Tp-4 do EHAN das raízes de <i>T.palmadora</i>	61

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AA – Ácido Ascórbico

AAT – Atividade Antioxidante Total

AcOEt – Acetato de Etila

AG – Ácido Gálico

ATCC – American Type Culture collection

BHT – Hidroxitolueno Butilado

CC – Cromatografia em Coluna

CCDA – Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CDCl₃ – Clorofórmio Deuterado

CCDP – Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

CH₂Cl₂ – Diclorometano

CHCl₃ – Clorofórmio

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CFM - Concentração Fungicida Mínima

CL₅₀ – Concentração Letal que produz 50% de letalidade

cm – Centímetros

d – Dupleto

da – Densidade Aparente

dc – Densidade Compactada

dd – Duplo Dupleto

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

EEB – Extrato Etanólico Bruto

EHAN - Extrato Hidroalcólico Nebulizado

FH – Fator Hausner

g – Gramas

h – Horas

HMBC- Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HSQC- Heteronuclear Single Quantum Coherence

Hex - Hexano

IC – Índice de Compressibilidade

IV – Infravermelho

J – Constante de acoplamento

MeOH – Metanol

MeOH:H₂O – Metanol:Água

MHz – Mega Hertz

m – Multiplete

min – Minutos

mg – Miligramas

mL – Mililitros

NaCl – Cloreto de Sódio

nm - Nanômetros

ppm – Parte por Milhão

Q – Quercetina

q - Quarteto

RMN de ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono treze

RMN de ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio um

rpm – Rotações Por Minuto

s – Singleto

SRL – Sequestrador de Radicais Livres

t - Triplete

TG – Termogravimetria

TMS – Tetrametilsilano

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UV – Ultravioleta

δ – Deslocamento Químico em partes por milhão.

δ_c – Deslocamento Químico em partes por milhão de carbono

δ_H – Deslocamento Químico em partes por milhão de hidrogênio

μL - Microlitros

μm – Micromêtro

RESUMO

Tacinga palmadora, pertencente à família Cactaceae, é uma planta conhecida popularmente como Palmatória, Palma ou Quipá. A *T. palmadora* é amplamente distribuída em áreas da Caatinga da região Nordeste do Brasil, sendo o chá de sua raiz utilizado popularmente no tratamento de problemas na uretra. O presente estudo teve por objetivo isolar compostos químicos dos extratos e fases obtidas, realizar a caracterização físico-química da droga vegetal, assim como investigar atividades biológicas das raízes da espécie *T. palmadora*. As raízes após coleta, passaram por processo de secagem e foram trituradas para a obtenção da droga vegetal. Foi realizada a caracterização físico-química da droga vegetal, para determinação da granulometria, densidade, teor de cinzas, teor de umidade, pH, microestrutura (Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Energia Dispersiva (EDS)), Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Análise termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA). Foi obtido da raiz da *T. palmadora* o Extrato Etanólico Bruto (EEB), o Extrato Hidroalcolico Nebulizado (EHAN) e os extratos e fases Hexânico (Hex), Diclorometano (CH_2Cl_2), Acetato de Etila (AcOEt) e Etanolólico (EtOH). Além disso, realizou-se o *Screening* fitoquímico qualitativo e quantitativo. O isolamento e a identificação dos compostos químicos foram realizados por métodos cromatográficos e espectroscópicos respectivamente. Realizou-se também a atividade toxicológica frente à *Artemia salina*, Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para bactérias e fungos, testes hemolíticos e atividade antioxidante, utilizando o método de Sequestro do radical DPPH (2,2 -difênil -1- picril -hidrazil), Atividade Antioxidante Total (AAT) e o método de Tiocianato Férrico. O pó foi classificado como semi-fino, de fácil escoamento, baixo teor de umidade e valor médio do pH de 5,58. Os dados obtidos pelo *Screening* fitoquímico qualitativo mostrou resultado positivo para alcaloides e esteroides/triterpenoides. A análise do TG da droga vegetal mostrou a ocorrência de três etapas de perda de massa. A análise da DTA mostrou dois eventos endotérmicos e um exotérmico. O estudo fitoquímico das raízes de *T. palmadora* resultou no isolamento de 4 compostos, um éster derivado do ácido caféico, a 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavona, o ácido vanílico e o palmitato de etila. Observou-se que os valores da Concentração Letal Média (CL_{50}) dos extratos apresentaram atividade pouco significativa ($\text{CL}_{50} > 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Os extratos AcOEt, EtOH e Hex mostraram atividade antifúngica contra *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*. O extrato EtOH foi a que apresentou melhor atividade hemolítica. A atividade antioxidante, quanto a capacidade de sequestro do DPPH, o extrato AcOEt obteve o melhor resultado, onde na concentração de $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ obteve uma média de 76,44% e quanto a AAT, o extrato AcOEt mostrou um melhor resultado, visto que os resultados foram semelhantes ao padrão Quercetina. A *T. palmadora* demonstrou ser uma espécie promissora, pela variedade de compostos químicos isolados e por ter apresentado importantes atividades biológicas. Mais estudos químicos, farmacológicos e toxicológicos devem ser feitos a fim de promover o conhecimento acerca desta planta.

Palavras chave: Cactaceae; Quipá; Raízes; Compostos químicos; Espectroscopia.

ABSTRACT

The palmadora, belonging to the family Cactaceae, is a plant popularly known as Palmatoria, Palma or Quipá. The *T. palmadora* is widely distributed in areas of the Caatinga of the Northeast region of Brazil, the tea of its root being popularly used in the treatment of problems in the urethra. The present study aimed to isolate chemical compounds from the extracts and phases obtained, perform the physicochemical characterization of the plant drug, as well as to investigate biological activities of the roots of the species *T. palmadora*. After harvesting, the roots were dried and crushed to obtain the vegetable drug. The physicochemical characterization of the plant drug was used to determine the granulometry, density, ash content, moisture content, pH, microstructure (Scanning Electron Microscopy (SEM) and Dispersive Energy (EDS)), Infrared Region Spectroscopy with Fourier Transform (FTIR), Thermogravimetric Analysis (TG) and Differential Thermal Analysis (DTA). The crude ethanol extract (EEB), the nebulized hydroalcoholic extract (EHAN), and the hexane and hexane phases (Hex), Dichloromethane (CH₂Cl₂), Ethyl Acetate (AcOEt) and Ethanolol (EtOH) were obtained from the root of *T. palmadora*. In addition, qualitative and quantitative phytochemical screening was performed. Isolation and identification of the chemical compounds were performed by chromatographic and spectroscopic methods, respectively. The toxicological activity against *Artemia salina*, Determination of Minimal Inhibitory Concentration (MIC) for bacteria and fungi, hemolytic tests and antioxidant activity, using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), Total Antioxidant Activity (AAT) and the Ferric Thiocyanate method. The powder was classified as semi-thin, easy flow, low moisture content and average pH value of 5.58. The data obtained by qualitative phytochemical screening showed positive results for alkaloids and steroids / triterpenoids. TG analysis of the plant drug showed the occurrence of three stages of mass loss. The DTA analysis showed two endothermic and one exothermic events. The phytochemical study of *T. palmadora* roots resulted in the isolation of 4 compounds, an ester derived from caffeic acid, 5-hydroxy-4', 7-dimethoxyflavone, vanillic acid and ethyl palmitate. It was observed that the values of the Lethal Concentration (LC₅₀) of the extracts showed little significant activity (LC₅₀ > 1000 µg.mL⁻¹). The extracts AcOEt, EtOH and Hex showed antifungal activity against *C. albicans*, *C. krusei* and *C. tropicalis*. The EtOH extract showed the highest hemolytic activity. The antioxidant activity, as well as the capacity of sequestration of DPPH, the extract AcOEt obtained the best result, where in the concentration of 500 µg.mL⁻¹ obtained an average of 76.44% and for the AAT, the extract AcOEt showed a better result, since the results were similar to the Quercetin standard. *T. palmadora* has been shown to be a promising species, due to the variety of isolated chemical compounds and important biological activities. Further chemical, pharmacological and toxicological studies should be done to promote knowledge about this plant.

Keywords: Cactaceae; Quipá; Roots; Chemical compounds; Spectroscopy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo Geral	22
2.2 Objetivos Específicos	22
3 REVISÃO DE LITERATURA	24
3.1 Plantas medicinais	24
3.2 Estudos fitoquímicos	25
3.3 Bioma Caatinga	26
3.4 Família Cactaceae	27
3.5 Atividades biológicas	28
3.6 <i>Tacinga palmadora</i>	30
3.7 Metabólitos secundários	32
3.7.1 Compostos fenólicos	33
3.7.2 Constituintes químicos pertencentes na família Cactaceae	34
3.8 Atividades biológicas	37
3.8.1 Ensaio frente à <i>Artemia Salina</i>	37
3.8.2 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>	39
3.8.3 Citotoxicidade <i>in vitro</i>	41
3.8.4 Atividade antioxidante	42
4 METODOLOGIA	45
4.1 Coleta do material botânico	45
4.2 Obtenção da droga vegetal	45
4.3 Caracterização físico-química da droga vegetal	45
4.3.1 Granulometria da droga vegetal	45
4.3.2 Determinação da densidade da droga vegetal	47
4.3.3 Teor de cinzas da droga vegetal	47
4.3.4 Teor de umidade da droga vegetal.....	47
4.3.5 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH) da droga vegetal.....	47
4.3.6 Microestrutura da droga vegetal.....	48
4.3.7 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da droga vegetal	48

4.3.8 Análise Termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA) da droga vegetal	48
4.4 Prospecção fitoquímica	48
4.4.1 Obtenção dos extratos e fases da <i>T.palmadora</i>	49
4.4.2 Obtenção dos extratos da <i>T.palmadora</i> por extração acelerada por solvente..	50
4.5 Screening fitoquímico qualitativo	50
4.5.1 Testes para determinação de saponinas, polissacarídeos, fenois e taninos ...	51
4.5.2 Testes para determinação de flavonoides	52
4.5.3 Testes para determinação de esteroides e triterpenoides	52
4.5.4 Teste para determinação de alcaloides	52
4.6 Screening fitoquímico quantitativo	53
4.6.1 Teor de polifenóis totais	53
4.7 Fracionamento cromatográfico das fase e extratos	53
4.8 Métodos Espectroscópicos.....	61
4.9 Atividade toxicológica frente á <i>A. Salina</i>.....	61
4.10 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>.....	62
4.10.1 Cepas Microbianas.....	62
4.10.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	63
4.11 Teste de hemólise	63
4.12 Atividade antioxidante	64
4.12.1 Sequestro do radical DPPH (2,2-difenol-1-pecril-hidrozil).....	64
4.12.2 Atividade antioxidante total (AAT)	65
4.12.3 Método Tiocinato Férrico	66
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
5.1 Caracterização físico-química da droga vegetal	69
5.1.1 Distribuição granulométrica da droga vegetal de <i>T.palmadora</i>	69
5.1.2 Densidade da droga vegetal de <i>T.palmadora</i>	69
5.1.3 Teor de Cinzas da droga vegetal de <i>T.palmadora</i>	70
5.1.4 Teor de umidade da droga vegetal de <i>T.palmadora</i>	70
5.1.5 pH da droga vegetal de <i>T.palmadora</i>	71
5.1.6 MEV/EDS da droga vegetal de <i>T.palmadora</i>	71
5.1.7 Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da droga vegetal de <i>T.palmadora</i>	74

5.1.8 Análise Termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA) da droga vegetal de <i>T.palmadora</i>	74
5.2 Caracterização fitoquímica.....	76
5.3 Compostos isolados de <i>T.palmadora</i>	78
5.3.1 Identificação de TP-1	78
5.3.2 Identificação de TP-2	84
5.3.3 Identificação de TP-3	91
5.3.4 Identificação de TP-4	98
5.4 Atividade frente á <i>A. Salina</i>	106
5.5 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>	108
5.5.1 Determinação da CIM.....	108
5.6 Citotoxicidade em hemácias.....	110
5.7 Atividade antioxidante.....	112
5.7.1 Sequestro do radical DPPH	112
5.7.2 AAT.....	114
5.7.3 Método do Tiocianato Férrico.....	114
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	115
REFERÊNCIAS.....	116

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, as plantas são utilizadas como fontes de medicamentos para o tratamento das enfermidades que acometem o homem, de modo a aumentar suas chances de sobrevivência através da melhoria da saúde (CARVALHO et al., 2010). A utilização de espécies vegetais com finalidade terapêutica para prevenir, atenuar ou curar um estado patológico é uma das mais antigas práticas aplicadas para fins medicinais (ROSSATO et al., 2012).

A riqueza da diversidade vegetal brasileira contribuiu para que a utilização das plantas medicinais seja considerada uma área estratégica para o país, que contém cerca de 23% das espécies vegetais existentes em todo o planeta. Pesquisas demonstram que, no Brasil, mais de 90% da população já fez uso de alguma planta medicinal (BATALHA et al., 2007).

Muitas espécies vegetais são estudadas objetivando-se entender as propriedades biológicas e o mecanismo de ação dos compostos responsáveis por essas propriedades. O interesse em estudar os vegetais vem aumentando devido os mesmos constituírem a base energética e estrutural da cadeia alimentar e pelo seu uso como matéria prima na elaboração de remédios (VIEGAS JÚNIOR, 2006).

Devido à diversidade química estrutural de compostos bioativos obtidos de plantas, pesquisas são realizadas para uma melhor compreensão da aplicabilidade clínica das substâncias provenientes de produtos naturais (CHIWORORO, OJEWOLE, 2009).

Cactaceae é uma família pertencente à ordem Caryophyllales com 124 gêneros e cerca de 1.438 espécies distribuídos em regiões secas tropicais e temperadas, com ampla ocorrência no México e no Brasil. A família é notável devido à evolução de várias adaptações para aridez (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, 2011).

Estudos fitoquímicos sobre as espécies de Cactaceae têm relatado a presença de flavonoides, tais como quercetina, rutina e canferol, bem como a atividade antioxidante de várias espécies. Nas plantas, esta atividade está relacionada com a presença de moléculas fenólicas tais como os flavonoides, taninos, ácidos fenólicos e antocianinas (PASCAL et al., 2014).

Dentre estas espécies, destaca-se a *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy (*T. palmadora*), popularmente conhecida como Palmatória. O fruto de *T. palmadora* é usado como alimento humano. Ele também pode ser usado com finalidade ornamental, ou também queimado e /ou cortado para alimentar animais (LUCENA et al., 2013). Na medicina popular, suas raízes são empregadas no tratamento de inflamação na uretra (ANDRADE et al.,2006).

Para a validação de plantas potencialmente terapêuticas são necessárias investigações para estudar desde a relação da medicina tradicional e popular; o isolamento, a purificação e a caracterização de princípios ativos; a observação da estrutura/atividade e a investigação farmacológica de extratos e/ou seus constituintes químicos isolados, até a operação de formulações para a produção de fitoterápicos (BATISTA, 2013).

Diante do exposto, nota-se que existe uma necessidade de realizar estudos com o intuito de avaliar a fitoquímica de extratos e substâncias de *T. Palmadora*, visando sua utilização em estudos farmacológicos e toxicológicos. Dessa foma, o objetivo desta pesquisa foi promover o isolamento dos compostos bioativos dos extratos e fases obtidas, realizar a caracterização físico-química da droga vegetal, assim como investigar atividades biológicas das raízes da espécie *T. palmadora*.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Isolar metabólitos secundários dos extratos e fases obtidas das raízes da espécie *T. palmadora* (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar as raízes da *T. palmadora*;
- Obter e caracterizar físico-quimicamente a droga vegetal das raízes da *T. palmadora*;
- Obter o extrato etanólico bruto e as fases Hexânica, Diclorometano, Acetato de Etila e Etanólico da raiz;
- Realizar o *screening* fitoquímico do extrato bruto e das fases Diclorometano e Acetato de Etila;
- Realizar a análise semi-quantitativa dos metabólitos secundários por espectrofotômetro;
- Utilizar métodos cromatográficos (CCDA, CC e CCDP) para o isolamento dos compostos químicos;
- Identificar e/ou elucidar as estruturas químicas dos compostos isolados por técnicas espectroscópicas (IV, EM e RMN de ^1H e ^{13}C);
- Realizar ensaios de atividade antimicrobiana com determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos extratos da raiz da *T. palmadora*;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos das raízes da *T. palmadora*;
- Analisar a CL_{50} através do teste com *Artemia salina*;
- Verificar a toxicidade dos extratos frente a eritrócitos humanos.

REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Plantas medicinais

Plantas medicinais são aquelas que contêm substâncias bioativas com propriedades terapêuticas, profiláticas ou paliativas utilizadas na medicina. Ou seja, são plantas que melhoram a qualidade de vida e que interferem e ou reforçam o sistema imunológico. Inúmeros compostos químicos são sintetizados pelas plantas a partir dos nutrientes, da água e da luz que recebem. Quando esses compostos, ou grupos deles, provocam reações nos organismos vivos, são denominados “princípios ativos”. Dependendo da dosagem utilizada, esses compostos podem ser tóxicos ou não (MORAIS, 2011).

O uso das plantas medicinais para diversas doenças representou, durante séculos, a única alternativa ao homem. Com a medicina alopática, essa utilização foi desvalorizada e os profissionais de saúde consideram os medicamentos industrializados ou manipulados mais seguros. Apesar disso, observa-se que o uso de plantas medicinais ainda é bastante difundido, uma vez que pode ser influenciado pela questão econômica, o alto custo dos medicamentos, o difícil acesso a consultas pelo SUS, pela dificuldade de locomoção de áreas rurais e pela tradição na utilização de recursos naturais (BATTISTI et al., 2013).

A vasta utilização de medicamentos à base de plantas medicinais e o próprio conhecimento popular traz consigo a necessidade de pesquisas para o esclarecimento e confirmação de informações sobre as ações das plantas, visando a minimização de efeitos colaterais e toxicológicos, uma vez que esse uso deve ser confiável e seguro (FIRMO et al., 2011).

A medicina popular vem contribuindo cada vez mais às ciências do homem, devido aos conhecimentos e práticas médicas de caráter empírico, influenciadas pelo contexto econômico, físico e sociocultural no qual se encontram inseridas (ALBERTASSE et.al., 2010).

O uso terapêutico das plantas medicinais envolve várias etapas, tais quais procedência, coleta, secagem, armazenamento, comércio, modo de preparo pelo usuário e uso. E todas essas etapas apresentam desafios para que se possa garantir identificação da espécie, disponibilidade, qualidade, segurança e eficácia de uso (BOCHNER et al., 2012)

3.2 Estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos

Existem várias áreas envolvidas no estudo sobre espécies medicinais, como a fitoquímica, a etnobotânica, a etnofarmacologia e a farmacologia. A etnociência têm se destacado muito na busca por substâncias naturais de ação terapêutica. A abordagem etnodirigida consiste na seleção de espécies de acordo com a indicação de grupos populacionais específicos em determinados contextos de uso, ressaltando a busca pelo conhecimento construído localmente a respeito de seus recursos naturais e a aplicação que fazem deles, podendo ser um instrumento auxiliador nas pesquisas que visam valorizar e preservar o conhecimento tradicional sobre espécies medicinais (CARVALHO, 2013).

A etnobotânica se ocupa da inter-relação direta entre pessoas e plantas, incluindo todas as formas de percepção e apropriação dos recursos vegetais. Já a etnofarmacologia se ocupa do estudo dos preparados tradicionais utilizados em sistemas de saúde e doença que incluem isoladamente ou em conjunto plantas, animais, fungos ou minerais (ALBUQUERQUE & HANAZAKI, 2006).

Os estudos etnobotânicos de espécies medicinais é uma ferramenta importante no resgate e preservação do conhecimento tradicional de populações, sejam elas urbanas ou rurais, auxiliando na conservação das espécies. Estes estudos têm revelado não só a utilização das plantas como também aspectos socioculturais, mostrando o perfil dos consumidores, a forma como o conhecimento tradicional é transmitido, bem como outros aspectos a depender do objetivo da pesquisa. Essas respostas têm relevância na investigação etnofarmacológica, na medida em que encurtam o caminho na descoberta e no desenvolvimento de novas substâncias capazes de auxiliar na cura de enfermidades, elucidam mitos e verdades sobre a utilização das espécies, e formulam dosagens e métodos de utilização dos remédios tradicionais auxiliando na segurança e eficácia das medicações (MENEZES et.al., 2013).

Os estudos relacionados com a medicina popular têm merecido cada vez mais atenção, em virtude da gama de informações e esclarecimento à ciência das espécies vegetais. No estado da Paraíba, os estudos etnofarmacológicos ainda são escassos, mas estão gradativamente sendo realizados, com a finalidade de aprofundar o conhecimento sobre espécies de uso popular (MARINHO et.al., 2011).

3.3 Bioma Caatinga

O Bioma Caatinga ocupa uma área de cerca de 844.453 quilômetros quadrados, o equivalente a 11% do território nacional. Engloba os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Sergipe e o norte de Minas Gerais (Figura 1). Rico em biodiversidade, o bioma abriga 178 espécies de mamíferos, 591 de aves, 177 de répteis, 79 espécies de anfíbios, 241 de peixes e 221 abelhas (MOREIRA, 2013; OLIVEIRA, 2014).

Cerca de 27 milhões de pessoas vivem na região, a maioria carente e dependente dos recursos do bioma para sobreviver. Esse bioma tem um imenso potencial para a conservação de serviços ambientais, uso sustentável e bioprospecção que, se bem explorado, será decisivo para o desenvolvimento da região e do país (MOREIRA, 2013; OLIVEIRA, 2014). Porém, a caatinga vem sofrendo com o desmatamento desordenado para fins agrícolas e o fogo, o que afeta diretamente as populações de espécies que são encontradas na vegetação (ZAPPI et al., 2011).

A Caatinga é a vegetação encontrada no sertão e em parte do agreste, uma zona de transição entre o árido e o semiárido. Mesmo em anos considerados normais, só por três meses as plantas são verdes. No resto do tempo, secam e evitam transpirar. Seu nome vem do tupi, de caa e tinga, mata esbranquiçada, nome que faz alusão ao aspecto da vegetação quando está em período de seca, quando perde as folhagens e permanecem apenas os caules adormecidos aguardando a chuva para florescer (NASCIMENTO, 2015).

A vegetação considerada mais típica de Caatinga encontra-se nas depressões sertanejas: uma ao norte e outra ao sul do bioma, separadas por uma série de serras que constituem uma barreira geográfica para diversas espécies. Os diferentes tipos de Caatinga estendem-se por regiões mais altas e de relevo variado e incluem a Caatinga arbustiva a arbórea, a mata seca e a mata úmida, o carrasco e as formações abertas com domínio de cactáceas e bromeliáceas, entre outras (MOREIRA, 2013).

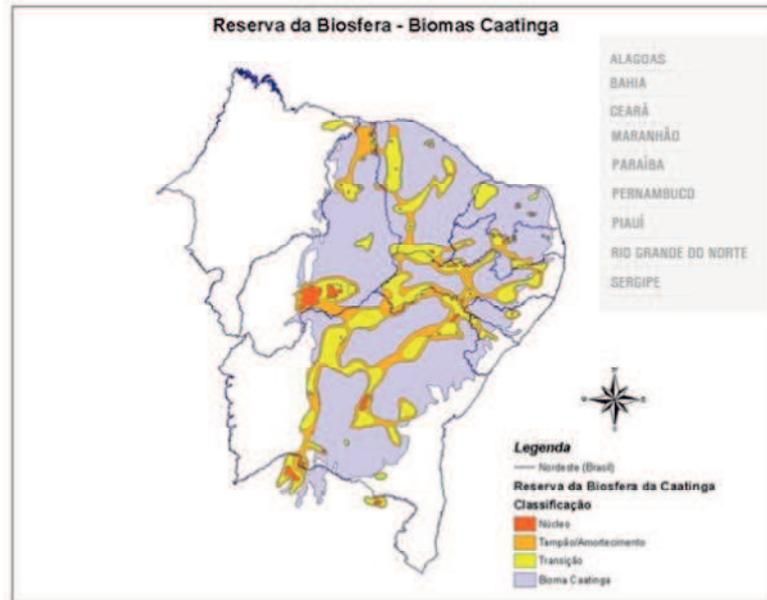


Figura 1. Mapa limite do Bioma Caatinga.

3.4 Família *Cactaceae*

A família *Cactaceae* contabiliza 39 gêneros e 260 espécies que ocorrem no Brasil, sendo 187 espécies endêmicas do Brasil. Na região nordeste do Brasil são reconhecidas 105 espécies, sendo que, no estado da Bahia, são reconhecidas 98 espécies (ZAPPI et al., 2011).

Na caatinga, ocorrem cinquenta e oito espécies de cactáceas já descritas, das quais, quarenta e duas são endêmicas. Entre elas, os principais gêneros são: mandacaru (*Cereus jamacaru*), xique-xique (*Pilosocereus gounellei*), coroa de frade (*Melocactus* sp) e palma (*Tacinga* sp) (FERREIRA, 2014).

A Paraíba apresenta-se dividida em três regiões climáticas, sendo elas: o Sertão, situado na faixa semiárida; o Planalto da Borborema e a Fachada Atlântica Tropical (ALVES, 2009). O sertão apresenta uma vegetação adaptada aos baixos índices pluviométricos e diferentes estruturas vegetacionais. Suas áreas são dominadas tanto por espécies de porte arboreo, formando matas abertas, como por espécies de porte herbáceo/arbustivas, significativamente representadas por espécies da família *Cactaceae*, adaptadas a altas temperaturas e ao clima seco (DUQUE, 2004).

Apesar da potencialidade forrageira ser proeminente entre as cactáceas, outras formas de uso entre as espécies têm sido registradas, como o consumo do

fruto fresco de *C. jamacaru* (mandacaru) na região sertaneja (Paraíba, Brasil) e o miolo de *P. pachycladus* cozido ou assado, no cariri paraibano. Além disso, a *Opuntia ficus* L. Mill. (Palma) é usada na alimentação dos sertanejos baianos (ANDRADE et al., 2006). Foram observadas outras formas de uso, como: o medicinal, para algumas espécies de cactos em comunidades rurais do sertão baiano e cariri paraibano para tratar enfermidades como infecções e problemas de uretra; *P. gounellei* (xique-xique) e *C. jamacaru* (mandacaru) na construção de casas, e de cercas vivas. Ainda, no cariri paraibano, alguns produtos para higiene pessoal, como shampoo e sabão são produzidos a partir da *O. ficus* (LUCENA, 2011).

Cabe ressaltar que as Cactáceas, bem como muitas outras famílias de plantas, estão a cada dia sendo ameaçadas pela ação antrópica, correndo, portanto, o risco de terem suas espécies vegetais eliminadas antes de serem estudadas quanto às características ecológicas, potenciais terapêutico, ornamental, alimentar ou quaisquer benefícios que possam vir a trazer à comunidade (ALBERTASSE et.al., 2010).

3.5 Gênero *Tacinga*

O gênero *Tacinga* Britton & Rose pertence à subfamília Opuntioideae. Em 2002, Taylor, Stuppy e Barthlott ampliaram o gênero *Tacinga* para incluir as espécies endêmicas do leste brasileiro que haviam sido descritas originalmente como *Opuntia* ou *Platyopuntia*. Com este trabalho, o gênero *Tacinga* é ampliado de duas a seis espécies, passando a conter além de *T. braunii* e *T. funalis*, as espécies *T. inamoena* (K. Schumann) N.P. Taylor & Stuppy, *T. palmadora* (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy, *T. saxatilis* (Ritter) N.P. Taylor & Stuppy, e *T. weneri* (Eggl) N.P. Taylor & Stuppy. A *Opuntia estevesii* foi reduzida por Taylor et al. a subespécie de *T. saxatilis* como *T. saxatilis* subsp. *estevessii* (P.J. Braun) N.P. Taylor & Stuppy. (MACHADO & TAYLOR, 2002).

As espécies de *Tacinga* formam três grupos com base em sua morfologia: o grupo de *T. funalis* e *T. braunii*; o grupo de *T. palmadora* e *T. weneri*; e o grupo de *T. inamoena* e *T. saxatilis*. No primeiro grupo, *T. funalis* é a espécie que apresenta distribuição mais ampla, ocorrendo em Pernambuco e Bahia onde cresce em áreas de vegetação de caatinga. A *T. funalis* apresenta morfologia bem característica, com cladódios cilíndricos e longos. *T. braunii* por sua vez ocorre de forma restrita no

nordeste de Minas Gerais, no vale do Rio Jequitinhonha, onde cresce em afloramentos de gneiss ou granito, possuindo distribuição alopátrica em relação a *T. funalis* (MARTÍNEZ, et.al. 2008).

No segundo grupo, *T. palmadora* e *T. weneri* possuem morfologia muito similares, sendo facilmente confundidas em estado vegetativo. Estas espécies se diferenciam em suas flores e frutos, com *T. weneri* possuindo estaminóides nas flores e frutos maiores, ovóides e de coloração esbranquiçada quando maduros e polpa cor de rosa, enquanto que *T. palmadora* possui frutos menores, turbiniformes, de coloração esverdeada a avermelhada ou púrpura quando maduros e polpa translúcida. A *T. palmadora* possui distribuição ampla, ocorrendo às margens de afloramentos rochosos ou nos solos da caatinga nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia (Figura 2). A *T. weneri* ocupa os mesmos ambientes que *T. palmadora*, porém possui distribuição mais restrita, ocorrendo na Bahia e nordeste de Minas Gerais, sua distribuição se sobrepondo com a de *T. palmadora* na Bahia, onde as duas espécies podem ser encontradas em simpatria (TAYLOR & ZAPPI, 2004).

O terceiro grupo é composto por *T. inamoena* e *T. saxatilis*. Estas duas espécies se distinguem das demais por serem subarbustos com cladódios orbiculares ou obovados. A *T. saxatilis* encontra-se distribuída em áreas de vegetação de caatinga e cerrado do oeste da Bahia e noroeste de Minas Gerais, onde habita exclusivamente afloramentos de rocha calcárea. Esta espécie se distingue de *T. inamoena* por possuir espinhos nas aréolas e flores e frutos com morfologia ligeiramente diferente. A distribuição de *T. saxatilis* é parapátrica em relação a *T. inamoena*, com as duas espécies crescendo em simpatria em algumas localidades no oeste da Bahia e por vezes formando híbridos. *T. inamoena* por sua vez possui distribuição extremamente ampla, ocorrendo em todos os estados do nordeste do Brasil e também no norte de Minas Gerais. A sua distribuição corresponde de forma bem próxima aos limites do bioma caatinga. Dentro da sua área de distribuição, *T. inamoena* ocorre em diversos ambientes, habitando desde o solo das áreas de caatinga a afloramentos rochosos diversos, como gneiss, granito, quartzito, arenito e rochas calcáreas, também ocorre em áreas de campos rupestres, em afloramentos rochosos ou em solos arenosos, sua distribuição inclui populações disjuntas ocupando afloramentos areníticos nos cerrados do oeste da Bahia, e populações disjuntas em áreas de transição entre a vegetação semiárida da

caatinga e a vegetação florestal da mata atlântica no leste da Bahia, estas últimas populações correspondendo ao táxon *T. inamoena* subsp. *Subcylindrica* (TAYLOR & ZAPPI, 2004).

As principais características do gênero *Tacinga* incluem os arbustos a subarbustos medindo 0,2-5,0 m, folhas turbinadas presentes apenas nos ramos em início de crescimento, decíduas em ramos maduros, sésseis, carnosas; flores solitárias, terminais ou surgindo a partir da margem ou ápice dos artículos, pericarpelo globoso, turbinados ou alongados, às vezes deprimidas e formando um tubo no ápice, aréolas com brácteas escariosas; perianto multiseriados; estames numerosos, eretos; pólen com exina não reticulada; fruto baga, solitário ou agrupados, globosos ou ovoides, restos florais decíduos; polpa funicular translúcida, opacas ou com cor, fibrosas ou quase inexistentes; e sementes poucas, globulares a reniformes, envolvidas por arilóide fibro-carnoso (TAYLOR & ZAPPI, 2004).

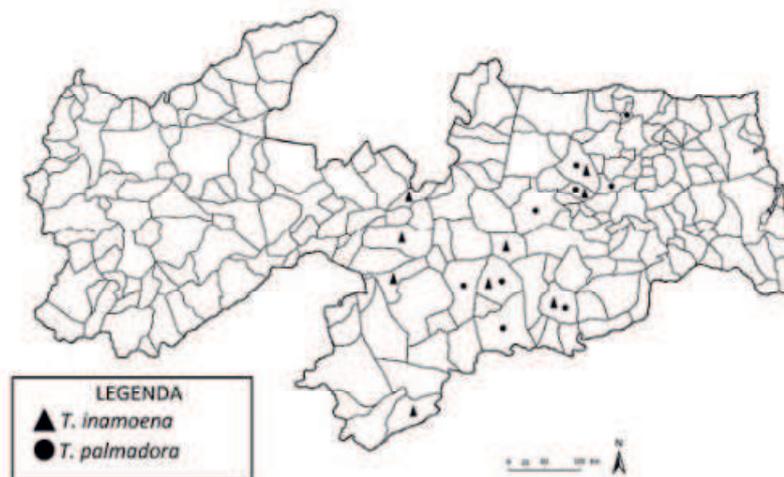


Figura 2. Distribuição geográfica do gênero *Tacinga* no estado da Paraíba.

3.6 *Tacinga palmadora*

T. palmadora (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy (Figura 3) é um cacto que pertence à subfamília Opuntioideae e é amplamente distribuído em áreas de Caatinga da região Nordeste do Brasil. Embora em pequeno número, esta espécie produz seus clones através da queda natural de seus ramos chamados de cladódios que, ao caírem no chão, enraízam e emitem novos ramos, ambos a partir das aréolas, originando novos indivíduos. Os frutos, por serem revestidos com tecido dos

cladódios, possuem as mesmas características propagativas dos ramos e produzem em média 25 sementes classificadas como afotoblásticas, pois não necessitam de luz para iniciar seu processo germinativo (REYES-AGÜERO et al., 2006).



Figura 3. *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy.

Fonte: O autor

As características da *T. palmadora* são: arbusto medindo de 2-4 metros de altura; cladódio complanado, artículos obovados a elípticos, ramificações irregulares, cinza-esverdeado, glauco; espinhos, (0–)1–9 por aréola, indiferenciados, cilíndricos, aciculados, pungentes, dourado no início, cinza pálido com a idade, 1-2 centrais, 7-8 radiais; gloquídeos presentes; flores surgindo a partir da margem ou ápice dos artículos; pericarpelo verde, com gloquídeos; segmentos do perianto vermelhos; brácteas escalas, agudas, subtendo cerdas; fruto globoso; pericarpo vermelho ou arroxeado, com gloquídeos; e polpa funicular translúcida.

T. palmadora é um cacto endêmico da Caatinga, conhecida popularmente como palmatória ou quipá-de-espinho. A espécie é bem frequente nas áreas que fazem parte da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco, sendo registradas mais de 250 populações distribuídas em áreas de Caatinga de todos os Estados que fazem parte da região Nordeste do Brasil, com exceção do Maranhão. Diferentemente da maioria dos cactos da Caatinga, *T. palmadora* floresce em plena estação seca e suas flores diurnas são polinizadas por beija-flores (MEIADO, 2012).

3.7 Metabólitos secundários

As plantas fornecem uma multiplicidade de compostos vegetais resultantes dos processos de biotransformação de moléculas da planta em resposta às necessidades primordiais e a interações e pressões seletivas provocadas por microorganismos patogênicos e fitófagos herbívoros presentes no ambiente. Ecofisiologicamente, os metabólitos primários suprem as funções básicas da planta e encontram-se distribuídos de forma universal, enquanto que os metabólitos secundários são um arsenal de substâncias que são biotransformadas em função da demanda de atividades que estão aliadas a papéis importantes, como segurança, adaptação e interação com o meio ambiente, incluindo a perpetuação da espécie em seu habitat, defesa contra predadores e patógenos, proteção contra os raios ultravioleta (UV), atração de polinizadores ou dispersores de sementes e dar cor a flores e frutos tornando-os mais atraentes; são ainda estes metabólitos fornecidos pela natureza que abrem enormes perspectivas para a descoberta de fontes de princípios ativos para a manufatura de medicamentos farmacologicamente ativos. Portanto, a produção e as propriedades dos princípios ativos dos vegetais estão diretamente associadas às adaptações evolucionárias das plantas às condições bióticas e abióticas ambientais (SILVA, 2013).

Em função dos fatores diretamente condicionantes dos metabólitos secundários produzidos, os teores de princípios ativos podem ser variáveis e estarem distribuídos de forma heterogênea na planta, influenciando na concentração e nas propriedades do produto vegetal. Neste sentido, diversos fatores que influenciam sua variabilidade precisam ser computados, dentre os quais se ressaltam os seguintes: localização geográfica e sazonalidade, como estação do ano, fotoperíodo (tempo e intensidade luminosa), temperatura, umidade, altitude, latitude, condições edáficas (disponibilidade de nutrientes e tipo de solo), além do período do dia da coleta, condições fenológicas, forma de uso in natura ou desidratada (BRESOLIN & CECHINEL FILHO, 2010).

Os metabólitos secundários proporcionam, essencialmente, uma interface química entre a planta e o ambiente. Assim, conforme a natureza e a magnitude do estímulo ambiental, uma espécie vegetal poderá sintetizar diferentes compostos devido ao redirecionamento de rotas metabólicas. Dentre os estímulos ambientais associados a alterações quali-quantitativas de metabólitos secundários, ressaltam-

se as interações bióticas: planta/microorganismos, planta/insetos, planta/planta, idade e estágio de desenvolvimento e ritmo circadiano; e os fatores abióticos: luminosidade, temperatura, pluviosidade e estado nutricional, sazonalidade, disponibilidade de água, radiação ultravioleta, composição atmosférica e altitude (OLIVEIRA et.al., 2012).

Apesar da existência de um controle genético, as variações temporais e espaciais no conteúdo e nas proporções relativas de metabólitos secundários em plantas podem sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos. Alguns estudos em plantas de espécies comercialmente importantes relatam a influência destes fatores na produção de metabólitos secundários, porém, o conhecimento relativo a tais interações é bastante obscuro para plantas de ambiente natural (MARTINS, 2012).

Embora o metabolismo secundário nem sempre seja necessário para que uma planta complete seu ciclo de vida, ele desempenha um papel importante na interação das plantas com o meio ambiente. Um dos principais componentes do meio externo cuja interação é mediada por compostos do metabolismo secundário são os fatores bióticos. Desse modo, produtos secundários possuem um papel contra a herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e microorganismos simbiotes. Contudo, produtos secundários também possuem ação protetora em relação a estresses abióticos, como aqueles associados com mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição a UV e deficiência de nutrientes e minerais. Neste contexto, existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides (SILVA, 2014).

3.7.1 Compostos fenólicos

Entre todos os metabólitos secundários sintetizados pelas plantas, os compostos fenólicos são os mais difundidos no reino vegetal. Eles são caracterizados por ter pelo menos um anel aromático com um ou mais grupamento hidroxila (Tabela 1) (BALASUNDRAM et.al, 2006). São biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides e são frequentemente conjugados com açúcares, outros fenólicos e poliamidas (TORRAS-CLAVERIA et al., 2012).

Tabela 1 – Classes e estrutura químicas dos compostos fenólicos.

Classes	Estrutura química
Fenóis simples	C_6-
Ácidos benzóicos	C_6-C_1
Acetofenonas, Ácidos fenilacéticos	C_6-C_2
Ácidos cinâmicos	C_6-C_3
Naptoquinonas	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos	$C_6-C_2-C_6$
Flavonoides, Isoflavonoides	$C_6-C_3-C_6$
Lignanas	$(C_6-C_3)_2$
Bi-flavonoides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados ou proantocianidinas	$(C_6-C_3-C_6)_n$

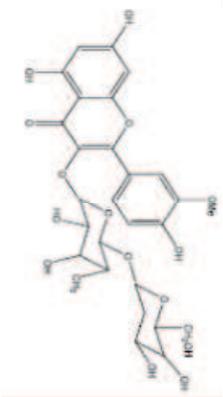
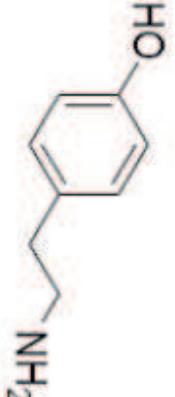
Uma das principais características dos compostos fenólicos é a sua capacidade antioxidante, no entanto estudos têm demonstrado sua atividade antimicrobiana contra bactérias, fungos e vírus (ALMAJANO, 2008).

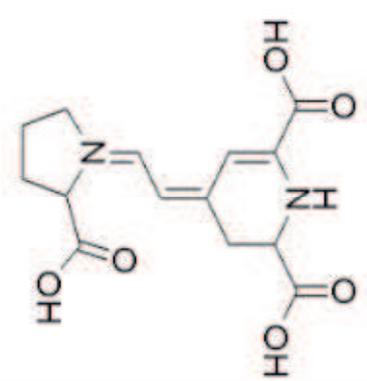
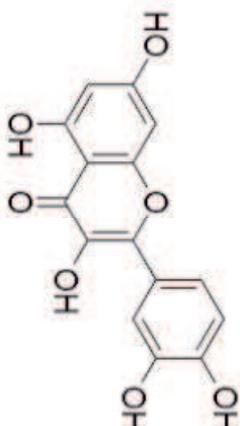
A atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos depende da espécie microbiana e da estrutura da molécula. Em relação a sua estrutura química, o grau de hidroxilação do composto é o fator de maior impacto na toxicidade para determinados microrganismos. No entanto, os mecanismos de ação destes compostos sobre os microrganismos ainda não foram totalmente esclarecidos (CAVALCANTE, 2011).

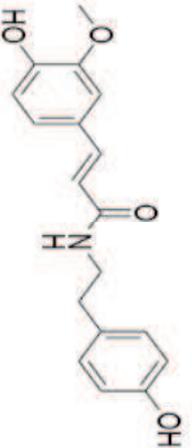
3.7.2 Constituintes químicos presentes na família Cactaceae

Os constituintes químicos são os responsáveis pela atividade farmacológica que a planta exerce no organismo humano. Essas e outras características, variam de uma espécie para outra, mesmo pertencendo a uma mesma família (Tabela 2) (SILVA, 2014).

Tabela 2. Espécies de plantas da família Cactaceae e suas características

Espécie	Parte	Uso popular	Atividade farmacológica	Constituintes químicos isolados	Estrutura química isolada
<i>Cereus ferrambucensis</i> Lem	Raiz, cladódio	Vitiligo	Antioxidante, anti-inflamatório	Isoramnetina-3-O- rubinosídeo, isoramnetina-3-O-raminosídeo (SOUZA, 2013)	 Isoramnetina-3-O-rubinosídeo (flavonóide).
<i>Cereus jamacaru</i> DC	Raiz, cladódio	Anti-inflamatório e problemas renais, tosse, bronquites, úlceras, Antioxidante, antitumoral.	Antibacteriano	Tiramina e N-metiltiramina, β -sitosterol, hordenina, camferol (BURRET et. al., 1982; DAVET, 2005)	 Tiramina (alcaloide)
<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill	Cladódio, flor	Alimentícia, analgésica, anti-inflamatória, afecções respiratórias, hipoglicemiante	Antioxidante, Antiulcerogênica, analgésica, hepatoprotetora e anti-inflamatórias	Indicaxantina, isoramnetina Camferol, Quercetina, Isoramnetina 3-O-rubinosídeo, Isoramnetina 3-O-galactosídeo, 3-Oramnósido, miricetina e vitexina. (MARTINS, 2011)	Indicaxantina (alcaloide)

<i>Opuntia monacantha</i> Haw	Cladódio	Decorativa	Antitumoral, antioxidante	Camferol, isoramfetina, Benzilisoquinolina (VALENTE et al. 2010, NASEER, et al. 2015)	Benzilisoquinolona (alcaloide)	
<i>Pilocereus arrabidaae</i> B.	Frutos	Alimentícia	Tripanomicida	Alcaloides feniletilamínicos quercetina, rutina, catequina, dihidrocamferol, isorhamfetina (DAVET, 2005; VALENTE et al. 1998; GONÇALVES, 2015)	Quercetina (flavonoide)	

<p><i>Tacinga inamoena</i></p>	<p>Raiz</p>	<p>Inflamação na Uretra</p>	<p>-</p>	<p><i>β</i>-Sitosterol-3-<i>O</i>-glicosídeo, <i>N</i>-<i>trans</i>-feruloyl 4-<i>O</i>-metildopamina, <i>N</i>-<i>cis</i>-feruloyl 4-<i>O</i>-metildopamina, <i>N</i>-<i>trans</i>-feruloyl tiramina e <i>N</i>-<i>cis</i>-feruloyl tiramina. (E SILVA, 2016)</p>	 <p><i>N</i>-<i>trans</i>-feruloyl tiramina</p>
--------------------------------	-------------	-----------------------------	----------	--	--

3.8 Atividades biológicas

3.8.1 Ensaio frente á *Artemia salina*

Artemia salina, Crustacea ou Anostraca (Figura 4) é um microcrustáceo marinho, de tamanho e colorações variadas, que vão do rosa-pálido a avermelhado, branco ou esverdeado dependendo do seu tipo de alimentação. Este crustáceo apresenta dimorfismo sexual e atinge a fase adulta em 20 dias (NASCIMENTO et al., 2008).



Figura 4. Cistos de *Artemia salina* Leach

Dependendo dos diferentes parâmetros fisiológicos e bioquímicos do ambiente, as populações de *Artemia* se reproduzem sexualmente ou partenogeneticamente, libertando náuplios ou cistos. Esta espécie está adaptada a grandes mudanças ambientais, como variações abruptas de salinidade, de temperatura e de oxigênio dissolvido. Apresentam-se como excelente dieta alimentar para peixes e crustáceos no ambiente natural. Devido a isso, preferem habitar locais com difícil sobrevivência para outras espécies, como salinas que atingem temperaturas até 40°C e salinidade até 300 partes por mil, pois são menos predadas. A *Artemia* é rica em proteínas, vitaminas (caroteno) e sais minerais, por isso é utilizada em larga escala em cultivo de camarões e peixes na fase larval, acelerando o crescimento dos animais, recuperando os doentes e deixando-os mais saudáveis (NASCIMENTO et al., 2008). Seu ciclo de vida tem início com a eclosão de cistos dormentes, os quais são embriões encapsulados metabolicamente inativos. Estes cistos podem ficar em estado de dormência por muitos anos, desde que

fiquem em lugar seco, já que em contato com água salgada hidratam-se e reassumem seu desenvolvimento (BORTOLOTTI, 2007).

A *A. salina* é considerada um bom indicador de toxicidade devido ao seu reduzido e específico grau de tolerância a um determinado fator ambiental, de modo que apresente uma resposta nítida face a pequenas variações na qualidade do ambiente. Tem sido utilizada em testes de toxicidade devido à sua capacidade para formar cistos dormentes, fornecendo, desse modo, material biológico que pode ser armazenado durante longos períodos de tempo (superiores a seis meses) sem perda de viabilidade e sem necessidade de se manter culturas contínuas de organismos-teste, além de ser uma espécie de fácil manipulação (RUIZ et al., 2005).

O bioensaio utilizando suas larvas na forma de náuplios (Brine Shrimp Test – BST) é bastante utilizado, devido à simplicidade com que pode ser manuseado. A rapidez dos ensaios e o baixo custo favorecem a sua utilização rotineira em diversos estudos, além do que, tais ensaios de letalidade são muito utilizados em análises preliminares de toxicidade geral. Além disso, o bioensaio com *A. salina* tem sido amplamente utilizado em laboratórios de pesquisa para determinação da toxicidade de extratos, frações e compostos isolados de plantas, uma vez que ele se apresenta como um método alternativo para a determinação da toxicidade considerando o alto custo e o sofrimento causado aos animais experimentais durante testes *in vivo* utilizando roedores (NASCIMENTO et al., 2008).

Os bioensaios podem ser utilizados para medir a atividade farmacológica de substâncias novas ou quimicamente indefinidas; medir a concentração de substâncias conhecidas; investigar a função de mediadores endógenos; avaliar a eficiência clínica de uma forma de tratamento ou ainda medir a toxicidade de uma substância. Geralmente, o ensaio com *A. salina* representam a primeira etapa de seleção de substâncias biologicamente ativas para testes mais elaborados *in vitro* e *in vivo*. Além disso, podem definir a estimativa da concentração ou potência de uma substância através da medida de uma resposta biológica produzida, servindo também como método de triagem para o posterior estudo fitoquímico de plantas medicinais (PEREIRA & CASTRO, 2007).

É importante ressaltar a importância de se avaliar o potencial tóxico de produtos vegetais, principalmente através de ensaios biológicos simples, de modo a proporcionar resultados rápidos e confiáveis (LUNA et al., 2005).

3.8.2 Atividade antimicrobiana *in vitro*

Diante os índices impactantes de doenças infecciosas, da resistência bacteriana aos antibióticos e da propagação ameaçadora de microorganismos, é essencial a busca por estratégias minuciosas para obtenção de novos compostos bioativos, como aqueles oriundos de plantas, os quais representam novas possibilidades de aplicação antimicrobiana (SILVA, 2013).

Nos Estados Unidos, cerca de 70% das bactérias envolvidas na etiologia das infecções nosocomiais são resistentes a algum antimicrobiano e, aproximadamente, 90 a 95% das cepas de *Staphylococcus aureus* do mundo são resistentes à penicilina (CATÃO et.al., 2013).

Entre os principais agentes etiológicos das infecções, encontra-se o *S. aureus*, uma bactéria encontrada normalmente no corpo humano em uma interação biológica de comensalismo. Entretanto, por vezes, tem-se uma relação desarmônica, pois algumas cepas são capazes de desencadear infecções, principalmente em condições em que o hospedeiro encontra-se fragilizado, momento em que este microorganismo se torna oportunista e passa a expressar sua potencial virulência (GOLDMAN & AUSIELLO, 2009).

As bactérias Gram-negativas, assim como as bactérias Gram-positivas, são microorganismos que causam infecções provocando significativo aumento das taxas de mortalidade e morbidade. Estruturalmente, são constituídas por uma única camada de peptidoglicano sobreposta por uma membrana externa lipoproteica. Neste grupo de bactérias, destacam-se aquelas produtoras de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL), como a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Escherichia coli*, substancialmente associadas a doenças infecciosas (BASSETTI & RIGHI, 2013).

Uma recente revisão relata a influência acentuada dos produtos naturais no âmbito do comércio antibacteriano e ressalta que a maioria dos correntes antimicrobianos foram descobertos a partir de fontes naturais (NEWMAN & CRAGG, 2012).

Devido à extrema significância e à representatividade clínica, inúmeras substâncias antibacterianas foram desenvolvidas focando diferentes alvos e com distintos mecanismos de ação. Por exemplo, alguns antibióticos atuam inibindo a síntese da parede celular bacteriana, destacando-se entre estes os antibióticos β -lactâmicos, como a penicilina - que age inibindo a transpeptidase e,

consequentemente, a formação de ligações cruzadas entre as cadeias de peptidoglicano - e a oxacilina - que inibe a β -lactamase (GUIMARÃES et.al., 2010).

Os metabólitos secundários exercem influência sobre a atividade antimicrobiana. Assim, para obter-se uma atividade mais expressiva, ganha respaldo o uso de combinações terapêuticas, como a junção de extratos ou frações de plantas com antimicrobianos (FILHO, 2014).

Dentre os metabólitos secundários, vários compostos têm mostrado ação antifúngica, tais como os alcalóides esteroidais cuja atividade está relacionada com a capacidade de desestabilizar membranas biológicas. Como exemplo, pode-se citar a tomatina isolada do tomate (*Lycopersicum esculentum* L.), que possui um amplo espectro antimicrobiano, sendo ativa contra *Aspergillus* spp., *Candida albicans* e *Trichophyton* spp., fungos saprófagos, algumas bactérias Gram-positivas e protozoários. Os glicoalcalóides presentes na batata (*Solanum tuberosum* L.), a solanina e a chaconina, também são ativos contra alguns fungos fitopatógenos, tais como *Trichoderma virile*, *Helminthosporium carbonum*, *Fusarium caeruleum* e *Cladosporium fulvum* (SIMÕES et al., 2004).

Outras classes de compostos tais como as quinonas, têm apresentado atividade antifúngica. O timol (2-isopropil-5-metil fenol) e seu isômero de posição, carvacrol (5-isopropil- 2-metil fenol) possuem ação antibacteriana e antifúngica maiores que o fenol, e ao mesmo tempo, menor toxicidade que esse composto. Os taninos, presentes na pitangueira, por exemplo, possuem ação bactericida e fungicida. Os glicosinolatos presentes na mostarda também possuem efeito antimicótico em casos de dermatofitoses produzidas em cobaias (SIMÕES et al., 2004).

A avaliação da atividade antimicrobiana em extratos vegetais é realizada através da determinação da menor quantidade da substância em estudo necessária para inibir o crescimento do microrganismo sendo analisado. Além disso, pode ser empregado para a realização do primeiro screening na busca de novos agentes com atividades farmacológicas, sendo de grande relevância no Brasil, uma vez que possui enorme biodiversidade. Os métodos mais conhecidos para a avaliação da atividade antimicrobiana são: método de macrodiluição, método de microdiluição e método de difusão em ágar (OSTROSKY et al., 2008).

O método de microdiluição é empregado para determinar a concentração inibitória mínima (CIM). Nele utilizam-se pequenos volumes de caldo que são

adicionados a placas de plástico estéreis, específicas para microdiluição as quais contém poços de fundo redondo ou cônico. A CIM é a menor concentração de agente antimicrobiano capaz de inibir completamente o crescimento do microrganismo em estudo, conforme observado a olho nu ou por aparelhos que facilitem a leitura dos testes. Realizada a microdiluição, o crescimento nos poços contendo o agente antimicrobiano deve ser comparado com o crescimento nos poços do controle de crescimento (isento da adição de antimicrobiano). Para haver validade no teste é necessário ocorrer crescimento no poço do controle positivo (contendo o inóculo) e empregar-se uma comparação com um padrão antimicrobiano já conhecido (ALVES et.al., 2008).

3.8.3 Citotoxicidade *in vitro*

Estudos toxicológicos *in vitro* se tornam uma opção na triagem em busca de plantas que possuam efeitos tóxicos, além de diminuir custos, obter respostas rápidas e colaborar com o princípio dos 3 “erres” (reduction, refinement e replacement) - redução, refinamento e substituição. Os métodos *in vitro* apresentam vantagens em relação aos *in vivo* tais como: poder limitar o número de variáveis experimentais; obter dados significativos mais facilmente; além do período de teste ser, em muitos casos, mais curto o que permite um maior número de repetições dos ensaios; utiliza menor quantidade da substância a ser testada; inúmeros tipos celulares que possibilitam os testes em praticamente todos os tecidos e diferentes espécies animais (GALUCIO, 2014).

A detecção de atividade citotóxica de um fitoterápico constitui uma medida prioritária, uma vez que vários compostos químicos podem ser capazes de causar efeitos tóxicos. Portanto, experimentos capazes de fornecer, com razoável margem de segurança, indicações sobre os riscos envolvidos na sua utilização são fundamentais (BENIGNI, 2005).

A realização da avaliação citotóxica é muito importante na pesquisa de substâncias com atividade antimicrobiana apresentando menor toxicidade e maior seletividade. Para realiza-la, antes de proceder aos ensaios *in vivo*, faz-se análises em células eucarióticas (*in vitro*) e a partir disso, calcula-se o IC90 que é o índice que determina 90% de viabilidade celular, visualizado pela mudança de coloração do

reagente empregado (alamar blue). A partir do IC90, calcula-se o IC50 que representa a concentração onde ocorre 50% de morte celular (SIMONETTI, 2015).

3.8.4 Atividade antioxidante

Há um interesse crescente em produtos naturais com atividade antioxidante por seus benefícios à saúde associados à prevenção de danos por espécies reativas de oxigênio, como também pela proteção que oferecem à oxidação dos lipídeos dos alimentos. Muito dos efeitos benéficos antioxidantes de plantas e seus frutos tem sido atribuído aos componentes fenólicos, especialmente os flavonóides. Em geral, esses componentes agem protegendo as biomoléculas contra o dano oxidativo por meio de reações mediadas por radicais livres. No sistema vascular, os compostos fenólicos promovem seus efeitos protetores por um aumento da produção de óxido nítrico (ON) pelas células endoteliais ou mesmo pela prevenção da oxidação de ON (RATTMANN et al., 2011).

O uso de antioxidantes naturais tem aumentado com as descobertas das propriedades dos componentes que são produzidos pelas plantas por meio do metabolismo secundário. Atribui-se a presença de compostos fenólicos, com destaque aos flavonoides, a atividade antioxidante dos componentes produzidos pelos vegetais. Esses componentes podem atuar como agentes redutores, sequestradores de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores do oxigênio singleto e/ou exibir, simultaneamente, mais de uma dessas funções (CANTERLE, 2005).

Diversos métodos podem ser empregados para a determinação da atividade antioxidante de extratos vegetais ou substâncias isoladas como o de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico, de sequestro do peróxido de hidrogênio, de sequestro do radical peroxil (método ORAC), de sequestro do radical superóxido - xantina oxidase e de sequestro do ácido hipocloroso (ALVES et al., 2010).

Um dos métodos mais utilizados baseia-se na avaliação da atividade sequestradora do radical livre 2,2- difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) de coloração púrpura que absorve a 515 nm. O DPPH é um radical livre estabilizado pela ressonância do elétron desemparelhado que evita sua dimerização e inativação como radical livre. Quando na forma reduzida, ele apresenta coloração diferente da

oxidada, permitindo a detecção dos processos de oxirredução de substâncias potencialmente antioxidantes (YADAV et al., 2011).

METODOLOGIA

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta do material botânico

As raízes da *T. palmadora* foram coletadas em setembro de 2016 (período de seca), no Sítio Farinha, próximo a praça do Meio do Mundo, latitude: -7.15, longitude: -36.1167, distrito Nazaré, município de Pocinhos, Paraíba, (Figura 5).

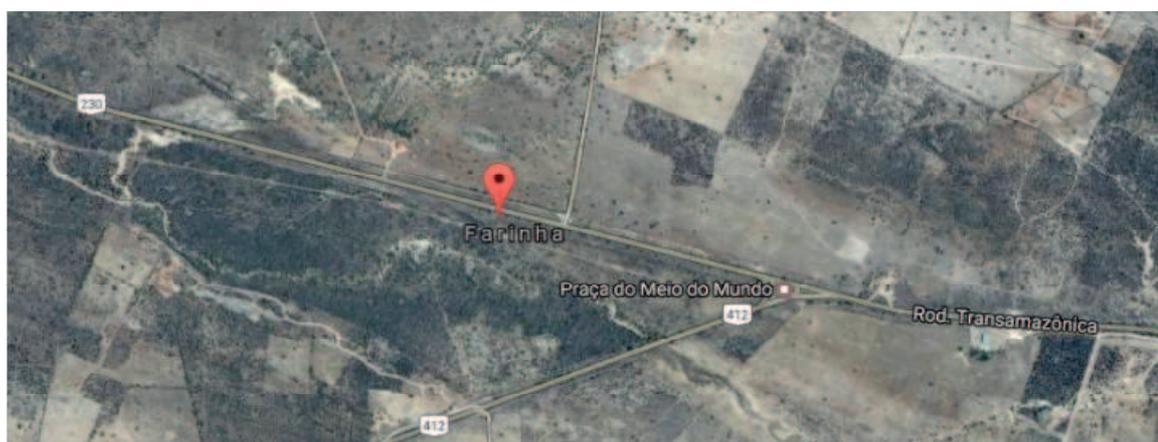


Figura 5. Localização do Sítio Farinha – Paraíba

O material vegetal foi preparado para confecção da exsicata e enviado ao Herbário Jayme Coelho de Moraes da UFPB/Areia, identificada pelo mestre em agronomia Erton Mendonça de Almeida e está registrada sob o número EAN 1724.

4.2 Obtenção da droga vegetal

As raízes passaram por processo de secagem em estufa com circulação de ar, à temperatura de 40 °C, até estabilização da umidade. Após secagem, o material foi triturado em moinho de rotor vertical. Em seguida, foi acondicionado em frasco hermeticamente fechado, protegendo-o da umidade, temperatura e predadores. O peso obtido da droga vegetal da raiz foi de 1.435 g.

4.3 Caracterização físico-química da droga vegetal

4.3.1 Granulometria da droga vegetal

O ensaio de granulometria seguiu a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (2010). O procedimento utilizou 25 gramas da droga vegetal das raízes de *T. palmadora*, que foi submetida a uma série de tamises com abertura de malhas diferenciadas (710, 355, 180, 150, 75 e 38 μm) dotado de um vibrador (Bertel), durante 15 minutos. O tamanho das partículas foi analisado em duplicata e avaliado pela quantificação percentual de retenção do pó em cada tamis de acordo com a seguinte equação (1).

$$\% \text{ retido pelo tamis} = \frac{P1 + P2}{2} \times 100 \quad (1)$$

Onde,

P1 e P2= peso da amostra retida em cada tamis (em gramas).

4.3.2 Determinação da Densidade da droga vegetal

A determinação da densidade seguiu o método descrito na Farmacopeia Brasileira (2010), na qual 10 gramas da droga vegetal das raízes de *T. palmadora* foi acondicionado em uma proveta de 50 mL e submetidas a sucessivas quedas de até 500 vezes a uma altura de 20 cm. Com o volume inicial medido calculou-se a densidade aparente (equação 2) e, após o processo, a densidade compactada (equação 3). A partir das densidades aparente (d_a) e compactada (d_c), determina-se o Fator de Hausner (FH) e o Índice de compressibilidade (IC), conforme a equação (4) e a equação (5), respectivamente (AULTON, 2005).

$$D_a = \frac{M_a}{V_a} \quad (2) \quad D_c = \frac{M_a}{V_c} \quad (3) \quad FH = \frac{M_a}{D_a} \quad (4) \quad IC = \frac{D_c - D_a}{D_c} \times 100 \quad (5)$$

Onde,

M_a = massa aparente;

V_a = volume aparente;

V_c = volume compactado.

4.3.3 Teor de Cinzas da droga vegetal

Em cadinhos de porcelana previamente calcinados e resfriados foi adicionados 2 g da droga vegetal. Estes foram pesados e levados a mufla a 450 °C por 4 horas. Após este período a amostra foi resfriada em dessecador e pesada. A porcentagem de cinzas, obtidas em triplicata, foi calculada em relação à droga seca, de acordo com a equação 6.

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{P2 - P1}{P3} \times 100 \quad (6)$$

Onde,

P1 = peso do cadinho vazio;

P2 = peso do cadinho com amostra após a calcinação e resfriamento;

P3 = peso inicial da amostra.

4.3.4 Teor de umidade da droga vegetal

Dois gramas da droga vegetal foram transferidos para pesa-filtro (Cadinho) previamente dessecado e tarado. A amostra foi submetida a aquecimento em estufa a 105 °C durante 24 horas, com posterior resfriamento em dessecador e pesagem. Os resultados de três determinações foram avaliados em termos de porcentagem ponderal sobre a quantidade da amostra, utilizando a equação 7.

$$\% \text{ Perda} = \frac{Pu - Ps}{Pa} \times 100 \quad (7)$$

Onde,

Pa = peso da amostra (g).

Pu = peso do pesa-filtro contendo a amostra antes da dessecação (g).

Ps = peso do pesa-filtro contendo a amostra após a dessecação (g).

4.3.5 Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH) da droga vegetal

Pesou-se em um béquer 5 g da droga vegetal e, em seguida, foi adicionada 50 mL de água destilada. A mistura foi submetida a rotação mecânica, de forma que as partículas ficassem suspensas. O eletrodo do pHmetro foi inserido ao béquer e esperou-se o equipamento estabilizar até obter um valor fixo.

4.3.6 Microestrutura da droga vegetal

A microestrutura da droga vegetal foi analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A análise química elementar da amostra foi realizada por meio de EDS (Energy Dispersive Spectroscopy). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – UFCG, onde foi utilizado o microscópio HITACHI modelo TM-1000 (Technologies do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil).

4.3.7 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da droga vegetal

A FTIR foi determinada utilizando um equipamento Spectrum 400 da Perkin Elmer. A técnica FTIR foi usada para analisar a droga vegetal, utilizando a faixa de varredura de 4000 a 650 cm^{-1} .

4.3.8 Análise termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA) da droga vegetal

A análise da droga vegetal foi obtida em termobalança modelo TGA-50H da Shimadzu (Quioto-Japão), sob a razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em faixa de temperatura de 25 a 900 $^{\circ}\text{C}$, e em atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL min^{-1}). Foi utilizada uma massa de aproximadamente 7 mg da amostra, acondicionada em cadinho de alumina. Os cálculos de perda de massa foram realizados com auxílio do programa Tasy 60 da Shimadzu®.

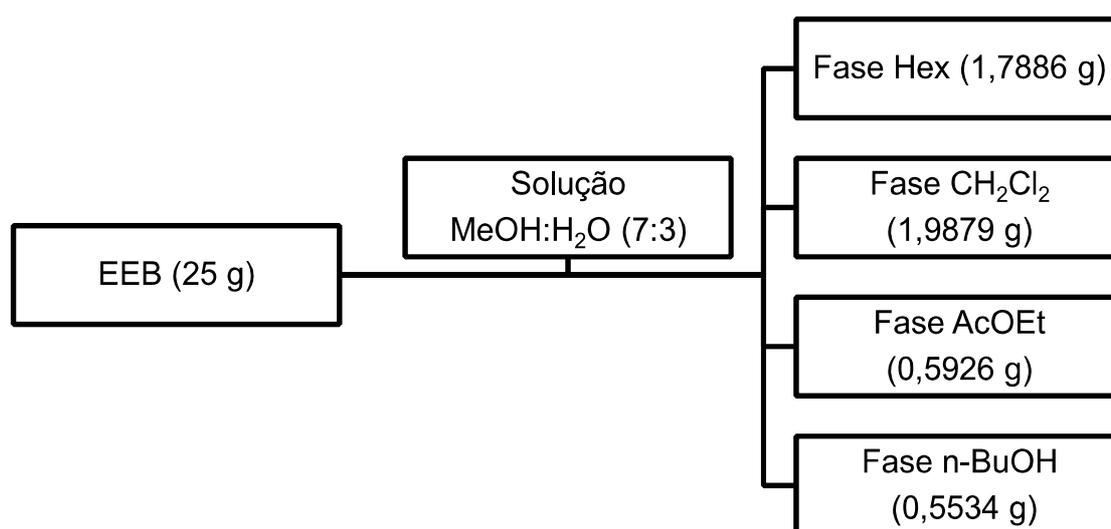
4.4 Prospecção fitoquímica

4.4.1 Obtenção dos extratos e fases da *T. palmadora*

A droga vegetal (300 g) foi submetida ao processo de extração por percolação em etanol/ água (1:1). Foram realizadas extrações num intervalo de 48 horas. O percolado obtido passou por um processo de nebulização do solvente em Spray Dryer no equipamento LM MSDO, a uma temperatura de secagem de 75°C., obtendo-se assim o Extrato Hidroalcolólico Nebulizado (EHAN) (4,44 g).

A droga vegetal (316 g) também foi submetida ao processo de extração por percolação em etanol (EtOH) a 96%. Foram realizadas extrações num intervalo de 48 horas. O percolado obtido passou por um processo de evaporação do solvente na centrifuga evaporadora tipo Rocket. Em seguida, o material foi colocado na estufa a uma temperatura de 40°C, obtendo-se assim o Extrato Etanólico Bruto (EEB) (26,77 g).

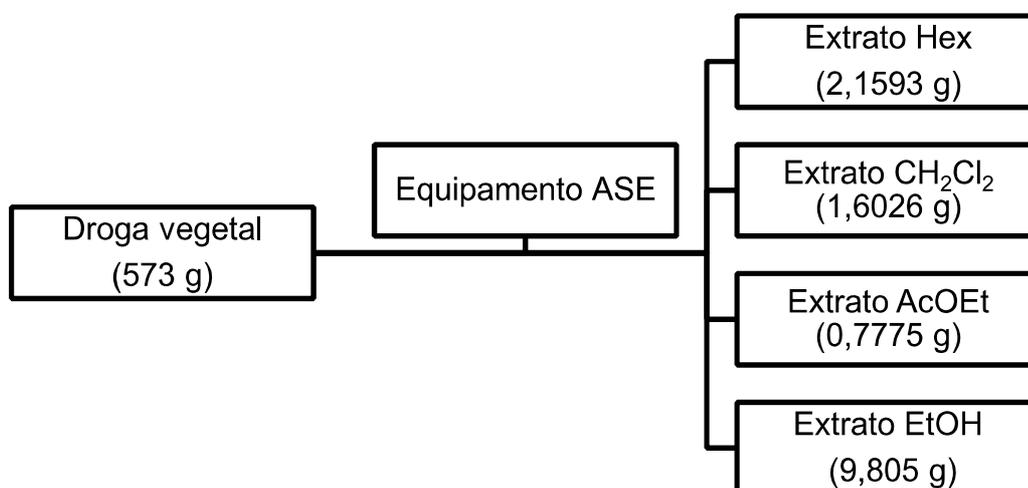
Para a obtenção das fases, 25 g do EEB foi solubilizado em metanol/água (7:3). A solução resultante foi particionada em solventes com gradiente crescente de polaridade, obtendo-se as fases Hexano (Hex), Diclorometano (CH_2Cl_2), Acetato de Etila (AcOEt) e n-Butanol (n-BuOH) (Esquema 1). As fases foram concentradas em rotaevaporador à temperatura $\leq 40^\circ \text{C}$.



Esquema 1. Fases obtidas por meio de uma partição líquida:líquida do EEB das raízes da *T.palmadora*

4.4.2 Obtenção dos extratos da *T. palmadora* por extração acelerada por solvente

As extrações foram realizadas também por um extrator automático (ASE 350, Dionex Accelerated Solvent Extractor - Thermo Scientific, São Paulo, Brasil). Pesou-se 27g da droga vegetal e misturou-se com 8 g de terra diatomácea. Essa mistura foi inserida em uma célula de extração de aço inoxidável. As condições de processo incluíram temperatura de 40 °C; lavagem de 5 minutos; tempo de extração de 15 minutos em cada ciclo e purga de 20 segundos. Todas as extrações foram realizadas sequencialmente por duas vezes, gerando dois ciclos de extrações de substâncias bioativas para cada amostra. Os solventes utilizados foram: Hex, CH₂Cl₂, AcOEt e EtOH, respectivamente (Esquema 2). Os solventes foram evaporados no equipamento Rocket centrifugal Evaporator e, em seguida, colocados na estufa a uma temperatura de 40 °C, obtendo-se assim os extratos correspondentes.



Esquema 2. Obtenção dos extratos da raiz da *T.palmadora*

4.5 Screening fitoquímico qualitativo

O *screening* fitoquímico realizado avaliou a presença de saponinas, fenóis e taninos, polissacarídeos, flavanoides, alcaloides, esteroides/triterpenoides,

realizados de acordo com a metodologia descrita por Barbosa (2001) e Peixoto Sobrinho et al. (2012), especificadas na tabela 3.

Tabela 3. Pesquisa de metabólitos secundários em *Tacinga palmadora*.

Metabólito secundário	Reagente
Saponinas	Teste de espuma
Alcaloides	Drangedorf, Mayer, Bouchardat
Esteroides/Triterpenoides	Liebermann – Buchard
Fenóis/ Taninos	Solução alcólica de FeCl ₃ a 1%
Flavonoides	Reação de Shinoda
Polissacarídeo	Solução de Lugol

4.5.1 Testes para determinação de saponinas, polissacarídeos, fenóis e taninos.

Foi preparada uma solução-mãe com os EEB da raiz da *T.palmadora* para realizar os testes que utilizam água destilada como solvente. Para isso, foi pesado 140 mg dos EEB, que foi dissolvido em 28 mL de água destilada. Em seguida esta solução foi levada ao banho de ultrassom a fim de dissolver todo soluto. Posteriormente, a solução foi filtrada em papel de filtro Whatman qualitativo, reservando o filtrado e obtendo-se a solução-mãe.

Para determinação das saponinas espumídicas, transferiu-se 5 mL da solução-mãe para o tubo de ensaio, sendo diluída em 15 mL de água destilada. Em seguida, a solução foi agitada vigorosamente por 2 minutos em tubo fechado. O resultado é considerado positivo quando a camada de espuma permanecesse estável por mais de meia hora.

Para determinação de polissacarídeos, foi transferido 5 mL da solução-mãe para tubo de ensaio, adicionado de 2 gotas de lugol. O aparecimento de coloração azul indica o resultado positivo.

Para determinação de fenóis e taninos, foi transferido 5 mL da solução-mãe para tubo de ensaio, adicionado de 2 gotas de solução alcólica de FeCl₃ a 1%. Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado indica reação positiva,

quando comparado com o teste em branco (solvente+reativo). Uma coloração inicial entre o azul e o vermelho é indicativa da presença de fenóis. Um precipitado escuro de tonalidade azul indica presença de taninos pirogálicos, e verde, presença de taninos catéquicos.

4.5.2 Testes para determinação de flavonoides.

Foi preparada uma solução-mãe com os EEB da raiz *T.palmadora* para realizar os testes que utilizam MeOH como solvente. Para isso, foi pesado 120 mg de EEB e dissolvido em 24 mL de MeOH. Em seguida esta solução foi levada ao banho de ultrassom a fim de dissolver todo soluto. Posteriormente, a solução foi filtrada em papel de filtro Whatman qualitativo, reservando o filtrado e obtendo-se a solução-mãe.

Para determinação de flavonoides, foi transferido 10 mL da solução-mãe para tubo de ensaio e, em seguida, adicionadas 5 gotas de HCl concentrado e raspas de magnésio. O surgimento de uma coloração rósea indica reação positiva.

4.5.3 Testes para determinação de esteroides e triterpenoides

Foi preparada uma solução-mãe com os EEB da raiz da *T.palmadora* para realizar os testes que utilizam CHCl_3 como solvente. Para isso, foi pesado 75 mg de EEB e dissolvido em 15 mL de CHCl_3 . Em seguida esta solução foi levada ao banho de ultrassom a fim de dissolver todo soluto. Posteriormente, a solução foi filtrada em papel de filtro Whatman qualitativo, reservando o filtrado e obtendo-se a solução-mãe.

Para determinação de esteroides e triterpenoides, 10 ml da solução-mãe foi filtrada e adicionado 1 mL de anidrido acético, sob agitação suave. Em seguida, foram adicionadas 3 gotas de H_2SO_4 concentrado. O rápido desenvolvimento de cores que vão do azul evanescente ao verde persistente indicam resultado positivo.

4.5.4 Teste para determinação de alcaloides

25 mg do EEB da raiz da *T.palmadora* foram dissolvidos em 5 mL de solução de HCl 5% e filtrados. Foram separadas três porções de 1 mL em cada tubo de ensaio e adicionado em cada tubo gotas dos reativos de Bouchard, Dragendorff, Mayer. Precipitação ou turvação em pelo menos uma cavidade é indicativa de resultado positivo.

4.6 Screening fitoquímico quantitativo

A determinação do teor de polifenóis totais foi realizada por espectrofotometria na região UV (Shimadzu). O método avaliou a absorbância das soluções preparadas das fases CH₂Cl₂ e AcOEt, frente a absorbância de soluções com reagentes padronizados, a qual expressou os resultados baseados na concentração de polifenóis totais por miligramas equivalentes do reagente padrão. Inicialmente, obteve-se uma curva de calibração, feita a partir de uma solução do reagente padrão referente. O ensaio foi realizado em triplicata e tratado estatisticamente por ANOVA ($p \leq 0,05$).

4.6.1 Teor de polifenóis totais

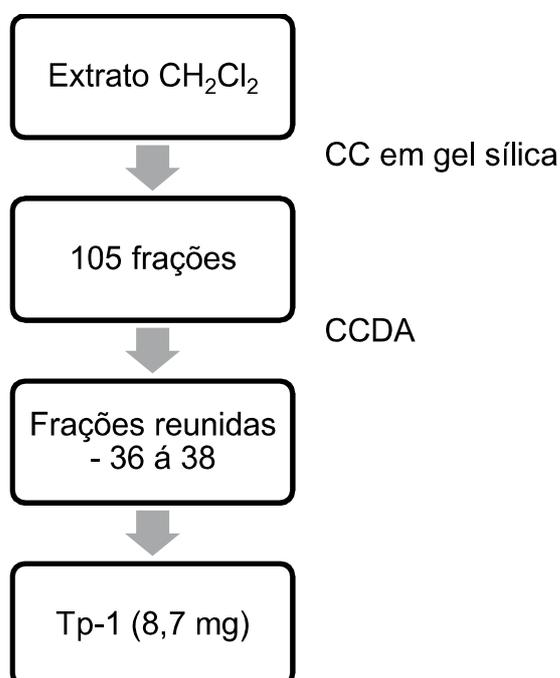
Esta determinação seguiu o método descrito por Chandra e Mejía (2004). Foi adicionado 1 mL da solução aquosa das fases AcOEt e CH₂Cl₂ a 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu a 1N. Esta mistura permaneceu em repouso por 2 minutos. Posterior a este período, foi adicionado 2 mL de uma solução aquosa de Na₂CO₃ a 20% (p/v), com novo repouso de 10 minutos. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância a 757 nm em espectrofotômetro frente a um branco composto por água destilada, reagente de Folin-Ciocalteu e solução a 20% de Na₂CO₃.

Para a obtenção da curva analítica, uma solução padrão ácido gálico foi preparada nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 µg mL⁻¹. A concentração de polifenóis foi expressa em miligramas equivalentes de ácido gálico. As análises foram realizadas em triplicata e a equação de calibração do ácido gálico foi $y = 0,0066x - 0,0273$ ($R^2 = 0,9859$).

4.7 Fracionamento cromatográfico das fases e extratos

As fases particionadas e extratos obtidos foram submetidos à cromatografia em coluna (CC) e cromatografia de média pressão usando-se gel de sílica (Macherey-Nagel), 0,063-0,2mm/70-230 mesh como fase estacionária e Hex, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH puros e/ou misturas binárias como fase móvel, por ordem crescente de polaridade. As frações foram analisadas comparativamente em cromatografia de camada delgada analítica (CCDA) e analisadas e isoladas em cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) utilizando diversos sistemas de eluição e reunidas, quando semelhantes, mediante o uso de sistemas reveladores como luz ultravioleta (Sppencer Equipamentos), no comprimento de onda de 264 e 365 nm.

O extrato CH₂Cl₂, obtido pelo ASE, foi selecionado para o fracionamento através de CC, utilizando-se 800 mg da amostra e obtendo 105 frações (Esquema 3 e Tabela 4), Estas foram reunidas por semelhança de fator de retenção (RF) e verificadas em CCDA. As frações 36 a 38 foram reunidas e submetidas a técnicas espectroscópicas obtendo-se assim o composto codificado por Tp-1.



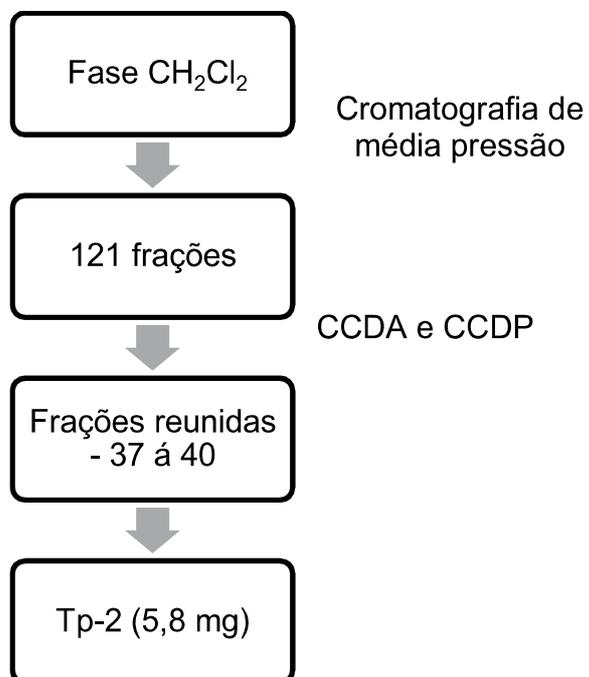
Esquema 3. Isolamento do Tp-1 do extrato diclorometano das raízes de *T. palmadora*.

Tabela 4 – Fracionamento cromatográfico do extrato diclorometano das raízes de *T. palmadora*.

Frações	Solventes	Proporção (%)
1-2	Hex:CH ₂ Cl ₂	50:50
3-5	Hex:CH ₂ Cl ₂	50:50
6-10	Hex:CH ₂ Cl ₂	40:60
11-12	Hex:CH ₂ Cl ₂	35:65
13-14	Hex:CH ₂ Cl ₂	35:65
15-19	Hex:CH ₂ Cl ₂	30:70
20-22	Hex:CH ₂ Cl ₂	20:80
23-29	Hex:CH ₂ Cl ₂	10:90
30-35	CH ₂ Cl ₂	100
36-38	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	95:5
39-40	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	88:12
41-43	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	84:16
44-47	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	80:20
48-51	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	75:25
52-55	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	65:35
56-60	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	55:45
61-68	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	45:55
69-75	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	30:70
76-87	CH ₂ Cl ₂ :AcOET e AcOEt	10:90 e 100
88-91	AcOET e MeOH	94:6
92-95	AcOET e MeOH	85:15
96-101	AcOET e MeOH	80:20
102-105	AcOET e MeOH	60:40

A fase CH₂Cl₂, obtida pela partição do EEB, foi selecionada para o fracionamento através da cromatografia de média pressão, utilizando-se 1920 mg da amostra e obtendo-se 121 frações (Esquema 4 e Tabela 5). Estas foram reunidas por semelhança de fator de retenção (RF) e verificadas e analisadas em CCDA e

CCDP. As frações 37 a 40 foram reunidas e submetidas a técnicas espectroscópicas, obtendo-se assim o composto codificado por Tp-2.



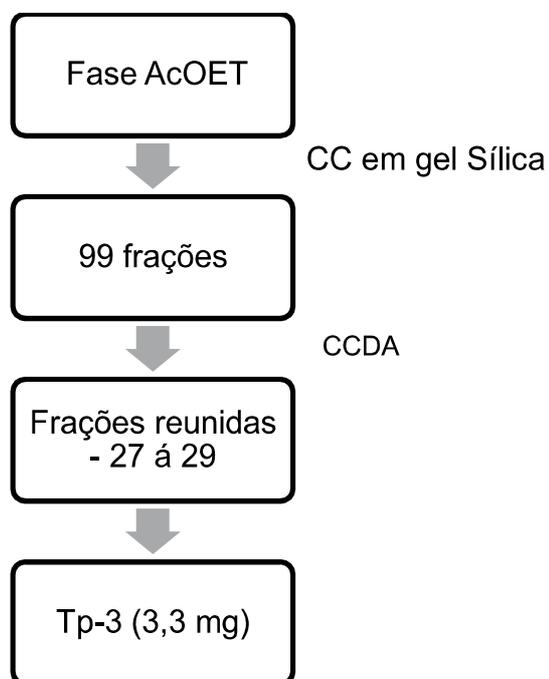
Esquema 4. Isolamento da Tp-2 da fase diclorometano das raízes de *T. palmadora*.

Tabela 5 – Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano das raízes de *T. palmadora*.

Frações	Solventes	Proporção (%)
1-9	Hex	100
10-12	Hex:CH ₂ Cl ₂	50:50
13-20	Hex:CH ₂ Cl ₂	25:75
21-24	CH ₂ Cl ₂	100
25-30	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	90:10
31-33	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	80:20
34-36	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	80:20
37-40	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	70:30
41-47	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	60:40
48-50	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	50:50
51-54	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	50:50
55-56	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	40:60
57-63	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	30:70
64-67	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	30:70
68-73	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	20:80
74-76	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	10:90
77-81	AcOEt	100
82-94	AcOET e MeOH	95:5
95-105	AcOET e MeOH	90:10
106-110	AcOET e MeOH	85:15
111-116	AcOET e MeOH	80:10
117	AcOET e MeOH	75:25
118-120	AcOET e MeOH	70:30
121	AcOET e MeOH	50:50

A fase AcOET, obtida pela partição do EEB, foi selecionada para o fracionamento através da através de CC, utilizando 592,6 mg da amostra, da qual obteve-se 99 frações (Esquema 5 e Tabela 6). Estas foram reunidas por semelhança

de fator de retenção (RF) e verificadas e analisadas em CCDA. As frações 27 á 29 foram reunidas e submetidas a técnicas espectroscópicas, obtendo-se assim o composto codificado por Tp-3.

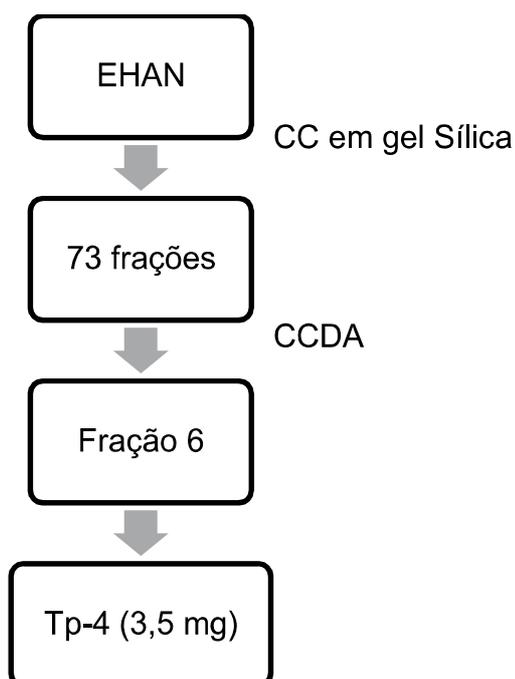


Esquema 5. Isolamento da Tp-3 da fase acetato de etila das raízes de *T. palmadora*.

Tabela 6 – Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das raízes de *T. palmadora*.

Frações	Solventes	Proporção (%)
1-10	Hex:CH ₂ Cl ₂	30:70
11-20	CH ₂ Cl ₂	100
21-26	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	90:10
27-29	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	85:15
31-32	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	82:18
33-39	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	75:15
40-41	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	70:30
42-47	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	60:40
48-52	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	55:45
53-55	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	50:50
56-60	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	40:60
61-68	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	20:80
69-76	AcOET e MeOH	95:5
77-80	AcOET e MeOH	90:10
81-83	AcOET e MeOH	85:15
84-87	AcOET e MeOH	85:15
88-93	AcOET e MeOH	80:20
94-98	AcOET e MeOH	75:25
99	MeOH	100

O EHAN obtido pela percolação, foi selecionado para o fracionamento através de CC, utilizando 3500 mg da amostra e obtendo 73 frações (Esquema 6 e Tabela 7), Estas foram reunidas por semelhança de fator de retenção (RF) e verificadas e analisadas em CCDA. A fração 6 foi selecionada e submetida a técnicas espectroscópicas, obtendo-se assim o composto codificado por Tp-4.



Esquema 6. Isolamento do Tp-4 do EHAN das raízes de *T. palmadora*.

Tabela 7 – Fracionamento cromatográfico do extrato hidroalcolólico nebulizado das raízes de *T. palmadora*.

Frações	Solventes	Proporção (%)
1-5	Hex:CH ₂ Cl ₂	50:50
6	CH ₂ Cl ₂	100
7-10	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	80:20
10-18	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	75:35
19-25	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	50:50
26-31	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	40:60
32-41	CH ₂ Cl ₂ :AcOET	50:50
42-50	AcOET	100
51-58	AcOET:MeOH	90:10
59-65	AcOET:MeOH	80:20
66-70	AcOET:MeOH	70:30
71-73	MeOH	100

4.8 Métodos Espectroscópicos

Os espectros de RMN de Hidrogênio (RMN de ^1H) e de Carbono (RMN de ^{13}C), além de técnicas bidimensionais, foram registrados em espectrômetro BRUKER AVANCE III operando 400 MHz para o ^1H e 100 MHz para ^{13}C do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM), da UFPB. Os solventes deuterados utilizados foram o CDCl_3 e Acetona- d_6 . Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm), sendo utilizado o próprio solvente como referência interna e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H serão indicadas segundo as convenções.

Os espectros de massas foram obtidos utilizando a espectrometro de Massas com Ionização por Eletrospray e Analisador do tipo "Ion Trap" e por análise em Cromatográfica Gasosa com Detecção de Massas por Impacto Eletrônico do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM), da UFPB.

4.9 Atividade toxicológica frente à *Artemia salina*

O bioensaio com *A. salina* é baseado na técnica descrita por Meyer e colaboradores (1982). Após a escolha e preparação do extrato, procedeu-se a implantação e padronização da metodologia com *A. salina*. Os testes de toxicidade foram realizados com os quatros extratos da *T. palmadora*.

De início, preparou-se a solução salina oriunda da solubilização de 19,5 g de sal marinho em 0,5 litros de água destilada. Dessa forma, foi realizado o ensaio e, posteriormente, os cistos de *A. salina* foram colocados na incubadora, junto com a solução salina, em um dos lados do recipiente. A parte do sistema contendo os cistos foi recoberta com papel alumínio, para que as larvas, após a eclosão dos cistos, fossem atraídas pela luz do outro lado do sistema, forçando-as a atravessar a divisória.

Após 24 horas, em temperaturas compreendidas entre 22° C – 29° C e sob iluminação de uma lâmpada incandescente (40 W), os cistos eclodiram. Em um béquer mediu-se 0,02 g do extrato Hex da *T. palmadora*, que foi dissolvido em 40 μL de Tween® (solvente) e 5 mL da solução salina, obtendo-se a solução mãe, no qual a

concentração utilizada foi de $0,0039 \text{ g mL}^{-1}$, obtida através da $C = m/v$, onde, $C = 0,02\text{g} / 0,04 + 5$. Em seguida, em tubos de ensaio, foram adicionados 640, 1280, 2560, 5120, 10240 μL da solução mãe e 5 mL da solução salina. Em cada tubo foi adicionado 10 artemias que foram coletadas com auxílio de uma pipeta de Pasteur. Cada concentração foi testada em triplicata e repetida em pelo menos três experimentos.

O conjunto permaneceu em incubação sob luz artificial por 24h e, posteriormente, foi realizada a contagem do número de larvas vivas e mortas, para determinação da CL_{50} (concentração que produz 50 % de letalidade).

O segundo extrato utilizado foi o CH_2Cl_2 da *T. palmadora*. Seu emprego seguiu as mesmas etapas listadas para a primeira fase, entretanto houve necessidade de dissolvê-la em 40 μL de Tween[®]. Além disso, as concentrações da solução mãe adicionadas aos tubos de ensaio foram 320, 640, 1280, 2560, 5120 μL .

O terceiro extrato utilizado foi o AcOEt da *T. palmadora*, que também seguiu as mesmas etapas listadas para as outras fases, havendo a necessidade de dissolvê-la em 40 μL de Cremofor[®] (solvente), para ser obtido a solução mãe. As concentrações da solução mãe adicionadas aos tubos de ensaio foram 640, 1280, 2560, 5120, 10240 μL .

O quarto extrato utilizado foi o EtOH da *T. palmadora*, seguindo as mesmas etapas listadas para as outras fases e havendo a necessidade de dissolvê-la em 40 μL de Cremofor[®] (solvente), para ser obtido a solução mãe. As concentrações da solução mãe adicionadas aos tubos de ensaio foram 320, 640, 1280, 2560, 5120 μL .

Os valores de CL_{50} foram calculados através da expressão dos resultados como uma percentagem dos controles e determinados graficamente a partir das curvas concentração-resposta por regressão não-linear com intervalo de confiança de 95%, utilizando-se o programa "Graph Pad Prism" 4.04.

4.10 Atividade antimicrobiana *in vitro*

4.10.1 Cepas Microbianas

As linhagens bacterianas e fúngicas foram provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli*

ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 76645, *Candida krusei* ATCC 14243 e *Candida tropicalis* ATCC 13803. As cepas selecionadas foram estocadas e mantidas em meios de culturas apropriados, de acordo com as recomendações do fornecedor. As cepas foram utilizadas para a determinação da CIM e testadas com os extratos Hex, CH₂Cl₂, AcOEt e EtOH.

4.10.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pela técnica de microdiluição proposta pelo CLSI (2012), para bactérias e NCCLS (2002) para fungos, utilizando placas de 96 poços. Foi utilizado caldo Mueller Hinton para as bactérias e Caldo Sabouraud Dextrose para as leveduras. Colônias dos microorganismos foram suspensas em solução salina (NaCl) a 0,9% (p:v), sendo a suspensão ajustada em espectrofotômetro a 625 nm para bactérias e 530 nm para fungos, que resultaram em uma concentração final de 5×10^5 UFC mL⁻¹ e $2,5 \times 10^3$ UFC mL⁻¹, respectivamente. Foram realizadas diluições seriadas do extrato em um intervalo de concentrações entre 1020 e 3,98 µg mL⁻¹. Um meio tensoativo (*Cremofor*[®]) foi empregado para dissolver as fases. As placas foram incubadas a 37 ± 1 °C durante 24 h. O crescimento microbiano foi indicado pela adição de 20 µL de solução aquosa de resazurina (Sigma-Aldrich) a 0,01 %, com nova incubação a 37 ± 1 °C durante 2 h.

Os ensaios foram realizados em triplicata e a CIM foi calculada pela moda dos resultados. O controle positivo utilizado para teste com cepas bacterianas foi a gentamicina, a uma concentração de 1000 µg.mL⁻¹ e para cepas fúngica, a nistatina, a uma concentração inicial de 12,5 µg.mL⁻¹. Simultaneamente ao ensaio, foi realizado controle de viabilidade das cepas, controle de esterilidade do meio de cultura e controle do *Cremofor*.

A CIM foi considerada a menor concentração do produto em teste capaz de inibir o crescimento das cepas utilizadas nos ensaios microbiológicos.

4.11 Teste de hemólise

O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da UEPB (Certificado/CEP/UEPB No. 42778115.7.000.5187). Sangue do tipo A+, B+ e O+ foram colocados em tubos com EDTA. O plasma foi retirado após centrifugação a 2500 rpm por 5 minutos. Posteriormente, a suspensão de hemácias foi lavada com solução salina a 1% (três vezes) a 2500 rpm/5 minutos. As hemácias foram ressuspensas em solução salina a 1% e o volume foi ajustado para 5%. Então, colocou-se 1,0 mL da suspensão de hemácia a 5% juntamente com 1,0 mL das soluções testes (EISELE, K. et al., 2010; BRANDÃO, R. et al., 2005; BOZI, S. et al., 2004).

Para os extratos CH₂Cl₂, AcOEt e EtOH foram utilizadas as concentrações de 1; 2,5 e 5 mg.mL⁻¹, em tubos de ensaio, aguardando 1 hora a temperatura ambiente para que ocorresse o processo de hemólise. Após o tempo, cada tubo foi centrifugado a 2500 rpm por 10 minutos, sendo o sobrenadante retirado para leitura em espectrofotômetro Biosystems BTS-310 no comprimento de onda de 540 nm. Como controle positivo foi utilizado Triton-X 100 e como controle negativo, a solução salina a 1%. A análise foi realizada em triplicata e o cálculo do potencial hemolisante das substâncias foi realizado por meio da seguinte equação 8:

$$Ph = \frac{Ae - Ab}{At} \times 100 \quad (8)$$

Onde,

Ph= Potencial Hemolisante (em porcentagem);

Ae = Absorbância do extrato;

Ab = Absorbância do branco (controle negativo);

At= Absorbância do Triton-X 100 (controle positivo).

4.12 Atividade antioxidante

4.12.1 Sequestro do radical DPPH (2,2 -difênil -1- picril –hidrazil)

A técnica foi adaptada de Rufino et al. (2007) e Sousa et al. (2007). O método baseia-se na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante, o DPPH

(cor púrpura) é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, (coloração amarela), com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. Preparou-se soluções dos extratos CH₂Cl₂ e AcOEt nas seguintes concentrações: 1000; 500; 250; 125; 62,5 e 31,25 µg.mL⁻¹. Um controle negativo foi feito pela adição de metanol e DPPH e o controle positivo foi feito pela adição de solução de um padrão de rutina e DPPH.

Adicionou-se a cada concentração dos extratos CH₂Cl₂ e AcOEt uma solução de DPPH 40 µL, exceto nos brancos, onde foi adicionado o solvente. Após a adição do DPPH, esperou-se 40 minutos e procedeu-se a leitura no espectrofotômetro a 517 nm. A capacidade de eliminar o radical DPPH (% de atividade antioxidante) foi calculada utilizando-se a equação 9, A partir dos resultados obtidos determinou-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres (SRL).

$$\text{SRL (\%)} = \frac{(\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}) \times 100}{\text{Abs controle}} \quad (9)$$

Onde,

Abs controle = Absorbância da solução de DPPH sem a amostra;

Abs amostra = Absorbância da amostra com o DPPH.

4.12.2 Atividade Antioxidante Total (AAT)

Para a AAT empregou-se o método do complexo fosfomolibdênio, formado pela reação de fosfato sódico monobásico (0,498 g), molibdato de amônio (0,494 g) e de ácido sulfúrico, em meio aquoso, sendo o volume final ajustado com água destilada para 100 mL.

Os extratos CH₂Cl₂ e AcOEt foram pesadas na concentração de 1000 µg/mL e diluídas a concentração de 400 µg.mL⁻¹. Foram separados eppendorfs de 1,5 mL (3 eppendorfs para cada amostra) e misturou-se 1 mL da solução de fosfomolibdênio com 100µL da amostra (1 µg.mL⁻¹ ou 5 µg.mL⁻¹) já diluída (triplicata).

Fez-se uma solução de ácido ascórbico (AA) na concentração de 1 µg.mL⁻¹, pesando 1mg de ácido ascórbico e diluindo em 1 mL de metanol. Misturou-se 1 mL da solução de fosfomolibdênio com 100 µL da solução de ácido ascórbico.

Levou-se todos os eppendorfs ao banho maria à seco por 90 minutos à 95°C e em uma microplaca (96 poços) pipetou-se 200 µL do branco em triplicata e 200 µL da amostra e do ácido ascórbico em 2 poços (triplicata) – totalizando 6 poços.

Foi utilizado o ácido gálico (AG), a quercetina (Q) e o hidroxitolueno butilado (BHT) como padrões do teste. Esses padrões são considerados pela literatura como substancias antioxidantes.

Deixaram-se as amostras retornarem à temperatura ambiente e fez-se a leitura em espectrofotômetro à 695 nm. O resultado foi expresso em porcentagem de atividade antioxidante total utilizando a equação 10:

$$\text{AAT (\%)} = \frac{\text{Ab amostra} - \text{Ab controle}}{\text{Ab AA} - \text{Ab controle}} \times 100 \quad (10)$$

Onde,

Abs controle = Absorbância da solução branco metanol;

Abs amostra = Absorbância da amostra;

Abs AA = Absorbância do ácido ascórbico.

4.12.3 Método Tiocinato Férrico

A atividade antioxidante dos extratos CH₂Cl₂ e AcOEt foi avaliada também de acordo com a metodologia descrita por Raymundo et.al., 2004.

Preparou 1mg/mL dos extratos. Misturou-se 200 µL do extrato, 204 µL de ácido linoleico, 400 µL de tampão fosfato e 196 µL de água destilada em um eppendorf, obtendo-se o volume final de 1 mL. Incubou as amostras por 24h a 40°C (escuro). Após 24 horas de incubação, pipetou em uma placa de microtitulação 50 µL da mistura (amostras incubadas do 1º dia), 50 µL de etanol a 75%, 50 µL de tiocianato de amônia, 50 µL da solução de cloreto de ferro. Após 3 minutos, realizou-se a leitura a 500 nm. Colocou-se a mistura original de volta na incubação (40°C) e repetiu o processo da placa de microdiluição a 24h depois que o controle (ácido gálico) chegou na sua absorbância máxima, calculando-se, assim, a porcentagem de inibição da peroxidação lipídica (Equação 11).

Foi utilizado o ácido gálico (AG), a quercetina (Q) e o hidroxitolueno butilado (BHT) como padrões do teste. Esses padrões são considerados pela literatura como substâncias antioxidantes.

$$I (\%) = \frac{(\text{Abs da amostra} - \text{Abs do branco}) \times 100}{(\text{Abs AG} - \text{Abs branco})} \quad (11)$$

Onde,

Abs controle = Absorbância da solução branco metanol;

Abs amostra = Absorbância da amostra;

Abs AG = Absorbância do ácido gálico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-química da droga vegetal

5.1.1 Distribuição granulométrica da droga vegetal de *T.palmadora*

O tamanho das partículas contidas na droga vegetal influencia a interação com o solvente e o material vegetal. Portanto a distribuição granulométrica configura um parâmetro preliminar importante para a escolha do processo extrativo e do solvente adequado, já que influencia diretamente na eficiência do processo extrativo (MIGLIATO et al., 2007). De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), o pó resultante das raízes de *T. palmadora* foi classificado como semifino, cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis de abertura nominal de malha 355 e no máximo 40% pelos tamis com abertura 180.

Este parâmetro constitui um fator determinante na homogeneidade e reprodutibilidade dos processos extrativos. Pós de tamanho maior favorecem o processo extrativo, pois partículas muito finas podem aderir às partículas maiores, aumentando a viscosidade do meio e criando uma barreira que impeça a penetração de solventes. Portanto, o pó obtido precisa ser testado frente a outros processos extrativos, para obtenção de maior eficiência na extração, tais como a extração por ultrassom (MARQUES et al, 2012).

5.1.2 Densidade da droga vegetal de *T.palmadora*

A determinação da densidade foi utilizada para avaliar as características de escoamento e compressibilidade do pó (Tabela 8). Segundo Aulton (2005), a densidade aparente é característica do pó e não das partículas individuais que o compõem, já a determinação da densidade compactada é realizada quando o pó atinge um estado de maior equilíbrio.

Tabela 8. Parâmetros obtidos no ensaio de propriedades de fluxo da droga vegetal das raízes de *Tacinga palmadora*.

Propriedades físico-químicas	Valores
Densidade de compactação (g mL ⁻¹)	0,4762
Densidade bruta (g mL ⁻¹)	0,2941
Índice de Compressibilidade (%)	38,1142
Fator de Hausher	0,6176

O fator de Hausner (FH) é uma medida indireta da facilidade de fluxo de pó, sendo que materiais que possuem valores superiores a 1,40 são classificados como coesivos, enquanto que os que apresentam valores inferiores a 1,25 são enquadrados como de fácil escoamento (LAGOS et al., 2012). Desta forma o pó das raízes de *T. palmadora* apresentou propriedades de fluxo bom, como reafirmado pelo índice de compressibilidade (38,1142%). O pó de *T. palmadora* foi classificado como de fácil escoamento, que é fundamental no processo de fabricação de formas farmacêuticas sólidas, a exemplo dos comprimidos e cápsulas (GUPTA et al., 2013).

5.1.3 Teor de cinzas da droga vegetal de *T.palmadora*

A determinação do teor de cinzas avalia a pureza do material e detecta a presença excessiva de substâncias aderentes e adulterações, o que pode evitar a exposição do consumidor ao risco real de uso de material vegetal inadequado (AMARAL et al., 2003). As cinzas obtidas por incineração representam a soma de material inorgânico integrante da espécie (cinzas intrínsecas) com as substâncias aderentes de origem terrosa (cinzas extrínsecas) (SIMÕES et al., 2007).

O ensaio de cinzas totais revelou percentual de 5,25% de matéria inorgânica (cinzas obtidas por incineração), mostrando um valor abaixo de 14%, conforme os limites estabelecidos na Farmacopeia Brasileira (2010).

Esse resultado mostra que existe pureza do material, indicando que o mesmo não possui excesso de terra e/ou areia e que o processo de higienização foi eficiente.

5.1.4 Teor de umidade da droga vegetal de *T.palmadora*

A média do valor obtido do teor de umidade da droga vegetal da *T. palmadora* foi de 5,70%, apresentando-se de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), na qual este resultado pode variar de 8 a 14%. Esta determinação é importante para o controle microbiológico, pois teores de umidade acima do especificado possibilitam o desenvolvimento de fungos e bactérias, hidrólise e atividade enzimática, com consequente deterioração de constituintes químicos (MARQUES et.al., 2012).

5.1.5 pH da droga vegetal de *T.palmadora*

A droga vegetal da raiz pulverizada da *T. palmadora* e a água destilada apresentaram um valor médio de pH de 5,58 e 6,73, respectivamente. O valor de pH do pó estudado sugere a presença de substâncias ácidas, uma vez que, nas plantas, encontram-se diversos ácidos minerais orgânicos combinados sob a forma de sais, ésteres, lactonas, lipídeos, essências, resinas e proteínas. Partes desses componentes ácidos também podem estar contidos no citoplasma da planta, podendo ser dosados para caracterizar se um determinado extrato vegetal tem caráter ácido ou básico (GUIZZO et.al, 2015).

5.1.6 MEV/EDS da droga vegetal de *T.palmadora*

A análise morfológica da droga vegetal da raiz da *T. palmadora* foi realizada com ampliações de 400, 500, 1000, 2000, 3000 e 5000x (Figura 6). Pode-se observar a autenticidade do material utilizado como matéria-prima da raiz, havendo conservação das estruturas, mesmo após o processo de trituração. As imagens da amostra mostram a presença de poros, o que pode sugerir a grande porcentagem de oxigênio na composição da planta. As partículas possuem formas irregulares, aparecendo como aglomerados de partículas de diferentes tamanhos e morfologia. Sabe-se, no entanto, que um extrato seco deve proporcionar tamanho de partícula uniforme para promover um fluxo suave de pó e boa densidade (CHAVES et.al., 2009).

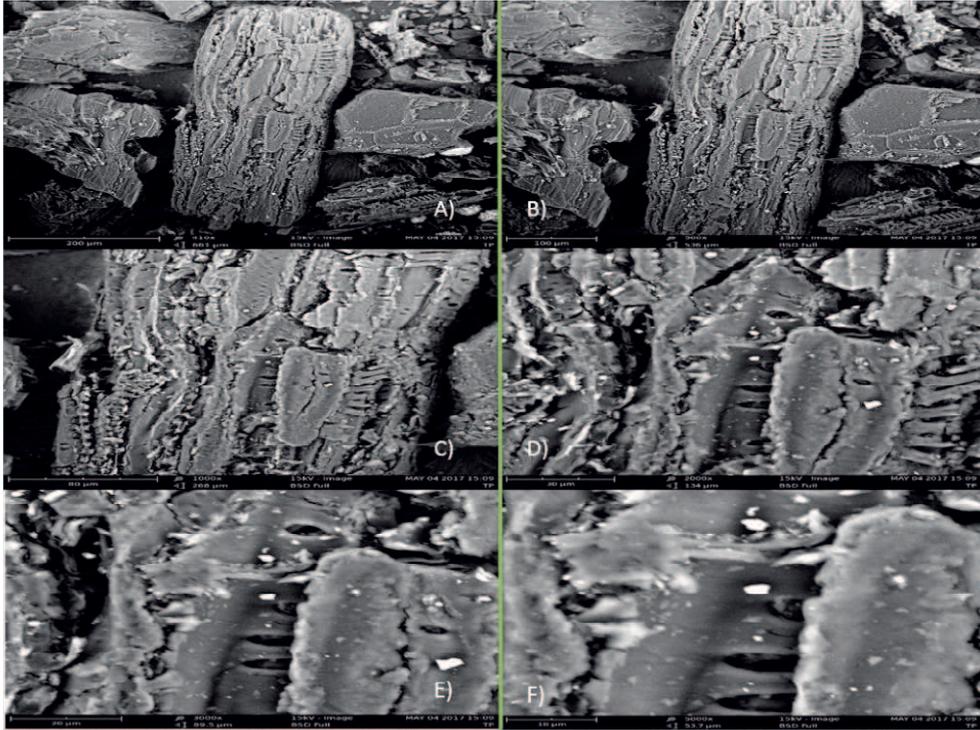


Figura 6. Microscopia Eletrônica de Varredura da droga vegetal da raiz *Tacinga palmadora*: a)400x b)500x c)1000x d)2000x e)3000x f)5000x

A EDS foi realizada no aumento de 2000x. Nas figuras 7 e 8 são visualizados os três pontos onde foram realizadas as análises da composição das mesmas. Os resultados obtidos através da técnica permitiram identificar a composição qualitativa e semi-quantitativa acerca das propriedades do material em estudo. Tal identificação foi realizada através da interação inelástica dos feixes de elétrons com a amostra.

Observou-se a presença de oxigênio (69,9%; 72,7%; 69,1%), carbono (8,4%; 7,5%; 9,9%), nitrogênio (8,4%; 8,5%; 9,1%), potássio (7,6%; 4,8%; 7,5%) e cloro (3,2%; 2,6%; 4,3%).

O perfil químico obtido através da EDS permitiu avaliar a variação da presença de elementos químicos, verificando a homogeneidade composicional do pó da planta diferentes aumentos. O uso de técnicas refinadas auxilia na confirmação de resultados posteriores, para que estes sejam mais conclusivos e confiáveis.

Investigar a composição elementar é extremamente importante do ponto de vista farmacológico, toxicológico, bem como ambiental, tendo em vista que depende de vários fatores, como: características do solo (composição mineral, pH, tamanho das partículas, etc.), condições ambientais (temperatura, precipitação, umidade, qualidade do ar, etc.) e a planta do chá (cultivo e estado biológico, por exemplo).

Além disso, o *fingerprint* elemental já provou ser útil para a classificação de chás de acordo com a origem geográfica (MOREDA-PIÑEIRO; FISHER; HILL, 2003).

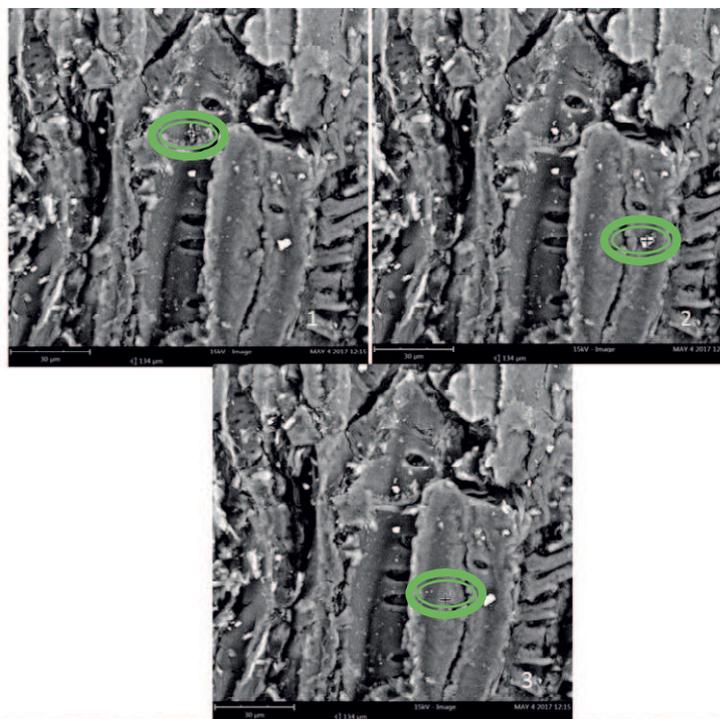


Figura 7. 1º, 2º e 3º ponto selecionados da droga vegetal da *Tacinga palmadora*.

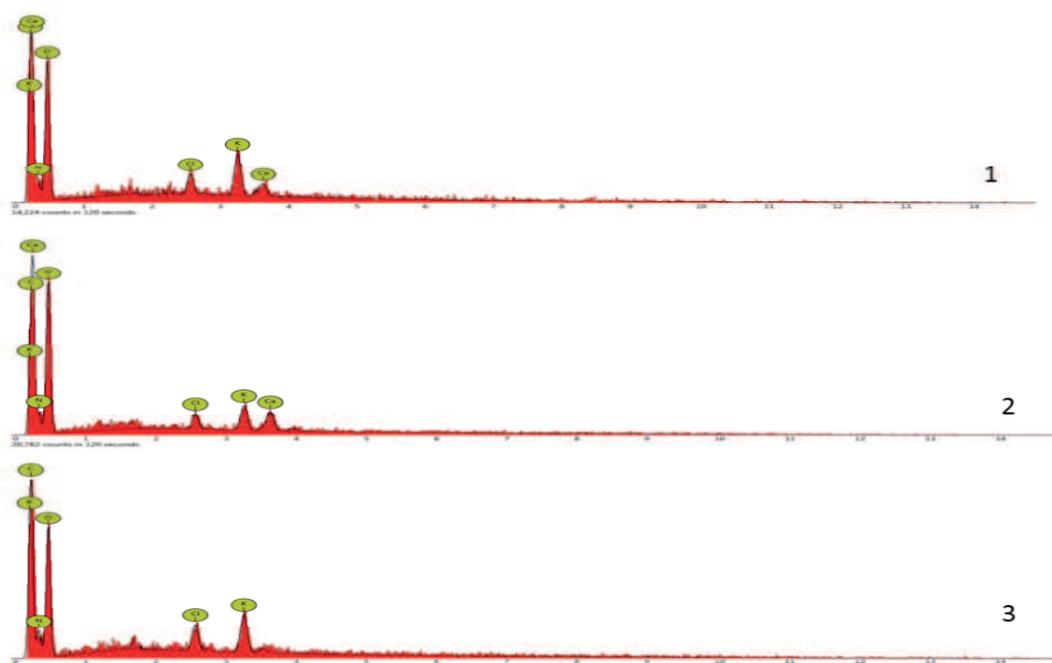


Figura 8. Espectroscopia de Energia Dispersiva do 1º, 2º e 3º ponto da droga vegetal da *Tacinga palmadora*.

5.1.7 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da droga vegetal de *T.palmadora*

O espectro de infravermelho mostrou uma banda larga e de média intensidade em 3324 cm^{-1} , referente ao estiramento O-H (grupamento hidroxila). Duas bandas de pequena intensidade foram observadas em 2922 cm^{-1} e 2843 cm^{-1} , as quais são indicativas de hibridização sp^3 , correspondentes a grupos metílicos e metilênicos, respectivamente. Em 1738 cm^{-1} pode-se observar uma banda de baixa intensidade sugestiva de grupamento carbonila (C=O) e em 1624 cm^{-1} pode-se observar uma banda sugestiva de estiramento vibracional da ligação C=C de compostos aromáticos (Figura 9). Além disso, uma banda intensa e estreita, de estiramento C-O foi observada em 1030 cm^{-1} , o que sugere a presença de grupos funcionais como álcoois, ésteres, cetonas, ácidos carboxílicos e indica uma variedade de metabólitos secundários, tais como flavonoides, alcaloides, esteroides e polifenóis, corroborando com os resultados obtidos nas análises fitoquímicas e do EDS.

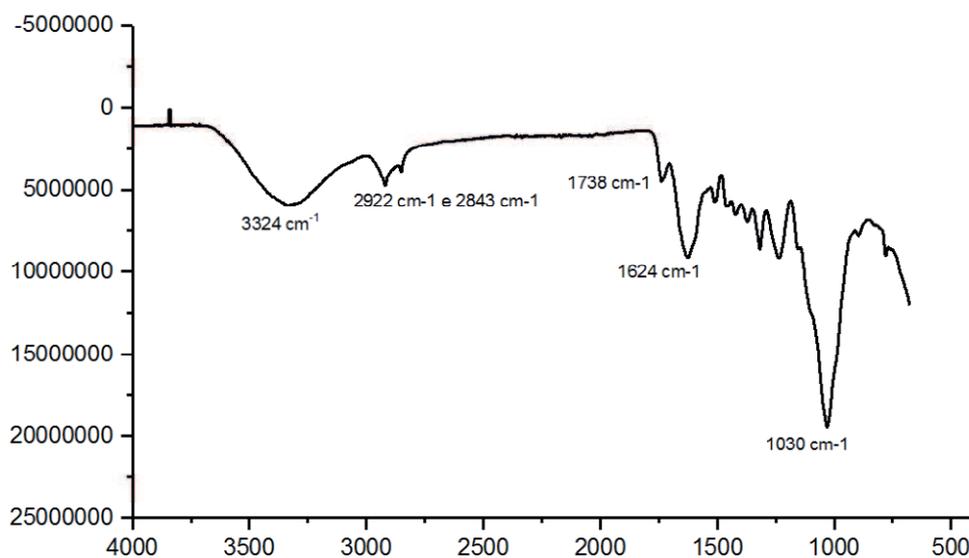


Figura 9. Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier da droga vegetal da *Tacinga palmadora*.

5.1.8 Análise Termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA) da droga vegetal de *T.palmadora*.

A curva termogravimétrica (TG) da droga vegetal da raiz da *T. palmadora* mostrou a ocorrência de três etapas de decomposição (Figura 10; Tabela 9).

A primeira etapa ocorreu entre 46,89 – 62,20 °C, com perda de massa de 4,779%. Este evento pode ser relacionado à desidratação da droga vegetal e a evaporação de constituintes voláteis (SANTOS et.al., 2011).

Na segunda etapa, entre 299,08 - 332,58 °C houve uma perda equivalente a 44,948% da massa do material. Essa perda significativa pode ser atribuída à de composição térmica de carboidratos e demais compostos orgânicos presentes na droga (ARAÚJO et.al.,2006).

A terceira etapa, ocorreu entre 364,40 – 434,05 °C com uma perda de massa equivalente a 21,263%. Esta última perda pode ser referente à queima dos restos carbonizados da matéria orgânica (ARAÚJO et.al.,2006).

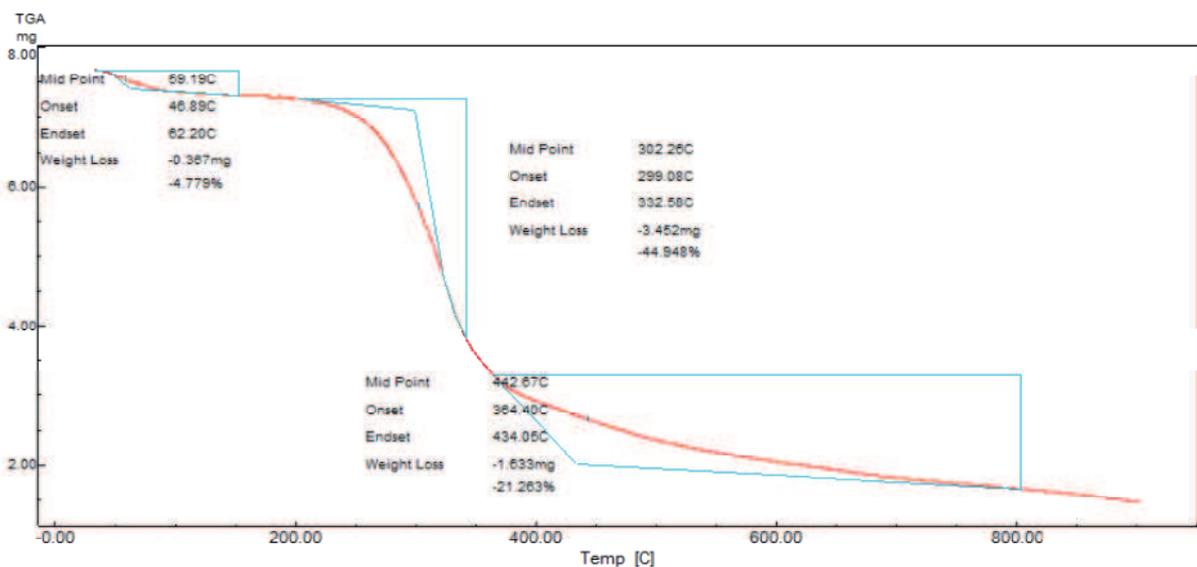


Figura 10. Curva termogravimétrica da droga vegetal da *Tacinga palmadora*.

Tabela 9. Dados da curva termogravimétrica da droga vegetal da *Tacinga palmadora*.

Etapas	Onset- Endset (°C)	Perda de massa (%)
1ª Etapa	46,89 – 62,20	4,779
2ª Etapa	299,08 - 332,58	44,948
3ª Etapa	364,40 – 434,05	21,263

A curva térmica diferencial (DTA) da droga vegetal da raiz da *T. palmadora* esta representada na Figura 11 e na Tabela 10.

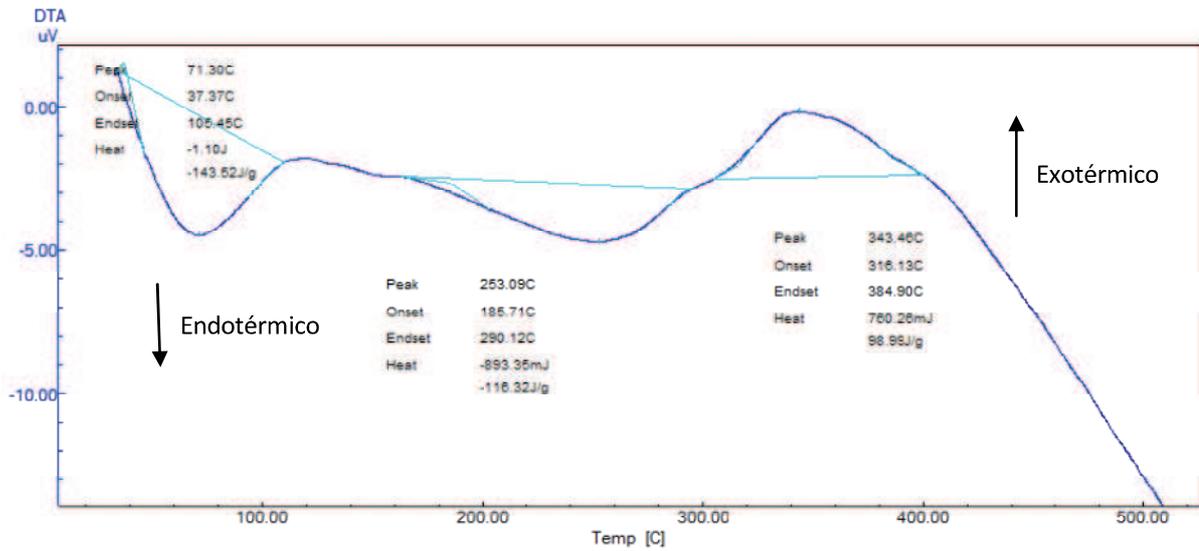


Figura 11. Curva térmica diferencial da droga vegetal da *Tacinga palmadora*.

Tabela 10. Dados da curva da análise térmica diferencial da droga vegetal da *Tacinga palmadora*.

Eventos	Onset - Endset (°C)	ΔH (uV)	Pico (°C)
1ª Evento	37,37 – 105,45	- 143,52	71,30
2ª Evento	185,71 – 290,12	-116,32	253,09
3ª Evento	316,13 – 384,90	98,99	343,46

Através da curva de DTA foi possível observar dois eventos endotérmicos e um evento exotérmico. O primeiro evento endotérmico ocorreu na temperatura 37,37 – 105,45 °C com energia de -143,52 J/g. O segundo evento endotérmico ocorreu entre 185,71 – 290,12 °C com energia de -116,32 J/g e o terceiro evento exotérmico ocorreu entre 316,13 – 384,90°C correspondendo a 98,99 J/g de energia.

As perdas de massas registradas através do TG foram confirmadas através da presença dos eventos registrados na curva de DTA. Essas técnicas termoanilíticas são ferramentas úteis e auxiliam na caracterização da droga vegetal, avaliando o parâmetro térmico e produzindo informações acerca do controle de qualidade da droga vegetal.

5.2 Caracterização fitoquímica

O *screening* fitoquímico qualitativo mostrou resultados positivos para alcaloides e esteroides/triterpenoides.

Os produtos secundários têm um papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes. Essas moléculas aumentam a probabilidade de sobrevivência de uma espécie, pois são responsáveis por diversas atividades biológicas, podendo atuar como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger as plantas dos patógenos e também apresentar atividades antigerminativas ou tóxicas para outras plantas (CAMPOS et.al., 2011).

Santana et al. (2015) observou a presença de terpenos, esteroides e flavonoides no extrato da raiz de *Cereus jamacaru* DC. No trabalho de Oliveira (2011) foi descrito a presença no extrato etanólico das raízes de *P. gounellei* (Weber) Byles & Rowley, de polifenóis, cumarinas, açúcares redutores, triterpenos e esteroides, e a ausência de fenilpropanoglicosídeos, proantocianidinas e alcaloides.

As raízes de *Opuntia ficus* também apresentaram a presença de compostos fenólicos e flavonoides e estes, segundo Alimi et al. (2010), foram os responsáveis por uma pronunciada atividade gastroprotetora semelhante à da ranitidina.

Nos ensaios semi-quantificativos foi verificado a concentração de 80,41 mg.mL⁻¹ e 19,5 mg.mL⁻¹ de compostos fenólicos nas fases AcOEt e CH₂Cl₂, respectivamente. Os compostos fenólicos são substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos. Dentre os compostos fenólicos pertencentes ao metabolismo secundário dos vegetais encontram-se estruturas como ácidos fenólicos, flavonoides, derivados de cumarina, pigmentos hidrossolúveis, ligninas, taninos e ainda fazem parte de proteínas. Alcaloides e terpenoides conjugados estão relacionados, principalmente, com a proteção, conferindo alta resistência a microrganismos e pragas (PROENÇA DA CUNHA et al., 2003).

A presença de flavonoides nas raízes é um fato importante, visto que as plantas liberam uma grande quantidade de compostos orgânicos no solo, onde a maioria é responsável pelo desenvolvimento de microrganismos na rizosfera, os quais são responsáveis, pela fixação biológica do nitrogênio. Vários flavonoides atuam ativando a expressão de genes reguladores da nodulação, sendo estes importantes no período de seca, onde estes microrganismos podem conceder certo grau de tolerância as plantas contra o estresse hídrico ou ainda auxiliando no seu

desenvolvimento por meio de mecanismos de promoção de crescimento (KAVAMURA, 2012).

5.3 COMPOSTOS ISOLADOS DE *T.palmadora*

5.3.1 Identificação de Tp-1

O constituinte químico codificado como Tp-1, foi isolado da fase CH₂Cl₂, e apresentou-se como um sólido amarelo, com peso 8,7 mg, solúvel em CHCl₃.

No espectro de RMN de ¹H (δ, CDCl₃, 400 MHz) (Figura 13, Página 81), foram visualizados dois sinais, o primeiro em δ_H 7,56 (d, *J* = 16 Hz, 1H) e δ_H 6,26 (d, *J* = 15,92 Hz, 1H) sugestivos de hidrogênios vinílicos, com estereoquímica trans. Na região de hidrogênios aromáticos observou-se dois dupletos em δ_H 7,07 (d, *J* = 1,96 Hz, 1H) e δ_H 6,86 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), além de um duplo duplete em δ_H 7,00 (dd, *J* = 1,96 e 8,4 Hz, 1H), o que permite sugerir a presença de um núcleo aromático trissubstituído. Foram vistos, ainda, os sinais em δ_H 4,18 (t, *J* = 6,72 Hz, 2H) e δ_H 0,87 (t, *J* = 6,56 Hz, 3H), sendo este último característico de metila em cadeia alifática.

No espectro de RMN de ¹³C (δ, CDCl₃, 100 MHz) (Figura 14, Página 82), obtido pela técnica APT, só foi possível observar os sinais para carbono não hidrogenado em δ_C 168,6, para carbono metílicos em δ_C 144,52; 122,9 para carbonos metilênicos C 64,89; 26,13 e em δ_C 22,44 para uma metila.

A análise do mapa de contorno heteronuclear HSQC (¹H x ¹³C) (Figura 15, Página 83) permitiu visualizar as correlações entre δ_H 7,56/ δ_C 144,52; δ_H 7,07/ δ_C 114,28; δ_H 6,86/ δ_C 115,18; δ_H 6,26/ δ_C 115,70; δ_H 7,00/ δ_C 122,9 e δ_H 4,20/ δ_C 64,85. Já no mapa de contorno heteronuclear HMBC (¹H x ¹³C) (Figura 16, Página 84), foram vistas as correlações δ_H 7,56/ δ_C 167,61; 115,70 e 122,9; δ_H 6,26/ δ_C 167,61 e 127,6; δ_H 7,07/ δ_C 146,09; 144,52 e 122,9; δ_H 6,86/ δ_C 143,82 e 127,6; δ_H 7,00/ δ_C 114,28 e 146,09, o que permitiu atribuir δ_C 168,9; 115,70; 122,9; 127,6; 146,09; 143,82; 144,52 e 114,28 para os carbonos 9,8,6,1,4,3,7 e 2, respectivamente e, por exclusão, δ_C 115,18 para o carbono 5 (Figura 12).

Os dados dos espectros de RMN ¹H e ¹³C aliado aos dados apresentados na literatura (DE ARAÚJO, 2017) permitiram identificar a Tp-1 com derivado éster do ácido caféico (Tabela 11).

Tabela 11- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Tp-1, em comparação aos dados obtidos por De Araújo, 2017.

Posição	HMQC		HMBC	Referência	
	δ_{H} Tp-1	δ_{C} Tp-1	$\delta_{\text{H}} \times \delta_{\text{C}}$	δ_{C}	δ_{H}
1	-	127,6	-	125,6	-
2	7,07 d- $J=1,96$ Hz, 1H)	114,28	C4; C6; C7	114,0	7,05 (d, $J=1,96$ Hz, 1H)
3	-	143,82	-	145,6	-
4	-	146,09	-	148,5	-
5	6,86 (d, $J=8,4$ Hz, 1H)	115,18	C3; C1	115,8	6,76 (d, $J=8,4$ Hz, 1H)
6	7,00 (dd, $J=1,96$ e 8,4 Hz, 1H)	122,9	C2; C4	121,5	7,00 (dd, $J=1,96$ e 8,4 Hz -1H)
7	7,56 (d, $J=16$ Hz, 1H)	144,52	C6; C1	145,3	7,47 (d, $J=16$ Hz, 1H)
8	6,26 (d, $J=15,92$ Hz, 1H)	115,70	C7; C1	114,8	6,26 (d, $J=15,92$ Hz, 1H)
C=O	-	168,6	-	166,8	-
R	-	-	-	-	-

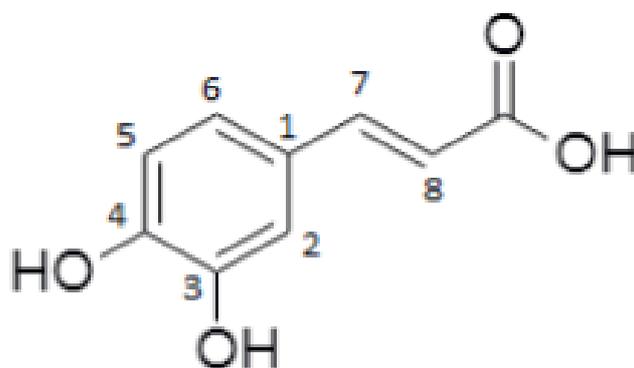


Figura 12. Derivado do ácido caféico (Tp-1).

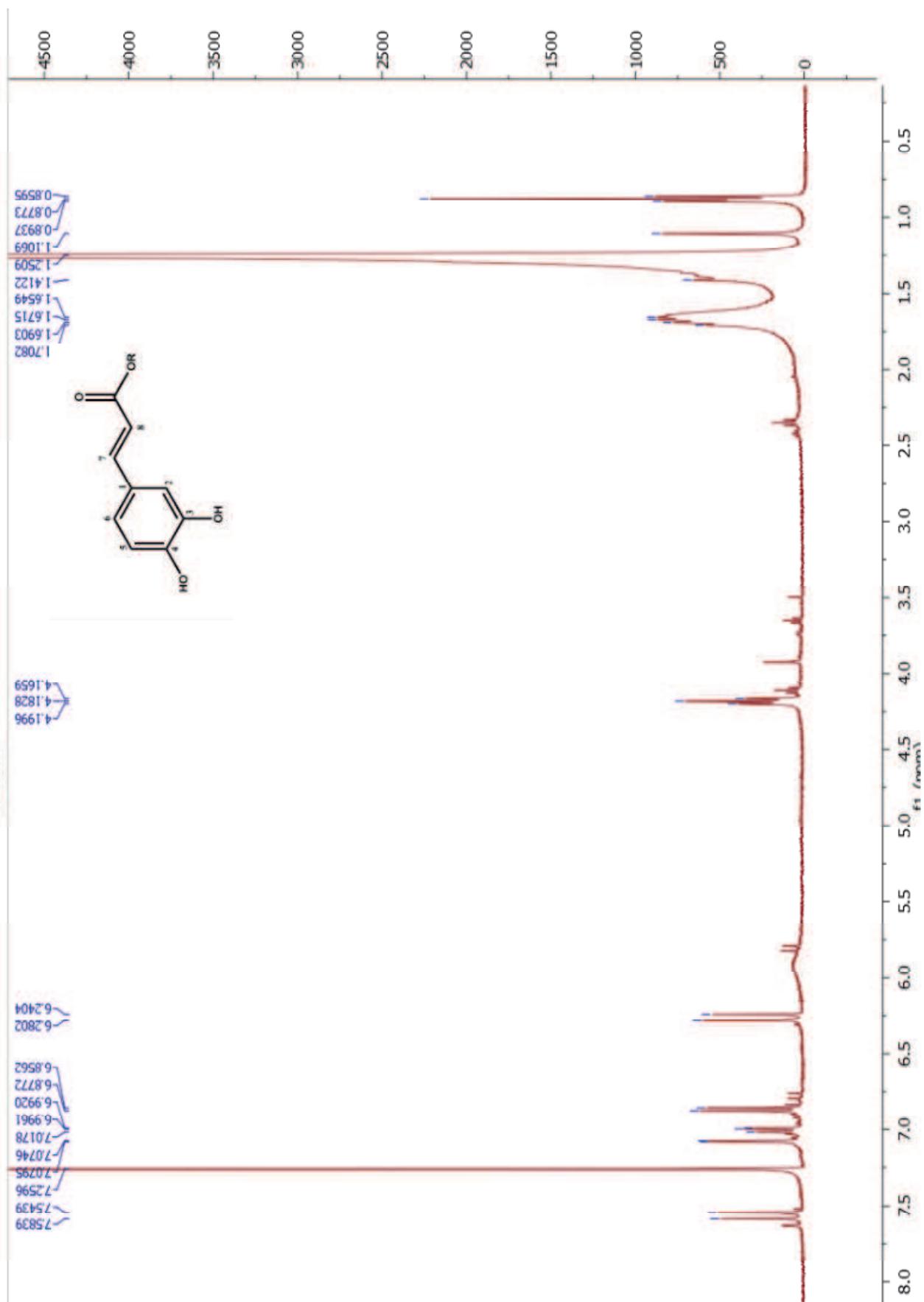


Figura 13. Espectro obtido em CDCl_3 de RMN de ^1H (400 MHz) do composto Tp-1.

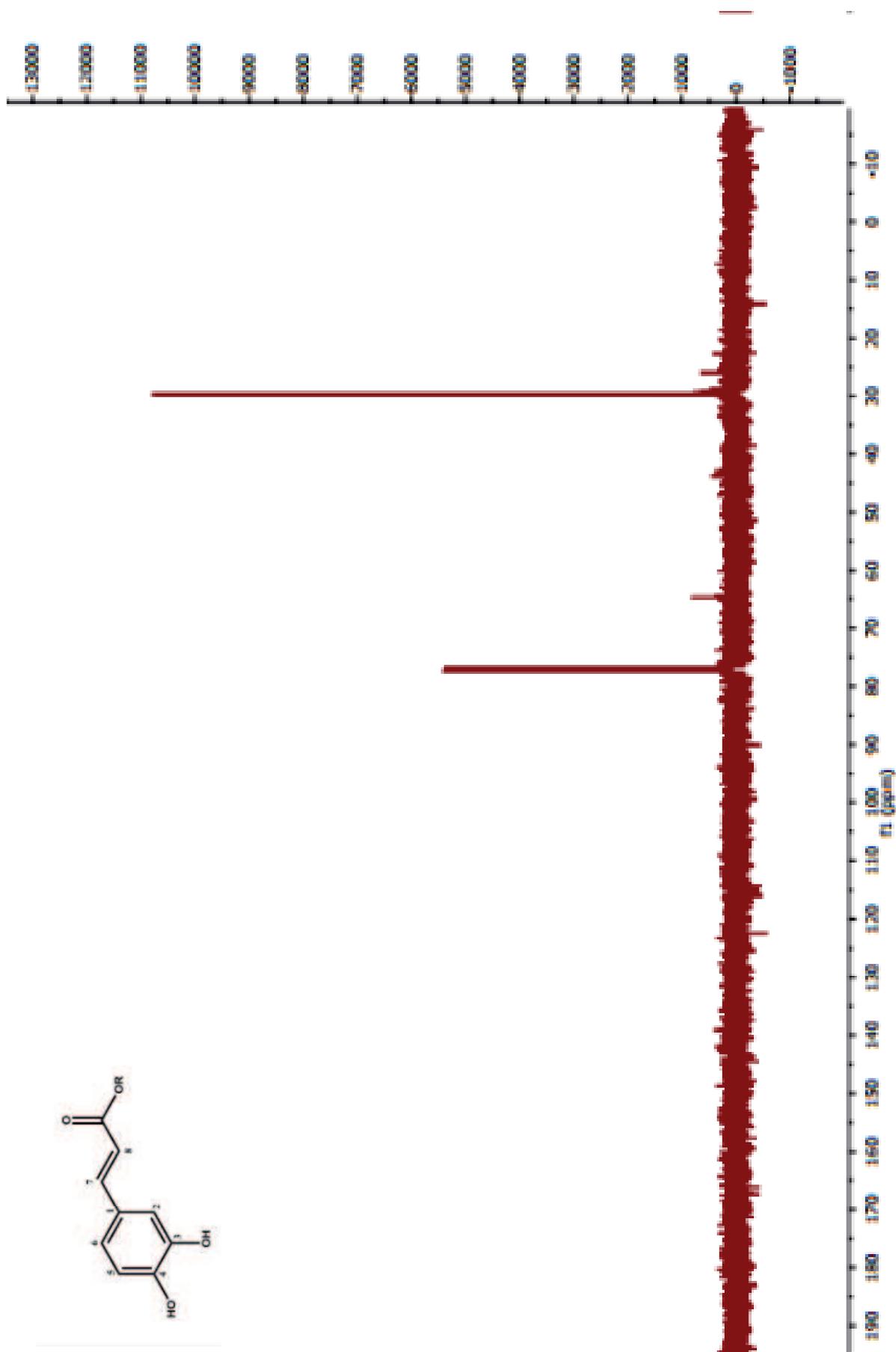


Figura 14. Espectro obtido em CDCl_3 de RMN de ^{13}C (100 MHz) do composto Tp-1.

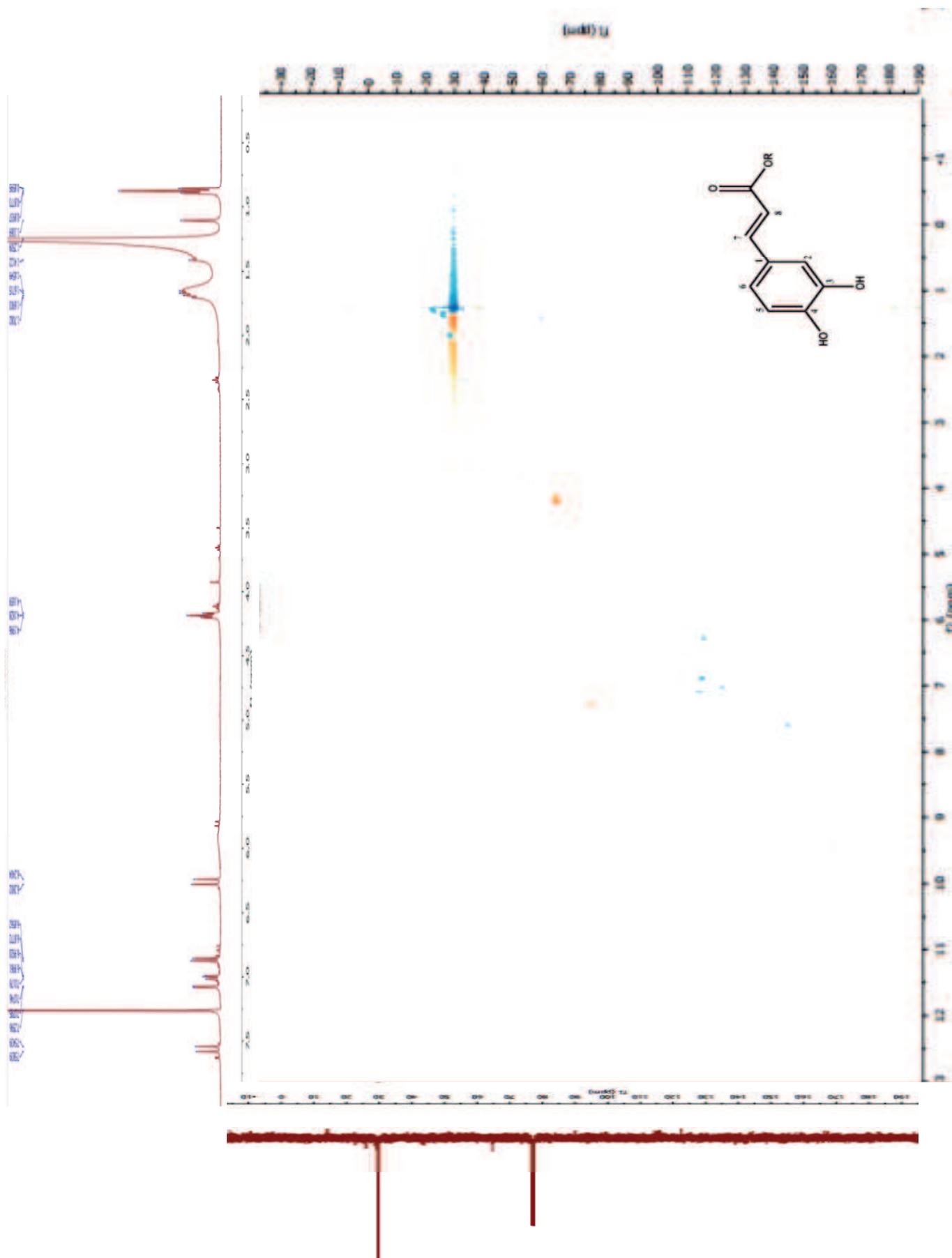


Figura 15. Mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em CDCl_3 do composto Tp-1.

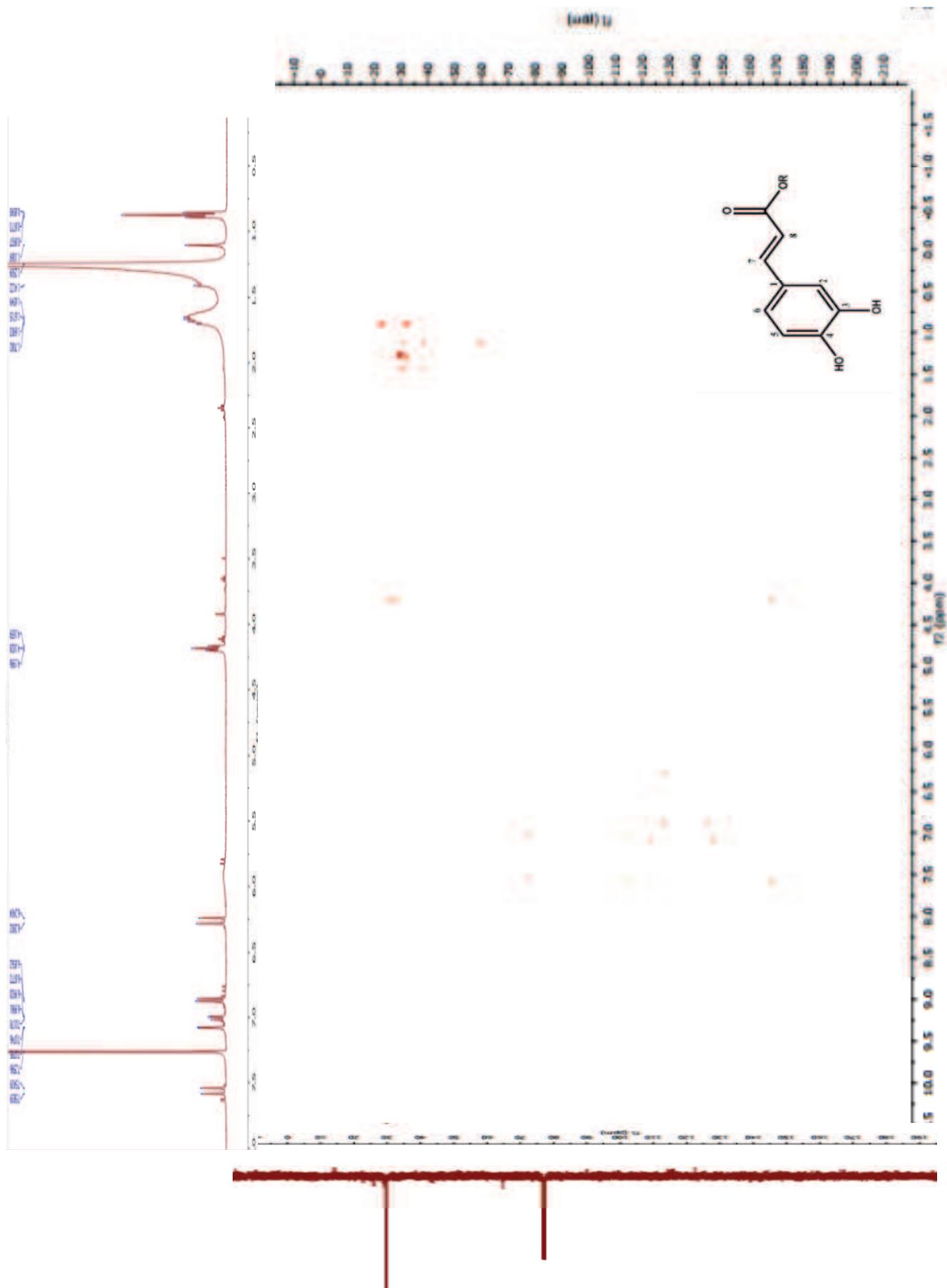


Figura 16. Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em CDCl_3 do composto Tp-1.

5.3.2 Identificação de Tp-2

O constituinte químico codificado como Tp-2, foi isolado do extrato CH_2Cl_2 , fração 37 – 40. Este constituinte apresentou-se como um sólido amarelo, com peso de 5,8 mg, solúvel em Acetona.

No espectro de RMN de ^1H (δ , Acetona - d_6 , 400 MHz), (Figura 18, Página 88), foram visualizados quatro singletos em δ_{H} : 12,81 (1H), 3,83 (3H) e 3,88 (3H), sugestivos de hidroxila quelada e de duas metoxilas aromáticas, respectivamente. Foram observados sinais em δ_{H} 6,51 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H) e δ_{H} 6,27 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H) sinais para átomos de hidrogênio aromáticos, em acoplamento meta, com um substituinte oxigenado entre eles, devido a absorção desses hidrogênios em campo mais baixo, os quais normalmente absorvem entre δ_{H} 6,39-6,59 e δ_{H} 6,16-6,25 respectivamente (HARBONE, 1994).

Os sinais em δ_{H} 8,02 (dd, $J = 8,9$ e $2,0$ Hz, 2H) e δ_{H} 7,02 (dd, $J = 8,9$ e $2,0$ Hz, 2H) são característicos da presença de um anel dissustituído com um típico sistema AA'BB'. Além disso, singlete em 6,69 (1H) é sugestivo de hidrogênio ligado ao carbono 3 de núcleo de flavonaas (MAIA, 2011).

No mapa de correlação heteronuclear HSQC (Figura 20, Página 90) foram observadas correlações entre δ_{H} 6,69/ δ_{C} 104,46; δ_{H} 6,51/ δ_{C} 94,58; δ_{H} 6,27/ δ_{C} 99,54; δ_{H} 3,83/ δ_{C} 59,49 e δ_{H} 3,88/ δ_{C} 55,76. Já no mapa de correlação heteronuclear HMBC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) foram vistos correlações entre δ_{H} 12,81/ δ_{C} 162,41; 106,65 e 99,54; δ_{H} 6,69/ δ_{C} 181,26; δ_{H} 6,51/ δ_{C} 99,54; 106,65; 158,09 e 165,01; δ_{H} 6,27/ δ_{C} 94,58; 106,65; 162,31 e 165, 01 (Figura 21, Página 91), o que permite atribuir os valores de deslocamento químico em δ_{C} 163,42; 106,03; 99,54; 181,26; 165,01 e 94,58 para os carbonos 5,10,6,4,7,9 e 8, respectivamente e δ_{C} 104,46 para o carbono 3, visto anteriormente no HSQC acoplando com δ_{H} 6,69.

Foram vistos, ainda, que os sinais em δ_{H} 8,02 e 7,02 mostram correlação direta no HSQC com δ_{C} 131,24 e 116,50 e correlações indiretas, no HMBC com δ_{C} 131,24 e 161,15 e δ_{C} 116,50; 122,84 e 161,15, respectivamente, permitindo inferir os valores de δ_{C} 131,24; 116,50; 161,15 e 122,84 para as posições 2' e 6', 3' e 5', 4' e 1'. Além disso, as duas metoxilas vistas nos espectro de ^1H e no HSQC, juntamente com dados da literatura (MAIA, 2011) permitiram atribuir que os sinais em δ_{H} 3,83/ δ_{C} 59,49 e δ_{H} 3,88/ δ_{C} 55,76 estão nas posições 7 e 4'.

O espectro de massa de Tp-1 (Figura 22, Página 92) mostrou um pico do íon molecular em m/z 299,06, compatível com a fórmula molecular $C_{17}H_{14}O_5$, o que permitiu corroborar o composto como sendo o 5-Hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona, conhecido também como 7,4'- dimetilapigenina (Figura 17; Tabela 12, Página 87). Isolada anteriormente das famílias Asteraceae (NKUNYA, 1992), Betulaceae (HARBORNE, 1999), Labiatae (BORDIGNON, 2003), Piperaceae (WU,2005) e Stilbaceae (MAMBU, 2006). Sendo relatada a primeira vez na família Cactaceae. Esse flavanóide apresenta atividade gastroprotetora confirmada (BABU et al., 2010) e atividade antiinflamatória em ratos (SALAMA; AVENDANO, 2005).

Tabela 12- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (400 e 100 MHz, Acetona - d_6) de Tp-2, em comparação aos dados obtidos por Maia, 2011.

Posição	HMQC		HMBC	Referência	
	δ_{H} Tp-2	δ_{C} Tp-1	$\delta_{\text{H}} \times \delta_{\text{C}}$	δ_{C}	δ_{H}
2	-	-	-	162,5	-
3	6,69 (s-1H)	104,46	C4	103,7	6,83 (s -1H)
4	-	181,26	-	182,0	-
5	-	158,09	-	157,3	-
6	6,27 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)	99,54	C8; C7; C9; C10	98,1	6,30 (d -1H)
7	-	165,01	-	165,2	-
8	6,51 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)	94,58	C7; C6; C5; C10	92,8	6,70 (d-1H)
9	-	162,31	-	161,2	-
10	-	106,65	-	104,8	-
1'	-	122,84	-	122,7	-
2'/6'	8,02 (dd, $J=8,9$ e $2,0$ Hz, 2H)	131,24	C3'/5'; C1'; C4'	128,4	7,98 (dd, 2H)
3'/5'	7,02 (dd, $J=8,9$ e $2,0$ Hz, 2H)	116,50	C2'/6'; C4'	114,6	7,04 (dd,2H)
4'	-	161,05	-	163,7	-
5-OH	12,81 (s,1H)	-	C10; C6	-	12,84 (s,1H)
7- MeOH	3,83 (s, 3H)	59,49	-	56,1	3,80 (s, 3H)
4'-MeOH	3,88 (s, 3H)	55,76	-	55,6	3,80 (s, 3H)

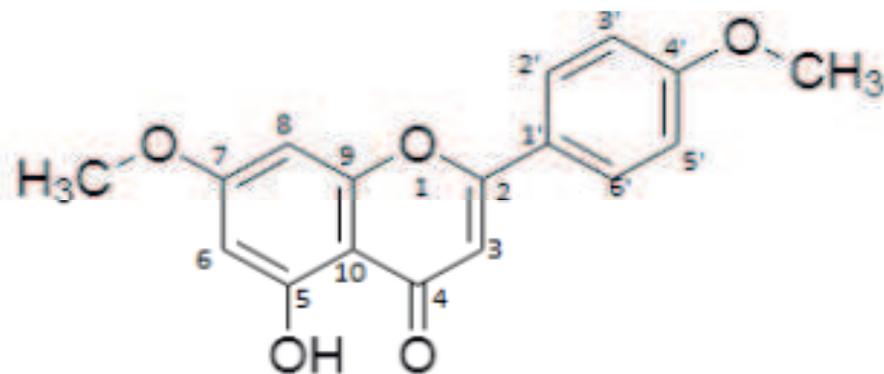


Figura 17. 5-Hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (Tp-2)

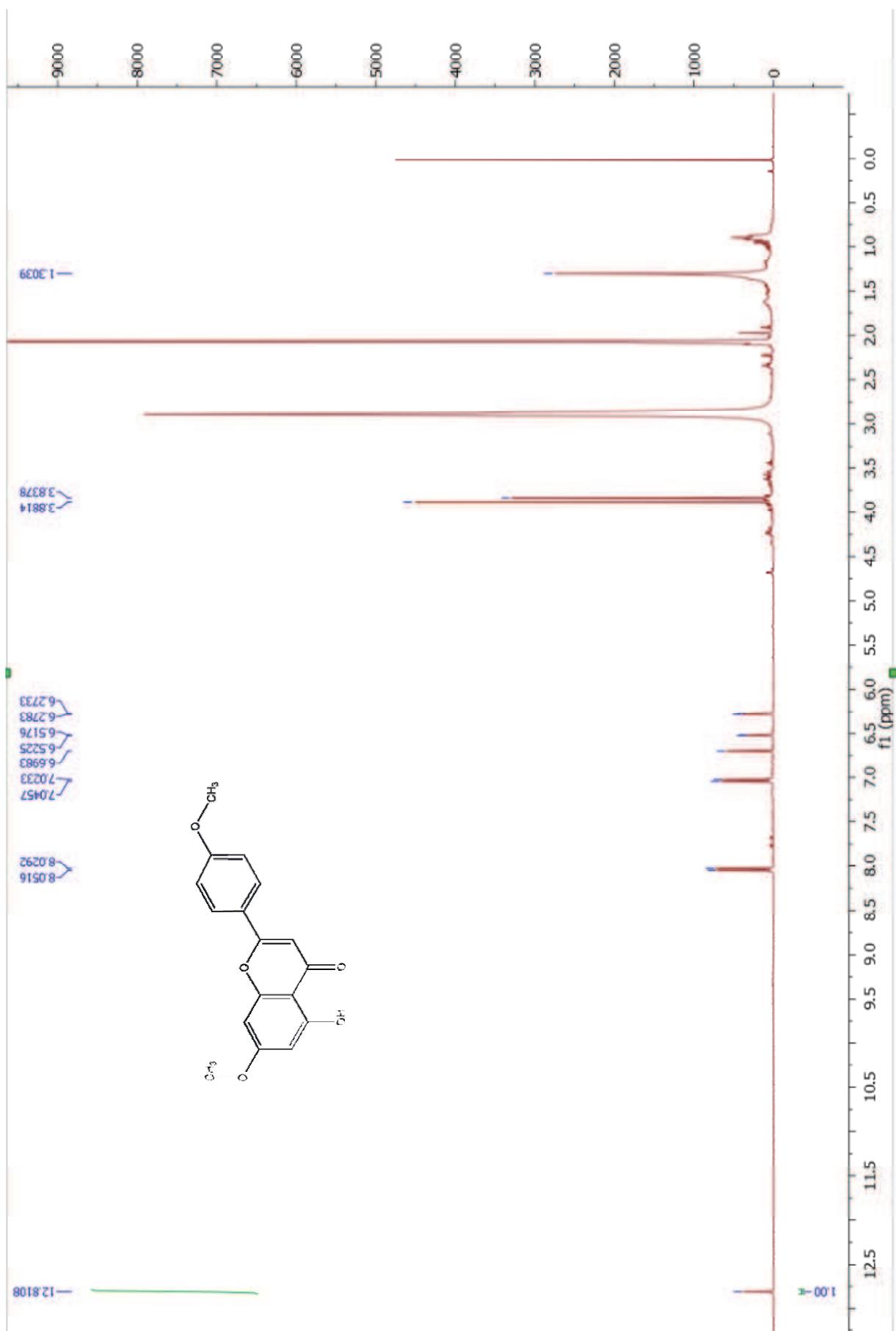


Figura 18. Espectro obtido em Acetona d_6 de RMN de ^1H (400 MHz) do composto Tp-2.

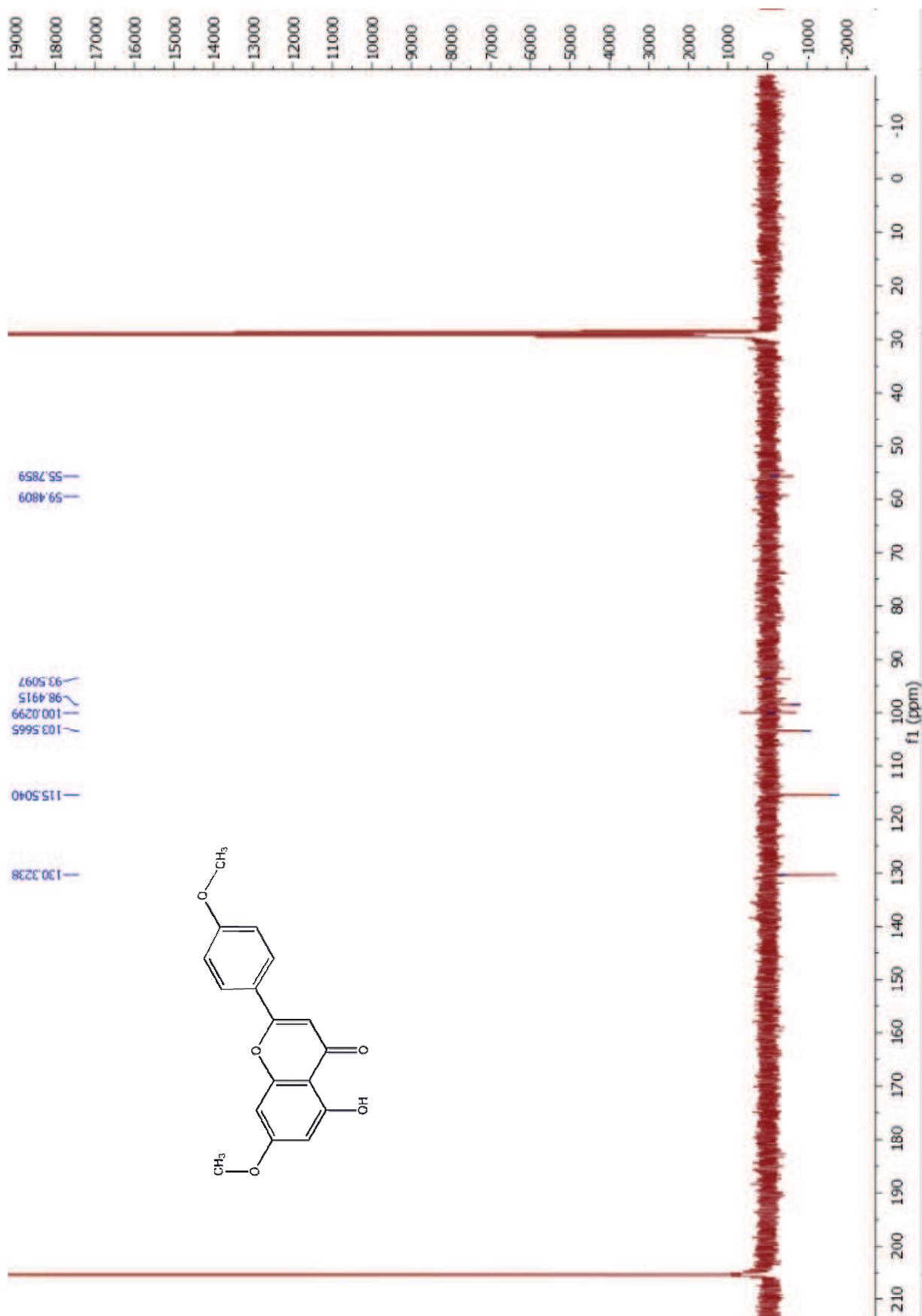


Figura 19. Espectro obtido em Acetona d₆ de RMN de ¹³C (100 MHz) do composto

Tp-2

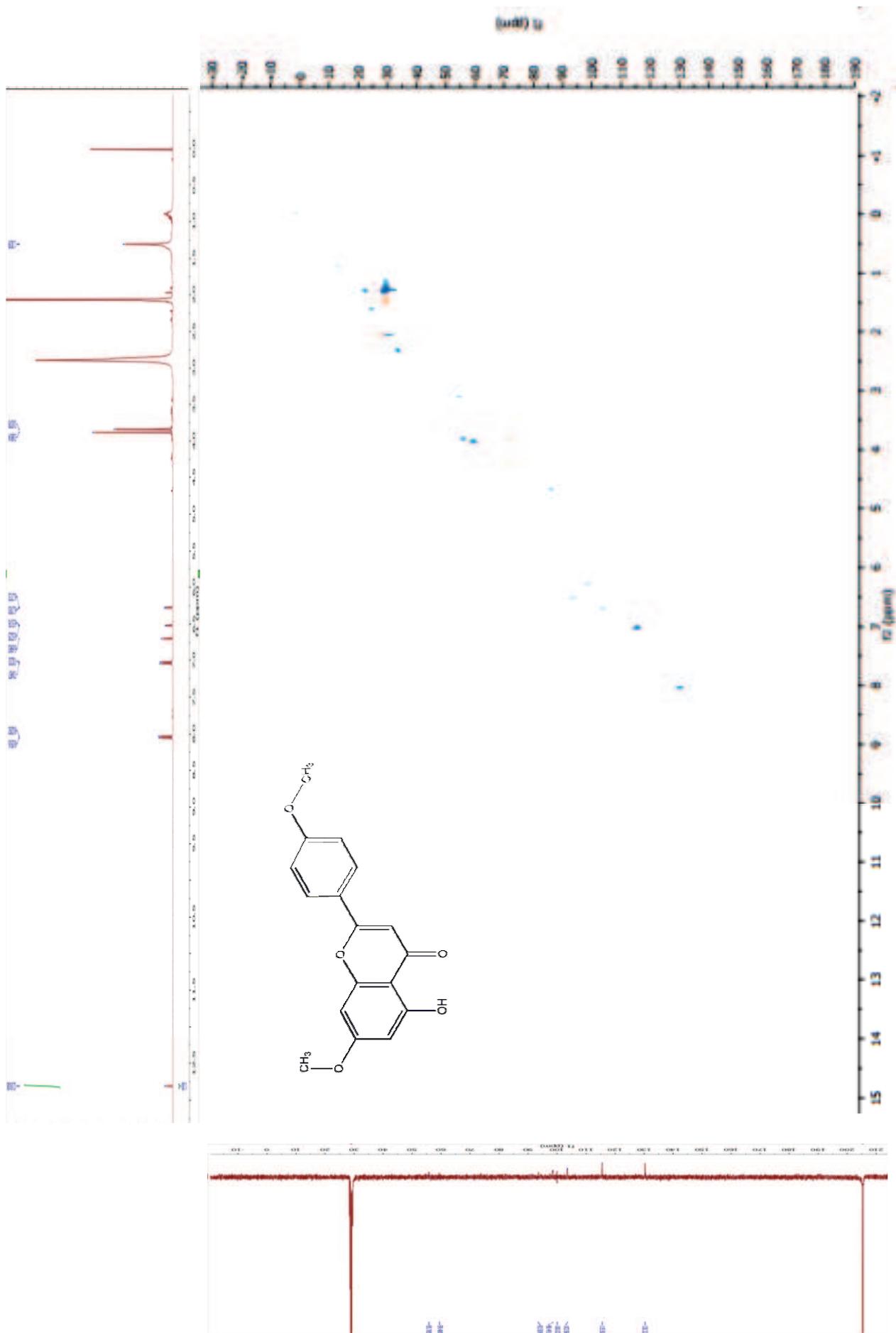


Figura 20. Mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em Acetona d_6 do composto Tp-2.

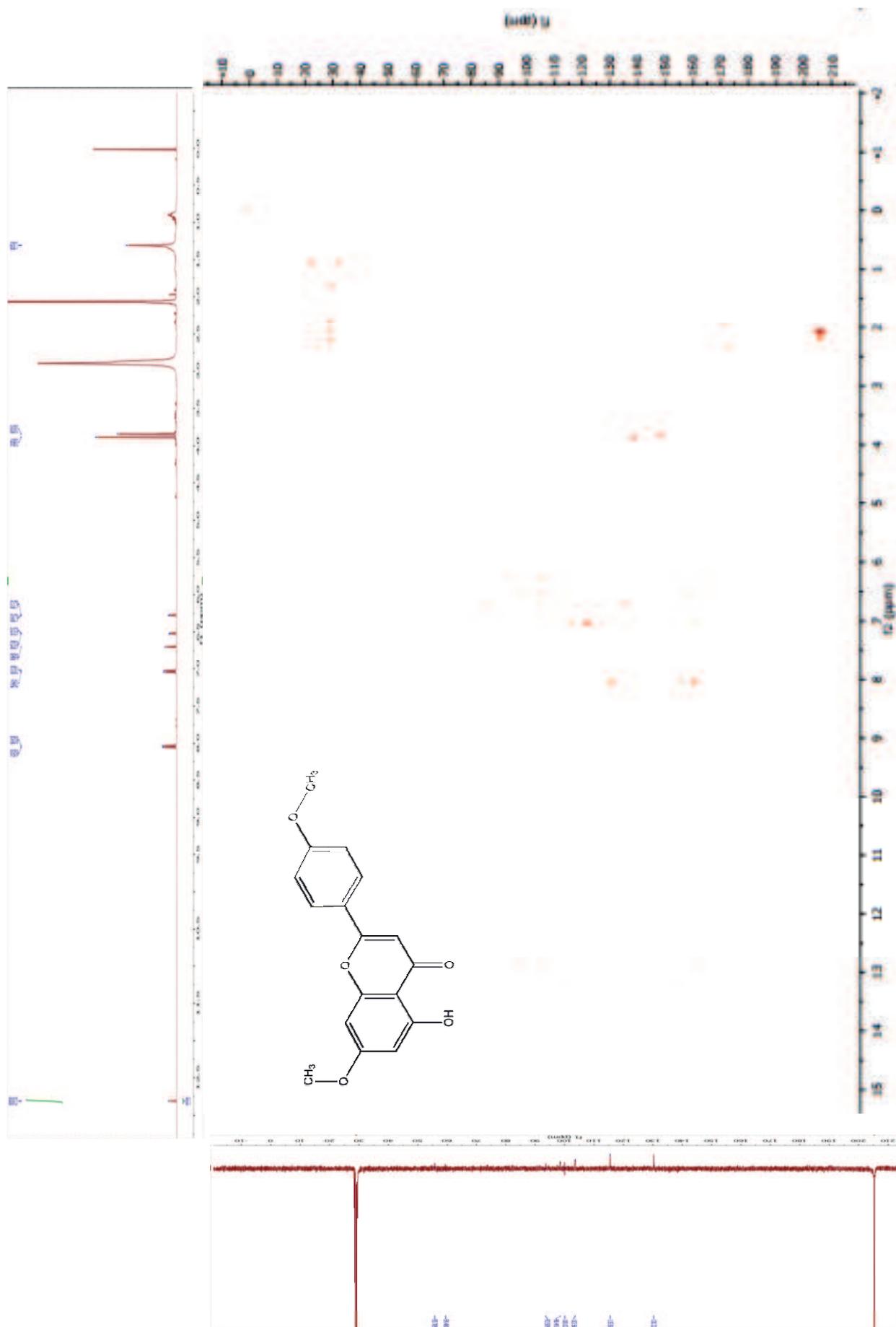


Figura 21. Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em Acetona d_6 do composto Tp-2.

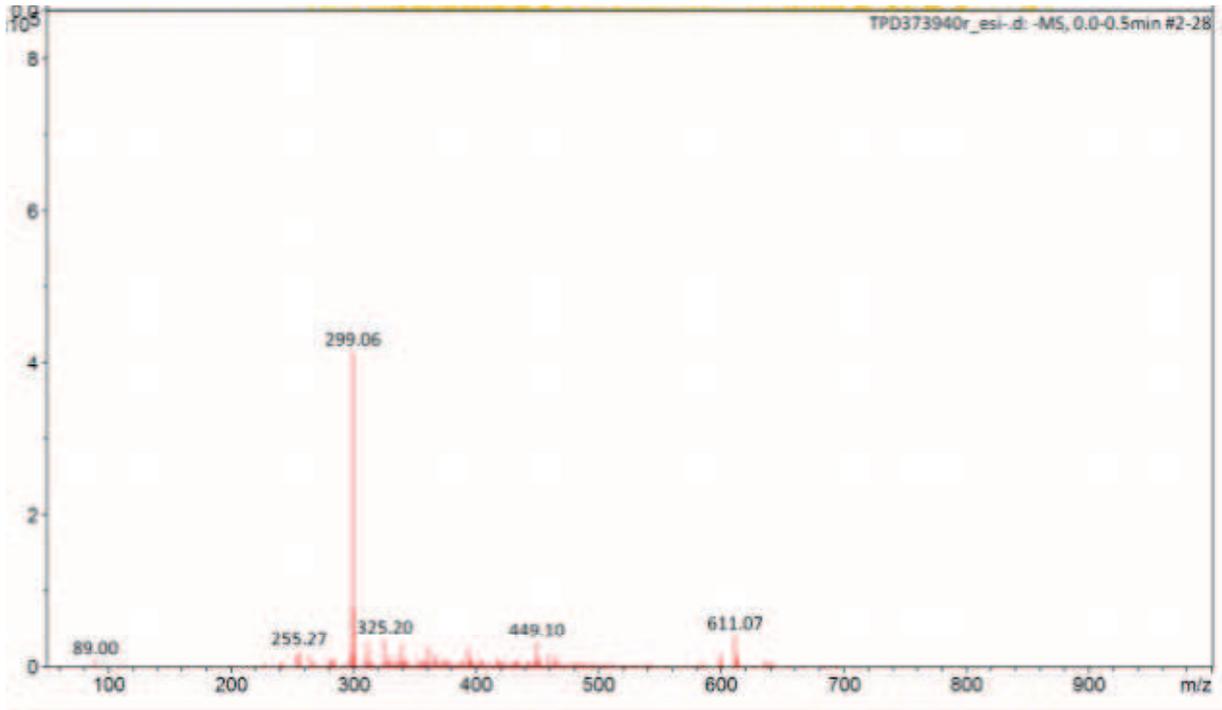


Figura 22. Espectro de massa do composto Tp-2.

5.3.3 Identificação de Tp-3

O constituinte químico codificado como Tp-3, foi isolado da fase AcEOT, fração 27 – 29. Este constituinte apresentou-se como um sólido amarelo, com peso de 3,3 mg, solúvel em Acetona.

No espectro de RMN de ^1H (δ , Acetona - d_6 , 400 MHz), (Figura 24, Página 95) observou-se sinais com deslocamentos químicos em δ_{H} 7,57 (1H, d, $J = 1,96$ Hz); δ_{H} 7,59 (1H, dd, $J = 8,2$ Hz e 1,96 Hz) e δ_{H} 6,91 (1H, d, $J = 8,2$ Hz), sugestivo da presença de anel aromático trissubstituído com padrão de substituição 1,3,4. O espectro apresentou ainda um singlete em δ_{H} 3,90 (3H) característico da presença de metoxila aromática na molécula (ZENG, YE, CHENG et al., 2013).

No espectro de RMN ^{13}C (δ , Acetona - d_6 , 100 MHz) técnica APT (Figura 25, Página 96) foram vistos sinais, sendo 1 para carbono não hidrogenado (δ_{C} 152,02), 3 para carbonos metínicos (δ_{C} 128,84; 115,48 e 113,45) e 1 para carbono metílico (δ_{C} 56,30).

No mapa de correlação heteronuclear HSQC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) foram visualizadas as correlações entre $\delta_{\text{H}} 7,59 / \delta_{\text{C}} 124,84$; $\delta_{\text{H}} 7,57 / \delta_{\text{C}} 113,45$; $\delta_{\text{H}} 6,91 / \delta_{\text{C}} 115,48$ (Figura 26, Página 97). A metoxila mostrou correlação no HSQC de $\delta_{\text{H}} 3,90 / \delta_{\text{C}} 56,30$. Já no mapa de correlação heteronuclear HMBC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) foram vistos correlações entre $\delta_{\text{H}} 7,59 / \delta_{\text{C}} 151,94$; $113,45$ e $167,27$; $\delta_{\text{H}} 7,57 / \delta_{\text{C}} 167,27$; $148,02$; $113,45$; $\delta_{\text{H}} 6,91 / \delta_{\text{C}} 151,94$; $148,02$ e $122,86$ (Figura 27, Página 98), o que permitiu atribuir $\delta_{\text{C}} 151,94$; $113,45$; $167,27$; $148,02$; $124,84$ e $122,86$ para os carbonos 4,2,7,3,6 e 1, respectivamente, e, por exclusão, $\delta_{\text{C}} 115,48$ para o carbono 5.

O espectro de massa (Figura 28, Página 99) mostrou o pico do íon molecular em $m/z 167,01$ (M-H^-), condizente com a fórmula molecular $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$, e que permite deduzir que o Tp-3 tratava-se do ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzóico, conhecido também como ácido vanílico (Figura 23; Tabela 13, Página 94). Esse composto já foi isolado nas famílias Asteraceae (NKUNYA, 1992), Betulaceae (HARBORNE, 1999), Labiatae (BORDIGNON, 2003), Piperaceae (WU, 2005), Malvaceae (MAMBU, 2006), entre outras. Na família Cactaceae foi isolado pela segunda vez, sendo anteriormente descrito na espécie *Opuntia dillenii* (CHEN, LIU, et al., 2009).

Tabela 13- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (400 e 100 MHz, Acetona - d_6) de Tp-3, em comparação aos dados obtidos por Lopes, 2014.

Posição	HMQC		HMBC	Referência	
	δ_{H} Tp-3	δ_{C} Tp-3	$\delta_{\text{H}} \times \delta_{\text{C}}$	δ_{C}	δ_{H}
1	-	127,6	-	123	-
2	7,57 (1H, d, $J = 1,96$)	113,45	C7; C3	115,7	7,57 (1H, d, $J = 1,6$)
3	-	148,02	-	148,6	-
4	-	151,94	-	152,6	-
5	6,91 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H)	115,48	C4; C2; C7	113,7	6,82 (1H, d, $J = 8,0$)
6	7,59 (dd, $J = 1,96$ e $8,2$ Hz, 1H)	124,84	C4; C2; C7	125,2	7,54 (1H, dd, $J = 8,0$ e $1,6$)
7	-	167,27	-	170	-
OCH ₃	3,90 (3H,s)	56,3	-	56,3	3,90 (3H, s)

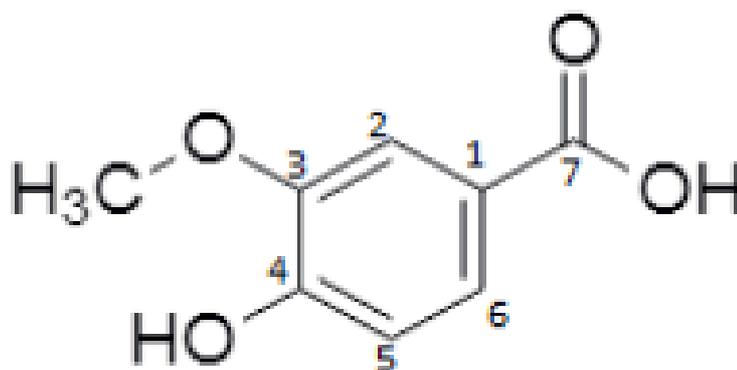


Figura 23. Ácido Vanílico(Tp-3).

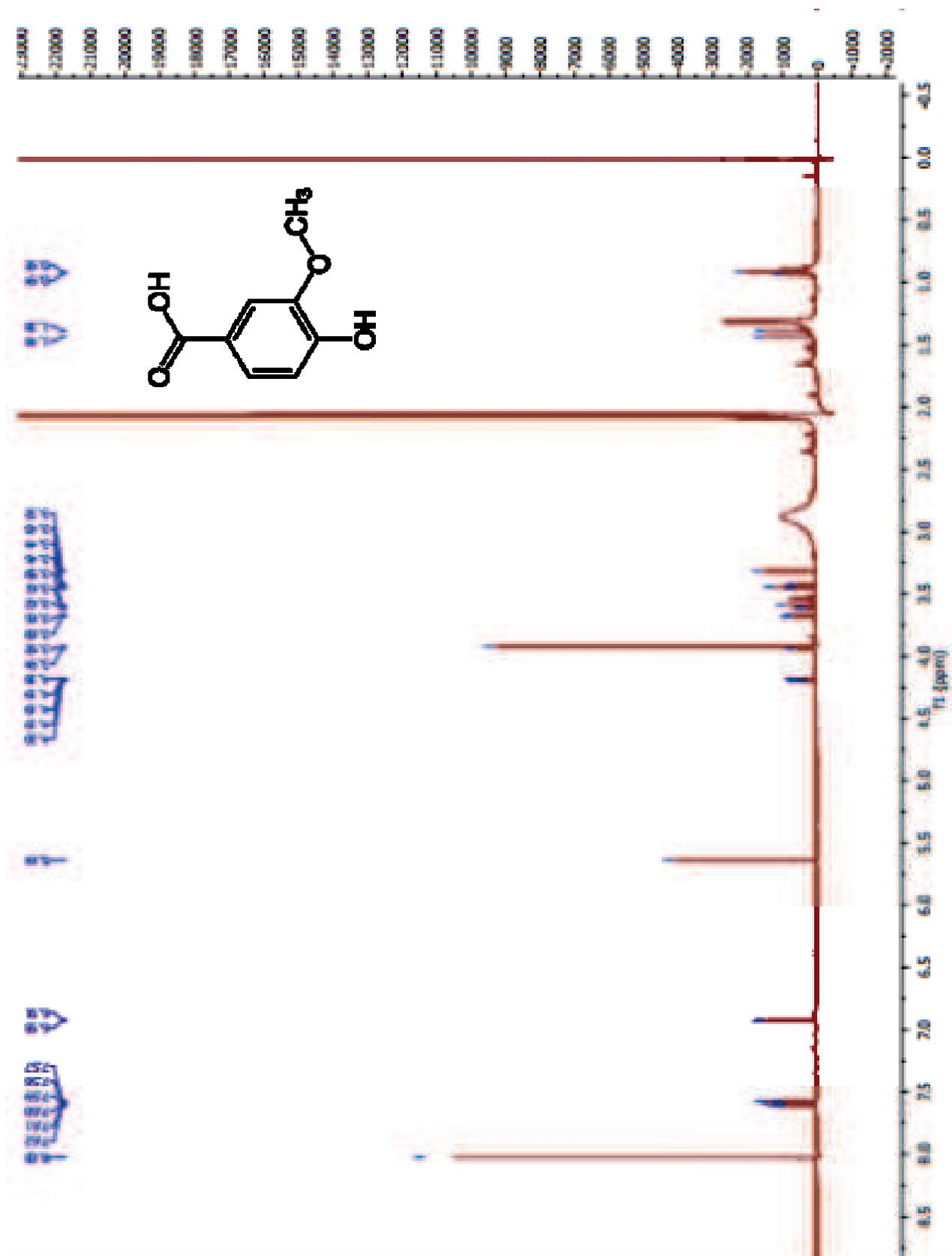


Figura 24. Espectro obtido em Acetona d_6 de RMN de ^1H (400 MHz) do composto Tp-3.

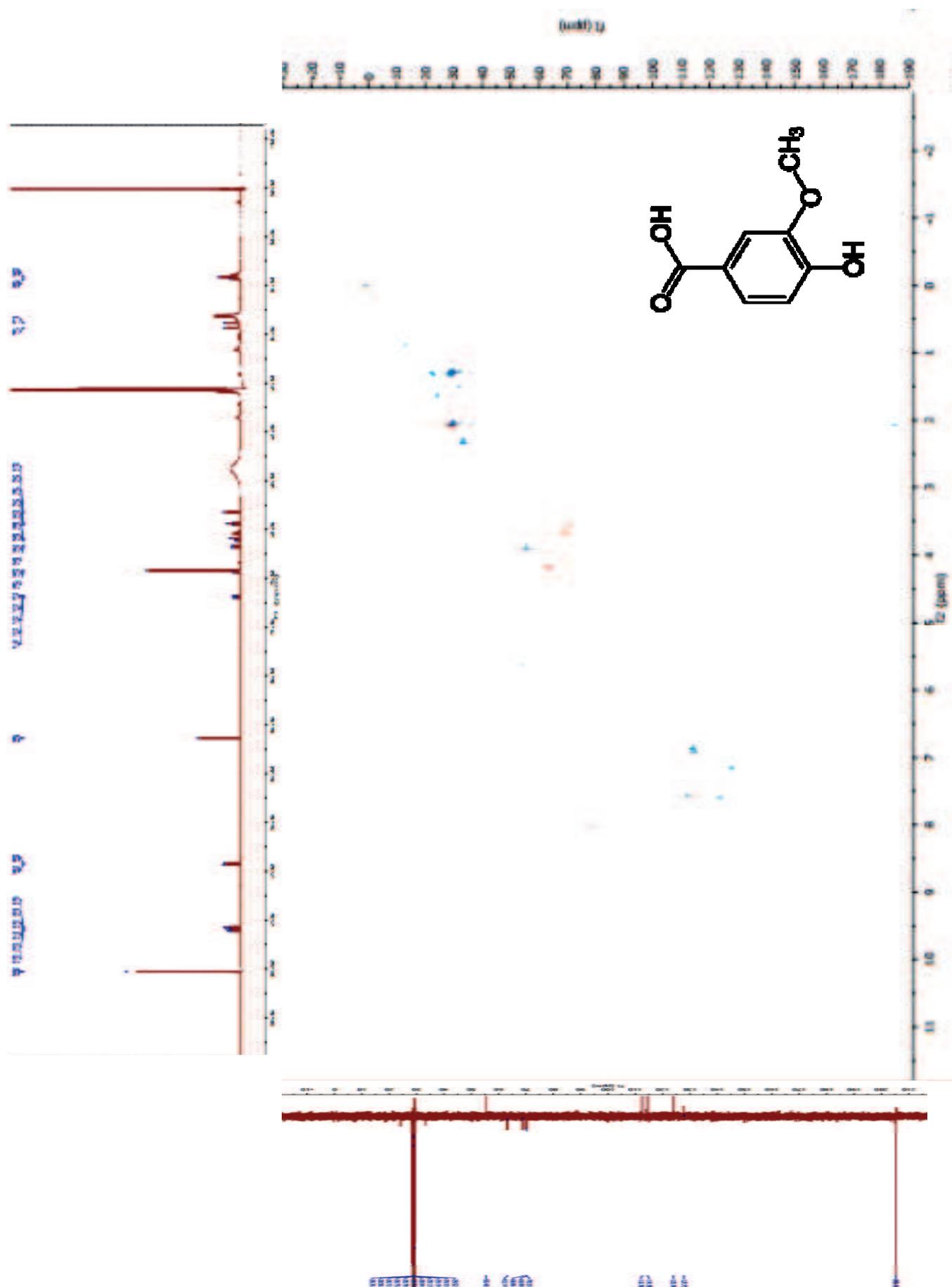


Figura 26. Mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em Acetona d_6 do composto Tp-3.

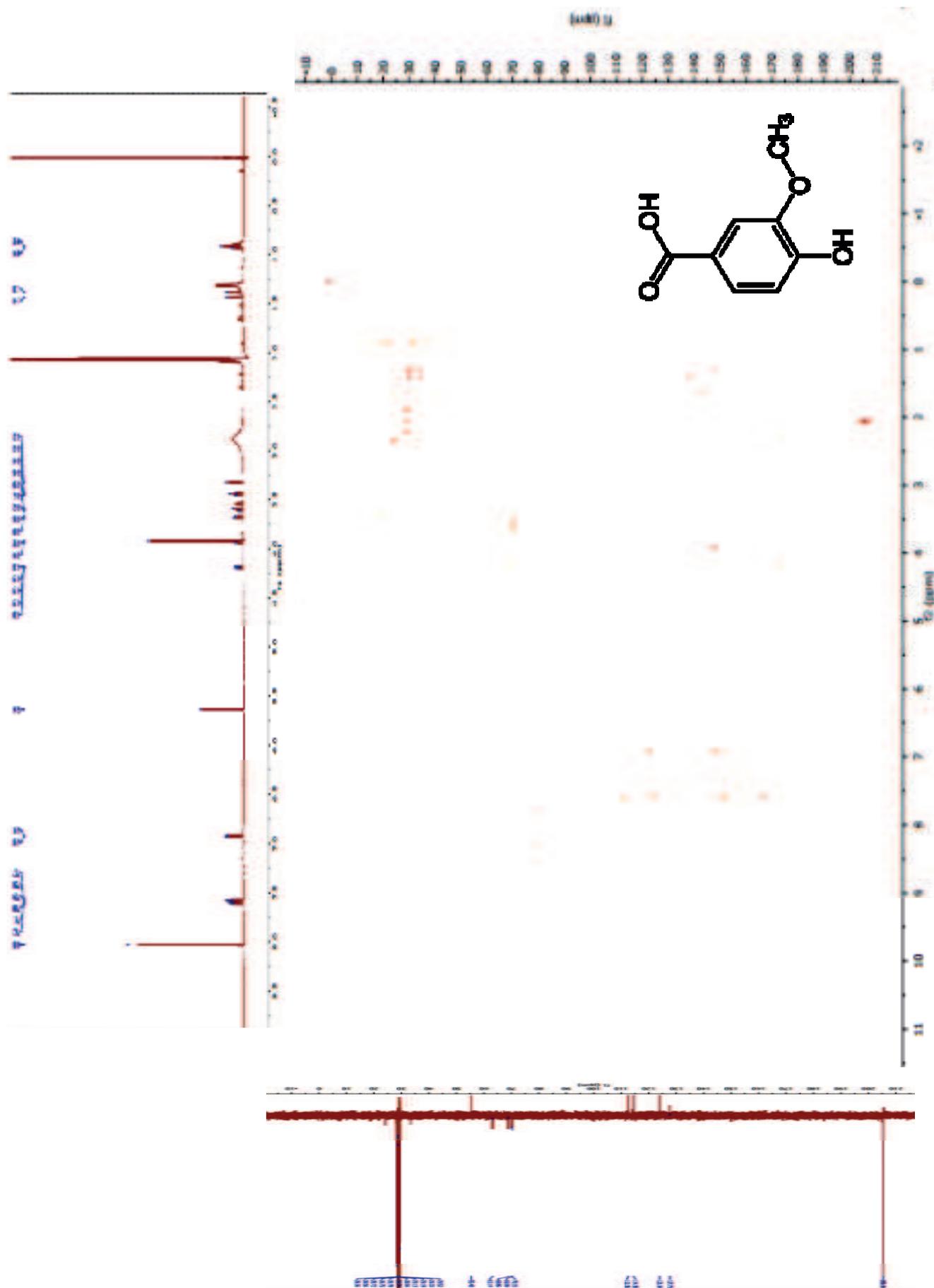


Figura 27. Mapa de contorno HMBC - ¹H x ¹³C em Acetona d₆ do composto Tp-3.

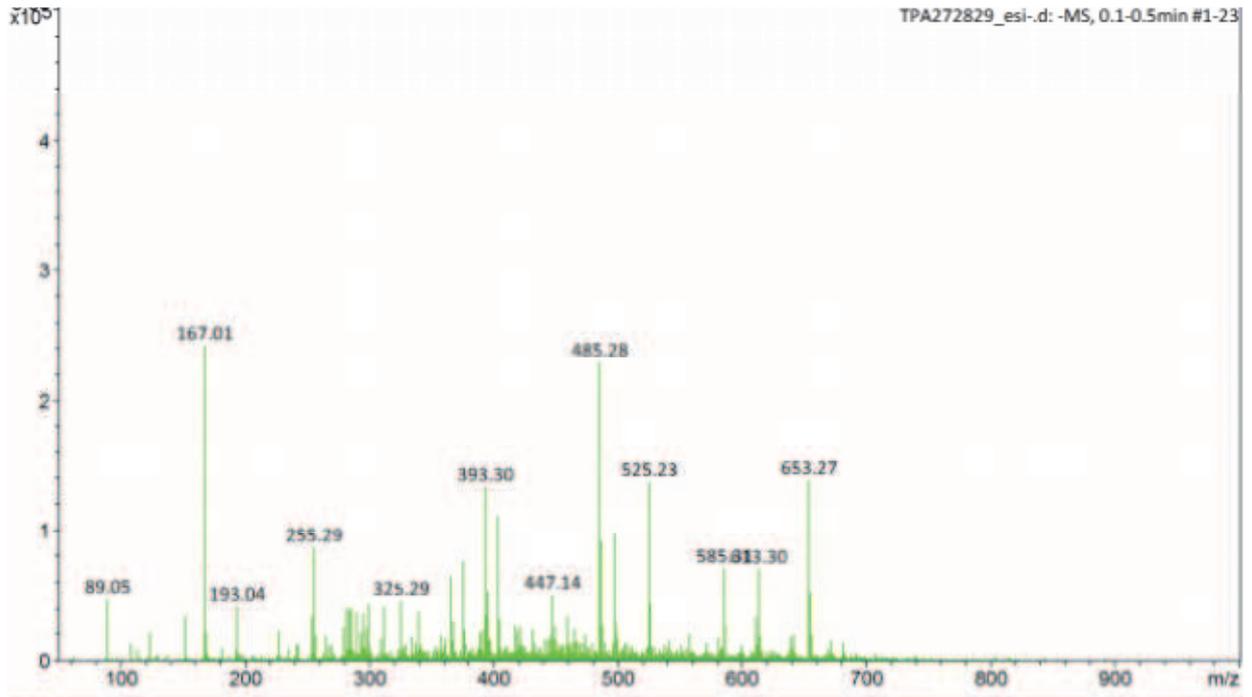


Figura 28. Espectro de massa do composto Tp-3.

5.3.4 Identificação de Tp-4

O constituinte químico codificado como Tp-4, foi isolado do EHAN, fração 6. Este constituinte apresentou-se como um sólido amarelo, com peso de 3,5 mg, solúvel em CHCl_3 .

No espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz), (Figura 30, Página 102) observou-se um quarteto em δ_{H} 4,12 (2H, q, $J = 7,2$ Hz), um triplete em δ_{H} 2,28 (3H, t, $J = 7,32$ Hz), e outro triplete em δ_{H} 0,87 (3H, t, $J = 5,52$ Hz). Sinais na região entre δ_{H} 1,27-1,61 sugerem a presença de uma substância alifática de cadeia longa, provavelmente um éster etílico de ácido graxo (SIMÕES, 2007).

No espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz), técnica BB (Figura 31, Página 103), mostrou a presença de um sinal δ_{C} 60,30, sugestivo para um grupo metilênico oxigenado e de 3 sinais em δ_{C} 34,56; δ_{C} 14,41; δ_{C} 14,27, o primeiro característico de CH_2 e os dois últimos de metilas, além de sinais entre δ_{C} 32,08-22,93 sugestivos também para grupamentos metilênicos (YAMAJI, et.al. 2014)

No mapa de contorno heteronuclelar HSQC observa-se correlações entre δ_{H} 4,12/ δ_{C} 60,30; δ_{H} 2,28/ δ_{C} 34,56; δ_{H} 1,60/ δ_{C} 25,06; δ_{H} 1,23/ δ_{C} 14,57; δ_{H} 0,87/ δ_{C}

14,27 (Figura 32, Página 104). Os grupos metílenos mostraram correlações no HSQC em δ_H 1,40 a 1,23 / δ_C 32 á 22. Já no mapa de correlação heteronuclear HMBC ($^1H \times ^{13}C$) observa-se correlações entre δ_H 4,12/ δ_C 174 e 14,27; δ_H 2,28/ δ_C 29,59; 25,06; 174,0 ; δ_H 0,87/ δ_C 22,93; 31,75 (Figura 33, Página 105). O que permitiu atribuir os valores de deslocamentos químicos em δ_C 174,0; 34,56; 25,06; 14,27; 60,30 e 14,54, para os carbonos 1,2,3,16,17,18, respectivamente. E sinais de δ_C 29,1 – 29,8 aos carbonos de 4 á 13.

Outro método utilizado para a caracterização da molécula foi à espectrometria de massas. Os fragmentogramas dos ésteres saturados são bastante similares, podendo ser observado o sinal do íon molecular e dois sinais característicos em m/z 88 e outro em m/z 110. O sinal em m/z 88 é devido ao rearranjo de McLaffert com a quebra da ligação β em relação ao grupo C=O. O sinal em m/z 101 corresponde à quebra da ligação γ à carbonila (SIMÕES, 2007).

O fragmentograma da Tp-4 (Figura 34, Página 106) mostrou o pico do íon molecular em m/z 284, condizente com a fórmula molecular $C_{18}H_{36}O_2$, e que permite deduzir que o Tp-4 trata-se do Hexadecanoato de etila, conhecido também como Palmitato de etila (Figura 29; Tabela 14). A Tabela 15 (Página 106) apresenta os principais fragmentos propostos. Isolada anteriormente na família Araceae (FEITOSA, et. al. 2007) como também nas famílias Moringaceae (NEPOLEAN, ET.al. 2009), Melastomataceae (JOSHI, ET.al. 2009), Asteraceae (BORDIGNON, 2003), entre outras. Sendo relatada a primeira vez na família Cactaceae.

Tabela 14- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (400 e 100 MHz, CDCl_3) de Tp-4 em comparação aos dados obtidos por Feitosa, 2007.

Posição	HMQC		HMBC	Referência	
	δ_{H} Tp-4	δ_{C} Tp-4	$\delta_{\text{H}} \times \delta_{\text{C}}$	δ_{C}	δ_{H}
1	-	174,0	-	174,1	-
2	2,28 (3H, t, $J = 7,32$ Hz)	34,56	C7; C3	34,6	2,28 (t; $J = 7,3$; 2H)
3	1,60 (m, 2H)	25,06	-	25,2	1,59 (m, 2H)
4 á 13	1,40 a 1,23 (sl)	29,1 - 29,8	-	29,4 – 29,9	1.46 a 1.05 (sl)
14	1,25 (sl)	31,75	C4; C2; C7	32,2	1.46 a 1.05 (sl)
15	1,40 a 1,23 (sl)	22,93	C4; C2; C7	22,9	1.46 a 1.05 (sl)
16	0,87 (3H, t, $J = 5,52$ Hz)	14,27	-	14,3	0,87 (t; $J = 5,5$; 3H)
17	4,12 (2H, q, $J = 7,2$ Hz)	60,30	-	60,4	4,11 (q; $J = 7,3$; 2H)
18	1,23 (s)	14,54		14,5	1,251 (s)

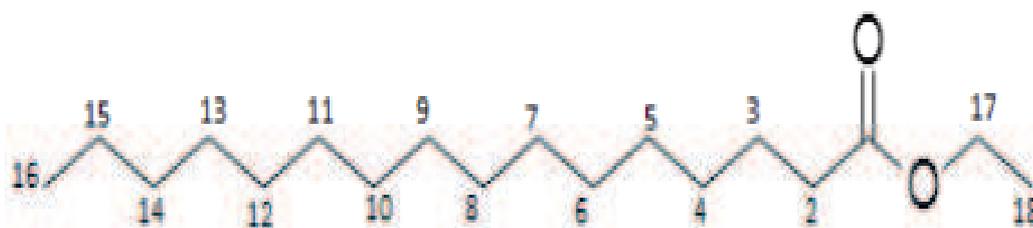


Figura 29. Palmitato de etila (Tp-4).

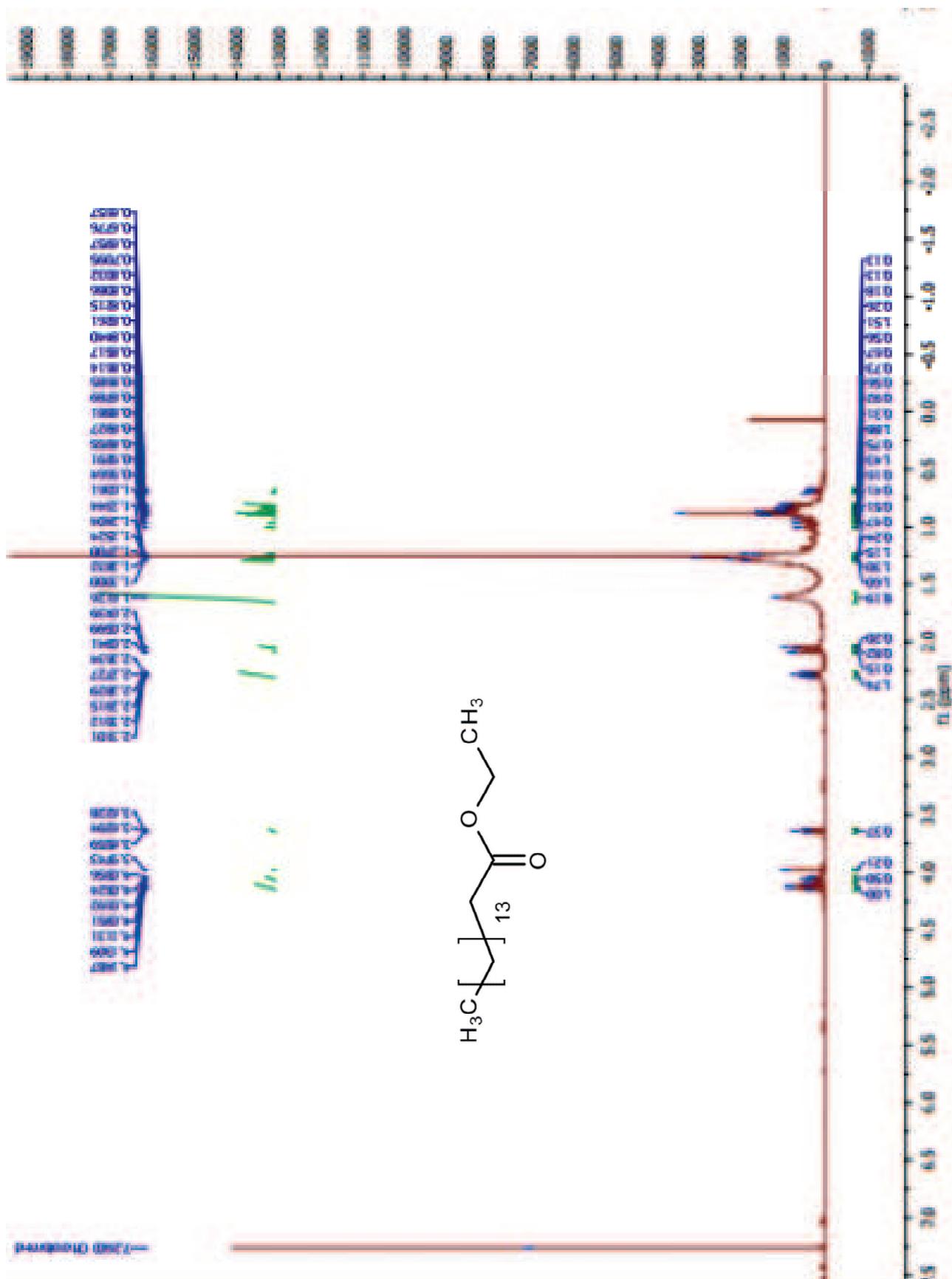


Figura 30. Espectro obtido em CDCl₃ de RMN de ¹H (400 MHz) do composto Tp-4.

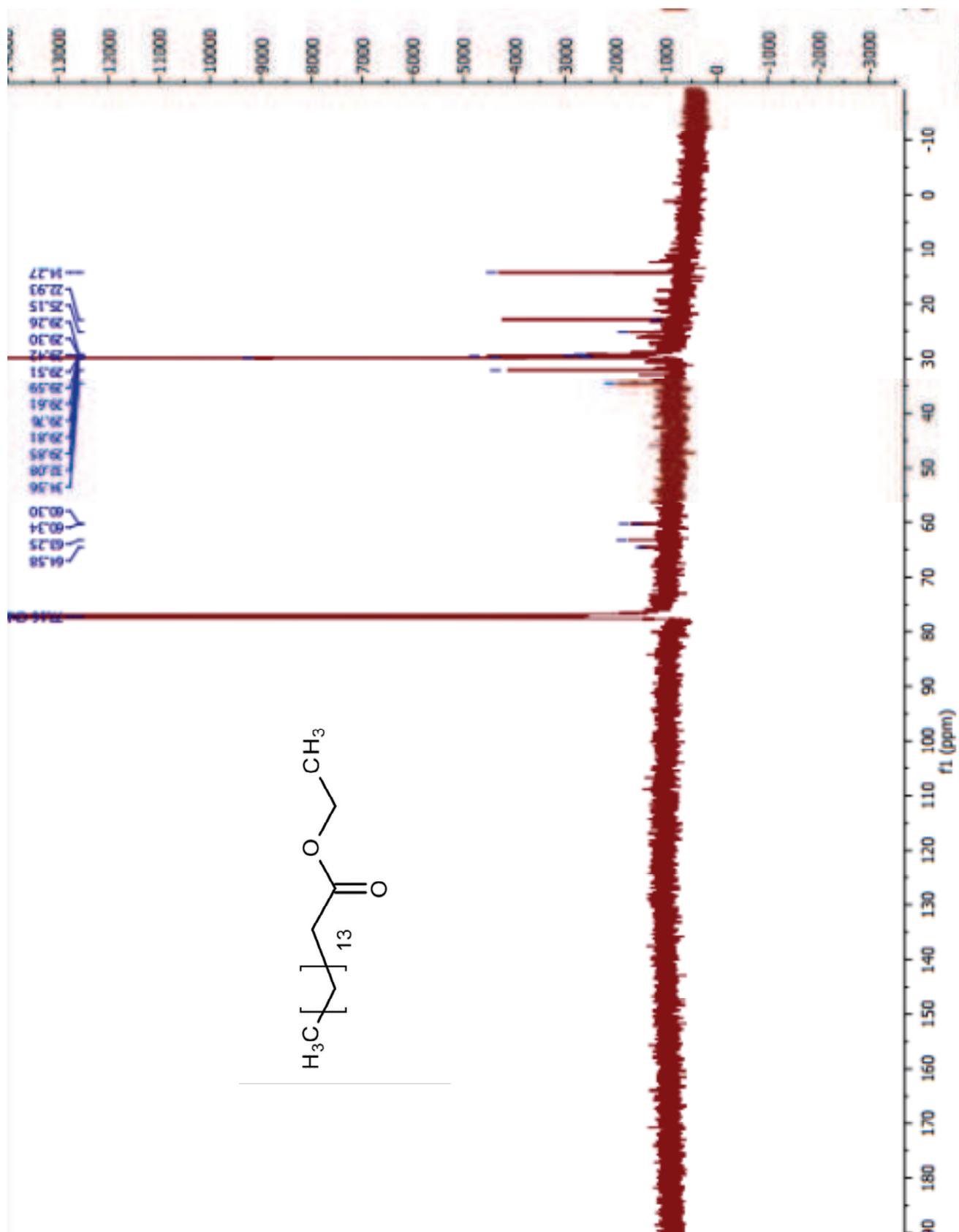


Figura 31. Espectro obtido em CDCl_3 de RMN de ^{13}C (100 MHz) do composto Tp-4.

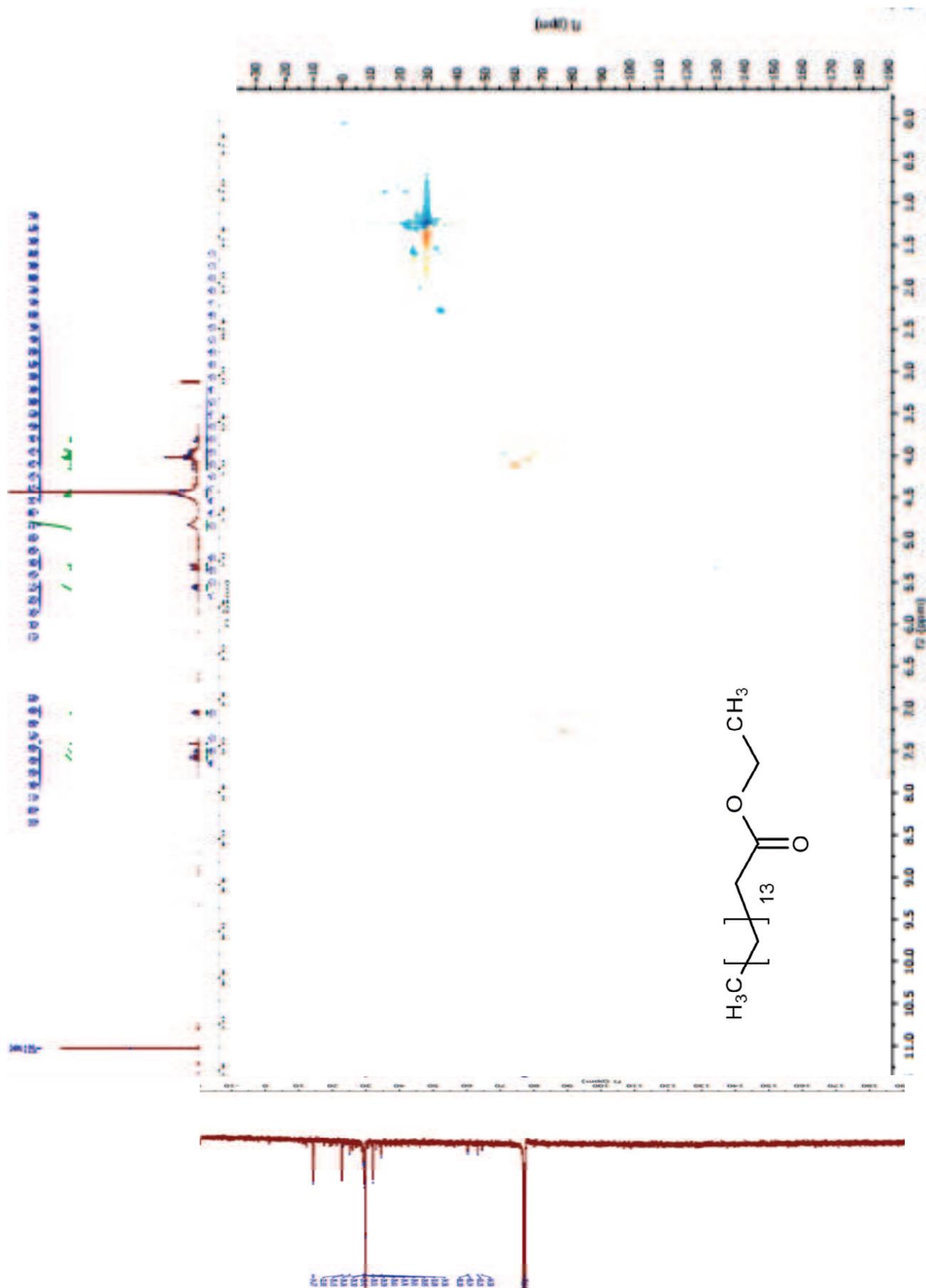


Figura 32. Mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em CDCl_3 do composto Tp-4.

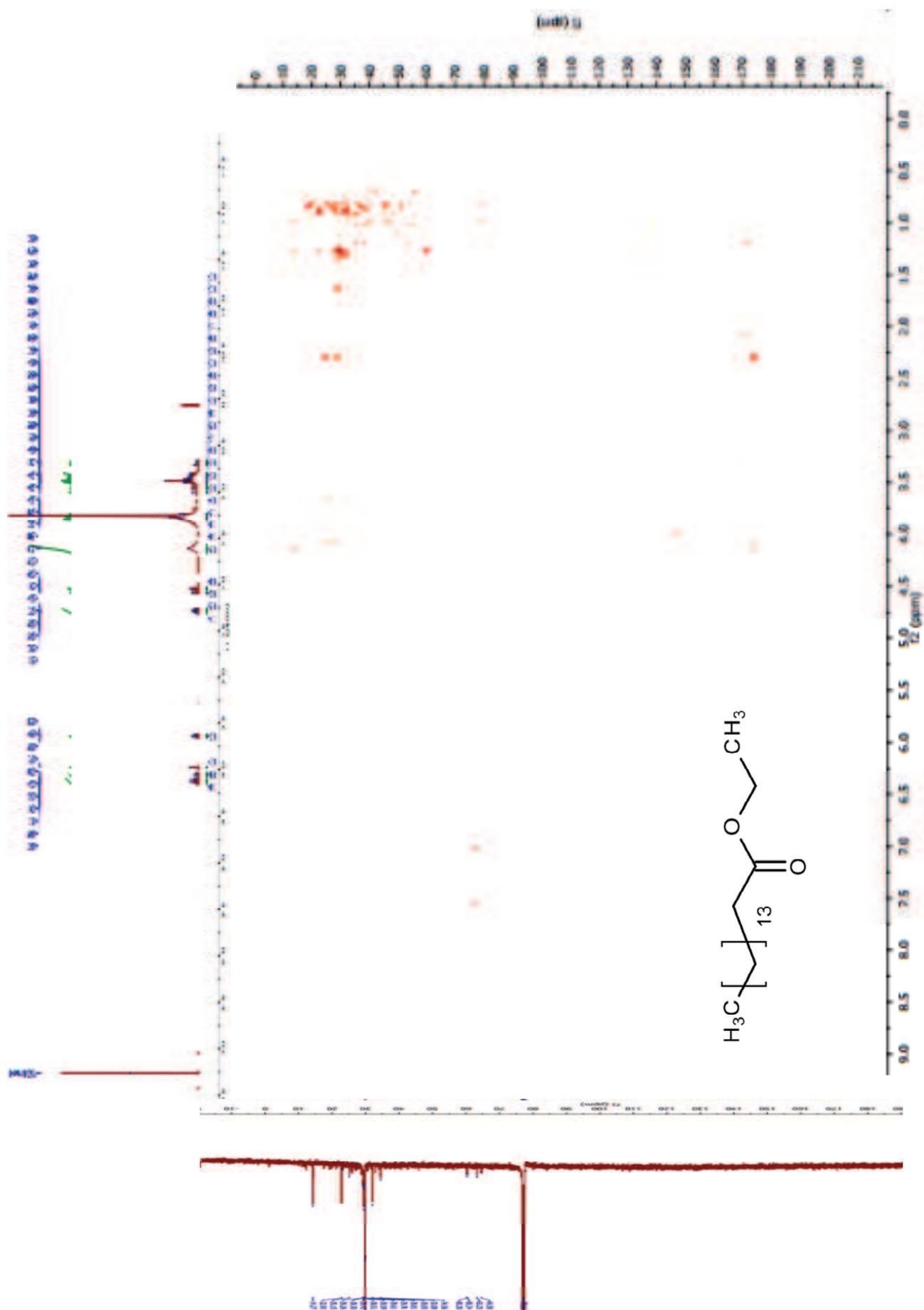


Figura 33. Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ em CDCl_3 do composto Tp-4.

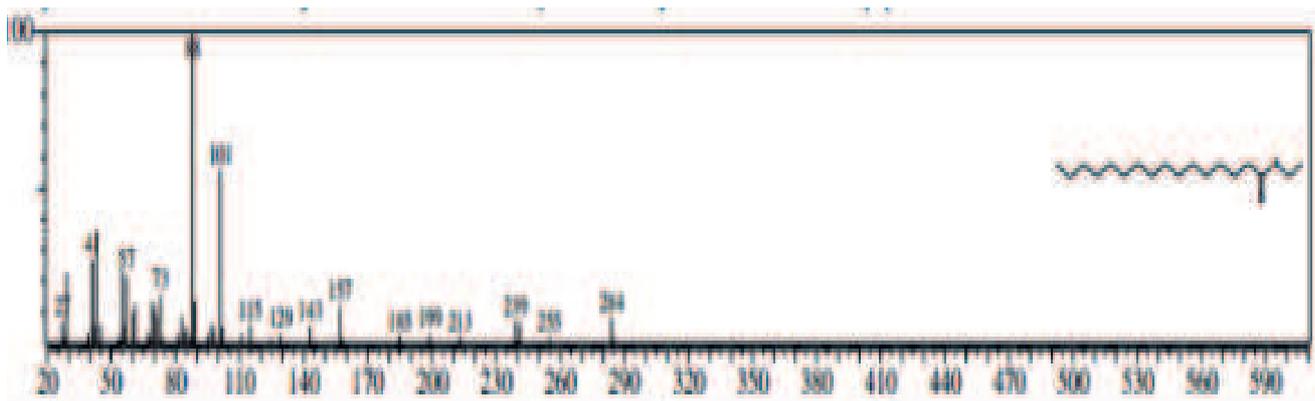
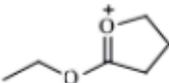
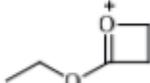
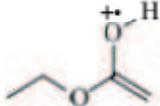


Figura 34 – Fragmentograma do Tp-4.

Tabela 15 – Principais fragmentos propostos para o Tp-4.

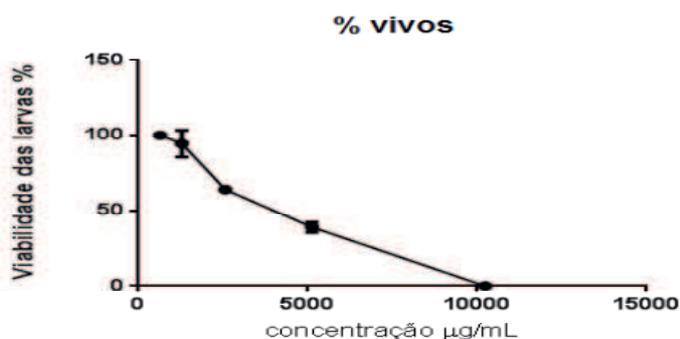
Íons m/z	Intensidade	Fragmento iônico	Origem
284	10%	$[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOC}_2\text{H}_5]^+$	Íon molecular
115	6%		Clivagem δ à carbonila
101	57%		Clivagem γ à carbonila
88	100%		Rearranjo de McLaffert
73	15%		Clivagem α à carbonila

5.4 Atividade frente à *Artemia Salina*

Os valores de CL_{50} foram calculados através da expressão dos resultados como uma percentagem dos controles, sendo determinados graficamente a partir da curva de concentração-resposta por regressão não-linear com intervalo de confiança de 95%.

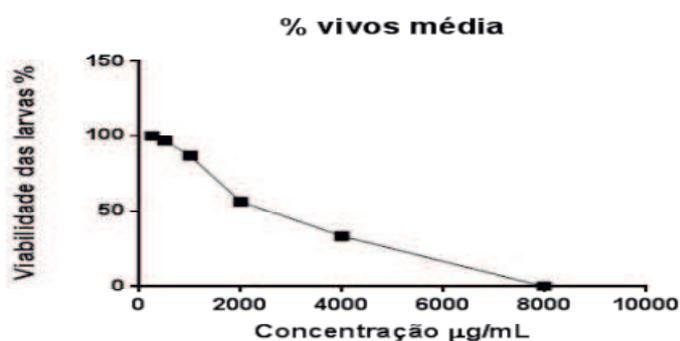
O valor da CL_{50} do extrato Hex da raiz da espécie *T. palmadora* foi de 7141 (1394 – 36579) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, como mostra o Gráfico 1.

Gráfico 1. Concentração letal média (CL_{50}) do extrato hexano da raiz de *T. palmadora*.



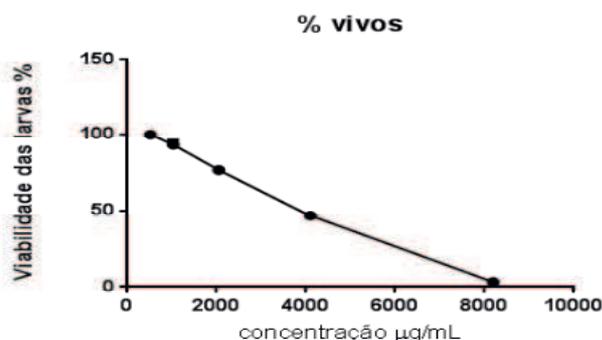
O valor da CL_{50} do extrato CH_2Cl_2 da raiz da espécie *T. palmadora* foi de 3719 (2400 – 5763) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Gráfico 2).

Gráfico 2. Concentração letal média (CL_{50}) do extrato diclorometano de *T. palmadora*.



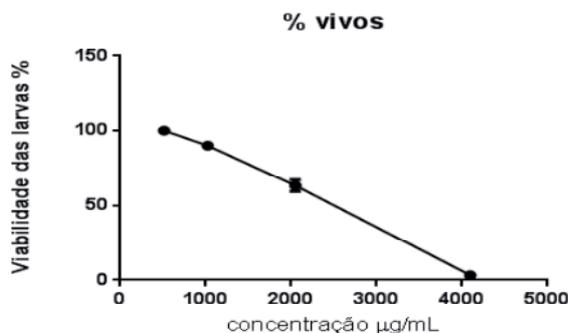
O valor da CL_{50} do extrato AcEOT da raiz da espécie *T. palmadora* foi de 7730 (3376 – 17698) $\mu\text{g.mL}^{-1}$, como mostra o Gráfico 3.

Gráfico 3. Concentração letal média (CL_{50}) do extrato acetato da raiz da *Tacinga palmadora*.



O valor da CL_{50} do extrato EtOH de *T. palmadora* foi de ~7726 (Não mensurado) $\mu\text{g.mL}^{-1}$, como demonstra o Gráfico 4:

Gráfico 4. Concentração letal média (CL_{50}) do extrato etanol de *Tacinga palmadora*.



A determinação da CL_{50} que é realizada por meio do uso de metanúplios de *A. salina* Leach, fornece um indicativo do nível de toxicidade de uma determinada substância. Resultados menores que $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ apontam como sendo um produto altamente tóxico, entre 100 a $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ indica uma toxicidade moderada, entre 500 a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ baixa toxicidade e acima de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ representa uma amostra atóxica (SOUZA et.al., 2015).

Observou que os valores da CL_{50} dos extratos apresentaram atividade pouco significativa ($CL_{50} > 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$), mostrando menor toxicidade diante deste método. Entretanto, isto não significa que estes extratos sejam menos tóxicos, pois a

toxicidade pode estar relacionada com compostos termo ou fotosensíveis, que não foram detectados por este método (SOUZA et.al., 2015).

5.5 Atividade antimicrobiana in vitro

5.5.1 Determinação da CIM

Os valores de CIM obtidos nos ensaios microbiológicos frente as cepas bacterianas estão descritos na Tabela 16. Percebe-se que não houve nenhuma atividade em relação os quatros extratos estudadas frentes as cepas testadas.

Tabela 16. Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos da *Tacinga palmadora* frente às bactérias.

Amostras testadas (Extratos)	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		
	Micro-organismos		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Hex	-	-	-
CH ₂ Cl ₂	-	-	-
AcOET	-	-	-
EtOH	-	-	-

Os valores da CIM obtidos nos ensaios microbiológicos frente às cepas fúngicas estão descritos na Tabela 17.

Tabela 17. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de *Tacinga palmadora* frente às cepas fúngicas.

Amostras testadas (Extratos)	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		
	Micro-organismos		
	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. tropicalis</i>
Hex	255	127,5	63,75
CH ₂ Cl ₂	-	-	127,5
AcOET	510	12,75	63,75
EtOH	15,93	31,87	15,93

A CIM é definida como a menor concentração dos produtos capaz de inibir o crescimento dos microrganismos. Segundo Freire et al. (2015) são considerados os mais fortes inibidores os extratos com CIM até $\leq 100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, fortes inibidores de $101 \mu\text{g.mL}^{-1}$ a $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, inibidores moderados aqueles entre $501 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e inibidores fracos os que apresentam CIM acima entre $1001 \mu\text{g.mL}^{-1}$ a $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Dessa forma, os resultados apresentados nesta pesquisa revelam que todas as fases obtidas da raiz da *T.palmadora* mostram um forte efeito antifúngico.

No teste da atividade antifúngica, os extratos AcT, EtOH e Hex da *T. palmadora* foram as mais ativas contra as cepas fúngicas. Pode-se correlacionar esta atividade ao uso popular da espécie, visto que esta é usada para infecções na uretra. Atualmente a *C. albicans* tem sido citada como a espécie mais frequentemente isolada em infecções urinárias por fungo unicelular, seguida da *C. glabrata* (OLIVEIRA, et.al., 2013).

Daferera et.al. (2003) aponta que uso de extratos vegetais proporciona dificuldades para adaptabilidade microbiana e, conseqüentemente menor probabilidade de geração de linhagens resistentes, devido ao grande número de compostos presentes no extrato vegetal, sendo assim dificultando mecanismo de resistência frente a todas substâncias.

Estudos realizados com a CIM do extrato etanólico de raízes de *P. gounellei* segundo Oliveira (2011), demonstrou atividade contra *S. aureus* padrão ($128 \mu\text{g.mL}^{-1}$

¹), *Micrococcus luteus* (64 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), *Mycobacterium smegmatis* (32 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), *Enterococcus faecalis* (>128 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Davet et al. (2009) verificou que o extrato bruto do lenho de *Cereus jamacaru*, apresentou fraca atividade frente a *S. aureus* (88,95 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), *P. aeruginosa* (44,47 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e *E. coli* (88,95 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e *K. pneumonie* (88,95 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

As plantas possuem várias vias metabólicas secundárias que dão origem a diversos compostos, sendo que muitos destes estão associados à atividade antifúngica como é o caso de saponinas, terpenos, alcaloides, cumarinas e taninos (RAJESHKUMAR & SUNDARARAMAN, 2012).

No *screening* fitoquímico qualitativo da droga vegetal, foi possível identificar a presença de alcaloides, esteroides e triterpenos, possivelmente são os principais responsáveis pela ação antifúngica.

5.6 Citotoxicidade em hemácias

A citotoxicidade frente a eritrócitos, um teste *in vitro* utilizado na triagem toxicológica de produtos naturais, representa um teste capaz de predispor resultados confiáveis, caso algum produto gere ações tóxicas ao organismo. Este teste age também como indicador de bioatividade e de triagem inicial para a seleção das amostras com potencial citotóxico (ARANHA, 2014).

As tabelas 18,19 e 20 apresentam o potencial hemolisante que os extratos demonstraram.

Tabela 18. Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com o extrato diclorometano da *Tacinga palmadora*.

1 mg.mL ⁻¹	2,5 mg.mL ⁻¹	5 mg.mL ⁻¹
1 A+ - 27,9978%	2 A+ - 72,2943%	3 A+ - 115,0157%
1 A+ - 33,6612%	2 A+ - 73,0492%	3 A+ - 111,4480%
1 A+ - 31,3019%	2 A+ - 68,4544%	3 A+ - 115,0157%
1 B+ - 34,7807%	2 B+ - 88,0979%	3 B+ - 122,0055%
1 B+ - 35,3027%	2 B+ - 93,2042%	3 B+ - 125,0237%
1 B+ - 36,8735%	2 B+ - 89,7921%	3 B+ -
1 O+ - 29,0812%	2 O+ - 68,6408%	3 O+ - 110,2078%
1 O+ - 27,4819%	2 O+ - 69,2862%	3 O+ - 110,2078%
1 O+ - 27,0026%	2 O+ - 68,2232%	3 O+ - 108,6750%

Tabela 19. Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com o extrato acetato de etila de *Tacinga palmadora*.

1 mg.mL ⁻¹	2,5 mg.mL ⁻¹	5 mg.mL ⁻¹
1 A+ - 9,7669%	2 A+ - 16,6682%	3 A+ - 20,8520%
1 A+ - 10,6791%	2 A+ - 16,0855%	3 A+ - 31,4547%
1 A+ - 9,9579%	2 A+ - 17,7476%	3 A+ - 26,4638%
1 B+ - 9,6241%	2 B+ - 17,4829%	3 B+ - 19,6943%
1 B+ - 10,8117%	2 B+ - 18,6076%	3 B+ - 20,8665%
1 B+ - 10,5732%	2 B+ - 17,8008%	3 B+ - 18,1662%
1 O+ - 11,8308%	2 O+ - 23,0542%	3 O+ - 31,8669%
1 O+ - 11,9969%	2 O+ - 22,4373%	3 O+ - 31,9381%
1 O+ - 11,8593%	2 O+ - 22,1810%	3 O+ -

Tabela 20. Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com o extrato etanolólica de *Tacinga palmadora*.

1 mg.mL ⁻¹	2,5 mg.mL ⁻¹	5 mg.mL ⁻¹
1 A+ - 0,5587%	2 A+ - 1,5856%	3 A+ - 3,1855%
1 A+ - 1,3898%	2 A+ - 1,5665%	3 A+ - 3,4291%
1 A+ - 1,3707%	2 A+ - 1,7193%	3 A+ - 3,8351%
1 B+ - -0,3654%	2 B+ - 0,3464%	3 B+ - 2,9707%
1 B+ - -0,2657%	2 B+ - 1,7274%	3 B+ - 1,7796%
1 B+ - -0,2942%	2 B+ - 1,1531%	3 B+ - 3,7205%
1 O+ - 2,2351%	2 O+ - 3,9531%	3 O+ - 7,8492%
1 O+ - 1,3714%	2 O+ - 2,1307%	3 O+ - 6,9808%
1 O+ - 1,9077%	2 O+ - 2,9138%	3 O+ - 8,0770

Espitia-Baena et al. (2014), afirmam que porcentagens de hemólise abaixo de 10%, indicam segurança da solução teste no modelo experimental. No extrato EtOH, as concentrações testadas demonstraram baixa toxicidade, sugerindo que os compostos presentes nestas fases não possuem expressiva atividade hemolítica, sendo assim não causam danos tão pronunciados às membranas (PAULA et al., 2014).

O extrato CH₂Cl₂ demonstrou uma ação hemolisante importante nas concentrações testadas. Este resultado estima o dano eritrocitário que poderia ocorrer no organismo caso fosse ingerido. A hemoglobina livre no plasma é prejudicial à saúde, causando sérios danos em órgãos vitais tais como fígado, rins e coração (CARVALHO et al., 2007).

5.7 Atividade antioxidante

5.7.1 Sequestro de radical DPPH

A capacidade dos extratos AcOEt e CH₂Cl₂ no sequestro do radical livre estável de DPPH em várias concentrações mostrou-se mais efetiva no extrato AcOEt comparada com o extrato CH₂Cl₂, como indicado nos cálculos da SRL (%) das tabelas 21 e 22.

Tabela 21. Porcentagem do Sequestro de radicais livres (SRL%) do extrato acetato.

Concentrações utilizadas	31,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	62,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$
SRL % 1	20,06981	32,98429	44,15358	64,39791	77,13787	69,98255
SRL % 2	20,06981	30,89005	45,2007	63,69983	76,26527	70,50611
SRL % 3	19,02269	32,11169	41,53578	63,52531	75,91623	69,80803
Média	19,72	32,00	43,63	63,87	76,44	70,10
Desvio Padrão	0,60	1,05	1,89	0,46	0,63	0,36

Tabela 22. Porcentagem do Sequestro de radicais livres SRL% do extrato diclorometano

Concentrações utilizadas	31,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	62,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$
SRL % 1	2,443281	9,424084	12,04188	18,15009	24,43281	35,77661
SRL % 2	1,396161	6,282723	11,3438	15,35777	21,81501	34,20593
SRL % 3	1,570681	4,188482	7,504363	15,18325	21,98953	34,72949
Média	1,80	6,63	10,30	16,23	22,75	34,90
Desvio Padrão	0,56	2,64	2,44	1,66	1,46	0,80

Constatou-se que o extrato AcOEt na concentração de 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ obteve uma média de 76,44% de atividade antioxidante, sofrendo pequenas variações no seu potencial antioxidante entre as concentrações 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Porém na concentração de 62,50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, a atividade decaiu drasticamente sendo a partir desta, a atividade antioxidante praticamente inexistente.

As raízes de *Cereus jamacaru* apresentaram uma baixa capacidade de sequestro do DPPH no trabalho de Santana et al. (2015), da fração hidrometanólica. Osorio-Esquivel et al. (2011), mostraram que no extrato metanólico do fruto da espécie *Opuntia joconostle* obteve-se um bom percentual de sequestro de radicais pelo método de DPPH (62.96% para o pericarpo, 59.35% para o fruto completo, 51.70% para endocarpo e 42.27% para o mesocarpo), resultado semelhante a Sumaya-Martínez et al. (2011), ao comparar a atividade antioxidante de diferentes frutos de cactos de *Opuntia* spp.

Dentre esses metabólicos secundários, estão os flavonoides, alcaloides, terpenos, fenóis, polifenóis, entre outros que possuem propriedades antimicrobianas,

e que atuam como antioxidantes, reduzindo o risco do desenvolvimento de doenças (UPADHYAY & AHMAD, 2012).

5.7.2 AAT

O método do poder de redução do complexo fosfomolibdênio é considerado simples e de baixo custo, servindo para avaliar a capacidade antioxidante total de uma mistura complexa de compostos, como é o caso de extratos obtidos de plantas. Além disso, possui a vantagem de avaliar a capacidade antioxidante tanto de componentes lipofílicos quanto de compostos hidrofílicos (CUNHA, 2017).

No ensaio antioxidante pelo complexo fosfomolibdênio, observa-se a comparação dos resultados obtidos com as amostras e os padrões Quercetina (Q), Ácido Gálico (AG) e Hidroxitolueno Butilado(BHT) (Tabela 23).

Tabela 23. Atividade antioxidante total (AAT (%)) dos extratos e dos padrões testes.

Amostras	Extrato AcOEt	Extrato CH ₂ Cl ₂	Q	AG	BHT
31,25 µg.mL⁻¹	36,48485	18,90909	37,27273	9,878788	12,42424
62,5 µg.mL⁻¹	36,35273	17,87642	38,21236	9,178164	11,87762
125 µg.mL⁻¹	29,96408	14,57158	33,35044	7,901488	9,132889
250 µg.mL⁻¹	30,5102	14,64286	32,19388	8,061224	9,438776
500 µg.mL⁻¹	29,51807	14,35743	34,33735	7,630522	8,885542
1000 µg.mL⁻¹	29,34132	14,37126	34,63074	8,682635	8,732535
Média	32,03	15,79	35,00	8,56	10,08
DP	3,42	2,05	2,31	0,86	1,63

Na análise em questão, pode-se observar que houve uma evidente correlação entre o poder de redução da espécie do extrato AcOEt, mostrando boa capacidade de atividade antioxidante, visto que os resultados foram semelhantes ao padrão Q.

5.7.3 Método do Tiocianato Férrico

Este ensaio é usado para medir a quantidade de peróxido no início da peroxidação lipídica, na qual irá reagir com o peróxido de cloreto ferroso e forma íons férrico. Os íons férricos, então, unem-se com tiocianato de amônio e produzir tiocianato férrico. A substância é vermelha, e cor mais densa é indicativa de maior absorbância.

No ensaio antioxidante pelo Método do Tiocianato Férrico, observa-se a comparação dos resultados obtidos com as amostras e os padrões Quercetina (Q), Ácido Gálico (AG) e Hidroxitolueno Butilado(BHT) (Tabela 24).

Tabela 24. Método do Tiocianato Férrico dos extratos e dos padrões testes.

Amostras	Extrato AcOEt	Extrato CH ₂ Cl ₂	Q	AG	BHT
1	13,4029	14,8475	22,0706	100	2,4077
2	12,6822	13,2653	20,2624	100	1,82216
3	11,7689	13,0528	19,7575	100	1,92582
Média	12,62	13,72	20,70	100,00	2,05
DP	0,82	0,98	1,22	0,00	0,31

Na análise em questão, pode-se observar que houve uma semelhança entre o poder de redução dos extratos AcOEt e CH₂Cl₂, mostrando uma baixa capacidade de atividade antioxidante, visto que os resultados não foram semelhantes aos padrões.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo possibilitou o controle de qualidade da droga vegetal do cacto *T. palmadora* a partir da determinação da distribuição granulométrica, pH, densidade, seus teores de cinza e umidade, bem como a investigação dos seus principais grupos de metabólitos secundários (alcaloides, esteroides/triterpenoides), identificados através do *Sreening*, FTIR e MEV/EDS. Esse estudo mostrou também a aplicação da análise térmica (TG e DTA), obtendo-se resultados importantes sobre a sua estabilidade, padronização e composição.

A ausência de matéria estranha, os valores encontrados para cinzas totais e a presença de estruturas características da raiz de *T.palmadora* evidenciadas pela

análise microscópica forneceram subsídios para comprovação da autenticidade e pureza do material vegetal.

O estudo fitoquímico das raízes de *T. palmadora* do extrato CH₂Cl₂ resultou no isolamento de um derivado do ácido caféico, a fase CH₂Cl₂ no isolamento de um flavanóide, a fase AcOEt resultou no isolamento de um ácido vanílico e o EtOH no isolamento de um plamitato de etila. Sendo essas 4 substâncias isoladas a primeira vez tanto na espécie como no gênero *Tacinga*.

A *T. palmadora* apresentou melhor atividade antifúngica com os extratos AcOEt, EtOH e Hex frente as cepas fúngicas estudadas, sendo assim uma espécie de interesse para estudo e desenvolvimento de agentes antifúngicos.

O extrato EtOH foi a que apresentou melhor atividade hemolítica, entretanto, estudos futuros devem ser realizados com extratos em concentração $\geq 100 \text{ mg.mL}^{-1}$ bem como testar diferentes metodologias.

Em relação a atividade antioxidante, o extrato AcOEt foi a mais promissora por apresentar maior percentual antioxidante nos dois testes utilizados, estimulando a continuidade dos estudos para isolar as substâncias ativas presentes nesta fase.

As qualidades dos produtos de origem vegetal são uma preocupação econômico-social constante, de modo que a utilização de métodos analíticos no desenvolvimento e otimização de medicamentos à base de plantas medicinais deve ser considerada. Assim, as informações encontradas neste estudo podem ser utilizadas para estabelecer parâmetros sobre o desenvolvimento de produtos fitoterápicos, contribuindo para assegurar a sua qualidade, segurança e eficácia.

A *T. palmadora* demonstrou ser uma espécie promissora, no qual mais estudos químicos, farmacológicos e toxicológicos devem ser feitos a fim de fomentar o conhecimento acerca desta planta.

REFERÊNCIAS

ALBERTASSE, P.D.; THOMAZ, L.D.; ANDRADE, M.A. Plantas medicinais e seus usos na comunidade da Barra do Jucu, Vila Velha, ES. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.12, n.3, p.250-260, 2010.

ALBUQUERQUE, U.P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.6, p.678-89, 2006.

ALMAJANO, M.P.; CARBÓ, R.; JIMÉNES, A.L.; GORDON, M. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. **Food Chemistry**. v.108; p:55-63, 2008.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2.202-2.210, 2010.

ALVES, E.G.A.; VINHOLIS, A.H.A.; CASEMIRO, L.A.; FURTADO, N.A.J.C.; SILVA, M.L.A.; CUNHA, W.R.; MARTINS, C.H.G. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade anti-bacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**. v.31, n.5, 1224-1229, 2008.

ALVES, J. J. A. Caatinga do Cariri Paraibano. **Geonomos**. v. 17, n. 1, p. 19-25, 2009.

AMARAL, F.M.M.; COUTINHO, D.F.; RIBEIRO, M.N.S.; OLIVEIRA, M.A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luiz. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.13, p. 27-30. 2003.

ALIMI, H, HFAIEDH, N., BOUONI, Z., HFAIEDH, M., SAKLY, M., ZOURGUI, L., & RHOUMA, K. B. Antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* root extract in rats. **Phytomedicine**, v.17, n.14, p.1120-1126, 2010.

ANDRADE, C.T.S.; MARQUES, J.G.W.; ZAPPI, D.C.. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, n.3, p.36-42, 2006.

ARAÚJO, A.A.S.; MERCURI, L.P.; SEIXAS, S.R.S.; STORPIRTIS, S; MATOS, J.R. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná

utilizando métodos convencionais e análise térmica. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas**.v.42, p.269-277, 2006.

ARAÚJO, M.O. **Preparação de derivados do ácido caféico e avaliação das suas atividades antimicrobianas**. 2017, 178p. Tese Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

ARANHA, E,S,P. **Avaliação do potencial anticâncer *in vitro* de óleos essenciais de plantas do gênero *Eugenia***. 2014, 82p. Tese Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677p.

BABU T.H., MANJULATHA K., KUMAR G.S., HYMAVATHI A., TIWARI K.A., PUROHIT M., RAO M.J., BABU S.K.Gastroprotective flavonoid constituents from *Oroxylum indicum* Vent. **Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters**. V.20, n.1, p. 117–120, 2010.

BALASUNDRAM N., SUNDRAM K., SAMMAN S. Phenolic compounds in plants and agri industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**. v.99: p.191-203. 2006.

BARBOSA, W.L.R. 2004. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais, Belém - Pa: **Revista Científica da UFPA**, vol. 4, 2001. Disponível em <http://www.ufpa.br/rcientifica>. Acesso em: 25 de maio de 2017.

BASSETTI, M.; RIGHI, E. Multidrug-resistant bacteria: what is the threat? **ASH Education Program Book**, v. 2013, n. 1, p. 428-432, 2013.

BATALHA, M. O.; NANTES, J. F. D.; ALCÂNTARA, R. L. C.; MING, L. C., CASTRO, D. M. DE; LOURENZANI, A. E. B. S.; MACHADO, J. G. C. F.; RIBEIRO, P. M. T. **Complexo agroindustrial de plantas medicinais e aromáticas no Estado de São Paulo**: Diagnóstico e proposição de ações e melhoria da eficiência e da

competitividade. Sumário Executivo do projeto. São Carlos: UFSCAR/ UNESP/ SEBRAE, 2007. 57p.

BATISTA, T.M. **Avaliação da toxicidade in vitro e in vivo do extrato hidroalcoólico das partes aéreas de *Zornia brasiliensis* vog. (Fabaceae).** 2013, 37p. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

BATTISTI, R.; PILAU, F.G.; SCHWERZ, L.; SOMAVILLA, L. ; TOMM, G.O. Dinâmica floral e abortamento de flores em híbridos de canola e mostarda castanha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.174-181, 2013.

BENIGNI, R. Structure activity relationship studies of chemical mutagens and carcinogens mechanistic investigations and prediction approaches. **Chemical Reviews**. v.105, p.1767-1800, 2005.

BOCHNER, R.; FISZON, J.T.; ASSIS, M.A.; AVELAR, K.E.S. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.14, n.3, p.537-547, 2012.

BORDIGNON S. A. DE L., MONTANHA J. A., SCHENKEL E. P. Flavones and flavanones from South American *Cunila* species (Lamiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**. v.31; p.785-788, 2003.

BORTOLOTTI, T. **Avaliação da atividade tóxica e genotóxica de percolados do aterro sanitário de Sombrio-SC, utilizando *Artemia sp.* e *Allium cepa* L.** 2007. 79p. Trabalho de conclusão de curso em Ciências Biológicas - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma.

BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL FILHO, V. **Fármacos e medicamentos: uma abordagem multidisciplinar.** São Paulo -Santos: Santos. 2010. 416 p.

BURRET, F; LEBRETON, P; VOIRIN, B. Les aglycones flavoniques de Cactes: distribution, signification. **Journal of Natural Products**. v. 45, n. 6, p. 687-693. Nov-Dec, 1982.

CAVALCANTE, M.A. **Estudo do potencial antimicrobiano e antioxidante de espécies vegetais amazônicas**. 2011, p.96. Tese mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará.

CAMPOS, M.B.; DA COSTA, A.L.P.; BARBOSA, L.P.J.L.; BARBOSA, F.H.F. Análise qualitativa fitoquímica e atividade antimicrobiana do extrato bruto hidroalcoólico da casca de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bomple (lecycnidaceae) frente a microrganismos gram-negativo. **Ciência Equatorial**. v.1, p.1-14, 2011.

CARTERLE, L., **Erva-mate e atividade antioxidante**. 2005. p99. Tese Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

CARVALHO, E.B.; BORGES, E.L.; CARLOS, L.M.B.; SILVA, M.A.M.; MAGALHÃES, S.M.M.; GOMES, F.V.B.A.F.; CARVALHO M.J.C.; QUIXADÁ, A.T.S.; PITOMBEIRA, M.H.S. Efeito da bomba de infusão de soluções sobre os graus de hemólise em concentrados de hemácias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. v.29, n. 2. p.149-152, 2007.

CARVALHO, L.S. **Efeito depressor e toxicidade do extrato etanólico da casca de *Aspidosperma subincanum* (apocynaceae) em camundongos**. 2013. 82p. Tese Mestrado em Ciência Animal - Universidade Federal De Goiás, Goiana.

CARVALHO, M.C.G.; PIRES, R.L.; FLORINDO, W.S.; CAVALCANTI, A.S.S. Evidências para o uso de Indigo naturalis no tratamento da psoríase tipo placa: uma revisão sistemática. **Natureza on line**, v. 8, n. 3, p. 127-131, 2010.

CARVALHO, Z.S. **Relevância da *Lippia alba* (mill.) N. E. Brown (verbenaceae) entre as espécies de uso medicinal no município de cruz das Almas, BA**. 2013.

115p. Tese Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Almas.

CATÃO, R.M.R.; SILVA, P.M.F.; FEITOSA, R.J.P.; PIMENTEL, M.C.; PEREIRA, H.S. Prevalência de infecções hospitalares por *Staphylococcus aureus* e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos. **Revista de Enfermagem UFPE on line**. v.8, p.5257-64. 2013.

CHANDRA, S.; DE MEJIA, E.G. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to Mate (*Ilex paraguaiensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p. 3583-3589, 2004.

CHAVES, J.S.; DA COSTA, F.B.; FREITAS, L.A.P. Development of enteric coated tablets from spray dried extract of feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**.v.45, p.573–84, 2009.

CHIWORORO, W.D.; OJEWOLE, J.A. Spasmolytic effect of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract on rat isolated uterine horns. **Journal of Smooth Muscle Research**, v.45, n.1, p.31-8, 2009.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Metodologia dos testes de sensibilidade a agents antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico: Norma aprovada – Nona edição M07-A9. Vol 31. N 2, 2012.

CUNHA, P.S. **Avaliação do potencial antioxidante, anti-inflamatório e fotoprotetor in vitro do extrato metanólico das partes aéreas de *Mitracarpus frigidus* (Rubiaceae)**. 2017, 112p. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Juiz de Fora.

DAFERERA, D. J.; ZIOGAS, B. N.; POLISSIOU, M. G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. michiganensis. **Crop Protection**, v. 22, p.39-44, 2003.

DAVET, A. et al. Atividade antibacteriana de *Cereus jamacaru* DC, Cactaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.19, p. 561-564, 2009.

DE ARAÚJO, M.O. **Preparação de derivados do ácido cafeico e avaliação de suas atividades antimicrobianas**. 2017. 178p. Tese Mestrado em Prdutos Naturais e Sintéticos Bioativos – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

DE LUCENA, C.M.; DE LUCENA, R.F.P.; COSTA, G.M.; CARVALHO, T.K.N.; COSTA, G.G.S.C.; ALVES, R.R.N.A.; PEREIRA, D.D.; RIBEIRO, J.E.S.; ALVES, C.A.B.; QUIRINO, Z.G.M.; NUNES, E.M. Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. v.62, p.1-11, 2013.

DUQUE, J. G. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. Banco do Nordeste do Brasil. 4. ed., Fortaleza, p.88. 2004.

ESPITIA-BAENA, J.E.; ROBLEDO-RESTREPO, S.M.; CUADRADO-CANO, B.S.; ROSARIO, H.D.; GÓMEZ-ESTRADAI, H.A. Perfil fitoquímico, actividad anti-Leishmania, hemolítica y toxicológica de *Cordia dentata* Poir. Y *Heliotropium indicum* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinai**s. v.19, n.3, p.208-224, 2014.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, v. 2, 2010.

FEITOSA, C. M.; BEZERRA, M. Z. B.; CITÓ, A. M. G. L.; COSTA JÚNIOR, J. S.; LOPES, J. A. D.; MOITA NETO, J. M. Constituintes químicos de *Philodendron imbe* Schott. **Quimica Nova**, v. 30, n. 1, p. 41-44, 2007.

FERREIRA, C. **Dinâmica do microbioma da rizosfera de mandacaru na Caatinga**. 2014. 89p. Tese Mestrado em Ciências. Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

FILHO, J.R.N.C. **Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de óleos essenciais extraídos de *Buchenavia tetraphylla***. 2014. 60p. Tese Mestrado em Ciências Biológicas -Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

FIRMO, W.C.A; MENEZES, V.J.M; PASSOS, C.E.C; DIAS, C.N; ALVES, L.P.L; DIAS, I.C.L; NETO, M.S; OLEA, R.S.G. Historical Context, Popular Use And Scientific Conception On Medicinal Plants. **Caderno de Pesquisa**, v.18, p.90-95, 2011.

FREIRES, I. A.; Denny, C.; Benso, B., de Alencar, S.M.; Rosalen, P.L. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents against Cariogenic Bacteria: A Systematic Review. **Molecules**, v. 20, p.7329-7358, 2015.

GALUCIO, N.C.R. **Estudos de citotoxicidade e genotoxicidade de *Eleutherine plicata* Herb.** 2014. 95p. Tese Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal Do Pará, Bélem.

GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. **Goldman Cecil Medicina**. 23 edição. Rio de Janeiro, Elsevier, 2009, 3458p.

GONÇALVES, A.C.M.; PEIXE,R.G.;SATO,A.; MUZITANO, M.F.; MENDONÇA,R.O.; MACHADO, T.D.; AMARAL, A.C.F.; MOURA, M.R.F.; SIMAS,N.C.; LEAL, I.C.R. *Pilosocereus arrabidaei* (Byles & Rowley) of the Grumari sandbank, RJ, Brazil: Physical, chemical characterizations and antioxidant activities correlated to detection of flavonoids. **Food Research International**, v. 70, p. 110–117, 2015.

GUIMARÃES, D O.; MOMESSO, L. D. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUIZZO, P.L.; BREDDA, T.C.C.; SCARPA, M.V.C.; NAVARRO, F.F. Controle de Qualidade e triagem fitoquímica da droga vegetal das folhas de *Morus nigra* L. (MORACEAE). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**.v.36, p. 259-265, 2015.

GUPTA, E.; PURWAR, S.; SUNDARAM, S.; RAI, G. Nutricional e valores terapêuticos de *Stevia rebaudiana*: Uma revisão. **Journal of Medicinal Plants Research**. v.46,n. 7, p. 3343-3353, 2013.

HARBONE, J.B. **The flavonoids (advances in research since)**. Chapman and Hall. London, GBR. 1º edição 1994.

HARBONE, J.B; BAXTER, H.; MOSS, G.P. **Phytochemical dictionary : a handbook of bioactive compounds from plants.**, English, Book, Illustrated edition. 2º edição, 1999.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, T.; HERNÁNDEZ, H.M.; DE-NOVA, J.A.; PUENTE, R.; EGUIARTE, L.E.; MAGALLÓN, S. Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (*Caryophyllales, Eudicotyledoneae*). **American Journal of Botany**.v.98, p.44-61, 2011.

HUANG, Z.; DOSTAL, L.; ROSAZZA, J. P. N. Mechanisms of ferulic acid conversions to vanillic acid and guaiacol by *Rhodotorula rubra*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 268(32), p.23954-23958, 1993

IBRAHIM, B., SOWEMIMO, A., VAN ROOYEN, A., VAN DE VENTER, M. Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of *Cyathula prostrata* (Linn.) Blume (Amaranthaceae). **Journal of Ethnopharmacology**. v.141, p.282-289. 2012.

JOSHI, H., JOSHI, A. B., SATI, H., GURURAJA, M. P., SHETTY, P. R., SUBRAHMANYAM, E. V. S., & SATYANARYANA, D.. Fatty acids from *Memecylon umbellatum* (Burm.). **Asian Journal of Research in Chemistry**, v.2(2), p.178-180. 2009.

LAGOS V.V.; PEREIRA, R.N.; BERTOL. C.D. Propriedades micromeríticas e análise físico-química de matérias-primas de alopurinol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.33, n.3, p. 385-393, 2012.

LIBARDI, S. H. **Atividade antioxidante da vanilina e do ácido vanílico e o efeito da complexação por proteínas do soro do leite na desativação de radicais ferrilmioglobina em condições simulando o trato gastrointestinal.** 2010. 91p Dissertação de Mestrado. Instituto de Química da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

LOPES, L.G. **Estudo Fitoquímico de Pavonia multiflora A. St-Hil. (Malvaceae), planta endêmica do Espírito Santo.** 2014. 113p. Tese Mestrado em Química de Produtos Naturais. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

LUCENA, R, F, P.; SOARES, T.C.; VASCONCELOS NETO, C.F.A.; CARVALHO, T.K.N.; LUCENA, C.M. et al. Use of plant resources the caatinga in a rural community in Curimataú Paraíba (Northeast of Brazil). **Polibotânica**, v.4, p. 217-238. 2013.

LUNA, J.S.; SANTOS, A.F.; LIMA, M.R.F.; OMENA, M.C.; MENDONÇA, F.A.C.; BIEBER, L.W.; SANT'ANA, A.E.G.A.; A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal Ethnopharmacol**, v. 97, n.2, p.199-206, 2005

MACHADO, MC; TAYLOR, NP. A new subspecies of *Tacinga inamoena* (Cactaceae) from eastern Bahia, Brazil. **Bradleya**, v. 21, p. 13-16, 2002.

MAIA, G.L.A. **Contribuição ao conhecimento químico de espécies da família Asteraceae (*Verbesina macropylla* (Cass.) S.F. Blake e *Praxelis clematidea* R.M. King e Robinson.).** 2011, 210p. Tese Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos e Bioativos – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

MAMBU L, GRELLIER P, FLORENT L, JOYEAU R, RAMANITRAHASIMBOLA D, RASOANAIVO P, FRAPPIER F: Clerodane and labdane diterpenoids from *Nuxia sphaerocephala*. **Phytochemistry**. v.67: p.444-451. 2006.

MARINHO, M.G.V.; SILVA, C.C.; ANDRADE, L.H.C. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas,

Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, p.170-182, 2011.

MARTÍNEZ, E. S.; MARTÍNEZ, M. M. H.; HERNÁNDEZ-ORIA, J. G. H.; GALEANA, L. E. T. El valor inspirador de las Cactáceas, un servicio más de los ecosistemas desérticos de México. **Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas**, v. 5, n. 1, p. 13-16, 2008.

MARTINS, F.M.M. **Estudo da Influência de Fatores Ambientais na Composição Química e Atividades Biológicas de *Xylopia sericea* St. Hill.** 2012. 89p. Tese Mestrado em Biodiversidade Tropical - Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus.

MARTINS, SC.C. **Avaliação do potencial biológico de *Opuntia ficus-indica* (Figueira da Índia).** Dissertação. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2011.

MARQUES, G.S.; LYRA, M.A.M.; PEIXOTO, M.S.; MONTEIRO, R.P.M.; LEÃO, W.F.; XAVIER, H.S.; SOARES, L.A.L.; NETO, P.J.R. Caracterização fitoquímica e físico-química das folhas de *Bauhinia forficata* Link coletada em duas regiões brasileiras. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.33, p. 57-62. 2012.

MEIADO, M. V. Propagação sexual e assexual estruturando populações de Tacinga palmadora (Britton & Rose) N. P. Taylor & Stuppy, um cacto endêmico da Caatinga. **Revista de Biologia Neotropical**, v.2, p.6-13.2012.

MENEZES M.O.T.; TAYLOR, P.G.; LOIOLA, M.I.B. Flora do Ceará, Brasil: Cactaceae. **Rodriguésia**, v. 64, n.4, p. 757-774, 2013.

MEYER BN, FERRIGNI NR, PUTNAM LB, JACOBSEN LB, NICHOLS DE, MCLAUGHLIN JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of medicinal plant research**. V.4, p. 31-45. 1982

MIGLIATO, K.F.; MOREIRA, R.R.D.; MELLO, J.C.P.; SACRAMENTO, L.V.S.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H.R.N. Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n.1, p. 94-101, 2007.

MORAIS, V.M. **Etnobotânica nos quintais da comunidade de abderramant em Caraúbas – RN**. 2011. 112p. Tese Doutorado em Fitotecnia - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossóro.

MOREDA-PINEIRO, A., FISHER, A., & Hill, S. J. The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, n.2, p.195-211, 2003.

MOREIRA, M.M. **Estoque de carbono e nitrogênio em áreas de vegetação nativa e antropizada no município de Irecê**. 2013. 63p. Tese Mestrado em Solos e Qualidade de Ecossistemas - Universidade Federal Do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

NASCIMENTO, J. E.; MELO, A. F. M.; LIMA E SILVA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M., ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larva de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Revista Ciência Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 29, n.2, p. 145-150, 2008.

NASCIMENTO, V.G. **Educação ambiental e sustentabilidade: concepção do bioma caatinga sob o olhar dos professores e de alunos do semiárido Pernambucano**. 2015. 175p Tese Mestrado em Ciências da Educação - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa.

NASEER,F.; REHMAN, S.A.A.; AHMAD, T.; PERVEEN, N.; KARIM,, M.; FAROOQI, Z.R.; ASHRAF, M.Z. Antioxidant Potential of Leaves of *Opuntia monacantha* Ethanol Extract and Various Fractions: An in vitro Study. **Global Journal Pharmacologic**, v. 9, n. 2, p. 144-149, 2015.

NEPOLEAN, P.; ANITHA, J.; EMILIN, R. R. Isolation, analysis and identification of phytochemicals of antimicrobial activity of *Moringa oleifera* Lam. **Current biotica**, v. 3, n. 1, p. 33-37, 2009.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 311-335, 2012.

(NCCLS) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Padrões de desempenho para teste de susceptibilidade antimicrobiana: padrão M2-A6 aprovado. 6th ed. Wayne, PA: NCCLS; 2002.

NKUNYA M.H.H., WEENEN H., KINABO L.S. Constituents of *Artemisia afra*. **Fitoterapia**, v. 63, pp. 279-280, 1992.

OLIVEIRA, A.R.M.F; JEZLER, C.N.; OLIVEIRA, R.A.; COSTA, L.R.B. Influência da idade da planta na produção de óleo essencial de alevante. **Revista Ceres**, v.59, p.241-245. 2012.

OLIVEIRA, L. J. **Bioensaios de *Pilocereus gounellei* (Weber) Byles & Rowley (Parâmetros fitoquímicos, toxicológicos, microbiológicos, hematológicos e bioquímicos)**. 2011, 89p. Tese Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco – Recife.

OLIVEIRA, M.P.L. **O bioma caatinga na concepção dos professores de ciências do ensino fundamental da escola professor José Gonçalves de Queiroz em Sumé – PB**. 2014. 80p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Fundamentos da Educação: Práticas Pedagógicas Interdisciplinares) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.

OLIVEIRA, V.R; BERETTA, A.L.R.Z. Frequência de infecções urinárias causadas por leveduras do gênero *Candida*. **Revista Científica da FHO|UNIARARAS**. v. 1, p.1-4, 2013.

OSORIO-ESQUIVEL, O.; ALICIA-ORTIZ-MORENO; ÁLVAREZ, V. B.; DORANTES-ÁLVAREZ, L.; GIUSTI, M. M. Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2160-2168, 2011.

OSTROSKY, E.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PASCOAL, A.; RODRIGUES, S.; TEIXEIRA, A.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L.M. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. **Food chemical. Toxicology**, v;63, p.233–239, 2014.

PAULA, C.S.; CANTELI, V.C.D.; VERDAM, M.C.S.; KALEGARI, M.; CAMPOS, R.; HIROTA, B.C.K.; MIGUEL, O.G.M.; MIGUEL, M.D. Atividade antioxidante e toxicidade preliminar do extrato e frações obtidas das folhas e cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**. v.16, n.2, p.189-192, 2014.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning 4ª ed, 2012.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; CASTRO, V.T.N.A.; SARAIVA, A.M.; ALMEIDA, D.M.; TAVARES, E.A.; PISCIOTTANO, M.N.C.; AMORIM, E.L.C. Phytochemical screening and antibacterial activity of four *Cnidoscolus species* (Euphorbiaceae) against standard strains and clinical isolates. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 6, n.21, p.3742-3748, 2012.

PEREIRA, A. de C.; CASTRO, D.L. Prospecção Fitoquímica e Potencial Citotóxico de *Unxia kubitzkii* H.Rob. (Asteraceae-Heliantheae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 231- 233. 2007.

PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum. complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**; v. 41; p. 269-337. 1999.

RAJESHKUMAR, R.; SUNDARARAMAN, M. Emergence of *Candida* spp. and exploration of natural bioactive molecules for anticandidal therapy - status quo. **Mycoses**, v.55, n.1, p.60-73, 2012.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29(4), p.755-760, 2006.

RAO, V.R.S., SURESH, G., BABU, K.S., RAJU, S.S., VISHNU VARDHAN, M.V.P.S., RAMAKRISHNA, S., RAO, J.M. Novel dimeric amide alkaloids from *Piper chaba* Hunter: isolation, cytotoxic activity, and their biomimetic synthesis. **Tetrahedron** v.67, p.1885-1892. 2011.

RATTMANN, Y.D.; MENDÉZ-SÁNCHEZ, S.C.; FURIAN, A.F.; PALUDO, K.S.; DE SOUZA, L.M.; DARTORA, N.; OLIVEIRA, M.S.; COSTA, E.M.; MIGUEL, O.G.; SASSAKI, G.L.; IACOMINI, M.; MELLO, C.F.; FRANCO, C.R.; DA SILVA-SANTOS, J.E.; CADENA, S.M.; MARQUES, M.C.; SANTOS, A.R. Standardized extract of *Dicksonia sellowiana* Presl. Hook (Dicksoniaceae) decreases oxidative damage in cultured endothelial cells and in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v.133, p.999-1007, 2011.

RAYMUNDO, M.S; HORTA, P.; FETT, R. Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.40. p. 495-503. 2004.

REYES-AGÜERO, J.A.; AGUIRRE, R.J.R. & VALIENTEBANUET, A. Reproductive biology of: a review. **Journal of Arid Environments**, v.64, p. 549–585.2006.

ROSSATO, A.E.; PIERINI, N.N.; AMARAL, P.A.; DOS SANTOS, R.R.; Citadini-Zanette, V. **Fitoterapia racional: aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos**. Florianópolis: DIOESC, 2012. 211p.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; JIMENEZ, J.P.; CALIXTO, F.D.S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, v.127, p.1-4, 2007.

RUIZ, A.L.T.G. et al. Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de extratos de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.15, n.2 , p.98-102, 2005.

SALAMA, A., AVENDAÑO, I.Y. Anti-inflammatory activity of d-amyrone and Apigenin-4', 7- dimethylether isolated from *Alnus acuminata*. **Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas**; v.34, n.2. p: 117-121, 2005.

SANTANA, A.F.; ROCHA, M.L.; BOMFIM, H.F.; VALADARES, S.N.S.; LUCCHESI, A.M. **Composição química e atividade antioxidante das frações clorofórmica e hidrometanólica do extrato da raiz de *Cereus jamacaru* DC. (Cactaceae)**. In: II Simpósio da Rede de Recursos Genéticos Vegetais do Nordeste, 2015, Fortaleza. Anais do II Simpósio da RGV Nordeste. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2015.

SANTOS, M.L.; LIMA, O.J.; NASSAR, E.J.; CIUFFI, K.J.; CALEFI, P.S. Estudo das condições de estocagem do bagaço de cana-de-açúcar por análise térmica. **Química Nova**. v.34, p.507-511, 2011.

SILVA, G.T. **Contribuição para o conhecimento de espécies da família cactaceae: usos pela medicina popular e potencial terapêutico**. 2014. 49p. Tese conclusão do curso em Farmácia. Universidade Federal Da Paraíba – João Pessoa.

SILVA, J.P.R. **Estudo fitoquímico e atividade biológica da *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy**. Dissertação do Programa de pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UEPB. Campina Grande-PB, Brazil. 2016.

SILVA, S.M.M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de espécies vegetais do bioma cerrado**. 2013. 115p. Tese Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade de Brasília.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis:Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 2004.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PALAZZO, M. J.C.; MENTZ, L. A.; ROS PETROVICK, P. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6ª. ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC; 2007.

SIMÕES, J.B. **Caracterização Da Assinatura Espectral De Biodiesel E Sua Correlação Com Propriedades Relevantes De Combustíveis**. 2007. 73p. Monografia apresentada ao Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro.

SIMONETTI, E. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente á *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes***. 2015. 101p. Tese Mestrado em Biotecnologia - Centro Universitário, Lajeado.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR, G.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, H. S.; LEAL JUNIOR, J. H. S.; ARAUJO, A. C. S.; COUTO, C. M. O.; OLIVEIRA, T. M.; VELOSO JUNIOR, P. H. H.; DIAS, J. N. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE DIFERENTES EXTRATOS DA CASCA DA CASTANHA DO PARÁ (*Bertholletia excelsa*) POR MEIO DO ENSAIO COM *Artemia salina*. In: III Simpósio latino-americano de

Biotecnologia do nordeste e encontro luso brasileiro de Biotecnologia, Parnaíba. **Revista Brasileira de Biodiversidade e Biotecnologia**, v. 1, 2015.

SOUZA, R.D. **Estudo dos Pigmentos polares do Extrato das cascas dos Frutos de Manacaru (*Cereus fernambucensis*- Cactaceae)**. Dissertação. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, RJ, ABRIL, 2013.

SUMAYA-MARTÍNEZ , M.T.; CRUZ-JAIME, S.; MADRIGAL-SANTILLÁN, e. et al. Betalain, Acid Ascorbic, Phenolic Contents and Antioxidant Properties of Purple, Red, Yellow and White Cactus Pears, **International Journal of Molecular Sciences**. v.12, n.10, p. 6452–6468, 2011.

TAYLOR, N.P. & ZAPPI, D.C. Cacti of Eastern Brazil. **Royal Botanic Gardens**. v.61, p. 499. 2004.

TORRAS-CLAVERIA, L., JÁUREGUI, O., CODINA, C., TIBURCIO, A.S., BASTIDA, J., VILADOMAT, F. Analysis of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry in senescent and water-stressed tobacco. **Plant Science**. v.182, p.71-78. 2012.

UPADHYAY, R.K.; AHMAD, S. Ethanomedicinal plants and their pharmaceutical potential. **Journal of Pharmacy Research**, v.5, n.4, p.2162-2173, 2012.

USP 30 NF 25. United States Pharmacopoeia & National Formulary. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention; 2007. British Pharmacopoeia 2007 [CD-ROM]. London: British Pharmacopoeia Commission; 2007. Version 11.0.

VALENTE, L.M.M.; PAIXÃO, D.; NASCIMENTO, A. S.; SANTOS, P.F.P.; SCHEINVAR, L.A.; MOURA, MR.L.; TINOCO, L.W.; GOMES, L.N.; SILVA, J.F.M. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). **Food Chemistry**, p. 1127–1131, 2010.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Quimica Nova**, v. 28, n.3, p. 519-528, 2006.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.; SILVA, S. R.; MACHADO, M.; MORAES, E. M.; CALVENTE, A.; CRUZ, B.; CORREIA, D.; LAROCCA, J.; ASSIS, J. G.; AONA, L.; MENEZES, M. O. T.; MEIADO, M.; MARCHI, M. N.; SANTOS, M. R.; BELLINTANI, M.; COELHO, P.; NAHOUM, P. I.; RESENDE, S. **Plano de ação nacional para a conservação das cactáceas**. Brasília, DF: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2011.

ZENG, Q.; YE, J. CHENG, X.; QIN, J.; JIN, H. J.; ZHANG, W. D. Chemical constituents from *Aphanamixis grandifolia*. **Chemistry of Natural Compounds**, v.49(3), p.486-492, 2013.

WU, J. L., HASEGAWA, N. LI, T., SAKA, J. KAKUTA I, S., TANG, W. X., OKA, S., KIUCHI, M., OGURA, H., KATAOKA, T., TOMIDA, A., TSURUO, T., AND ANDO, M., **Journal of Natural Products**, v.68, p.1656, 2005.

YADAV, S.; KUMAR, S.; JAIN, P.; PUNDIR, R. K.; JADON, S.; SHARMA, A.; KHETWAL, K. S.; GUPTA, K. C. Antimicrobial activity of different extracts of roots of *Rumex nepalensis* Spreng. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, v. 2, n. 1, p. 65-69, 2011.

YAMAJI, T., SAITO, T., HAYAMIZU, K., YANAGISAWA, M., YAMAMOTO, O., WASADA, N.,& TANABE, K. Spectral database for organic compounds, **SDBS. NMR, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)**, Japan. 2014