



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

**ESTUDO FITOQUÍMICO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Harrisia adscendens* (GÜRKE) BRITTON
& ROSE (CACTACEAE)**

GEORGE LUÍS DIAS DOS SANTOS

CAMPINA GRANDE

2015

GEORGE LUÍS DIAS DOS SANTOS

**ESTUDO FITOQUÍMICO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Harrisia adscendens* (GÜRKE) BRITTON
& ROSE (CACTACEAE)**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador.: Prof. Dr. Harley da Silva Alves

Co-orientadora.: Profa. Dra. Ivana Maria Fechine

CAMPINA GRANDE

2015

É expressamente proibida 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 da dissertação.

S237e Santos, George Luís Dias dos.
Estudo fitoquímico, caracterização físico-química e avaliação da atividade antimicrobiana de *Harrisia adscendens* (gÜrke) Britton & Rose (cactaceae) [manuscrito] / George Luís Dias dos Santos. - 2015.
86 p. : il. color.

Digitado.
Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2015.
"Orientação: Prof. Dr. Harley da Silva Alves, Departamento de Farmácia".
"Co-Orientação: Profa. Dra. Ivana Maria Fechine".
1. Plantas medicinais. 2. Cactaceae. 3. Atividade antimicrobiana. 4. Fitoterapia. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

GEORGE LUÍS DIAS DOS SANTOS

**ESTUDO FITOQUÍMICO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Harrisia adscendens* (GÜRKE) BRITTON
& ROSE (CACTACEAE)**

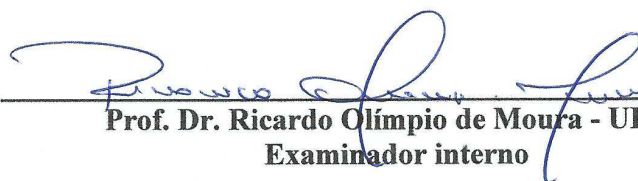
Aprovado em 28/08/2015

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas


BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Harley da Silva Alves - UEPB
Orientador



Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura - UEPB
Examinador interno



Prof. Dr. Josean Fachine Tavares - UFPB
Examinador externo

À Deus

À minha esposa (Ana Luzia) e filhos (Luís Miguel e Ana Luz)

À meus Pais (Martinho Antônio e Elisabeth Dias)

À meus segundos Pais (Manoel Batista[†] e Maria Madalena)

À meus irmãos (Paulo Henrique e Carlos André)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1	FAMÍLIA CACTACEAE	15
2.2	<i>Harrisia adscendens</i> (GÜRKE) BRITTON & ROSE (CACTACEAE)	18
2.3	PLANTAS MEDICINAIS.....	19
2.4	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	20
2.4.1	Alcaloides	20
2.4.2	Compostos Fenólicos.....	23
3	OBJETIVOS	25
3.1	OBJETIVO GERAL.....	25
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4	METODOLOGIA	26
4.1	MATERIAL BOTÂNICO.....	26
4.2	OBTENÇÃO DA DROGA VEGETAL DAS RAÍZES DE <i>Harrisia adscendens</i>	26
4.3	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E ESTUDO DE ANÁLISE TÉRMICA DA DROGA VEGETAL DAS RAÍZES DE <i>Harrisia adscendens</i>	26
4.3.1	Granulometria.....	27
4.3.2	Densidade	27
4.3.3	Determinação do pH.....	28
4.3.4	Determinação do Teor de Cinzas.....	28
4.3.5	Determinação da Perda por Dessecação	28
4.3.6	Estudo de Análise Térmica.....	28
4.4	OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (EEB)	29
4.5	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS (HABs).....	29
4.6	OBTENÇÃO DA FRAÇÃO ALCALOÍDICA TOTAL - FAT	29
4.7	TRIAGEM FITOQUÍMICA	30
4.7.1	Alcaloides	31
4.7.2	Esteroides	31
4.7.3	Taninos	31
4.7.4	Flavonoides.....	31
4.7.5	Saponinas.....	32
4.8	ISOLAMENTO POR MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	32
4.9	IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL	34
4.10	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	34
4.10.1	Cepas Microbianas	34
4.10.2	Preparação do Inóculo Microbiano	34
4.10.3	Determinação da Concentração Inibitória Mínima	35

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1	AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANÁLISE TÉRMICA DO PÓ DAS RAÍZES DE <i>Harrisia adscendens</i>	36
5.2	TRIAGEM FITOQUÍMICA QUALITATIVA DO EEB DAS RAÍZES DE <i>Harrisia adscendens</i>	38
5.3	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA - CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM).....	39
5.4	COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE <i>Harrisia adscendens</i> (GÜRKE) BRITTON & ROSE	40
5.4.1	Identificação do Composto HA-1.....	41
5.4.2	Identificação Composto HA-2.....	61
6	CONCLUSÕES	80
	REFERÊNCIAS.....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Propriedades físico-químicas da droga vegetal obtida das raízes de <i>H. adscendens</i> .	37
Tabela 2	Triagem fitoquímica qualitativa do EEB das raízes de <i>H. adscendens</i> .	38
Tabela 3	Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos hidroalcoólicos (HABs) e etanólico bruto (EEB) das raízes de <i>Harrisia adscendens</i> .	40
Tabela 4	Dados dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais do composto HA-1 isolado de <i>Harrisia adscendens</i> (Gürke) Britton & Rose.	43
Tabela 5	Dados comparativos dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto HA-1 isolado e valores encontrados na literatura.	43
Tabela 6	Dados comparativos dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto HA-2 usando $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ e DMSO.	63
Tabela 7	Dados dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais do composto HA-2 usando $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$.	63
Tabela 8	Dados comparativos dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto HA-2 e os valores encontrados na literatura.	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Alguns metabólitos secundários isolados da família Cactaceae.	17
Quadro 2	Estruturas básicas dos Alcaloides.	20
Quadro 3	Estrutura molecular do Núcleo Indólico (A) e Anel Piridínico (B) presentes nos alcaloides β -carbolínicos.	21
Quadro 4	Principais etapas da biossíntese dos alcaloides β -carbolínicos (A) e núcleo β -carbolina (B).	22
Quadro 5	Caracterização físico-química da droga vegetal das raízes de <i>Harrisia adscendens</i> (Gürke) Britton & Rose.	26
Quadro 6	Triagem Fitoquímica Preliminar do EEB das raízes de <i>Harrisia adscendens</i> (Gürke) Britton & Rose (COSTA, 2010; MATOS, 1997).	30
Quadro 7	Constituintes químicos isolados de <i>Harrisia adscendens</i> (Gürke) Britton & Rose.	40

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Marcha sistemática para obtenção da Fração Alcaloídica Total - FAT.	30
Esquema 2	Isolamento dos compostos HA-1 e HA-2.	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Diversidade de Cactaceae no Brasil (Zappi, D. et al 2015).	16
Figura 2	<i>Harrisia adscendens</i> (Gürke) Britton & Rose.	18
Figura 3	Distribuição de <i>Harrisia adscendens</i> no Brasil (ZAPPI, et al 2015).	18
Figura 4	Estrutura molecular do núcleo fundamental das chalconas.	23
Figura 5	Síntese de uma chalcona a partir de uma acetofenona.	23
Figura 6	Curva termogravimétrica da droga vegetal das raízes de <i>Harrisia adscendens</i> .	38
Figura 7	Espectro no Infravermelho (λ_{\max} , KBr, cm^{-1}) do composto HA-1.	44
Figura 8	Espectro RMN ^1H (δ , DMSO, 500 MHz) do composto HA-1.	45
Figura 9	Expansão do espectro RMN ^1H (δ , DMSO, 60 °C, 500 MHz) do composto HA-1.	46
Figura 10	Espectro RMN ^{13}C , técnica APT (δ , DMSO, 125 MHz) do composto HA-1.	47
Figura 11	Expansão espectro RMN ^{13}C , técnica APT (δ , DMSO, 125 MHz) do composto HA-1.	48
Figura 12	Espectro do mapa de contorno COSY - ^1H x ^1H do composto HA-1.	49
Figura 13	Expansão do mapa de contorno COSY - ^1H x ^1H do composto HA-1.	50
Figura 14	Espectro do mapa de contorno HMBC - ^1H x ^{13}C do composto HA-1.	51
Figura 15	Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - ^1H x ^{13}C do composto HA-1.	52
Figura 16	Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - ^1H x ^{13}C do composto HA-1.	53
Figura 17	Espectro do mapa de contorno HSQC - ^1H x ^{13}C do composto HA-1.	54
Figura 18	Expansão espectro do mapa de contorno HSQC - ^1H x ^{13}C do composto HA-1.	55
Figura 19	Expansão espectro do mapa de contorno HSQC - ^1H x ^{13}C do composto HA-1.	56
Figura 20	Espectro do mapa de contorno NOESY - ^1H x ^1H do composto HA-1.	57

Figura 21	Expansão do espectro do mapa de contorno NOESY - $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ do composto HA-1.	58
Figura 22	Espectro de massas de baixa resolução do composto HA-1.	59
Figura 23	Espectro de massas de alta resolução do composto HA-1.	60
Figura 24	Espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) do composto HA-2.	65
Figura 25	Espectro RMN de ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) do composto HA-2.	66
Figura 26	Expansão do espectro RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500MHz) do composto HA-2.	67
Figura 27	Espectro RMN ^1H (δ , DMSO, 500 MHz) do composto HA-2.	68
Figura 28	Expansão do espectro RMN ^1H (δ , DMSO, 125 MHz) do composto HA-2.	69
Figura 29	Expansão do espectro RMN ^1H (δ , DMSO, 500 MHz) do composto HA-2.	70
Figura 30	Espectro RMN ^{13}C (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) do composto HA-2.	71
Figura 31	Espectro RMN ^{13}C , técnica DEPT 135 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) do composto HA-2.	72
Figura 32	Espectro do mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.	73
Figura 33	Expansão do espectro do mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.	74
Figura 34	Espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.	75
Figura 35	Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.	76
Figura 36	Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.	77
Figura 37	Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.	78
Figura 38	Espectro do mapa de contorno COSY - $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ do composto HA-2.	79

RESUMO

Pesquisas com plantas medicinais têm apresentado grande importância para o desenvolvimento de novos medicamentos. Inúmeras espécies vegetais brasileiras ainda permanecem sem qualquer estudo químico-biológico. *Harrisia adscendens*, espécie da família Cactaceae encontrada no semiárido nordestino, é conhecida popularmente como “rabo de raposa”, sendo utilizada para tratamento de “quentura”, problemas renais e dentalgia. O presente trabalho teve como objetivo realizar estudo fitoquímico, caracterização físico-química e atividade biológica das raízes de *Harrisia adscendens*. As raízes da planta foram desidratadas em estufa de circulação de ar, a uma temperatura de 40 °C, e em seguida, pulverizadas em moinho de facas. Os métodos para avaliação físico-química foram realizados de acordo com a Farmacopéia Brasileira. O pó foi submetido aos testes de pH, granulometria, densidade, teor de cinzas, perda por dessecação e análise térmica. Posteriormente, o pó foi macerado e o filtrado concentrado em evaporador rotativo para produção do extrato etanólico bruto (EEB). Na triagem fitoquímica foram feitos testes qualitativos para identificação de flavonoides, catequinas, fenóis/taninos, saponinas e alcaloides. A atividade antimicrobiana foi realizada a partir concentração inibitória mínima (CIM) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis* pelo teste de microdiluição em placas. Para isolamento e identificação dos metabólitos secundários foram utilizadas técnicas cromatográficas e espectroscópicas como IV, EM e RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais. Na análise físico-química 28,4% do pó ficou retido na malha de 180 μm classificando-o como semifino. A droga vegetal possui um caráter relativamente ácido com pH de 5,68. Foi verificada uma densidade bruta de 0,322 g/mL e densidade compacta de 0,487 g/mL permitindo o cálculo do fator de Hausner de 1,51. A compressibilidade e o índice de compressibilidade foram de 10,5 mL e 33,8%, respectivamente. O percentual de umidade residual pela perda por dessecação foi de 12,7% e a determinação do teor de cinzas totais revelou 6,14% de matéria inorgânica. Na análise térmica houve uma perda de 88% de massa orgânica e 12% de cinzas. Na triagem fitoquímica qualitativa foram obtidos resultados sugestivos da presença de alcaloides de acordo com os testes positivos com os reagentes de Dragendorff, Bouchardat e Mayer. Com relação a atividade antimicrobiana foi considerado que todos os extratos frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis* não apresentaram atividade. Após isolamento e comparações com dados da literatura, foram identificadas as substâncias 2-metil-9H- β -carbolina-2-íon (alcaloide β -carbolínico) e 2',6'-dihidroxi-4'-metoxiacetofenona-2'O- β -glicose (acetofenona). Os dados físico-químicos obtidos com o estudo de *H. adscendens* mostraram informações relevantes relacionadas ao desenvolvimento de novos fitoterápicos/fitofármacos. Com relação a atividade antimicrobiana não há uma padronização dos valores de referência para avaliar o potencial antimicrobiano de produtos naturais a partir da CIM. Os metabólitos secundários isolados neste estudo são inéditos tanto para o gênero *Harrisia* quanto para a família Cactaceae.

Palavras-chave: Caatinga, plantas medicinais, alcaloide, acetofenona, microrganismos.

ABSTRACT

Researches on medicinal plants have shown great importance to the development of new drugs. Numerous Brazilian plant species still remain without any chemical-biological study. *Harrisia adscendens*, Cactaceae family species found in the semi-arid northeast, is popularly known as “foxtail” and is used for treatment of "warmth", kidney problems and toothache. This study aimed to carry out phytochemical study, physicochemical characterization and biological activity of the roots of *Harrisia adscendens*. The plant roots were dried in an air circulating oven at a temperature of 40 ° C, and then pulverized in a slicer. The physicochemical methods for evaluation were conducted according to the Brazilian Pharmacopoeia. The powder was submitted to the test pH, particle size, density, ash content, loss on drying and thermal analysis. Subsequently, the powder was thoroughly macerated and the filtrate concentrated on a rotary evaporator to yield the crude ethanolic extract (CEE). In phytochemical screening were made qualitative tests for identification of flavonoids, catechins, phenols / tannins, saponins and alkaloids. The antimicrobial activity was performed based minimum inhibitory concentration (MIC) against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Candida tropicalis* by microdilution test plates. For isolation and identification of secondary metabolites have been used chromatographic and spectroscopic techniques such as TLCA, IR, MS, NMR ¹H and ¹³C 1D and 2D. In physical-chemical analysis 28.4% of the powder was held in mesh 180 µm classifying it as semi-fine. The powder has a relatively acidic character pH of 5.68. A gross density of 0.322 g/mL, tapped density of 0.487 g/mL allowing the calculation of the Hausner factor of 1.51 was observed. The compressibility and the compressibility index were 10.5 mL and 33.8%, respectively. The percentage of residual moisture by loss on drying was 12.7% and the determination of total ash content showed 6.14% inorganic matter. In the thermal analysis, there was a loss of mass of 88% organic and 12% ash. In qualitative phytochemical screening results obtained were suggestive of the presence of alkaloids according to positive tests with Dragendorff, Bouchardat and Mayer reagent. Regarding the antimicrobial activity it was considered that all extracts fronts *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Candida tropicalis* showed no activity. After isolation and comparisons with the literature, they were identified the 2-methyl-9H-β-carboline-2-ium (β-carboline alkaloid) and 2',4'-methoxyacetophenone-6'-dihydroxy-2'-O-β-glucose (acetophenone) substances. The physicochemical data obtained from the study showed *H. adscendens* information relevant to the development of new phytotherapy/phytochemical. Regarding the antimicrobial activity there is no standardization of the reference values to evaluate the antimicrobial potential of natural products from the CIM. The secondary metabolites isolated in this study are unprecedented for both *Harrisia* gender and for the Cactaceae family.

Keywords: Caatinga, medical plants, alkaloid, acetophenone, microorganisms.

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (2011) estima que 70% - 90% da população dos países em desenvolvimento necessite da medicina tradicional na atenção primária da saúde. A cultura do uso de plantas com propriedades terapêuticas vem sendo valorizada pela sociedade do mundo inteiro e retornou ao *status* de uma fonte de produtos medicinais devido à busca por hábitos mais saudáveis de vida.

O Brasil possui grande potencial para o desenvolvimento dessa terapêutica, como apresenta a maior diversidade vegetal do mundo. O uso dessas plantas, vinculado ao conhecimento tradicional e a tecnologia, pode validar cientificamente esse conhecimento. Cerca de 82% da população brasileira utiliza produtos a base de plantas como recurso terapêutico incluindo desde o consumo da planta fresca e seus derivados até medicamentos fitoterápicos (BRASIL, 2015).

Segundo Novais e seus colaboradores (2003) cerca de 18% do território nacional é constituído pelo semiárido, na qual estima-se haver mais de oito mil espécies vegetais, sendo que 76% do território paraibano se encontra nesta região. O bioma caatinga é uma das vegetações mais ameaçadas do planeta e muitos pesquisadores chamam a atenção para o fato de que as populações distribuídas dentro deste bioma, em sua maioria, usufruem diretamente dos recursos vegetais existentes para o próprio sustento (ROQUE, 2010). Podemos ver o uso dessas plantas medicinais como uma estratégia terapêutica no tratamento e cura de enfermidades para os indivíduos de uma determinada sociedade (GERTSCH, 2009).

Dentre as inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal, encontradas no semiárido nordestino, temos a família Cactaceae, encontradas principalmente na caatinga no nordeste brasileiro, com importância econômica, principalmente pelo valor ornamental e forrageiro. No que diz respeito à agropecuária regional, algumas espécies servem para alimentação de bovinos, caprinos e ovinos, principalmente na época de estiagem (ROCHA e AGRA, 2002). São escassos os estudos fitoquímicos e farmacológicos com estas plantas, porém, muitas espécies da família Cactaceae possuem propriedades medicinais bem estabelecidas, que apresentam atividade antioxidante, anti-inflamatória, anti-ulcerogênica, antinociceptiva, dentre outras (DAVET et. al., 2009),

Harrisia adscendens (Gürke) Britton & Rose é uma espécie nativa da caatinga, do semiárido nordestino, conhecida como “rabo de raposa”, utilizada para tratamento de “quentura”, problemas renais e dentalgia (ALBUQUERQUE et al., 2007). Apesar de ser

utilizada por diversas comunidades, não existem dados na literatura que comprovem quais substâncias possuem as atividades biológicas para as patologias citadas.

Portanto reconhece-se a necessidade do isolamento de novos compostos químicos para o desenvolvimento de medicamentos mais específicos e seletivos, que apresentem menor incidência de efeitos colaterais, e neste contexto, a pesquisa com plantas medicinais parece ser importante ferramenta para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, uma vez que possui como ponto de partida a utilização na medicina popular.

Baseado nos pressupostos citados e na perspectiva de colaborar para novas alternativas terapêuticas e confirmar a informação popular, o intuito deste trabalho foi de realizar estudo fitoquímico, caracterização físico-química e avaliação da atividade antimicrobiana das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 FAMÍLIA CACTACEAE

Dentre as várias famílias de plantas encontradas na flora brasileira, as cactáceas se destacam e chamam atenção por sua rusticidade e beleza. Elas apresentam grande potencial como fonte de substâncias de uso medicinal, cosmético e alimentício (MARIATH et al., 2009).

A família Cactaceae é composta aproximadamente por 1.800 espécies divididas em 125 gêneros (BARTHOLOTT e HUNT, 1993; ARECES, 2004; NYFFELER e EGGLI, 2010). São Plantas dicotiledôneas, perenes, geralmente suculentas, espinhosas e altamente especializadas apresentando um alto grau de evolução paralela em morfologia vegetativa e na estrutura floral (BARTHOLOTT e HUNT, 1993). O caule é dividido em artículos que são os cladódios que podem ser planos, cilíndricos, colunares e globosos. Os espinhos são alterações foliares, muito variáveis na forma, cor e disposição, reunidos em um ponto saliente ou deprimido, que constitui a aréola onde originam ramos, folhas, flores, espinhos, glândulas e pêlos (BARROSO et al, 1978).

As Cactaceae apresentam a subfamília Cactoideae e estão divididas em três tribos, Pereskieae, Opuntieae e Cereae, sendo que *Harrisia adscendens* pertence à tribo Cereae e subtribo Trichocereinae (BARROSO et al, 1978).

São plantas predominantemente neotropicais, com ocorrência em regiões tropicais e temperadas do continente americano, distribuída numa ampla diversidade de habitat desde a Argentina até o Canadá. Apenas a espécie *Rhipsalis bacífera* tem ampla distribuição se estendendo para África do Sul, Madagascar e Sri Lanka (BARTHOLTT, 1993).

No Brasil, a família Cactaceae está distribuída em todas as regiões (Figura 1, página 16), sendo encontrada nos biomas da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal. O gênero *Harrisia* possui 3 espécies distribuídas no Nordeste e no Centro-Oeste nos biomas Caatinga, Cerrado e Pantanal: *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose, *Harrisia balansae* (K.Schum.) N.P.Taylor & Zappi, *Harrisia tortuosa* (J.Forbes ex Otto & A.Dietr.) Britton & Rose (ZAPPI, D et al, 2015).

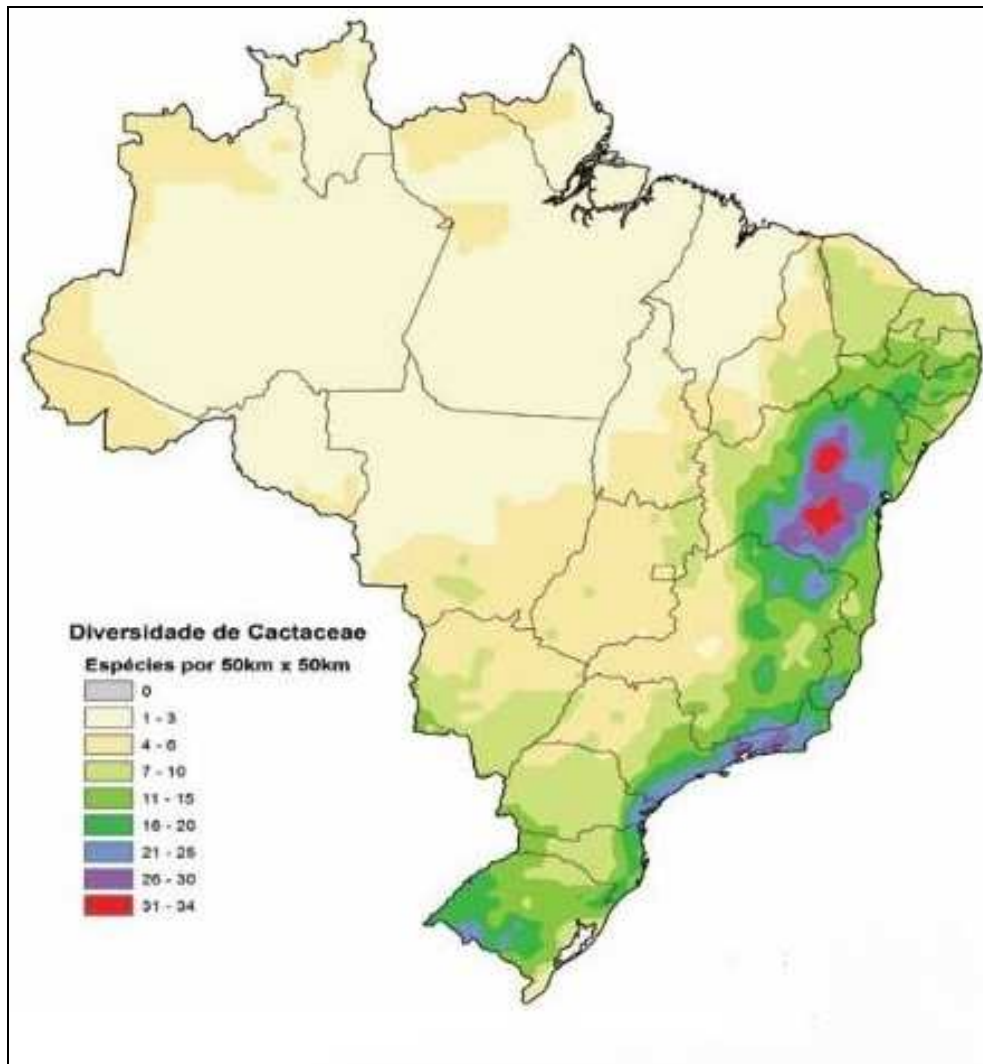
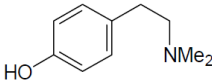
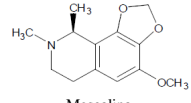
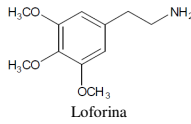
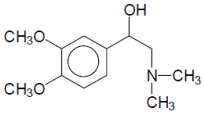
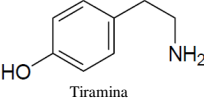
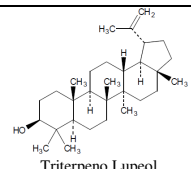
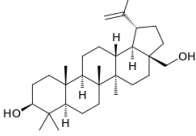
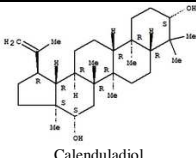
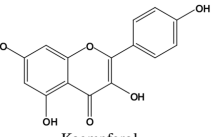


Figura 1: Diversidade de Cactaceae no Brasil (Zappi, D. et al 2015)

Dentre as substâncias mais encontradas na família Cactaceae estão os alcaloides feniletilamínicos, os triterpenos e os flavonoides (Quadro 1, página 17).

Quadro 1: Alguns metabólitos secundários isolados da família Cactaceae

Estrutura	Espécie	Atividade Biológica	Referência
 <p>Hordenina</p>	<i>Ariocarpus kotschoubeyanus</i> <i>Coryphantha missouriensis</i>	Estimulante do sistema nervoso central.	Neal et. al., 1971 Pummangura et al, 1991
 <p>Mescalina</p>	<i>Echinocereus merkeri</i>	Alucinógena.	Agurell et. al., 1969
 <p>Loforina</p>	<i>Echinocereus merkeri</i>	Alucinógena.	Agurell et. al., 1969
 <p>Macromerina</p>	<i>Coryphantha calipensis</i>	Alucinógena.	Brhun e Arugell, 1974
 <p>Tiramina</p>	<i>Cereus jamacaru</i> <i>Coryphantha missouriensis</i>	Antimicrobiana.	Brhun e Arugell, 1974 Pummangura et. al, 1991
 <p>Triterpeno Lupeol</p>	<i>Stenocereus thurberi</i>	Supressor de células cancerígenas.	Kircher, 1980
 <p>Betulina</p>	<i>Stenocereus thurberi</i>	Antiretroviral, antineoplásica, anti-inflamatória.	Kircher, 1980
 <p>Calenduladiol</p>	<i>Stenocereus thurberi</i>	Anti-inflamatória.	Kircher, 1980
 <p>Kaempferol</p>	<i>Cereus jamacaru</i>	Anti-inflamatória, Antioxidante, antitumoral.	Burret et. al, 1982

2.2 *Harrisia adscendens* (GÜRKE) BRITTON & ROSE (CACTACEAE)

A subtribo Trichocereinae é encontrada na região Andina do centro oeste da América do sul. A espécie *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose (Figura 2, página 18) é a única espécie dos quatro gêneros da subtribo Trichocereinae que se encontra no Brasil (FRANCK et. al., 2013).



Figura 2.: *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose.

A *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose é uma espécie endêmica do Brasil (Figura 3, página 18) e nativa da caatinga, do semiárido nordestino, conhecida como rabo de raposa. A espécie é encontrada em todos os estados do nordeste brasileiro, exceto no estado do Maranhão e Rio Grande do Norte (ZAPPI et. al., 2015).

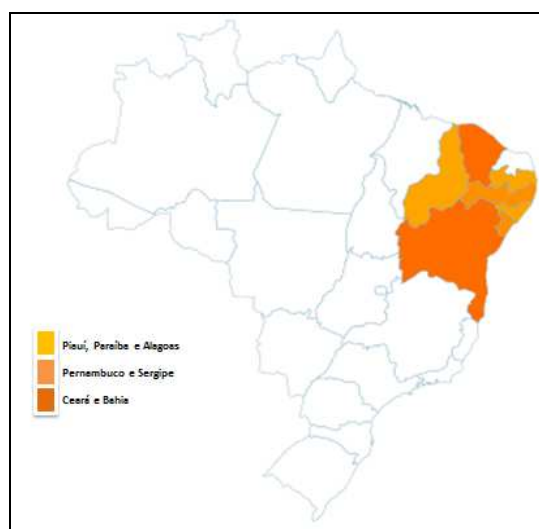


Figura 3: Distribuição de *Harrisia adscendens* no Brasil (ZAPPI, et al 2015)

2.3 PLANTAS MEDICINAIS

As pesquisas com plantas medicinais tem apresentado grande importância para o desenvolvimento de novas drogas (MESQUITA et. al., 2005). Estima-se que até o início da década de 80, menos de 1% das espécies da flora brasileira eram conhecidas em seu aspecto químico e farmacológico. Mesmo tendo um aumento desse número nas últimas décadas, esse conhecimento é ainda muito insignificante frente à enorme biodiversidade apresentada no país (FAZOLIN et. al., 2007).

Muitas espécies de plantas brasileiras permanecem sem qualquer estudo químico ou biológico, representando um potencial econômico valioso. A biodiversidade brasileira está sendo ameaçada pela grande extinção de espécies, levando a perda de substâncias de valor terapêutico e do seu código de expressão genética, impossibilitando a manutenção de um grande manancial químico. Os dados quimiotaxionômicos estão sendo catalogados com o aumento de pesquisas nesta área. Tais dados confirmam a classificação botânica das espécies, como também, direcionam a pesquisa para o estudo de vegetais com maior probabilidade de se apresentar algum composto com potencial aplicação. Os dados etnofarmacológicos também levam a descoberta de substâncias bioativas de plantas (HOSTETTMANN et al., 2003).

A partir do interesse popular e da indústria farmacêutica o Ministério da Saúde do Brasil criou em 2008 o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e uma Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS) com intuito de aumentar as pesquisas voltadas aos fitoterápicos que possuam potencial farmacológico (MARQUES et. al., 2012).

Na medicina popular a infusão ou o decocto da raiz de *H. adscendens* é utilizado em tratamentos de problemas renais, dores na coluna, dores de dente (ROCHA e AGRA, 2011) e segundo Andrade et. al. (2006) o chá dessa espécie é utilizado também para tratamento de problemas na próstata.

Para introdução na RENISUS se faz necessário estudos científicos voltados aos critérios de qualidade quanto ao uso das raízes de *H. adscendens* que possa garantir tanto sua eficácia terapêutica quanto sua segurança como matéria prima farmacêutica (BARNI et. al., 2009). Para que seja garantida sua utilização seguindo parâmetros de qualidade, assegurando sua reprodutibilidade, as especificações para desenvolvimento do fitoterápico a partir das raízes de *H. adscendens* devem seguir especificações das farmacopeias referentes as drogas vegetais (MICHELIN et. al., 2010).

2.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

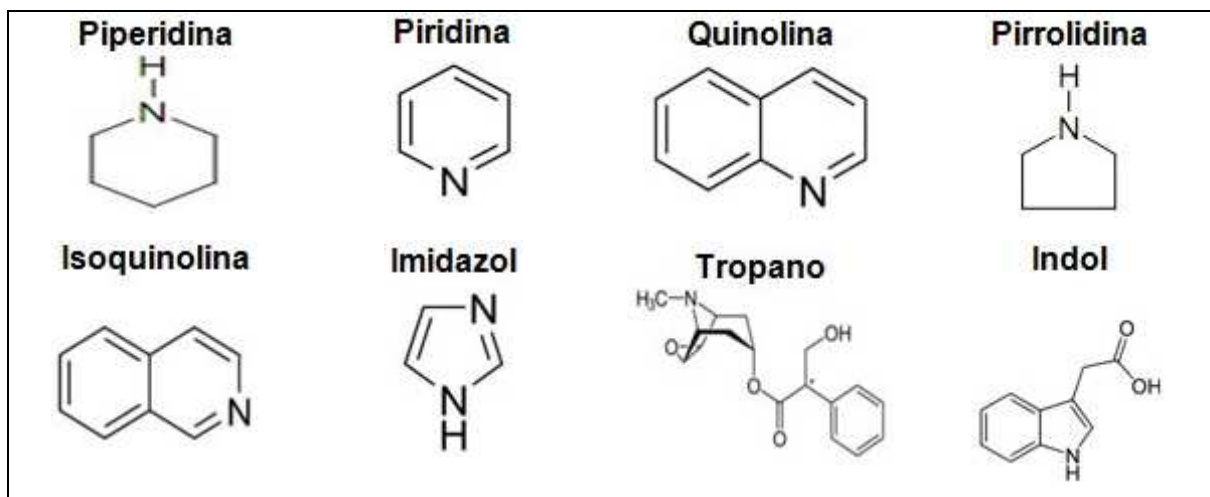
Os metabólitos secundários são substâncias especiais oriundas de reações químicas para suprimento das exigências fundamentais das plantas. Tais substâncias estão relacionadas diretamente com as respostas biológicas dos vegetais, que respondem aos estresses bióticos e abióticos ativando uma matriz de mecanismos de defesa através da biossíntese de vários metabolitos dentre eles alcalóides e compostos fenólicos (DOLFERUS, 2014).

2.4.1 Alcaloides

Os alcaloides são encontrados em diversos grupos vegetais e são classificados de acordo com seu esqueleto básico (Quadro 2, página 20). Nas angiospermas, ocorrem nas dicotiledôneas e em algumas monocotiledôneas. Nas Gimnospermas e Pteridófitas são pouco frequentes. Acredita-se que esses compostos possuem a função de hormônios reguladores, defesa da planta frente a microrganismos e fonte de reserva de nitrogênio. De forma geral, esses metabólitos secundários são produzidos pela planta a partir de aminoácidos, como a α -lisina, α -tirosina, α -triptofano e α -histidina, bem como outros precursores como ácido mevalônico, ácido antralínico, terpenos e esteroides (SIMÕES et al., 1999).

Os alcaloides apresentam uma grande diversidade de metabólitos secundários, com variedade estrutural bastante ampla. Estruturas clássicas de alcalóides já foram isoladas de outros organismos vivos, como em fungos, bactérias e mamíferos (MOURA, 2006).

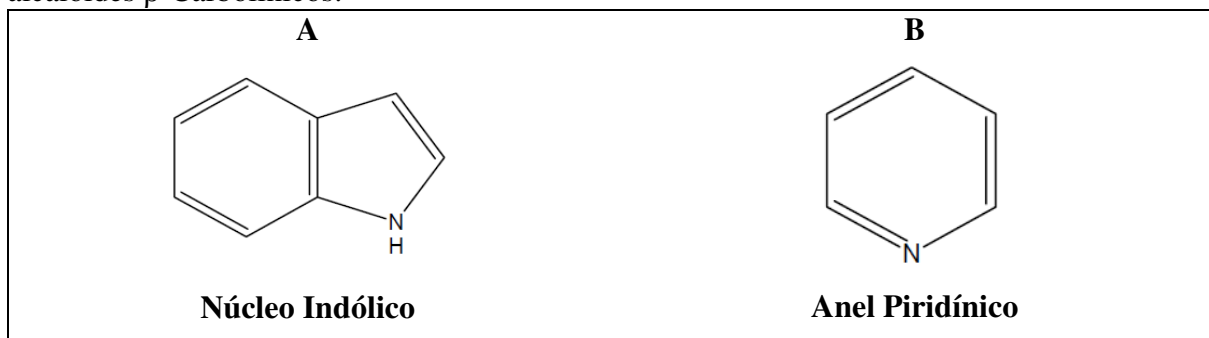
Quadro 2: Estruturas básicas dos Alcaloides.



Muitos estudos descrevem que os alcalóides agem como agentes anti-hipertensivos, antitumorais, hipnoanalgésicos, estimulantes do sistema nervoso central, simpatomiméticos, amebicidas e eméticos, antimaláricos, antitussígenos, depressores cardíacos, diuréticos, miorrelaxantes, antivirais, anticolinérgicos e antibacterianos (BOECK, 2005).

Dentre as diversas classes de alcaloides os β -carbolínicos são constituídos da junção de um anel piridínico hidrogenado de seis membros e um núcleo indólico (Quadro 3, página 21), sendo assim, classificados como alcaloides do grupo indólico também chamado de alcaloides harmala, pois os primeiros a serem isolados foram a Harmalina e a Harmina da espécie *Peganum harmala* (Zygophillaceae), a qual era utilizada em rituais religiosos como bebidas alucinógenas e outras formas na bacia Amazônica (HASHIMOTTO et al., 1988; BRUNETON, 1992; PICADA, 1997).

Quadro 3.: Estrutura molecular do Núcleo Indólico (A) e Anel Piridínico (B) presentes nos alcalóides β -Carbolínicos.



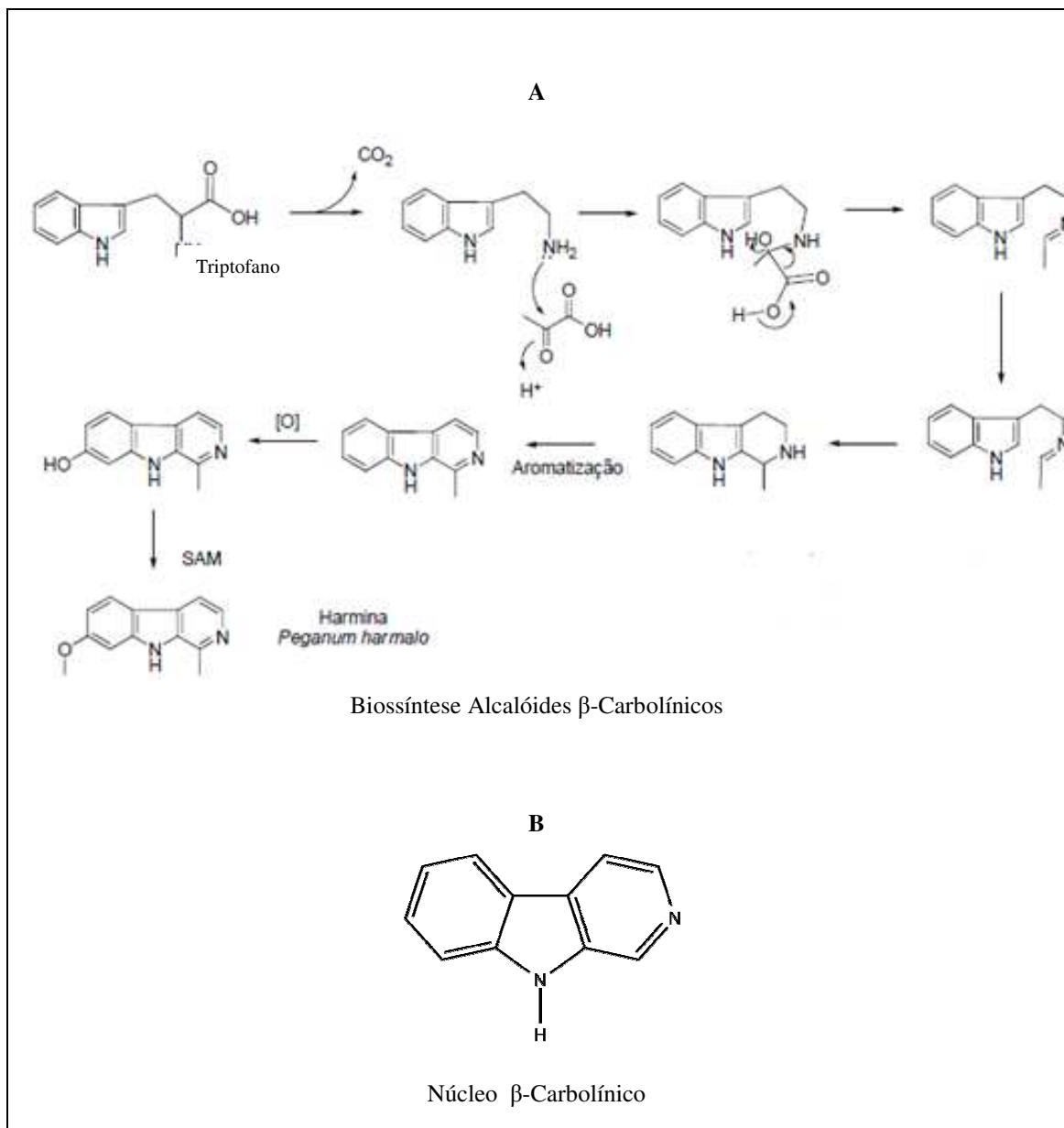
Segundo Glennon et al. (2000) dependendo do grau de saturação do anel as β -carbolinas podem ser classificadas em três grupos diferentes: as totalmente aromáticas, as dihidro- β -carbolinas ou derivados do harmalano e as tetrahidro- β -carbolina, com anel piridínico totalmente saturado. Nos vegetais esses alcalóides originam-se do aminoácido triptofano, através da condensação entre um aldeído ou α -cetoácido com a triptamina (Quadro 4, página 24).

Com relação às atividades biológicas dos alcaloides com núcleo β -carbolina, alguns atuam inibindo a enzima monoamino-oxidase do tipo A (MAO-A) gerando um estado de excitação, aumentando a atividade psicomotora, entre outros efeitos. Acredita-se que estes alcaloides sejam semelhantes estruturalmente com as aminas indólicas triptamina e serotonina, podendo possuir relativa afinidade a seus receptores cerebrais (HUSBANDS et. al., 2001).

Peres (1999) estudando os efeitos destes alcaloides observou que as β -carbolinas podem apresentar atividade imunossupressora *in vitro* em linfócitos periféricos humanos. Dependendo da estrutura e da concentração destes alcalóides, os mesmos podem apresentar toxicidade em células eucarióticas e procarióticas através de efeitos tóxicos e mutagênicos.

Além das atividades biológicas anteriormente citadas, outros estudos mostraram que os alcaloides β -carbolina também possuem atividade antirretrovirais, antiparasitária e antimicrobiana (MORI et. al., 2015).

Quadro 4.: Principais etapas da biossíntese dos alcaloides β -carbolínicos (A) e núcleo β -carbolina (B).



2.4.2 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são largamente distribuídos nas plantas constituindo um grupo muito diversificado de substâncias químicas derivadas da fenilalanina e tirosina, de baixo e alto grau de polimerização, na forma livre ou ligada a açúcares e proteínas, sendo essenciais para o crescimento e reprodução das mesmas. Essas substâncias apresentam um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (NACZK, M. e SHAHIDI, F, 2004; LEE et al., 2005).

Dentre os compostos fenólicos existentes, as acetofenonas são também conhecidas como aril cetonas simples que podem ser usadas para sínteses de algumas moléculas orgânicas como as chalconas. As chalconas na natureza são precursores da via de biossíntese dos flavonoides. Possui em sua estrutura um núcleo fundamental 1,3-diarilpropano (Figura 4, página 23), modificado pela presença de uma ligação olefínica e de um grupamento cetona (BOECK, 2005).

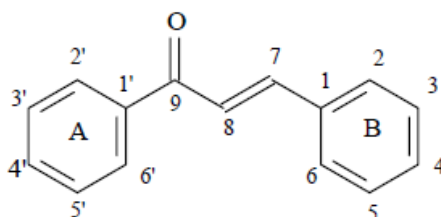


Figura 4.: Estrutura molecular do núcleo fundamental das chalconas.

Boeck (2005) sintetizou uma chalcona - 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxichalcona (A) pela primeira vez a partir da xantoxilina 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxiacetofenona (B), extraída da *Alpinia chinensis* Roscol em 1940, através da reação com benzaldeído usando benzeno como solvente, hidróxido de sódio como base e aquecimento por 1,5 horas (Figura 5, página 23).

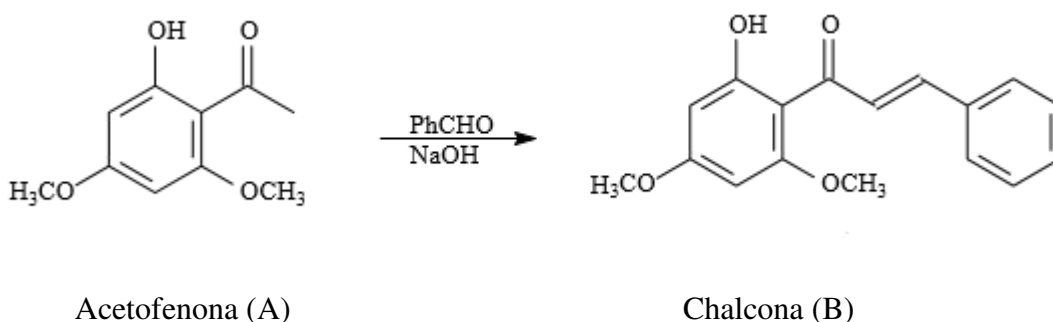


Figura 5.: Síntese de uma Chalcona a partir de uma Acetofenona.

As chalconas podem ser utilizadas como matérias-primas para a síntese de moléculas mais complexas de interesse farmacológico ou como protótipos para o desenvolvimento de medicamentos por apresentar diferentes propriedades biológicas como antileishmania, bactericida, antitumorogênica, anti-ulcerogênica, anti-HIV, antinociceptiva, antituberculose e antifúngica (CHEVALLEY et. al., 2001; LUNARDI et. al., 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Realizar estudo fitoquímico, caracterização físico-química e avaliação da atividade antimicrobiana das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a caracterização físico-química e análise térmica da droga vegetal das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose;
- Avaliar a atividade antimicrobiana frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis* pela concentração inibitória mínima (CIM) dos EEB e HABs das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose.
- Isolar, purificar e identificar metabólitos secundários das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose;

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAL BOTÂNICO

O material vegetal utilizado foi a raiz de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose, conhecida popularmente como “rabo de raposa”. A amostra da planta foi coletada no dia 24 de março de 2014, no sertão paraibano na zona rural da cidade de Itaporanga, latitude 7,1845 S e longitude 38,0959 O. Foi confeccionada uma exsicata e enviada ao Herbário JPB da Universidade Federal da Paraíba, para devida identificação e denominação botânica, e se encontra registrada sob o número JPB 61259.

4.2 OBTENÇÃO DA DROGA VEGETAL DAS RAÍZES DE *Harrisia adscendens*

Foram coletadas 6,4 kg das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose. Após a coleta as raízes foram desidratadas em estufa de circulação de ar, sob temperatura de 40° C durante 72 h e, em seguida, trituradas em moinho mecânico de facas, obtendo-se 1.430 g da droga vegetal.

4.3 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E ESTUDO DE ANÁLISE TÉRMICA DA DROGA VEGETAL DAS RAÍZES DE *Harrisia adscendens*

A caracterização físico-química da droga vegetal das raízes de *Harrisia adscendens* foi realizada seguindo as metodologias mostradas no quadro 5 (página 26).

Quadro 5. Caracterização físico-química da droga vegetal das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose

TÉCNICAS	REFERÊNCIAS
GRANULOMETRIA	Farmacopeia Brasileira (2010)
pH	Farmacopeia Brasileira (2010)
DENSIDADE	Farmacopeia Brasileira (2010)
TEOR DE CINZAS TOTAIS	Farmacopeia Brasileira (2010)
PERDA POR DESSECAÇÃO	Farmacopeia Brasileira (2010)

4.3.1 Granulometria

Com um tamisador com malhas específicas, 25 g da droga seca e pulverizada foram submetidas a uma série de tamises com abertura de malha de 710 μm , 355 μm , 250 μm , 180 μm , 150 μm , 75 μm e 38 μm durante 30 minutos. O tamanho das partículas foi avaliado pela quantificação percentual de retenção do pó de cada tamis. Pesou-se a quantidade de pó em cada tamis e procedeu aos cálculos utilizando a equação 1:

$$\text{Pó retido pelo tamis} = \frac{P1}{P2} \cdot 100 \quad (\text{equação 1})$$

Onde:

P1 = Peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);

P2 = Soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas);

100 = Fator de porcentagem.

4.3.2 Densidade

Foi pesado 10 g da droga vegetal da amostra e transferido para uma proveta de 25 mL. Realizaram-se quedas de 10 e 500 vezes a altura de 20 cm e medição do volume em cada processo. Em seguida, foram calculadas a densidade bruta (equação 2), a densidade compacta (equação 3), o índice de compressibilidade (equação 4) e compressibilidade (equação 5). Após essas determinações calculou-se o fator de Hausner determinado através do quociente entres as densidades compactada e bruta.

$$db = \frac{Ma}{Vb} \quad (\text{equação 2})$$

$$dc = \frac{Ma}{Vc} \quad (\text{equação 3})$$

$$IC = \frac{dc - db}{dc} \cdot 100 \quad (\text{equação 4})$$

$$C = V_{10} - V_{500} \quad (\text{equação 5})$$

Sendo:

db = densidade bruta;

dc = densidade compacta;

Ma = massa da amostra;
IC = coeficiente de compressibilidade;
C = Compressibilidade;
V₁₀ = volume após 10 quedas;
V₅₀₀ = volume após quinhentas quedas.

4.3.3 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada pesando 0,5 g da droga vegetal em um béquer. Foram adicionados 40 mL de água para aquecimento durante 5 minutos. Filtrou e após o resfriamento mediu o pH, em pHmetro Meter Model - PHS - 3B, calibrado em pH de 4 a 9.

4.3.4 Determinação do Teor de Cinzas

Uma amostra de 3 g foi transferida uniformemente para cadinho, previamente tarado, e incinerada aumentando-se, gradativamente, a temperatura de 600 °C em forno mufla até que todo o material fosse eliminado. A amostra foi resfriada em dessecador e pesada. Foi calculada a porcentagem de cinzas em relação à matéria prima seca em estufa de circulação.

4.3.5 Determinação da Perda por Dessecação

Para determinação da perda por dessecação pesou-se 2 g da amostra e transferiu para pesa-filtro chato previamente dessecado durante 30 min. Colocou-se o pesa-filtro na estufa a 105 °C durante 2 horas. Resfriou-se até temperatura ambiente em dessecador até peso constante e, posteriormente, pesado.

4.3.6 Estudo de Análise Térmica

As análises termogravimétricas foram realizadas em um equipamento Shimadzu TGA-50H e DTA-50 em atmosfera de nitrogênio (50 mL/min) utilizando razões de aquecimento de 10 °C/min na faixa de temperatura ambiente até 900 °C. A massa utilizada no experimento foi de 7,14 mg. Os dados foram analisados usando o programa Tasy 60 da Shimadzu.

4.4 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO (EEB)

A droga vegetal, seca e pulverizada, foi submetida a macerações com etanol a 96%, em recipiente de vidro para preparo do extrato etanólico bruto (EEB). Foram realizadas extrações num intervalo de 72 horas, em cada uma das extrações. Os macerados obtidos passaram por um processo de evaporação do solvente em evaporador rotativo à pressão reduzida a uma temperatura não superior a 50 °C, obtendo-se o 125 g de EEB.

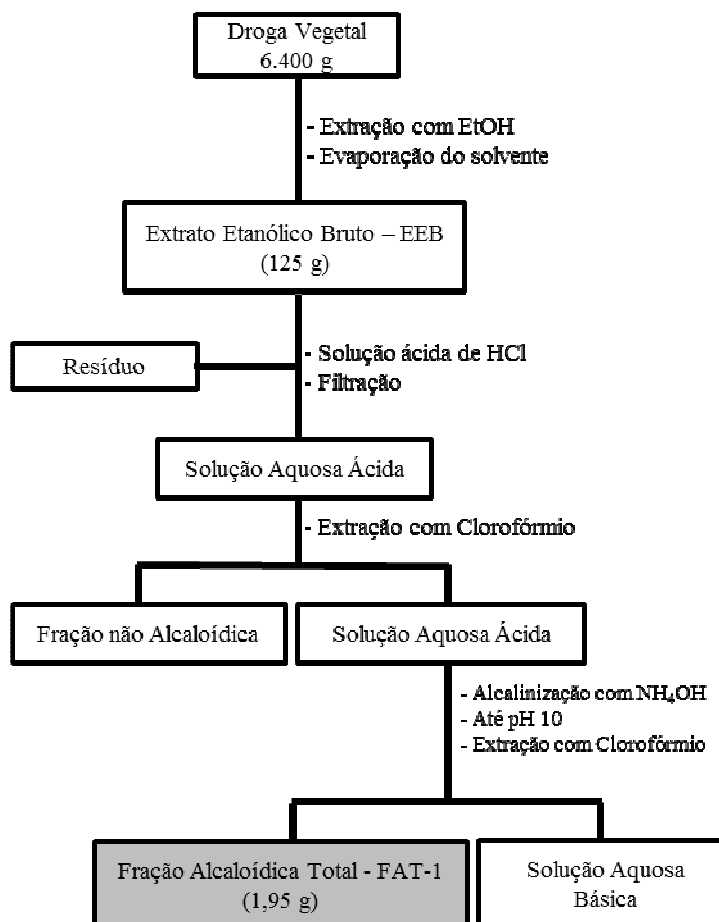
4.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS (HABs)

O material seco e pulverizado foi submetido a maceração com soluções de etanol:água nas seguintes proporções: 9:1, 7:3, 1:1, 3:7 e 1:9 para obtenção dos extratos hidroalcoólicos brutos (HABs). Foram realizadas extrações num intervalo de 72 horas, em cada uma das extrações. O macerado obtido foi submetido a um processo de evaporação do solvente em evaporador rotativo à pressão reduzida a uma temperatura não superior a 50 °C.

4.6 OBTENÇÃO DA FRAÇÃO ALCALOÍDICA TOTAL - FAT

O EEB foi submetido a marcha para alcaloides sendo tratado com 2 L de uma solução ácida de HCl a 3% (v/v) e, posteriormente, filtrado em papel filtro. O resíduo foi descartado e o filtrado foi submetido a várias extrações com clorofórmio para remoção de compostos apolares e outras impurezas. A solução da fase clorofórmica não alcaloídica foi rotoevaporada para estudos futuros. A fase aquosa ácida foi alcalinizada com NH₄OH (P.A), sob forte agitação, até pH 10 e, extraída com 8 L de clorofórmio. Posteriormente, a fase clorofórmica foi evaporada à pressão reduzida em evaporador rotativo a 50 °C obtendo-se 1,95 g da fração alcaloídica total - FAT (Esquema 1, página 30).

Esquema 1.: Marcha sistemática para obtenção da Fração Alcaloídica Total – FAT



4.7 TRIAGEM FITOQUÍMICA

Os EEB das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose foi submetido a testes fitoquímicos preliminares seguindo os testes do quadro 6 (página 30).

Quadro 6: Triagem Fitoquímica Preliminar do EEB das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose (COSTA, 2010; MATOS, 1997).

GRUPO QUÍMICO PESQUISADO	TESTES
ALCALOIDES	Bouchardat
	Mayer
	Dragendorff
ESTEROIDES	Liebermann-Bouchardat
TANINOS	FeCl ₃
FLAVONÓIDES	Fita de Magnésio
SAPONINAS	Espuma

4.7.1 Alcaloides

Dissolveram-se 100 mg da droga vegetal em 5 mL de solução de HCl a 5% (v/v). Filtrou-se e, posteriormente, separou em quatro porções de 1 mL em tubos de ensaio, e adicionaram-se gotas dos reativos abaixo:

- Reativo de Bouchardat: aparecimento de precipitado laranja-avermelhado;
- Reativo de Dragendorff: aparecimento de precipitado vermelho-tijolo;
- Reativo de Mayer: aparecimento de precipitado branco.

Todos os precipitados acima indicam a positividade dos métodos aplicados.

4.7.2 Esteroides

Foi determinado pela técnica de Liebermann- Bouchardat. Dissolveram-se 100 mg da droga vegetal em 10 mL de clorofórmio. Filtrou-se em carvão ativado. Transferiu-se o filtrado para um tubo de ensaio completamente seco. Adicionou-se 1 mL de anidrido acético e agitou-se suavemente. Em seguida, adicionaram-se 3 gotas de H₂SO₄ concentrado. Agitou-se suavemente. Havendo rápido desenvolvimento de cores, que vão do azul evanescente ao verde persistente, indica resultado positivo.

4.7.3 Taninos

Dissolveram-se 100 mg da droga vegetal em 5 mL de água destilada, filtrou-se e adicionou-se de uma a duas gotas de solução alcoólica de FeCl₃. Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativa de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água + solução de FeCl₃). Coloração inicial entre o azul e o vermelho é indicativa da presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo. Precipitado escuro de tonalidade azul ou verde indica presença de taninos.

4.7.4 Flavonoides

Dissolveram-se 100 mg da droga vegetal em 10 mL de metanol. Filtrou-se. Adicionaram-se cinco gotas de HCl concentrado e raspas de magnésio. O surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva.

4.7.5 Saponinas

Foram dissolvidas 100 mg da droga vegetal em 5 mL de água destilada. Posteriormente, diluiu-se para 15 mL e agitou-se vigorosamente durante 2 min em um tubo de ensaio. O resultado é considerado positivo para saponina caso a camada de espuma permaneça estável por mais de 30 min.

4.8 ISOLAMENTO POR MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

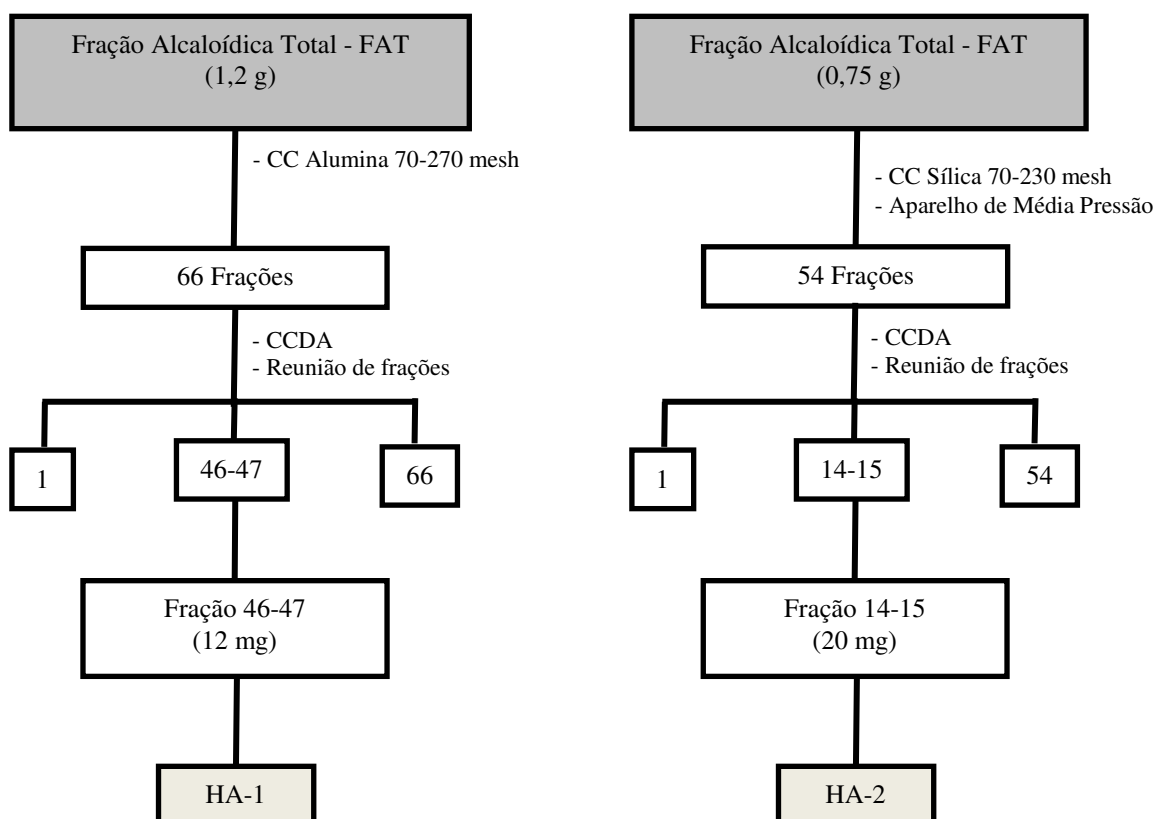
Foram utilizadas colunas cromatográficas com fase estacionária de óxido de alumínio (90 neutro em coluna, 70-270 mesh ASTM, da marca MN), tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra e fase estacionária de sílica gel (60 para cromatografia em coluna, 70-230 mesh ASTM, da marca Macherey-Nagel) usando coluna para cromatógrafo de média pressão de marca BUCHI Pump Manager, modelo C-615.

Para análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna foi empregada a cromatografia em camada delgada analítica - CCDA (Sílica com suporte de alumínio 20 x 20 cm e espessura de 0,20 mm de marca Macherey-Nagel). As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso da câmara escura de radiação ultravioleta sob os comprimentos de onda de 254 e 366 nm.

Para isolamento e purificação do composto HA-1 (Esquema 2, página 36) preparou-se uma coluna cromatográfica (CC) suspendendo a alumina (Al_2O_3) em diclorometano e esta suspensão foi sendo colocada à coluna de vidro. A coluna foi então condicionada com um volume de 200 mL de diclorometano. Uma amostra de 1,2 g da FAT foi triturada com Al_2O_3 em grau e pistilo, fazendo-se uma mistura. A mistura foi colocada na coluna que já estava com solvente suficiente para encobri-la e depois se colocou um algodão para evitar o refluxo. A eluição teve início com 100% de diclorometano e as frações foram coletadas de 100 em 100 mL até clareamento da coluna. Depois a polaridade do sistema de solvente foi sendo aumentada gradativamente seguindo o gradiente de concentração até o sistema AcOEt:MeOH (60:40). Foram obtidas 66 frações no total. As frações coletadas foram aplicadas em cromatografia em camada delgada analítica e observadas as que possuíam os mesmos fatores de retenção. Após análise em CCDA e reunião de frações, da fração 46-47 (12 mg) foi isolado HA-1, cristal de aspecto brilhante de cor amarelada.

Para isolamento e purificação do composto HA-2 (Esquema 2, página 33) preparou-se uma coluna cromatográfica (CC) por compressão da sílica para o interior da coluna. Uma amostra de 750 mg da FAT foi triturada com sílica em grau e pistilo, fazendo-se uma mistura. Essa mistura foi comprimida na coluna junto a sílica e a coluna acoplada ao cromatógrafo de média pressão. A eluição teve início com 100% de hexano e as frações foram coletadas de 100 em 100 mL. Depois a polaridade do sistema de solvente foi sendo aumentada gradativamente seguindo o gradiente de concentração até o sistema AcOEt:MeOH (60:40). Foram obtidas 54 frações no total. As frações coletadas foram aplicadas em cromatografia em camada delgada analítica e observadas as que possuíam os mesmos fatores de retenção. Após análise em CCDA e reunião de frações, da fração 14-15 (20 mg) foi isolado HA-2, composto amorfo de cor branca.

Esquema 2: Isolamento dos compostos HA-1 e HA-2.



4.9 IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL

A obtenção dos espectros foi realizada por meio de métodos espectroscópicos no Núcleo de Caracterização e Análise da Universidade Federal da Paraíba (NUCAL), Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREM) e Central de Cromatografia e Espectrometria de Massas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP de Ribeirão Preto.

Os dados espectrais na região do infravermelho foram obtidos em aparelho de marca SHIMADZU e modelo Prestige2, utilizando pastilhas de KBr para dispersão do composto químico, com frequência medida em cm^{-1} .

Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro de massa para fragmentação, modelo Amazon X da marca Bruker e espectrômetro de massas de alta resolução modelo micrOTOF-II marca Bruker.

Para Ressonância Magnética Nuclear foi utilizado espectrômetros da marca VARIAN de 200 e 500 MHz (NUCAL/UFPB) e de 500 MHz BRUKER (UFC), otimizados para técnicas uni e bidimensionais, utilizando-se quantidades variáveis de amostras. Os solventes empregados foram DMSO deuterado e Piridina deuterada ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) tendo-se como referência interna o tetrametilsilano (TMS).

4.10 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.10.1 Cepas Microbianas

As cepas microbianas foram provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 76645 e *Candida tropicalis* ATCC 1369. As cepas selecionadas foram estocadas e mantidas em meios de culturas apropriados, de acordo com as recomendações do fornecedor.

4.10.2 Preparação do Inóculo Microbiano

As cepas selecionadas foram semeadas em meios e caldos de culturas apropriados após reativação em BHI e encubadas por 24 h a 37 ± 1 °C. Os inóculos foram preparados e

padronizados em solução fisiológica estéril NaCl 0,85% (m/v) com turbidez equivalente ao tubo nº 0,5 da escala McFarland, com concentração equivalentes a 10^6 UFC/mL (CLSI, 2005).

4.10.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

A determinação da CIM do EEB e dos HABs foi realizada pelo teste de microdiluição em placa (CLSI, 2005). Foram utilizadas microplacas estéreis de 96 cavidades de fundo chato e tampa, nas quais foram distribuídas, assepticamente, 100 μ L de Caldo Müeller-Hinton. Na cavidade da linha A de cada microplaca foi adicionado 100 μ L do produto em estudo (uma para o EEB e uma para cada HABs), pré-solubilizado com DMSO a 2%, da linha A até a linha G da placa. Após as diluições, foram adicionados 10 μ L do inóculo bacteriano, nas linhas horizontais (numeradas de 1 a 12), em todas as cavidades até a linha G. Cada uma das linhas numeradas correspondeu a uma cepa bacteriana. A linha H foi usada como controle positivo do crescimento bacteriano (viabilidade de cada cepa ensaiada). As placas foram fechadas, seladas e incubadas por 37°C/24h.

Após esse período de incubação, foram adicionados 20 μ L da solução aquosa de resazurina a 0,01% em cada cavidade, como indicador colorimétrico de óxido-redução para caracterizar a viabilidade celular. As placas foram mantidas a temperatura ambiente por 2 h e lidas após esse tempo.

A leitura foi realizada de forma visual caracterizada pela mudança de cor nas cavidades. Onde houve mudança da cor azul da solução de resazurina para rosa, caracterizou a redução deste corante indicando viabilidade bacteriana, ou seja, nessa cavidade a concentração do produto não foi capaz de matar as bactérias. Nas cavidades em que não existiu mudança de cor indicou que a resazurina não foi reduzida mostrando a inviabilidade das células bacterianas. A resazurina atua como substrato cromogênico de enzimas da cadeia de transporte de oxigênio, desidrogenases, agindo como indicadora de oxi-redução, sendo reduzidas (ganho de elétrons) por flavinas ligadas a enzimas da cadeia de transporte de oxigênio durante o metabolismo celular. Foi considerada como CIM a menor concentração de cada produto capaz de inibir o crescimento da cepa bacteriana ensaiada (MANN e MARKHAN, 1998; SALVAT et al., 2001; BURT & REINDERS, 2003; ALVES, 2006).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANÁLISE TÉRMICA DO PÓ DAS RAÍZES DE *Harrisia adscendens*

A distribuição granulométrica das partículas de matérias primas vegetais pulverizadas é um fator determinante para uma boa homogeneidade e reprodutibilidade do pó para aplicação aos diversos processos extrativos e é determinada pela superfície de contato disponível para interação com o solvente utilizado na obtenção do extrato vegetal (MARQUES, 2012).

Após análise dos tamises verificou-se que 28,4% da droga vegetal ficou retido na malha de 180 μm classificando-o como semifino segundo a Farmacopeia Brasileira (2010). Segundo Voigt e Bornschein (1982), as drogas vegetais com diâmetros maiores ajudam nos processos extrativos, pois partículas menores podem ficar aderidas a outras partículas maiores, formando rachaduras, dificultando a penetração do solvente nas partículas maiores. Esse processo é um parâmetro preliminar importante no momento da escolha do processo extrativo e do solvente mais adequado a ser utilizado (SANTOS, 2000).

Bordignon et. al (2009), estudando a influência do pH de soluções extrativas confirmou que os valores alteram os espectros de UV dos extratos dependendo da faixa de pH da droga vegetal e da solução extrativa. O valor obtido nesse estudo para o pH foi de 6,5, sendo considerada fracamente ácida pela Farmacopeia Brasileira.

Segundo a classificação para avaliação do fluxo da droga vegetal (USP 30/NF 25, 2007), com base nos resultados da tabela 1 (página 37), a partir da densidade bruta e densidade de compactação foi calculado o fator de Hausner que correspondeu a 1.51 e o índice de compressibilidade em 33,8% caracterizando a amostra como amostras de fluxo muito deficiente. Este resultado pode ser decorrente do processo de pulverização aplicado a droga vegetal. Nesse caso poderá haver problemas durante sua compressão comparados as propriedades de fluidez da droga vegetal obtidos por estudos com materiais de fácil compressão (STANIFORTH, 2005).

A determinação do teor de cinzas estabelece a quantidade de substâncias residuais não voláteis, após incineração, constituído por material inorgânico e substâncias aderentes de origem terrosa (MARQUES, 2012). O resultado da determinação de cinzas totais na amostra foi de 6,14% de matéria inorgânica ficando abaixo de 14% conforme os limites estabelecidos nas monografias de diversas drogas vegetais descrita na Farmacopeia Brasileira.

O percentual de umidade residual da droga vegetal é importante para o controle microbiológico evitando hidrólise e atividade enzimática e, conseqüente deterioração dos constituintes químicos (SHARAPIN, 2000). A média do valor obtido por dessecação foi de 12,7%, apresentando-se de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), na qual os resultados podem variar entre 8 e 14%.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas da droga vegetal obtida das raízes de *H. adscendens*.

Propriedades Físico-Químicas	Valores
Densidade de Compactação (g.mL ⁻¹)	0,487
Densidade Bruta (g.mL ⁻¹)	0,322
Compressibilidade (mL)	10,5
Índice de Compressibilidade (%)	33,8
Perda por Dessecação (%)	12,7
Teor de Cinzas (%)	6,14
pH	5,68

A figura 6 (página 38) ilustra o termograma da droga vegetal das raízes de *Harrisia adscendens* utilizando várias razões de aquecimento. Num primeiro momento analisando a linha da DTA da droga vegetal pôde-se observar uma reação endotérmica entre 25 até 57 °C e perda de massa visualizada pela linha da TGA de 4,9% (0,35 mg), sugerindo a perda de água adsorvida e/ou liberação de gases.

O segundo momento analisando a DTA entre 350 e 400 °C observou-se que a amostra apresentou mais uma reação de absorção e uma maior perda acentuada de massa de acordo com a TGA de 65,8% (4,7 mg), sendo provavelmente relacionado a decomposição de matéria orgânica e surgimento de produtos carbonáceos (cinzas) a partir de reações de hidrólise, oxidação, descarboxilação e transglicolização (BIANCHI et. al., 2010).

Ao final do processo termogravimétrico até 901 °C foi possível averiguar uma linha da TGA típica de perda de massa sugestiva de uma decomposição de 88% (6,29 mg) caracterizando toda a massa orgânica e 12% (0,85 mg) de cinzas presentes na amostra da droga vegetal das raízes de *Harrisia adscendens*.

Os dados da termogravimetria corroboram os valores obtidos na determinação do teor de cinzas e do percentual de umidade residual, citados anteriormente, ambos dentro da normalidade de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010).

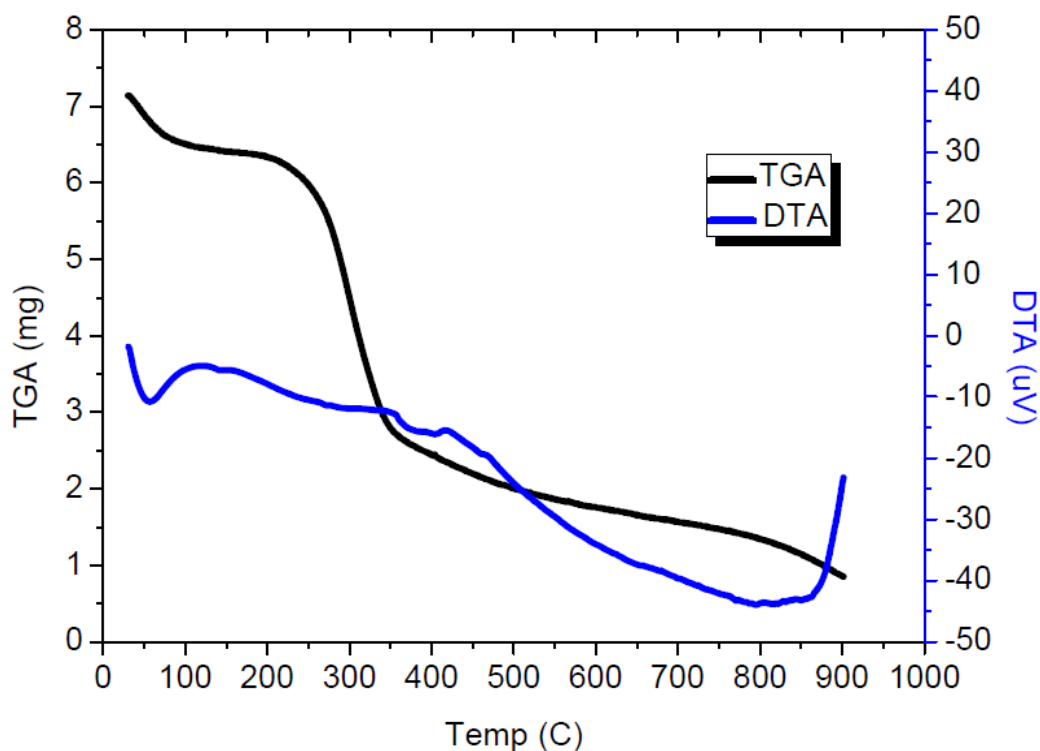


Figura 6.: Curva termogravimétrica da droga vegetal das raízes de *Harrisia adscendens*.

5.2 TRIAGEM FITOQUÍMICA QUALITATIVA DO EEB DAS RAÍZES DE *Harrisia adscendens*

Na triagem fitoquímica os testes para identificação de flavonoides, catequinas, fenóis/taninos e saponinas foram não reagentes. Para alcaloides foi possível observar a formação de precipitados vermelhos nos testes com os reagentes de Dragendorff e Bouchardat, além de precipitados brancos no teste com o reagente de Mayer, sendo esses resultados sugestivos da presença de alcaloides no extrato (Tabela 2, página 38).

Tabela 2. Triagem fitoquímica qualitativa do EEB das raízes de *H. adscendens*.

Triagem Fitoquímica	Resultados
Alcaloides	- Dragendorff - Bouchardat - Mayer
Flavonoides	-
Catequinas	-
Fenóis/Taninos	-
Saponinas	-

5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA - CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Para avaliar a atividade antimicrobiana pelo teste de concentração inibitória mínima foi considerado que valores da CIM < 100 µg/mL seria uma atividade antimicrobiana boa; de 100 a 500 µg/mL uma atividade antimicrobiana moderada; > 500 e < 1000 µg/mL uma atividade antimicrobiana fraca; > 1000 µg/mL, sem atividade antimicrobiana (ARAÚJO et. al., 2014).

A partir dos resultados obtidos na tabela 3 (página 40) para avaliação da CIM dos extratos EEB e HABs das raízes de *Harrisia adscendens* pôde-se observar que não houve atividade antimicrobiana frente as cepas utilizadas pois os valores foram negativos.

Davet et al (2009), avaliando o potencial antimicrobiano da Cactaceae *Cereus jamacaru* frente a culturas de algumas bactérias, os extratos etanólicos do lenho e do córtex demonstraram também um potencial antimicrobiano baixo sobre *Streptococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas*, por apresentar valores da CIM > 6.000 µg/mL, porém o composto isolado tiramina revelou um potencial antimicrobiano moderado por apresentar uma CIM ≥ 500 µg/mL.

Não há descrito na literatura método padronizado para expressar os resultados de testes antimicrobianos de produtos naturais. Existem variações referentes à determinação da CIM de extratos de plantas que podem ser atribuídas a diversos fatores, como método utilizado, os microrganismos e as cepas utilizadas no teste, origem da planta, época da coleta, preparação dos extratos a partir de plantas frescas ou secas e a quantidade de extrato testado (OSTROSKY, 2008).

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos hidroalcoólicos (HABs) e etanólico bruto (EEB) das raízes de *Harrisia adscendens*.

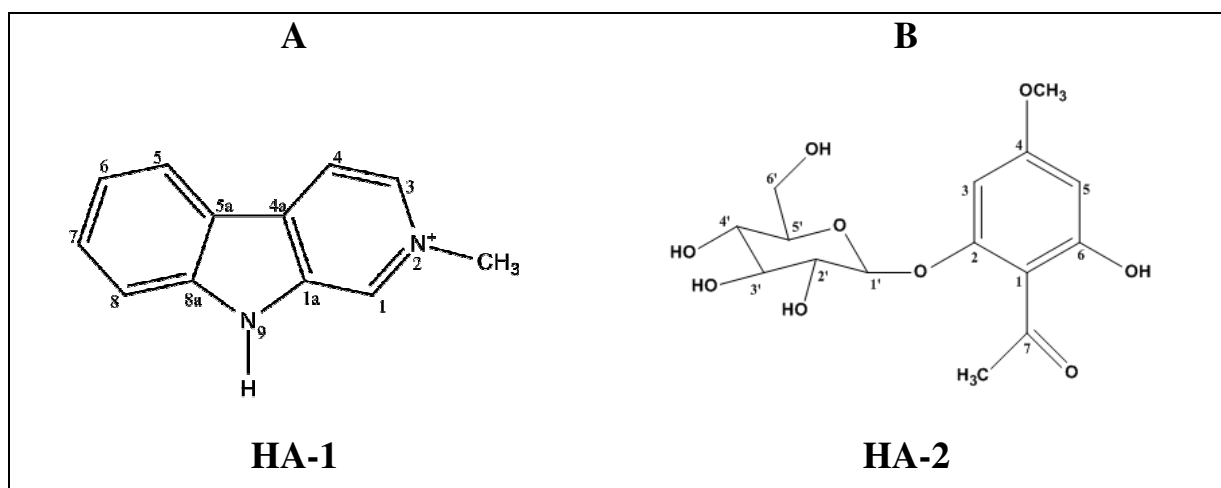
	Concentração Inibitória Mínima – CIM ($\mu\text{g/mL}$)					EEB
	HABs					
	9:1	7:3	1:1	3:7	1:9	
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-

(-) Não houve inibição de crescimento bacteriano.

5.4 COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE *Harrisia adscendens* (GÜRKE) BRITTON & ROSE

Das raízes de *Harrisia adscendens* foram isolados e identificados, através de técnicas espectroscópicas (IV, EM, e RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais), dois compostos: HA-1 e HA-2 (Quadro 7, página 40).

Quadro 7.: Constituintes químicos isolados de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose.



5.4.1 Identificação do Composto HA-1.

O espectro de IV (Figura 7, página 44) apresentou uma banda larga em 3.446 cm^{-1} sugestiva de ligação N-H de amina secundária. As absorções em 1.647 e 1.629 cm^{-1} podem ser atribuídas as deformações N-H e C=C de anel aromático, respectivamente. Além disso, foi visualizada uma banda larga de média intensidade em 1.091 cm^{-1} característica de ligação C-N e uma banda fraca em 798 cm^{-1} sugestiva de deformação fora do plano de ligação N-H (PAVIA et. al., 2012).

No espectro de RMN de ^1H (δ , DMSO, 500 MHz) foram visualizados oito sinais (Figura 8, página 45), sendo sete deles característicos de hidrogênios em sistemas aromáticos em δ_{H} 9,27 (s, 1H), 8,70 (d, $J=6,2$ Hz, 1H), 8,51 (d, $J=6,4$ Hz, 1H), 8,43 (d, $J=8,3$ Hz, 1H), 7,40 (t, $J=7,5$ Hz, 1H) e um multipletto coalescente entre δ_{H} 7,76-7,81 (2H), o qual se desdobrou em dois sinais [7,78 (d, $J=8,3$ Hz, 1H) e 7,74 (t, $J=7,4$ Hz, 1H)] quando foi aumentada a temperatura do experimento de $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ para $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura 9, página 48), além de um singlete em δ_{H} 4,47 (3H) (Figura 8, página 47) que no HSQC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) mostrou correlação direta com o pico em δ_{C} 47,61 (Figuras 17 e 18, páginas 56 e 57), sugerindo-se tratar de um grupamento metila ligado a nitrogênio tetravalente (KITAJIMA et. al., 2013). Os sinais contínuos de prótons aromáticos (Figura 8, página 47) em δ_{H} 8,43, 7,78, 7,74 e 7,40 foram indicativos da presença de um anel fenila 1,2-dissubstituído que aliado aos dubletos em δ_{H} 8,51 e 8,70 caracterizam prótons α , β piridínicos sugerindo que a molécula trata-se de um alcaloide β -carbolínico (ZHANG et. al., 2012; LUO, et. al., 2012).

No espectro de RMN de ^{13}C (δ , DMSO, 125 MHz), técnica APT, foram visualizados doze sinais, sendo quatro (δ_{C} 144,19, 135,04, 131,85 e 119,18) referentes a carbono não hidrogenados, sete de carbonos metínicos (δ_{C} 133,18, 131,77, 130,44, 123,52, 121,43, 117,55 e 113,16) e um carbono metílico (δ_{C} 47,61) (Figuras 10 e 11, páginas 47 e 48).

O espectro do mapa de contorno HSQC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) mostrou correlações entre δ_{H} 8,44/ δ_{C} 123,52, δ_{H} 7,40/ δ_{C} 121,43, δ_{H} 7,74/ δ_{C} 131,77 e δ_{H} 7,78/ δ_{C} 113,16 indicativas das posições 5, 6, 7 e 8 do núcleo indólico, além dos acoplamentos em δ_{H} 8,51/ δ_{C} 133,18 e δ_{H} 8,70/ δ_{C} 117,55 do núcleo piridínico (Figura 18 e 19, páginas 55 e 56).

No mapa de contorno a longa distância ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$), técnica HMBC, foram visualizadas correlações de δ_{H} 8,44/ δ_{C} 131,77, 131,85 e 144,19, entre δ_{H} 7,40/ δ_{C} 131,77, 113,16, 119,18, de δ_{H} 7,74/ δ_{C} 123,52, 121,43, 144,19 e de δ_{H} 7,78/ δ_{C} 121,43, 144,19 e 119,18 confirmando δ_{H} 8,44, 7,40, 7,74 e 7,78 para os hidrogênios das posições 5, 6, 7 e 8, respectivamente, além dos sinais em δ_{C} 131,85, 119,18 e 144,19 para os carbonos 4a, 5a e 8a (Figura 16, página 53).

Ainda no HMBC (Figura 14 e 16, páginas 51 e 53) visualizaram-se os mapas de contorno entre δ_H 8,51/ δ_C 131,85, 117,55 e 47,61 e de δ_H 8,70/ δ_C 135,04, 119,18 e 133,18 confirmando os valores de δ_C 131,85, 117,55 e 133,18 para os carbonos 4a, 4 e 3, respectivamente, reforçando δ_C 119,18 para o C-5a e aliado ao mapa de contorno do HSQC entre δ_H 9,27/ δ_C 130,44 (Figura 19, página 56) e no HMBC de δ_H 9,27/ δ_C 47,61 (Figura 16, página 53) confirmam δ_H 9,27 para a posição 1 (BLOM et. al., 2006). O carbono da posição 1a foi confirmado por exclusão e seu deslocamento químico foi corroborado por meio do mapa de contorno do HMBC entre δ_H 9,27 (H-1) e δ_H 8,70 (H-4)/ δ_C 135,04 (Figura 14, página 51).

Os dados visualizados no HMBC entre δ_H 4,47/ δ_C 130,44 e 133,18 (Figura 16, página 53) confirmam a presença de um grupo N-metil, no qual esse grupamento está localizado na posição 2 do núcleo piridínico. As correlações homonucleares visualizadas nos espectros COSY e NOESY ($^1H \times ^1H$) mostram que os prótons da metila interagem com os hidrogênios das posições 1 e 3, corroborando a presença desse grupo na posição 2 (Figuras 20 e 21, páginas 57 e 58).

A análise do espectro de massa forneceu uma fórmula molecular $C_{12}H_{11}N_2^+$ determinado por ESI/MS com m/z 183.09 (Figura 22, página 61), confirmada pelo espectro de massas de alta resolução obtido por micrOTOF-II, o qual mostrou um pico do íon molecular em m/z 183.0933 (calculada para $C_{12}H_{11}N_2^+$, 183.2340) e um pico para o íon base em m/z 168.0703 sugestivo da saída de um grupamento metila (Figura 23, página 62).

A análise dos dados espectroscópicos de IV, EM e RMN de 1H e ^{13}C , incluindo técnicas bidimensionais, além dos dados da literatura (Tabelas 4 e 5, páginas 44 e 45), permitem confirmar que o composto HA-1 trata-se do alcaloide 2-metil-9H- β -carbolina-2-íon, isolado pela primeira vez na família Cactaceae.

Tabela 4.: Dados dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais do composto HA-1 isolado de *Harrisia ascendens* (Gürke) Britton & Rose.

	HSQC		HMBC	COSY	NOESY
	δ_{C}	δ_{H}	$\delta_{\text{C}} \times \delta_{\text{H}} (^2\text{J}^{-3}\text{J})$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
C					
1a	135,04	-	H-4, H-1	-	-
4a	131,85	-	H-1, H-3, H-4 H-5	-	-
5a	119,18	-	H-4, H-6, H-8	-	-
8a	144,19	-	H-5, H-7, H-8	-	-
CH					
1	130,44	9,27 (s, 1H)	H-3, N ⁺ CH ₃	H-3, H-4, N ⁺ CH ₃	N ⁺ CH ₃
3	133,18	8,51 (d, 1H, <i>J</i> =6,4 Hz)	H-1, H-4, N ⁺ CH ₃	H-4	H-4, N ⁺ CH ₃
4	117,55	8,70 (d, 1H, <i>J</i> =6,2 Hz)	H-3	H-1, H-3	H-3
5	123,52	8,43 (d, 1H, <i>J</i> =8,3 Hz)	H-7	H-6, H-8	H-6
6	121,43	7,40 (t, 1H, <i>J</i> =7,5 Hz)	H-7, H-8	H-5, H-7	H-5, H-7
7	131,77	7,74 (t, 1H, <i>J</i> =7,4 Hz)	H-5, H6	H-6, H8	H-6, H-8
8	113,16	7,78 (d, 1H, <i>J</i> =8,3 Hz)	H-6	H-5, H7	H-7
CH₃					
N⁺CH₃	47,61	4,47 (s, 3H)	H-1, H-3	H-1, H-3	H-1, H-3
NH	-	-	-	-	-

Tabela 5.: Dados comparativos dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto HA-1 isolado e valores encontrados na literatura.

	Composto HA-1 (DMSO)		Blom et al, 2006 (CD ₃ OD)		Rook et al, 2010 (DMSO)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C						
1a	135,04	-	136,3	-	135,24	-
4a	131,85	-	133,9	-	132,33	-
5a	119,18	-	118,2	-	119,59	-
8a	144,19	-	145,4	-	144,34	-
CH						
1	130,44	9,27 (sl, 1H)	130,6	9,18 (s, 1H)	130,80	9,34 (s, 1H)
3	133,18	8,52 (d, 1H, <i>J</i> =6,4 Hz)	135,1	8,48 (d, 1H, <i>J</i> =6,2)	133,82	-
4	117,55	8,70 (d, 1H, <i>J</i> =6,2 Hz)	120,4	8,64 (d, 1H, <i>J</i> =6,5)	118,0	-
5	123,52	8,43 (d, 1H, <i>J</i> =8,3 Hz)	123,9	8,39 (d, 1H, <i>J</i> =8,1)	123,98	-
6	121,43	7,40 (t, 1H, <i>J</i> =7,5 Hz)	122,7	7,45 (t, 2H, <i>J</i> =7,5)	121,98	-
7	131,77	7,74 (t, 1H, <i>J</i> =7,4 Hz)	133,0		132,30	-
8	113,16	7,80 (d, 1H, <i>J</i> =8,3 Hz)	113,4	7,78 (m, 2H)	113,46	-
CH₃						
N⁺CH₃	47,61	4,47 (s, 3H)	48,1	4,52 (s, 3H)	48,16	4,48 (s, 3H)
NH	-	-	-	-	-	12,76 (s, 1H)

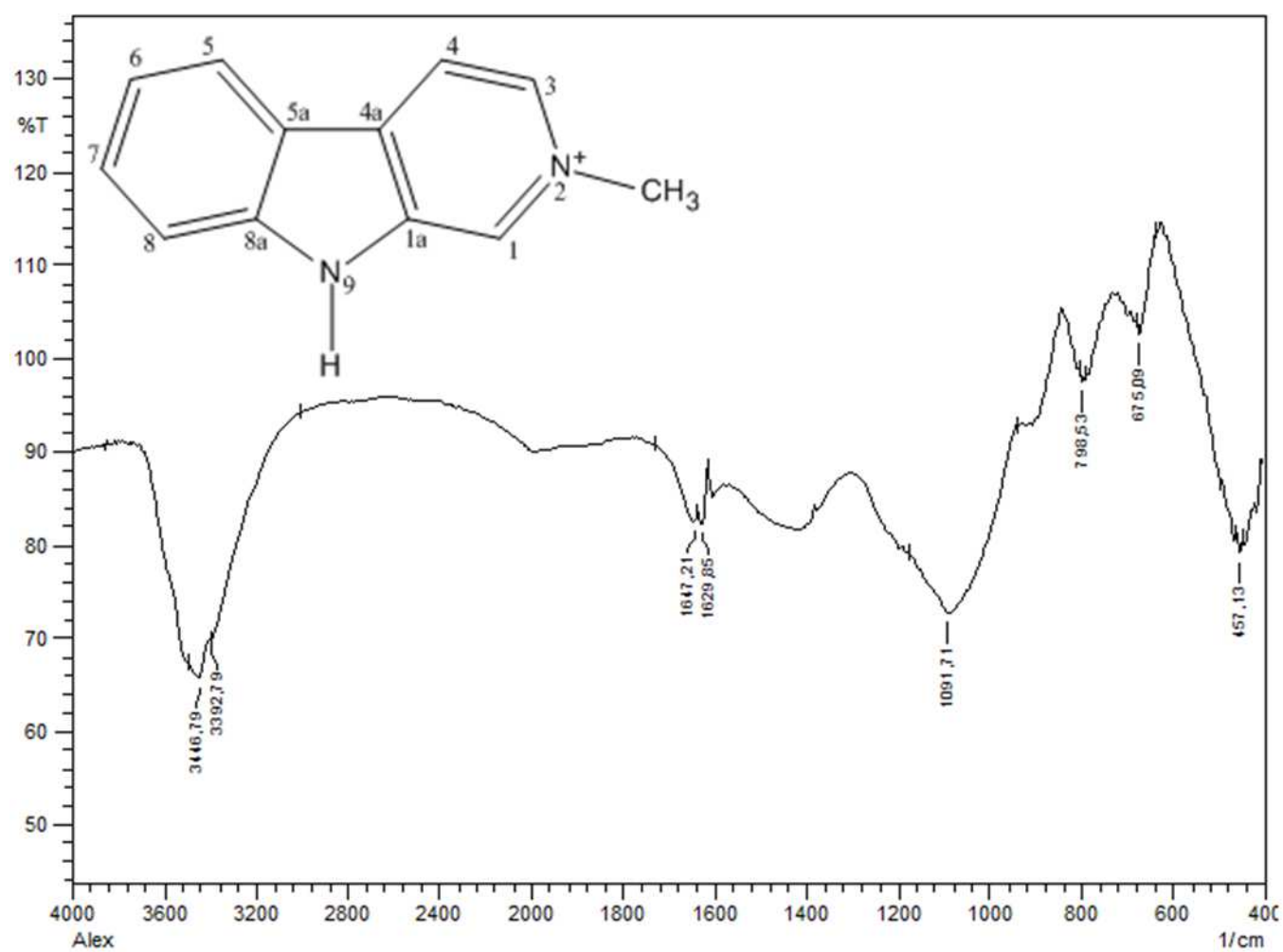


Figura 7.: Espectro no Infravermelho (λ_{\max} , KBr, cm^{-1}) do composto HA-1.

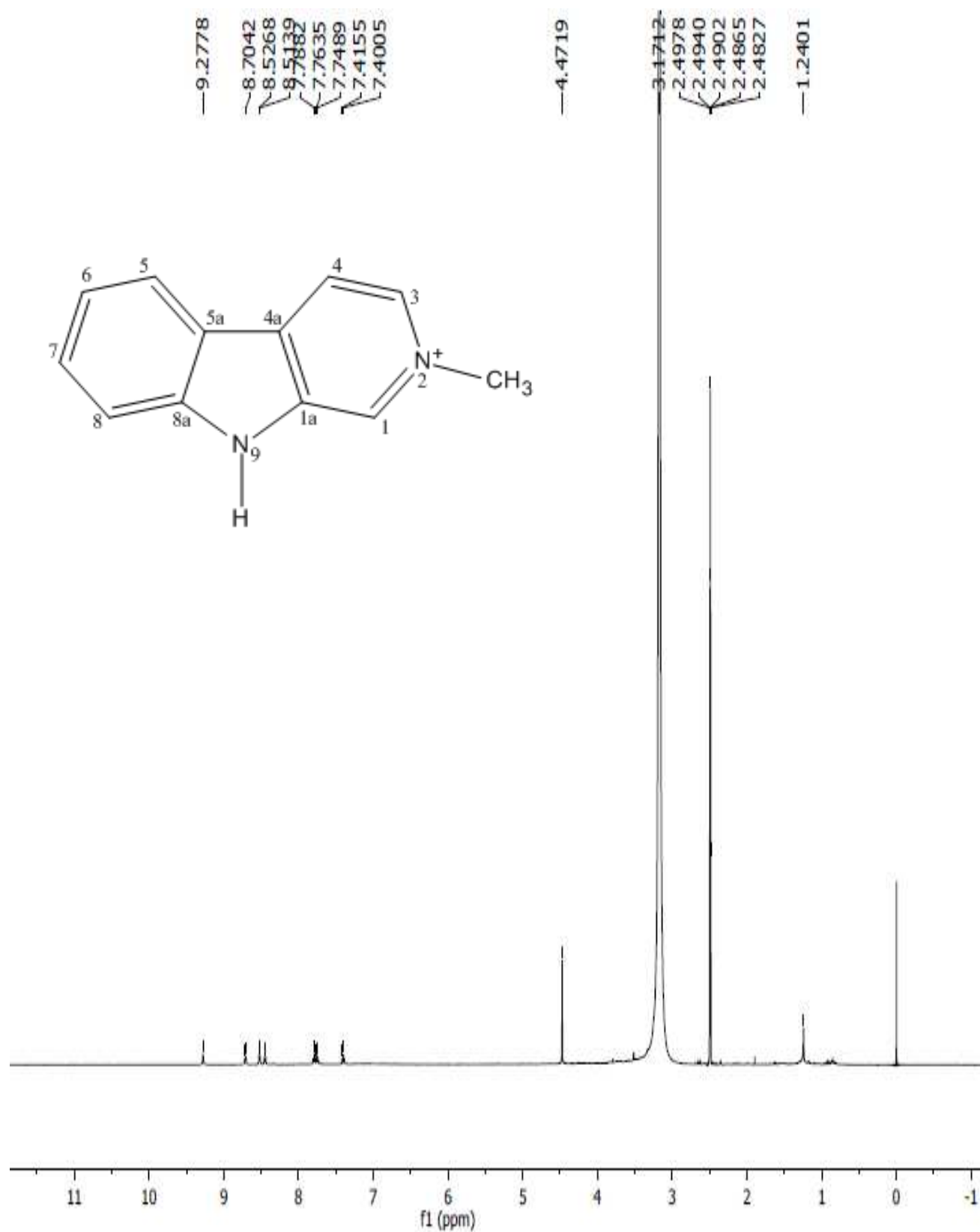


Figura 8.: Espectro RMN de ^1H (δ , DMSO, 500 MHz) do composto HA-1.

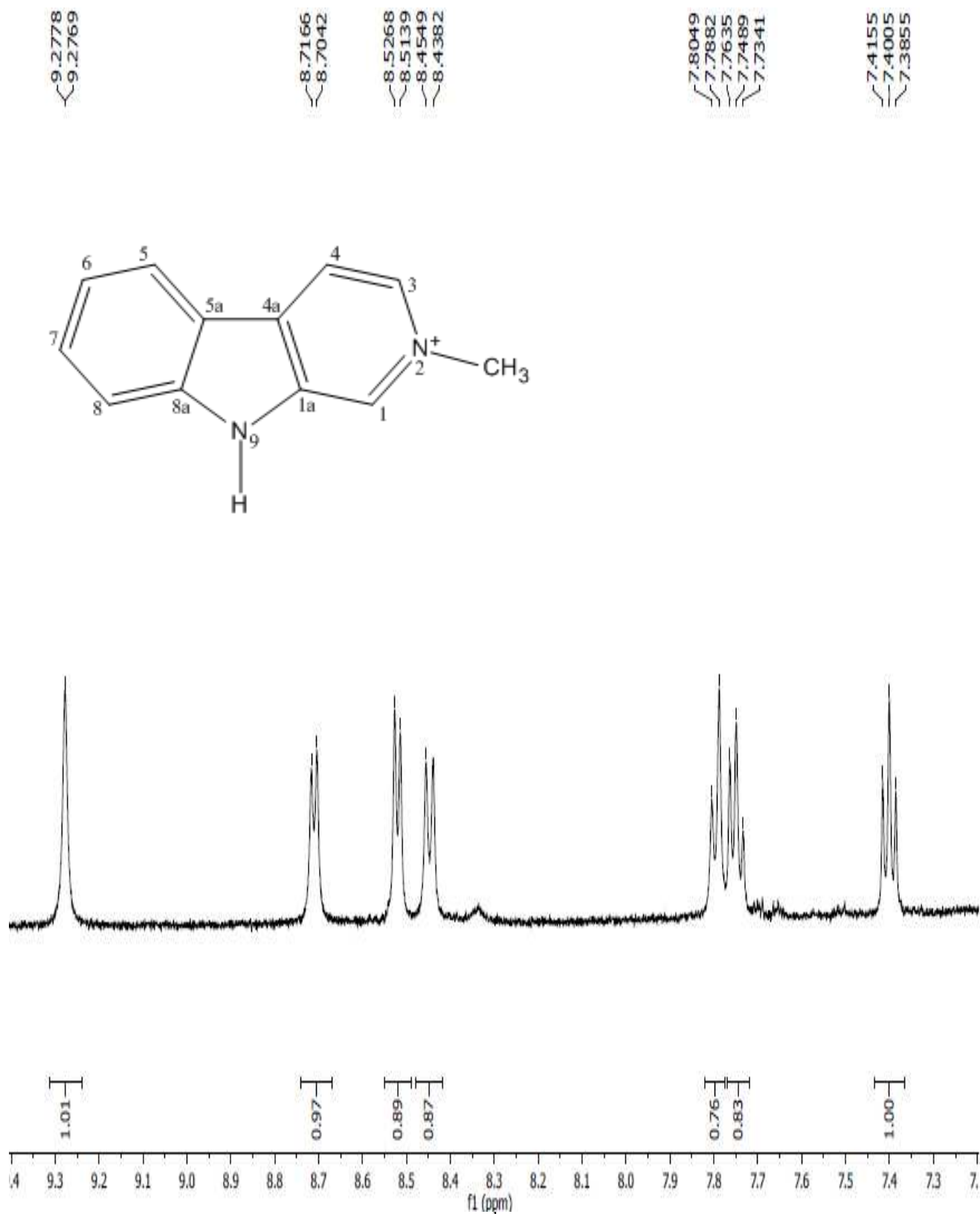


Figura 9.: Expansão do espectro RMN de 1H (δ , DMSO, 60 °C, 500 MHz) do composto HA-1.

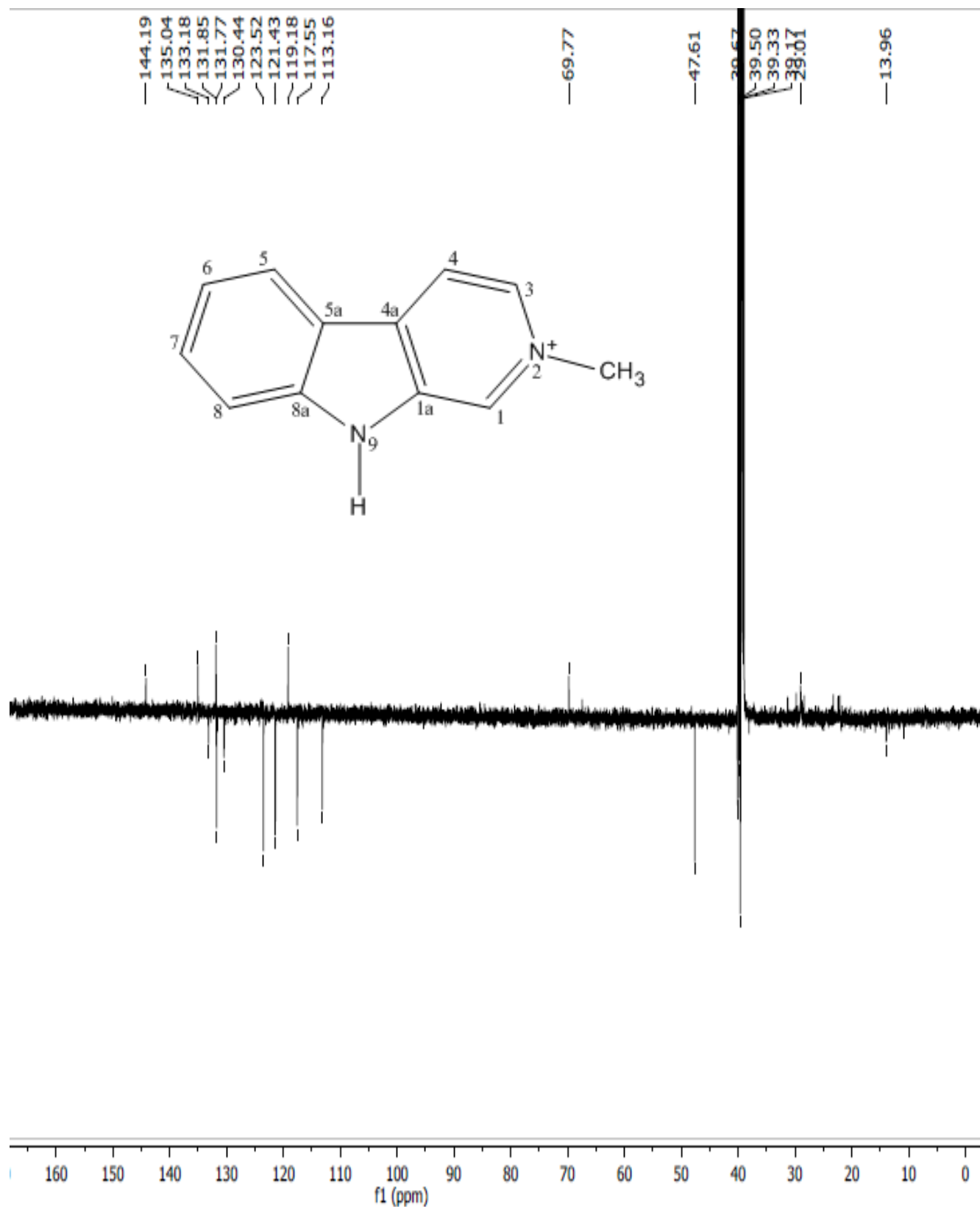


Figura 10.: Espectro RMN de ^{13}C , técnica APT (δ , DMSO, 125 MHz) do composto HA-1.

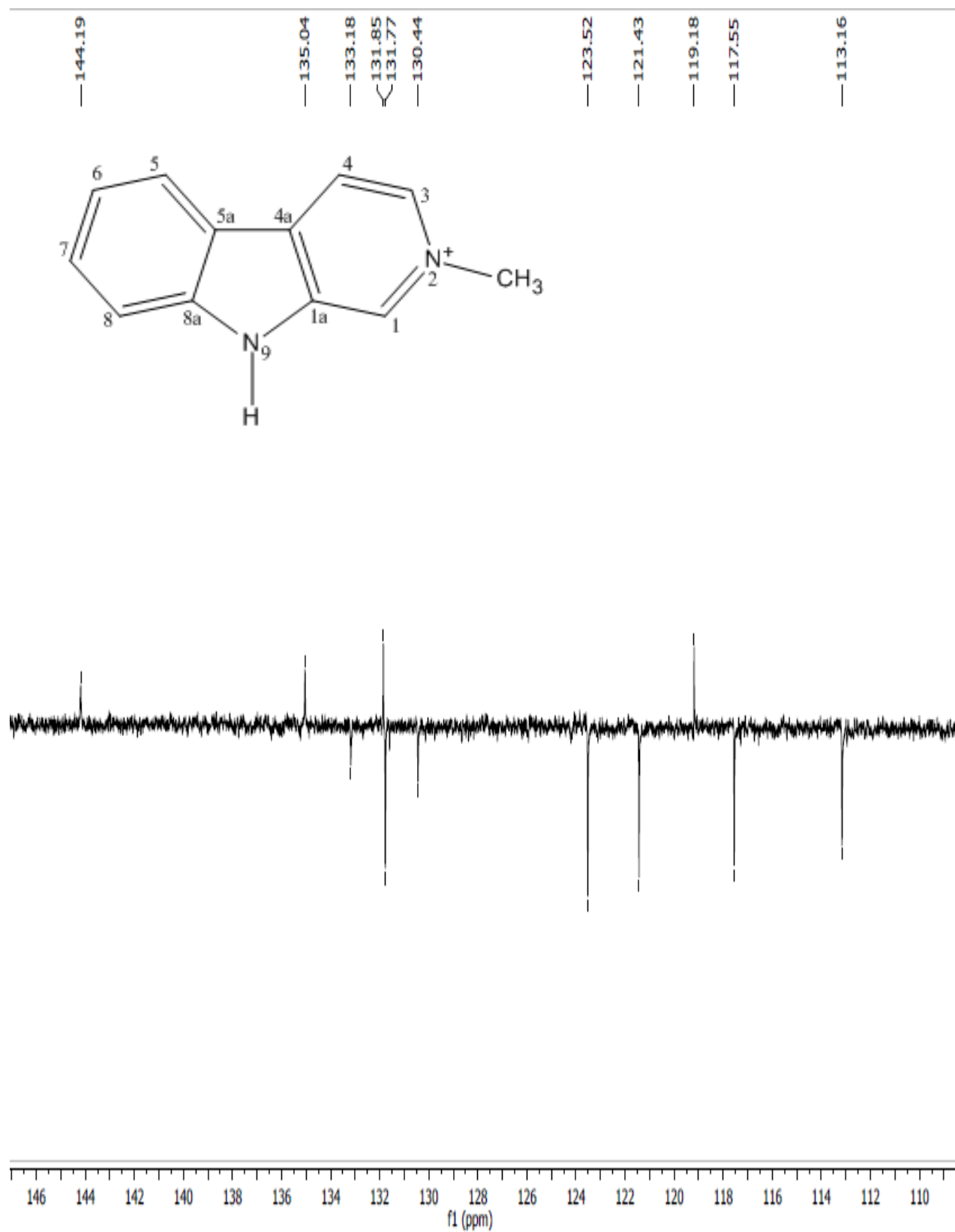


Figura 11.: Expansão espectro RMN de ¹³C, técnica APT (δ, DMSO, 125 MHz) do composto HA-1.

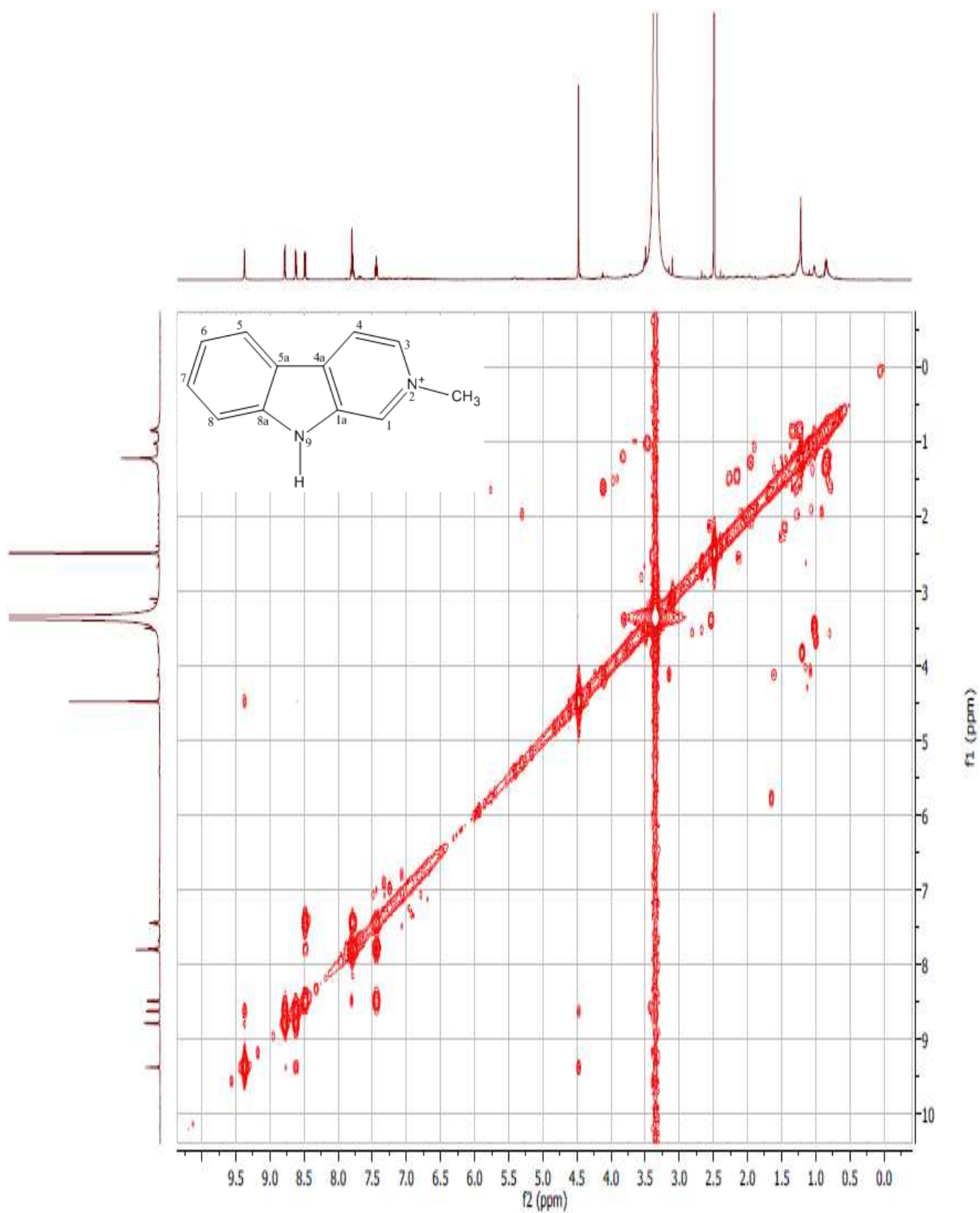


Figura 12.: Espectro do mapa de contorno COSY - ¹H x ¹H do composto HA-1.

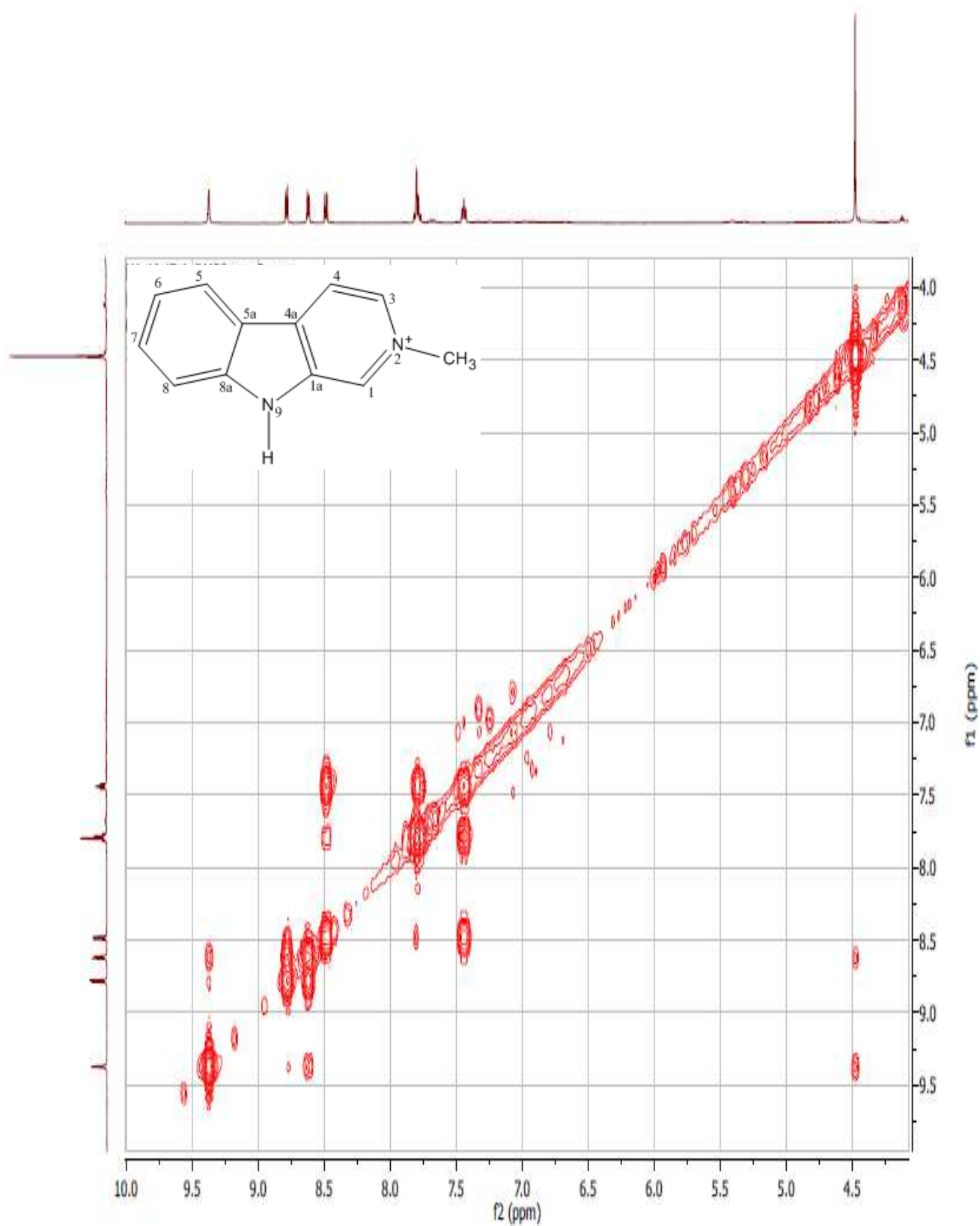


Figura 13.: Expansão do espectro do mapa de contorno COSY - ¹H x ¹H do composto HA-1.

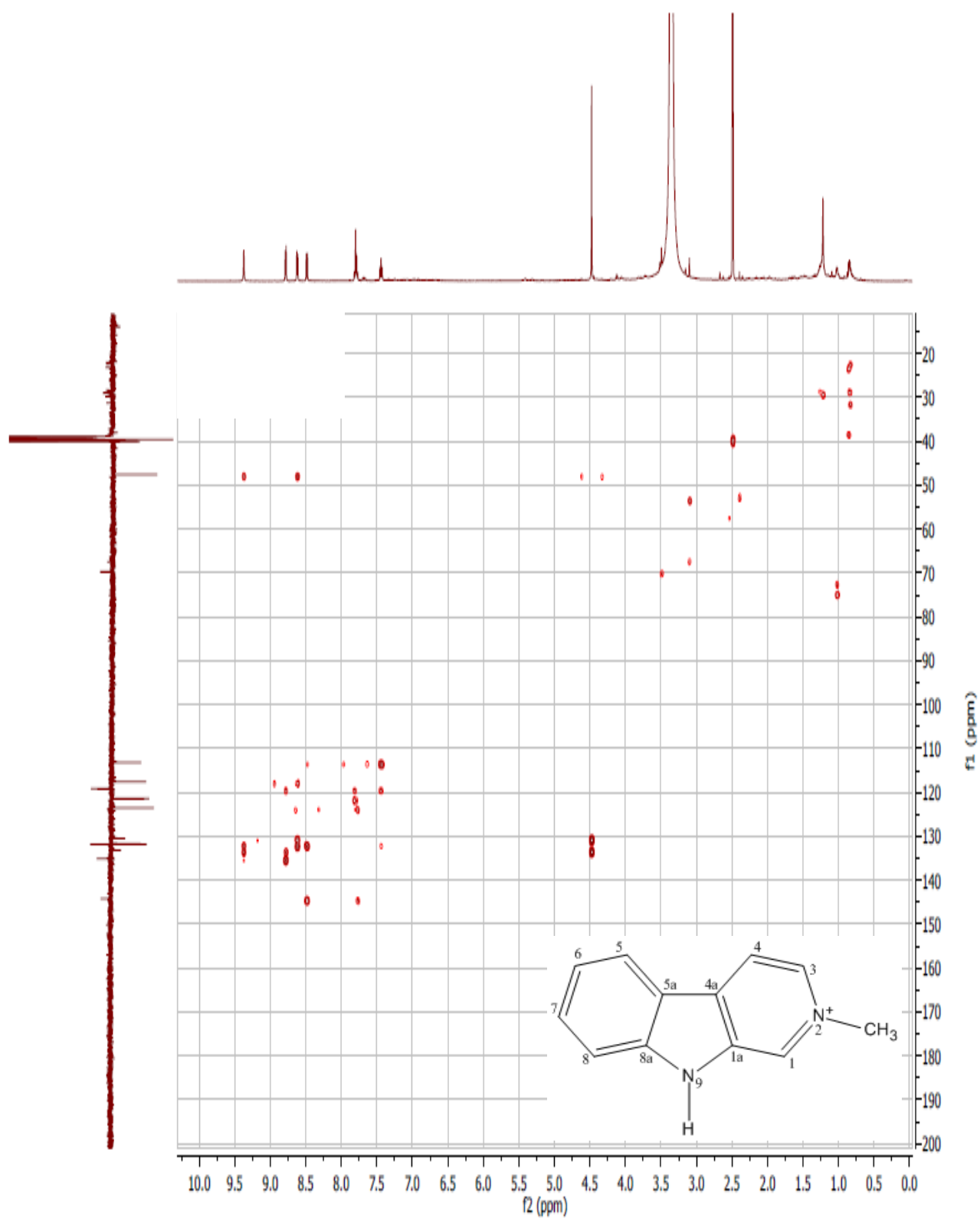


Figura 14.: Espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-1.

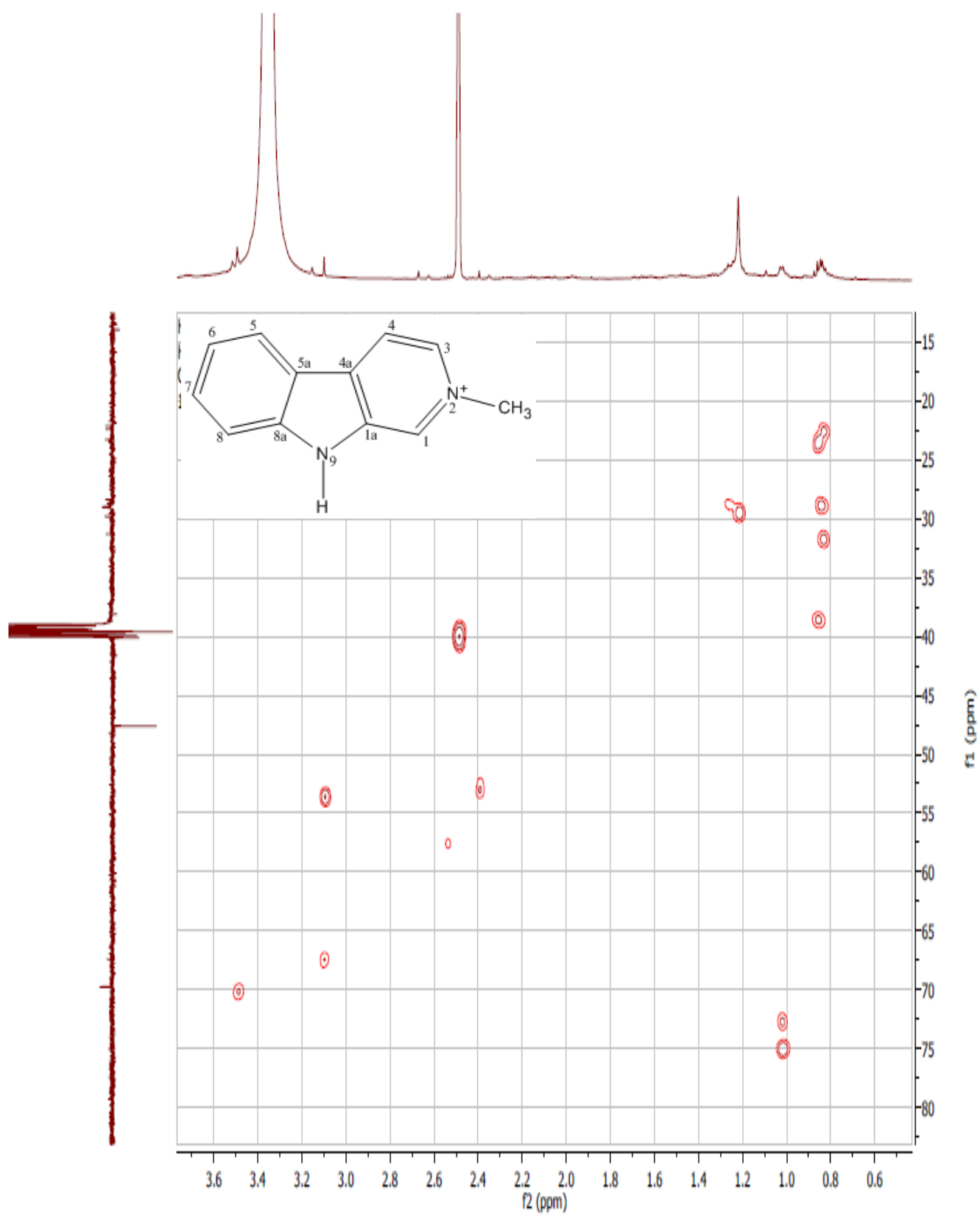


Figura 15.: Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-1.

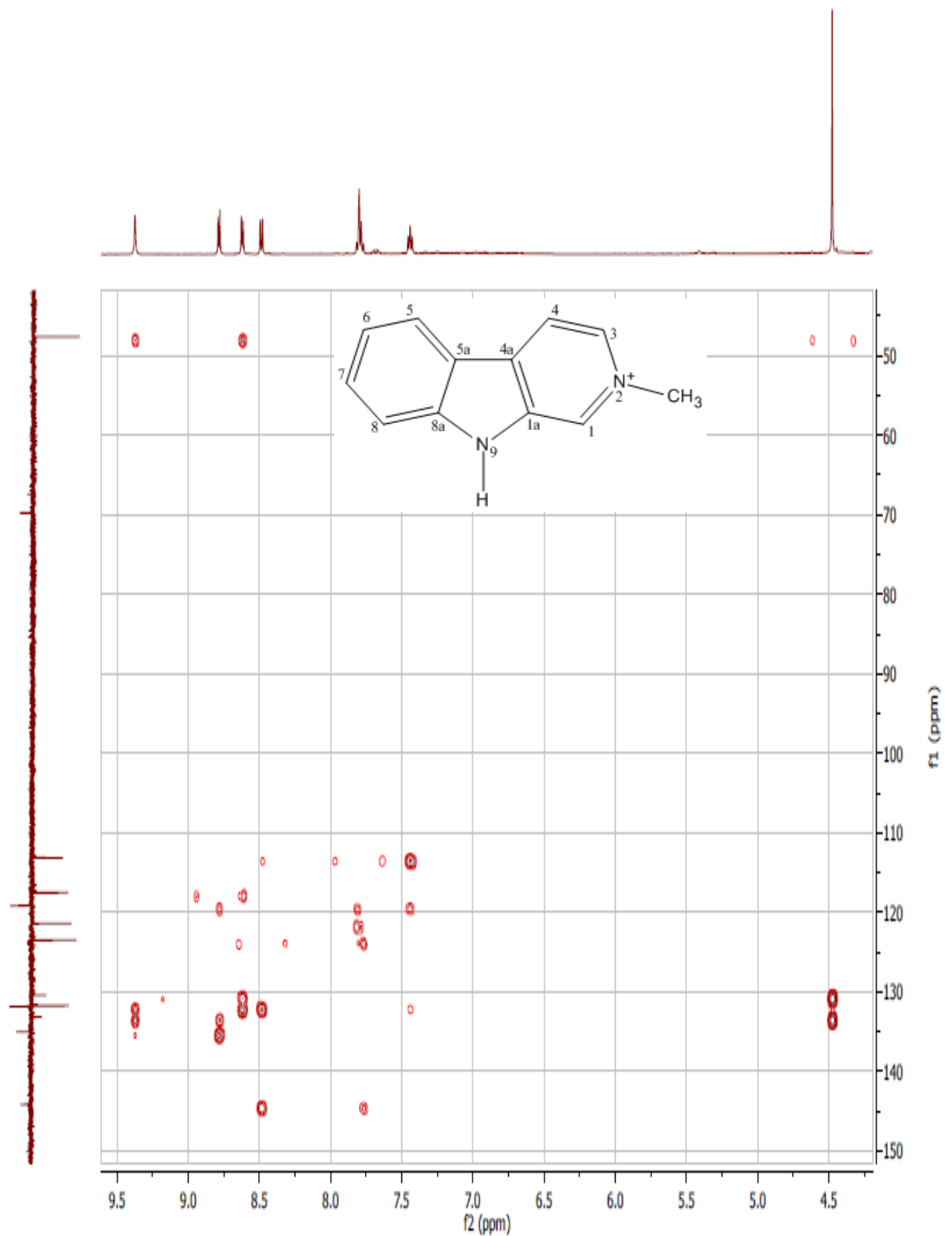


Figura 16.: Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-1.

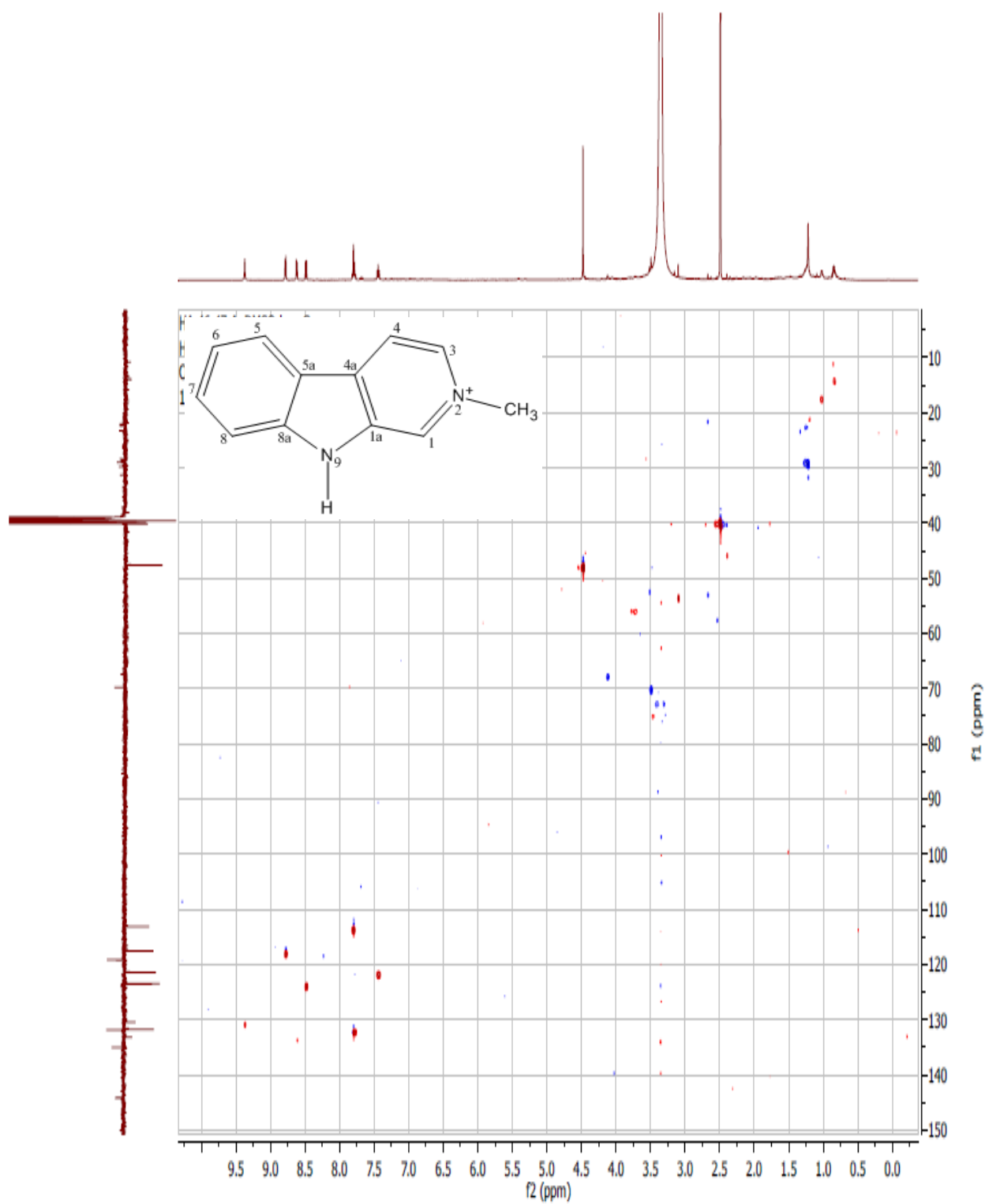


Figura 17.: Espectro do mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-1.

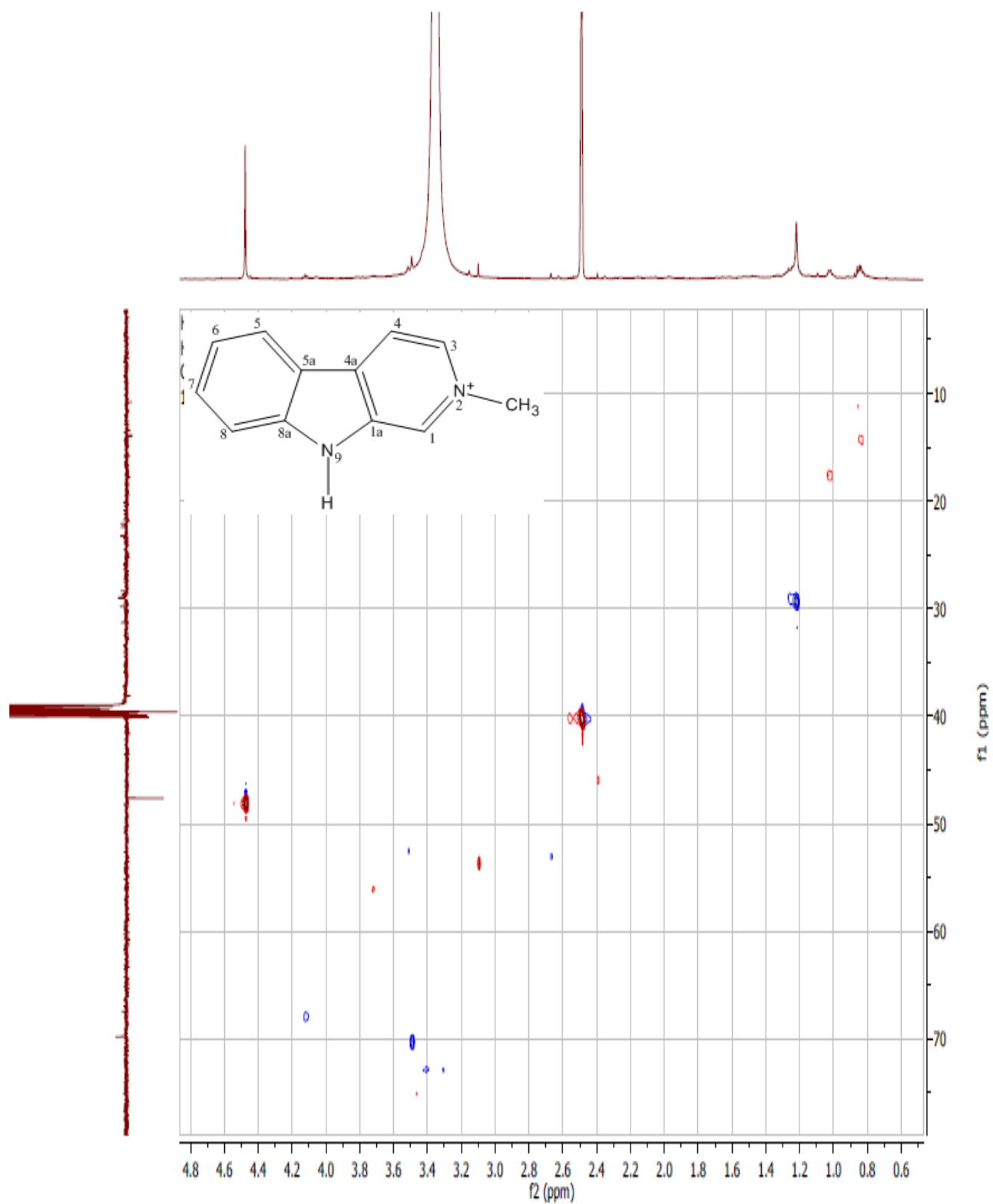


Figura 18.: Expansão espectro do mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-1.

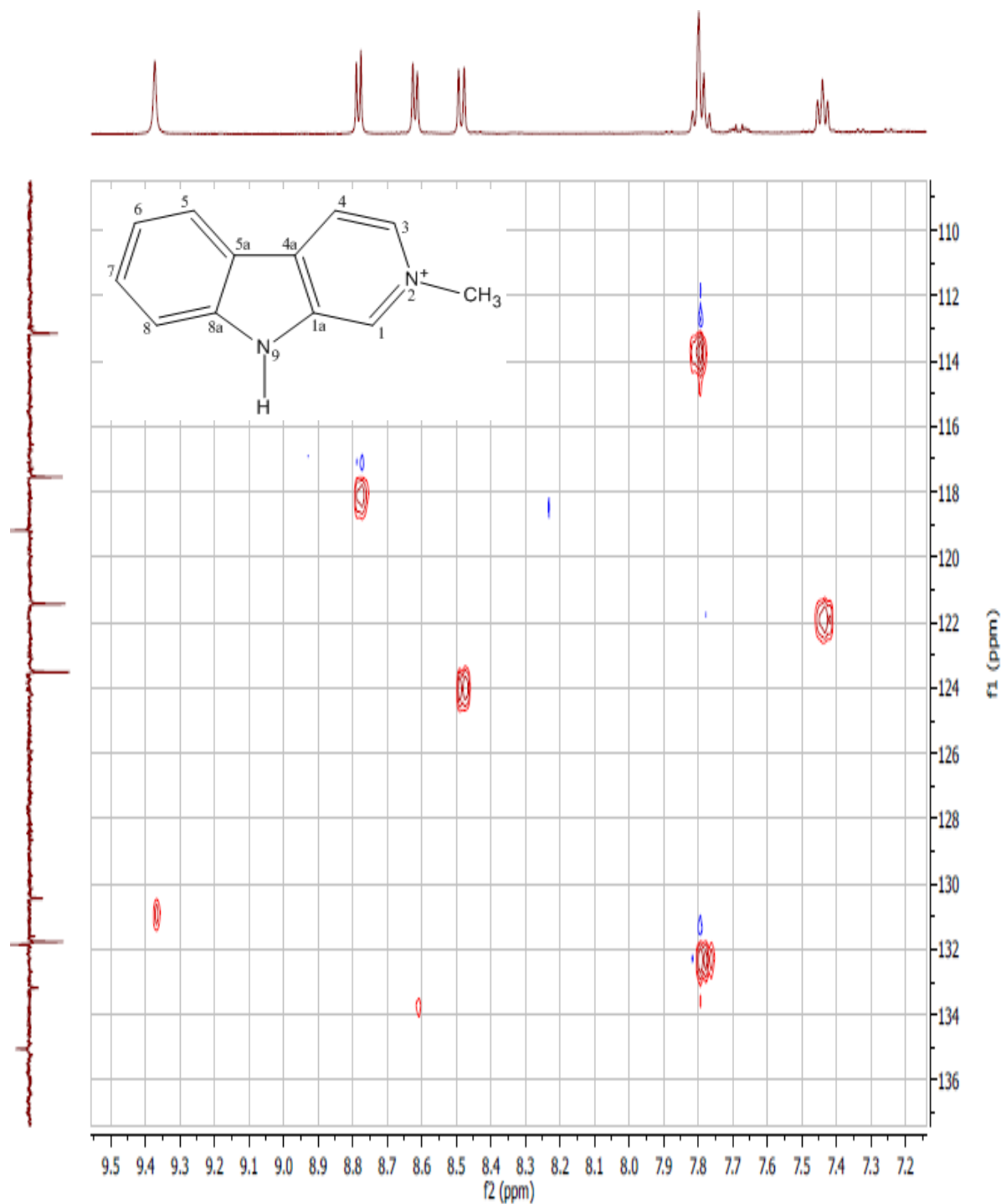


Figura 19.: Expansão espectro do mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-1.

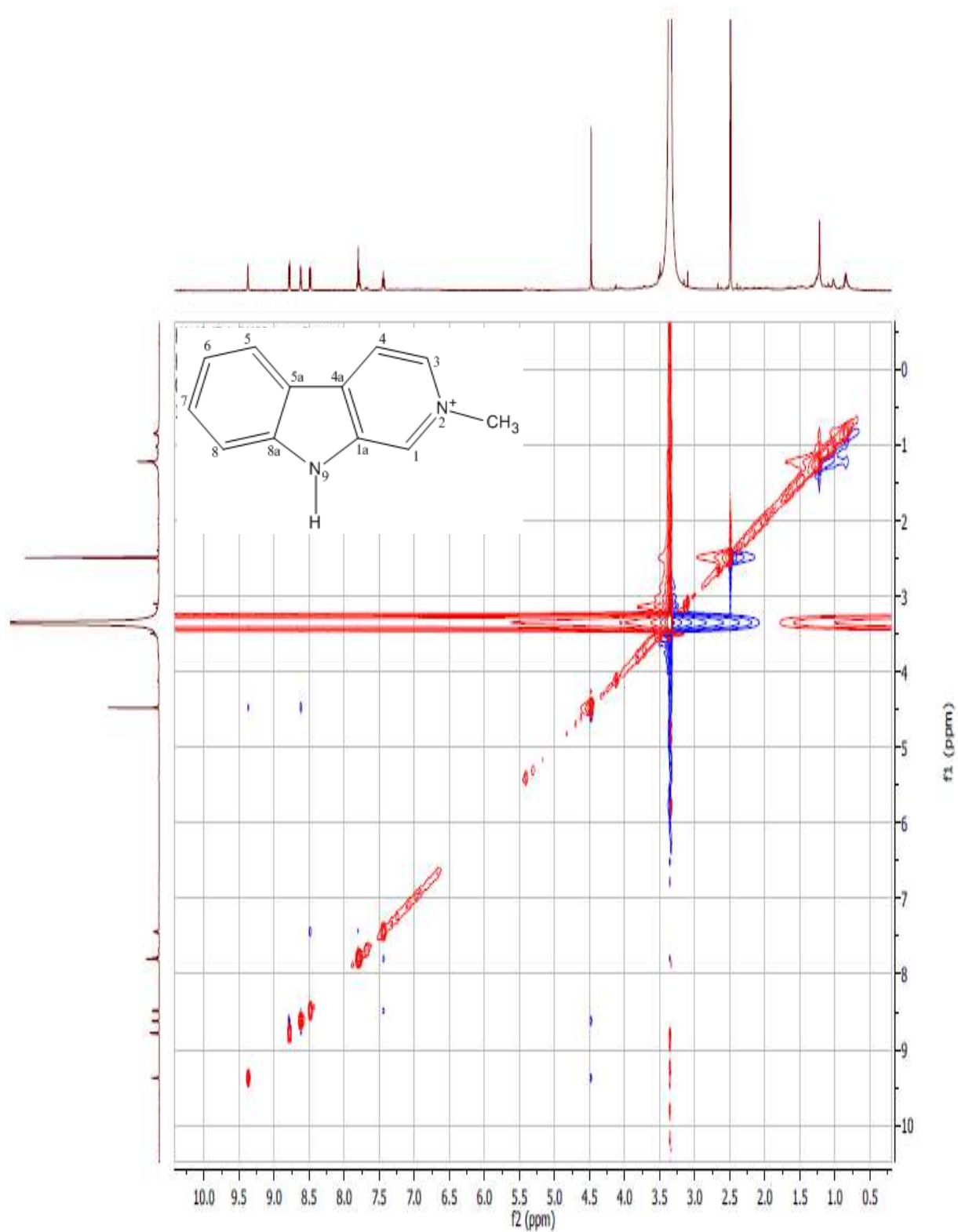


Figura 20.: Espectro do mapa de contorno NOESY - $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ do composto HA-1.

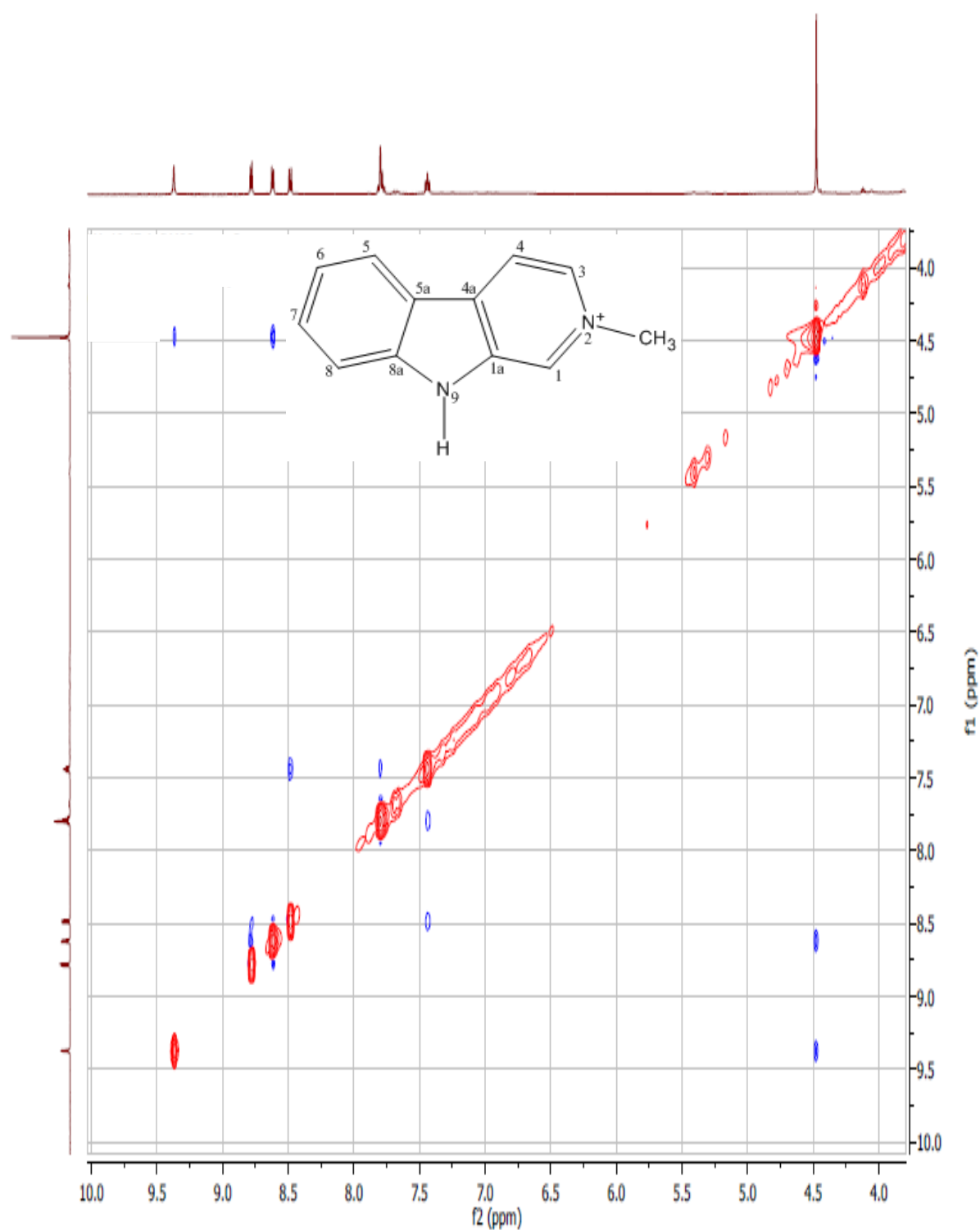


Figura 21.: Expansão do espectro do mapa de contorno NOESY - ¹H x ¹H do composto HA-1.

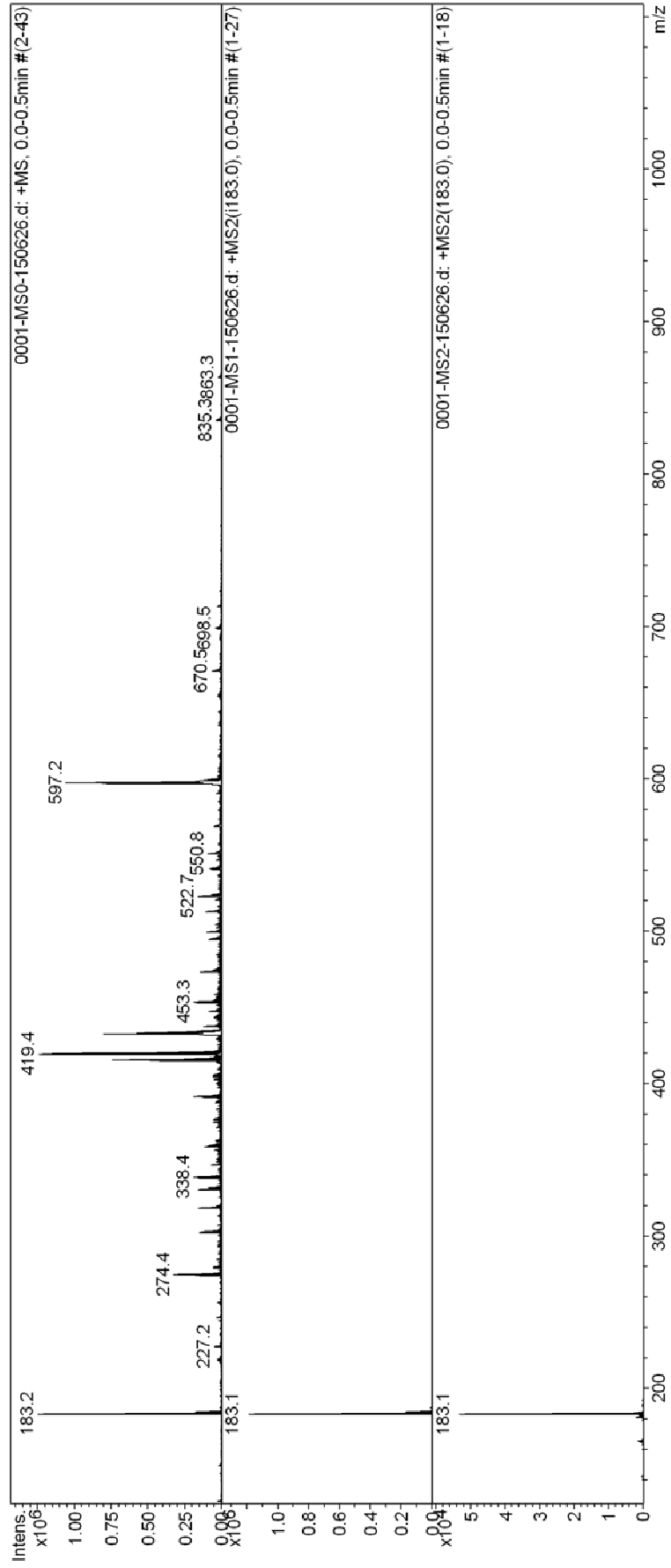


Figura 22.: Espectro de massas de baixa resolução do composto HA-I.

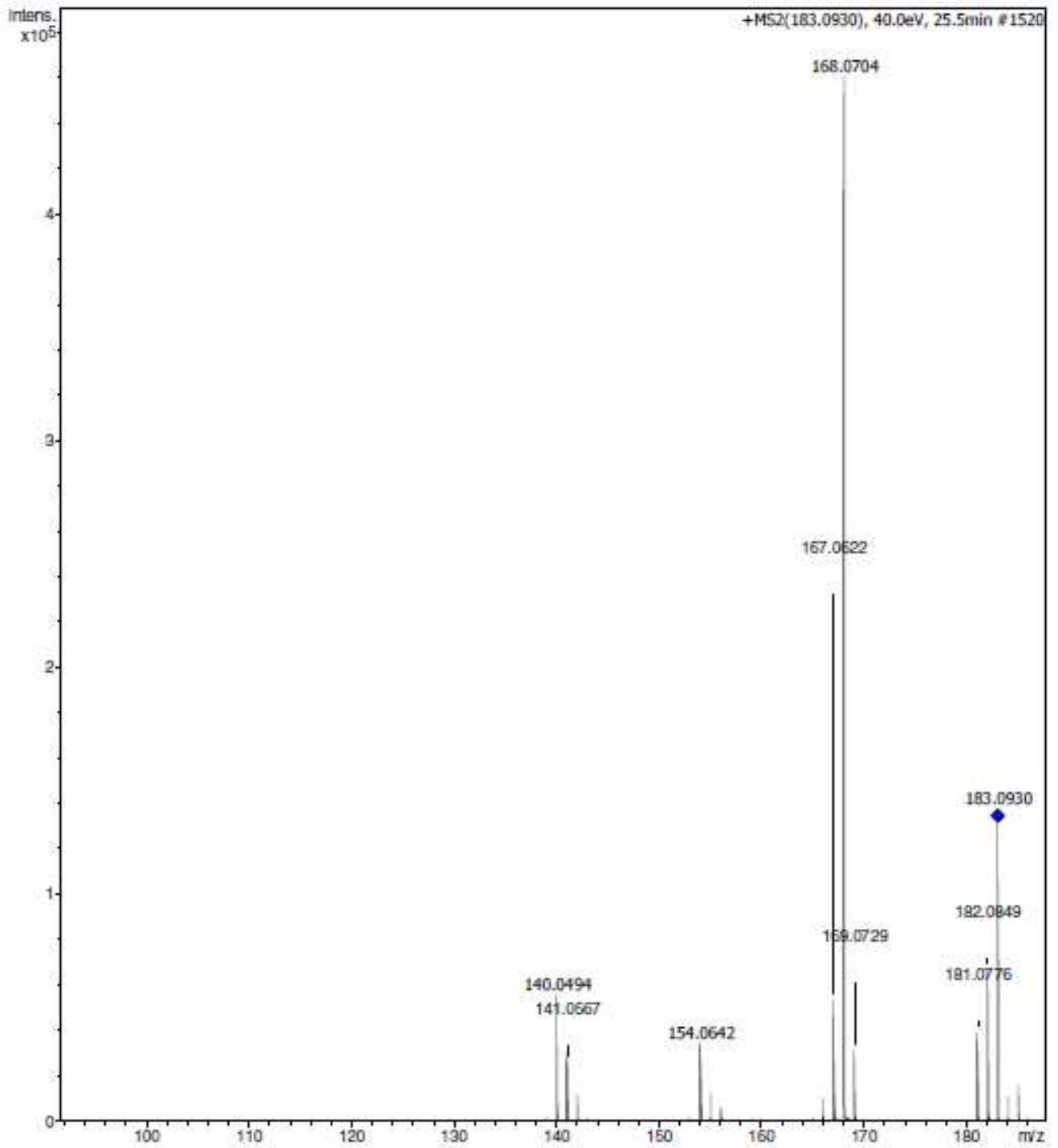


Figura 23.: Espectro de massas de alta resolução do composto HA-1.

5.4.2 Identificação Composto HA-2

O espectro no IV (Figura 24, página 67) apresentou bandas de deformação axial em 3.500 e 3.435 cm^{-1} , sugestivas das presenças de hidroxilas livre e quelada na molécula (SANTOS et. al., 2015). A absorção em 2.916 cm^{-1} pode ser atribuída a estiramentos C-H de anel aromático. Foi identificada também uma banda intensa em 1.631 cm^{-1} sugerindo a presença de carbonila de aril cetona. É possível atribuir que a redução da frequência de estiramento de carbonila pode está relacionada com o efeito da conjugação e a ligação de hidrogênio intermolecular que reduzem o estiramento das ligações e a frequência de vibração (CRIVELARO, 2013). As bandas em 1.589 cm^{-1} e 1.433 cm^{-1} de média intensidade são características de ligações C=C de anel aromático. As bandas em 1.277 e 1.082 cm^{-1} são sugestivas de deformação axial assimétrica e simétrica de ligação C-O-C (PAIVA et. al., 2012).

Os espectros de RMN de ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) mostraram a presença de dois singletos largos em δ_{H} 6,79 (s, 1H) e δ_{H} 6,39 (s, 1H) na região de prótons aromáticos, sinais espectrais entre δ_{H} 4,58 - 4,13 (6H) e δ_{H} 5,70 (d, $J=6.9$ Hz, 1H) característicos de unidade osídica. Observaram-se, ainda, dois singletos em δ_{H} 3,71 (3H) e δ_{H} 2,95 (3H) sugestivos da presença de metoxila e metila no composto, respectivamente (Figuras 25 e 26, páginas 66 e 67).

Foi obtido também um espectro de RMN de ^1H em DMSO (500 MHz) no qual se observou a presença de um singlete em δ_{H} 13,58 sugestivo de hidroxila quelada (Figura 27 e 28, páginas 68 e 69). Além disso, houve um desdobramento dos singletos largos em δ_{H} 6,79 e δ_{H} 6,39 para dois dubletos, ambos com um $J=2,26$ Hz, característicos de acoplamento *meta* (Figura 29, página 70).

No espectro de RMN de ^{13}C (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz), técnica BB (Figura 30, página 71), foram observadas 15 linhas espectrais, que pelo auxílio do DEPT 135 (Figura 31, página 72) permitiu sugerir sete sinais para carbonos metínicos (δ_{C} 102,85, 96,35, 94,86, 79,71, 79,45, 75,11 e 71,64), dois para carbonos metílicos (δ_{C} 56,09 e 34,01), um metilênico (δ_{C} 62,81) e, por exclusão, 5 sinais para carbonos não hidrogenados (δ_{C} 204,63, 167,89, 167,09, 162,37 e 107,54).

No espectro do mapa de contorno HSQC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) foi possível observar os seguintes acoplamentos: δ_{H} 6,79/ δ_{C} 94,86 e δ_{H} 6,39/ δ_{C} 96,35, sugestivos para sinais em anel aromático com impedimento estérico devido a grupos oxigenados (Figura 32, página 73). A presença ainda dos sinais em δ_{C} 107,54, 162,37, 167,09 e 167,89 (Figura 30, página 71) sugerem que a

molécula tem um anel aromático tetrasubstituído. Um sinal em δ_H 3,71/ δ_C 56,09 sugere a presença de uma metoxila e o sinal em δ_H 2,95/ δ_C 34,01 de uma metila próxima a um grupo retirador de elétrons (Figura 32, página 73).

Na análise do espectro do mapa de contorno HMBC ($^1H \times ^{13}C$) verificaram-se acoplamentos entre δ_H 6,79/ δ_C 107,54, 162.37, 167.09 e 96.35 e de δ_H 6.39/ δ_C 107.54, 94.86, 167.09 e 167.89 (Figura 34, página 75) que permitiram definir δ_C 107.54, 162.37, 94.86, 167.09, 96.35 e 167.89 para as posições 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente. A correlação de δ_H 3.71/ δ_C 167.09 (Figura 34, página 75) permitiu inferir que a metoxila está localizada no C-4. O sinal em δ_H 2.95 (Figura 34, página 75) mostrou correlação a longa distância com δ_C 107.54 (3J) e δ_C 204.63 (2J) sugerindo que a metila estava ligada ao carbono da carbonila cetônica e esta ao C-1. A correlação do δ_H 5.70/ δ_C 162.37 (Figura 37, página 78) permitiu confirmar que a unidade osídica estava ligada ao C-2 e, que, por exclusão, a hidroxila quelada estava no C-6.

No HSQC foram observadas os seguintes mapas de contorno: δ_H 5.70/ δ_C 102.85, δ_H 4.34 (5H)/ δ_C 75.11, 71.64, 79.45 e 62.81 e δ_H 4.14/ δ_C 79.71 (Figuras 32 e 33, páginas 73 e 74). O mapa de contorno HMBC de δ_H 5.70/ δ_C 79.71, δ_H 4.34/ δ_C 75.11, 79.71, 71.64 e 79.45 e δ_H 4.14/ δ_C 102.85, 75.11, 71.64 e 79.45 (Figuras 35, 36 e 37, páginas 76, 77 e 78), além de comparação com dados da literatura (ZHANG et. al., 2010; DELNAVAZI et. al., 2015) permitiu confirmar δ_C 75.11, 79.71, 71.64, 79.45 e 62.81 para os C-2', 3', 4', 5' e 6', respectivamente. A natureza glicosídica da molécula foi revelada pelo sinal oximetilênico em δ_C 62,81 (DOMINGUES, 2010) e a estereoquímica pelo acoplamento do hidrogênio do carbono anomérico com H-2' que foi de 6,9 Hz (Tabela 6, página 63), característica de acoplamento axial-axial e sugestiva de conformação β (beta).

A análise dos dados espectroscópicos de IV e RMN de 1H e ^{13}C , incluindo técnicas bidimensionais, além dos dados da literatura (Tabelas 7 e 8, páginas 63 e 64), permitiu identificar a acetofenona (HA-2) como 2',6'-dihidroxi-4'-metoxiacetofenona-2'O- β -glicose, conhecida por pleoside ou domesticoside, isolada anteriormente (ZANG et. al., 2010; DELNAVAZI et. al., 2015), mas obtida pela primeira vez na família Cactaceae.

Tabela 6.: Dados comparativos dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto HA-2 usando $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ e DMSO.

$\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$			DMSO		
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
1	107,54	-	1	105,89	-
2	162,37	-	2	160,65	-
3	94,86	6,79 (s, 1H)	3	93,45	6,19 (d, 1H, $J=2,26$ Hz)
4	167,09	-	4	165,66	-
5	96,35	6,39 (s, 1H)	5	94,99	6,04 (d, 1H, $J=2,26$ Hz)
6	167,89	-	6	165,59	-
7	204,63	-	7	203,55	-
1'	102,85	5,70 (d, 1H, $J=6,9$ Hz)	1'	100,69	-
2'	75,11	-	2'	73,17	-
3'	79,71	4,14 (1H)	3'	77,32	-
4'	71,64	-	4'	69,72	-
5'	79,45	-	5'	76,78	-
6'	62,81	6a 4,58 (d, 1H, $J=11,6$ Hz) 6b -	6'	60,71	-
OH	-	-	OH	-	13,58 (sl, 1H)
OCH₃	56,09	3,71 (s, 3H)	OCH₃	55,64	3,78 (s, 3H)
CH₃	34,01	2,95 (s, 3H)	CH₃	33,17	2,64 (s, 3H)

Tabela 7.: Dados dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais do composto HA-2 usando $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$.

HSQC			HMBC	COSY
	δ_{C}	δ_{H}	$\delta_{\text{C}} \times \delta_{\text{H}} (^2\text{J}-^3\text{J})$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
1	107,54	-	H-3, H-5, CH ₃	-
2	162,37	-	H-3, H-1'	-
3	94,86	6,79 (s, 1H)	H-5	H-5
4	167,09	-	H-3, H-5, OCH ₃	-
5	96,35	6,39 (s, 1H)	H-3	H-3
6	167,89	-	H-5	-
7	204,63	-	CH ₃	-
1'	102,85	5,70 (d, 1H, $J=6,9$ Hz)	H-3'	-
2'	75,11	-	-	-
3'	79,71	4,14 (1H)	-	-
4'	71,64	-	-	-
5'	79,45	-	-	-
6'	62,81	6a 4,58 (d, 1H, $J=11,6$ Hz) 6b -	-	-
CH₃	34,01	2,95 (s, 3H)	-	-
OH	-	-	-	-
OCH₃	56,09	3,71 (s, 3H)	-	-

Tabela 8: Dados comparativos dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto HA-2 e os valores encontrados na literatura.

	Composto HA-2 (DMSO)		Zhang et al, 2010 (DMSO)		Delnavazi et al, 2015 (DMSO)	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	105,89	-	106,4	-	106,12	-
2	160,65	-	162,8	-	160,59	-
3	93,45	6,19 (d, 1H, $J=2,26$ Hz)	92,1	6,22 (d, 1H, $J=2,2$ Hz)	93,43	6,28 (d, 1H, $J=2,0$ Hz)
4	165,66	-	165,5	-	165,6	-
5	94,99	6,04 (d, 1H, $J=2,26$ Hz)	96,2	6,15 (d, 1H, $J=2,2$ Hz)		6,13 (d, 1H, $J=2,0$ Hz)
6	165,59	-	163,8	-	165,53	-
7	203,55	-	203,2	-	203,47	-
1'	100,69	-	99,7	4,99 (d, 1H, $J=7,3$ Hz)	100,64	5,00 (d, 1H, $J=7,4$ Hz)
2'	73,17	-	73,2		73,09	
3'	77,32	-	77,4	3,17 - 3,46 (4H, m, H-2', 3', 4', 5')	77,26	
4'	69,72	-	69,8		69,64	3,10 - 3,75 (6H, H-2', 3', 4', 5', 6')
5'	76,78	-	76,6		76,70	
6'	60,71	-	60,8	3,10 - 3,70 (2H, m, H-6')	60,62	
OH	-	13,65 (s, 1H)	-	13,55 (s, 1H)	-	13,72 (s, 1H)
OCH₃	55,64	3,78 (s, 3H)	56,2	3,86 (s, 3H)	55,59	3,80 (s, 3H)
CH₃	33,17	2,64 (s, 3H)	33,0	2,56 (s, 3H)	33,09	2,66 (s, 3H)

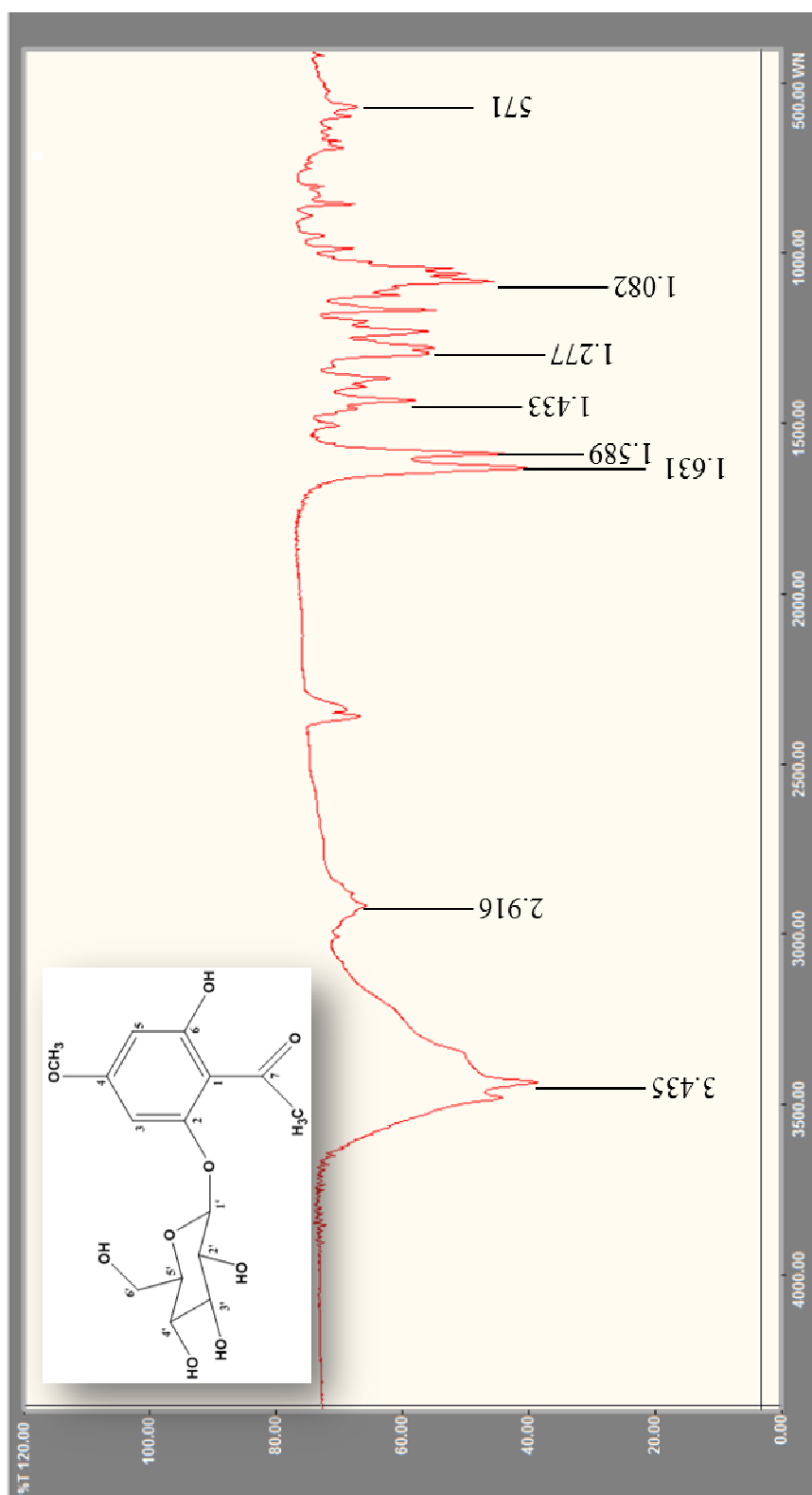


Figura 24: Espectro no Infravermelho (λ_{max} , KBr, cm^{-1}) do composto HA-2.

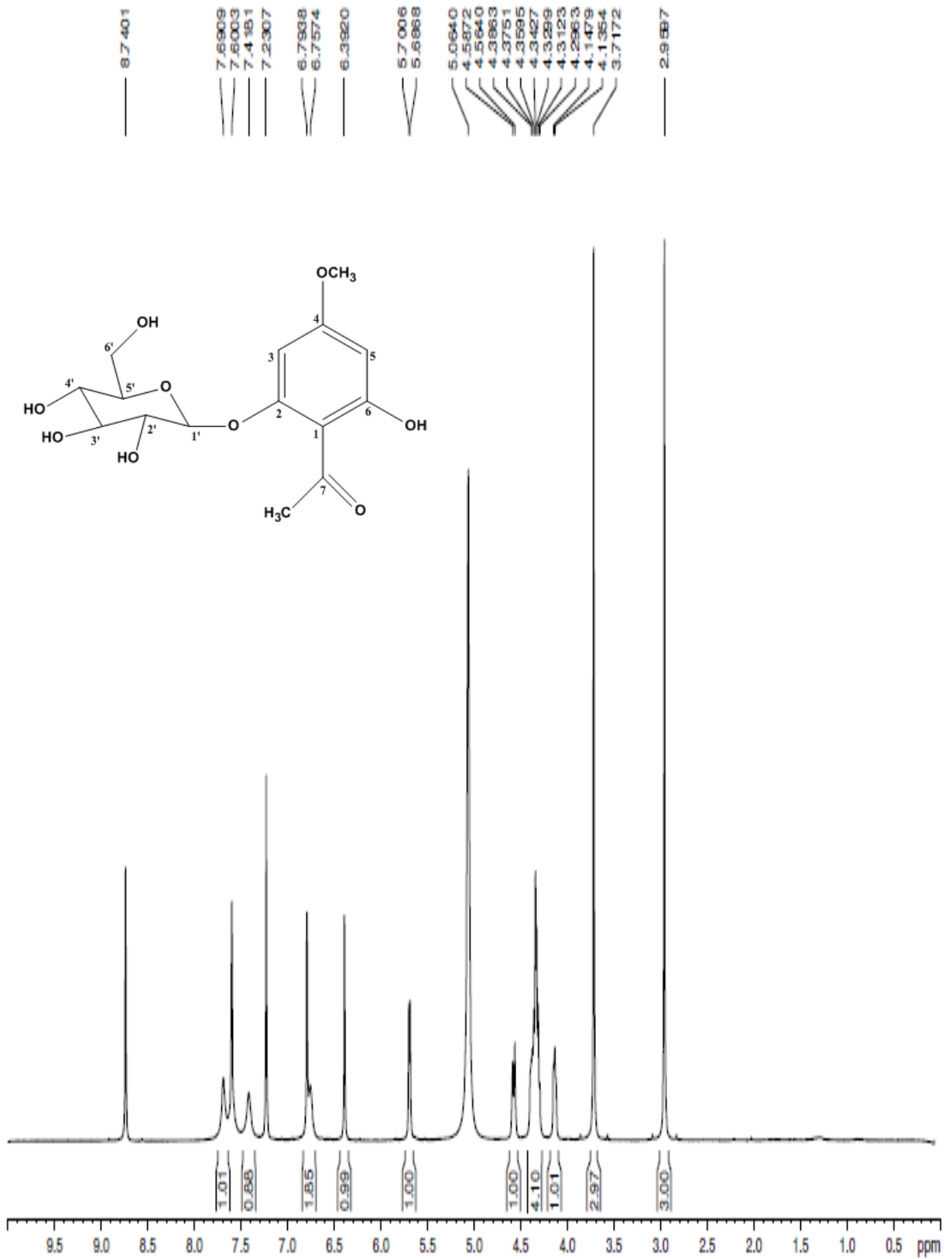


Figura 25.: Espectro RMN de ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) do composto HA-2.

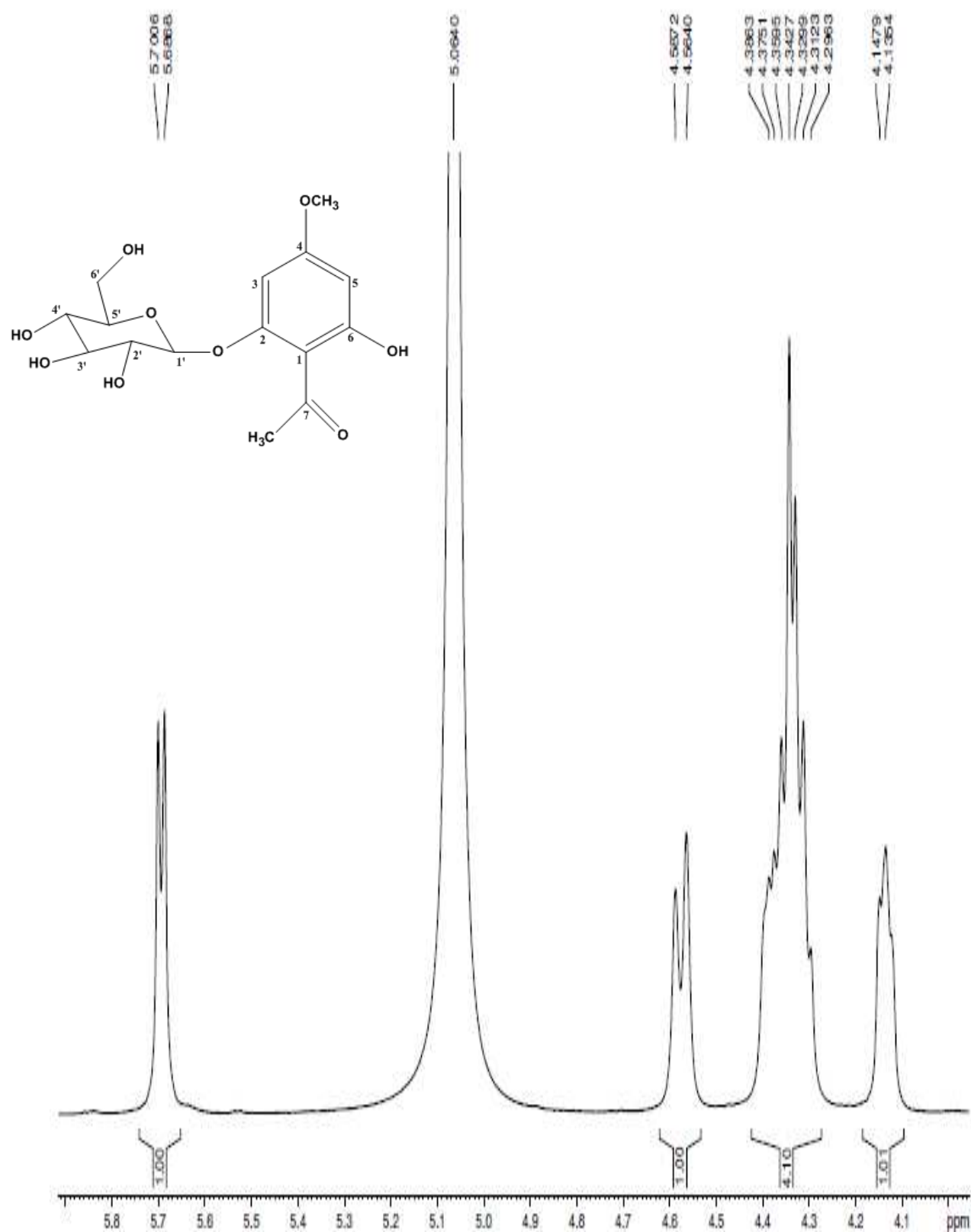


Figura 26.: Expansão do espectro RMN de ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz) do composto HA-2.

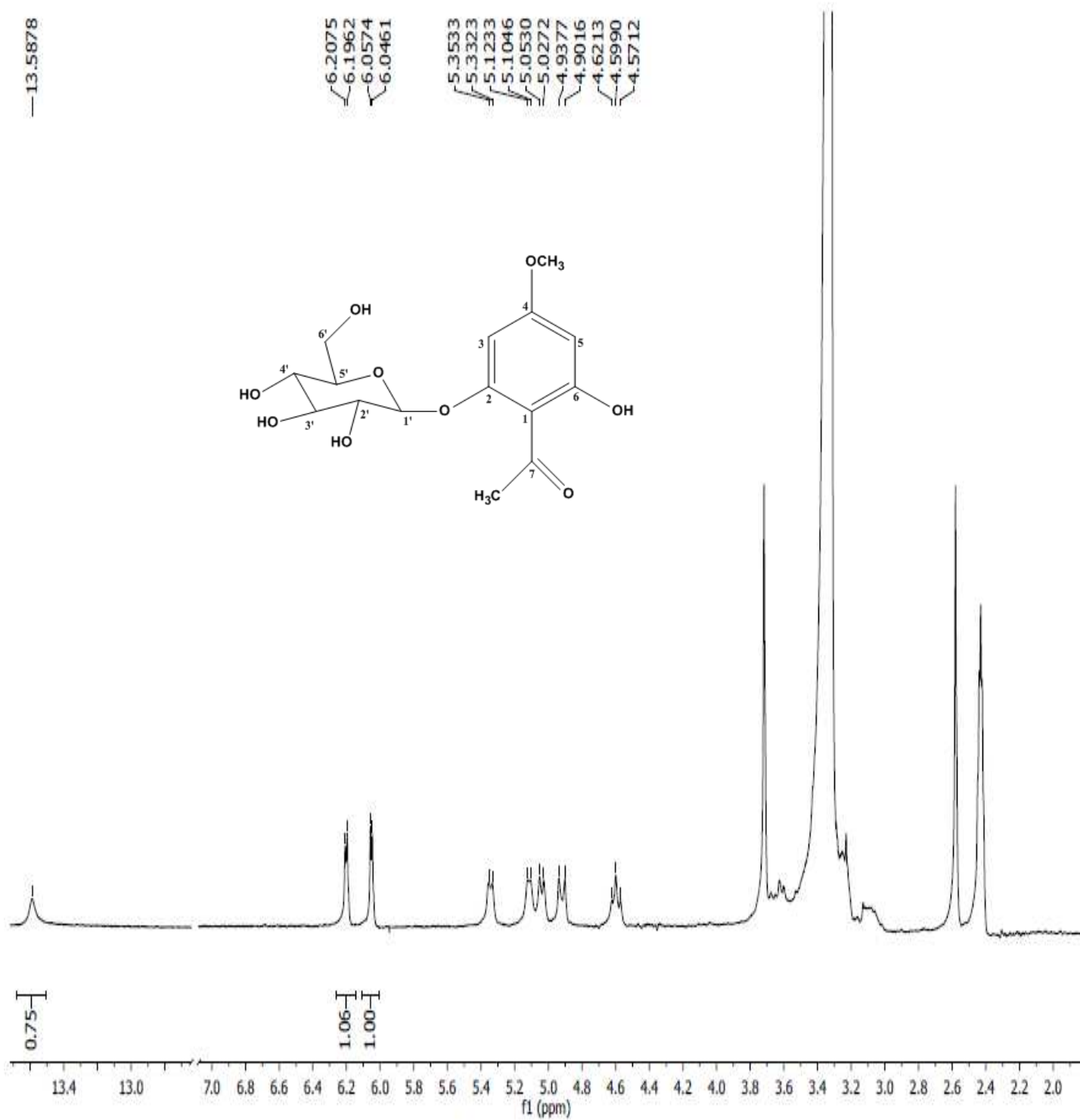


Figura 27.: Espectro RMN de ^1H (δ , DMSO, 500 MHz) do composto HA-2.

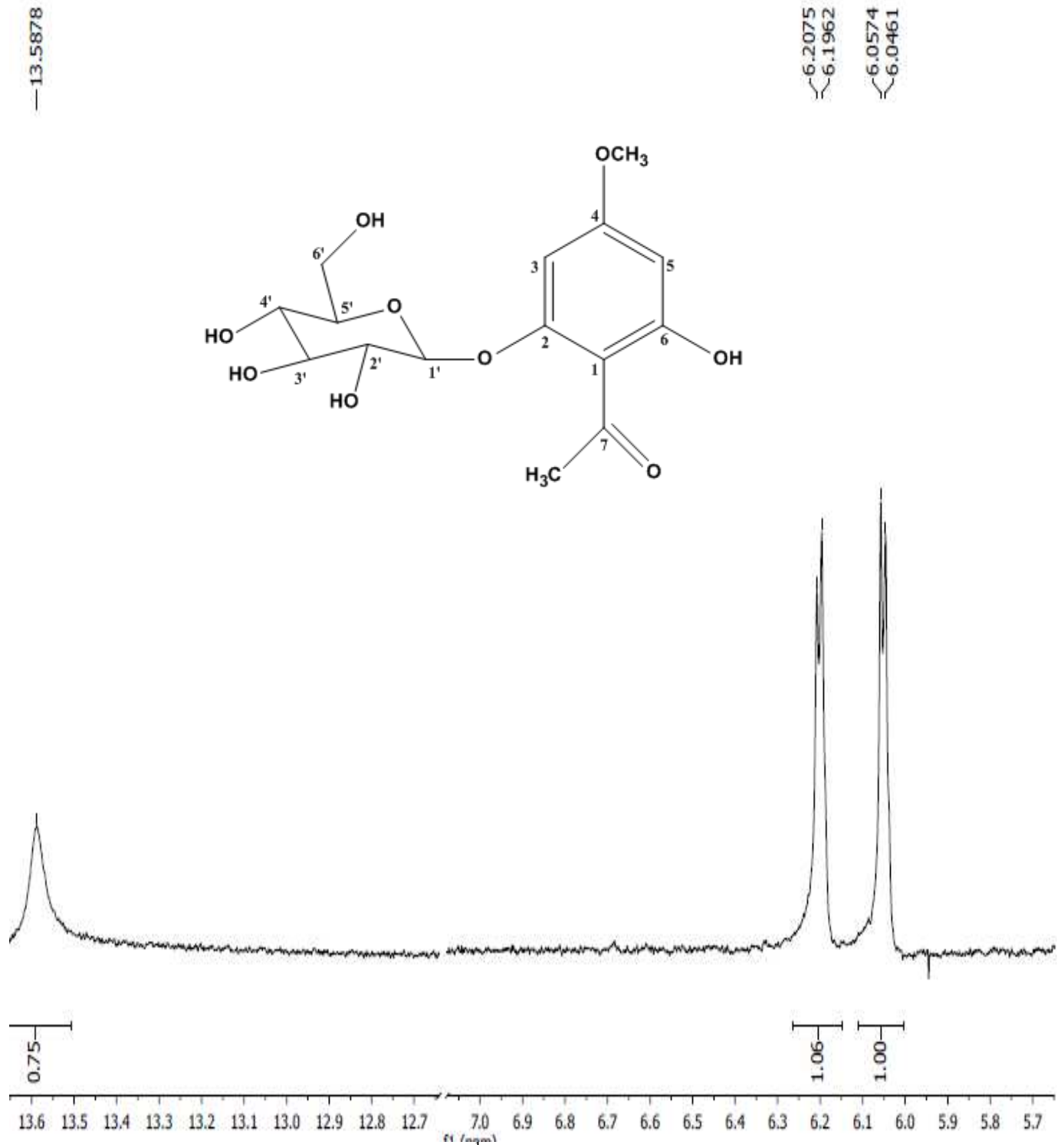


Figura 28.: Expansão do espectro RMN de ^1H (δ , DMSO, 500 MHz) do composto HA-2.

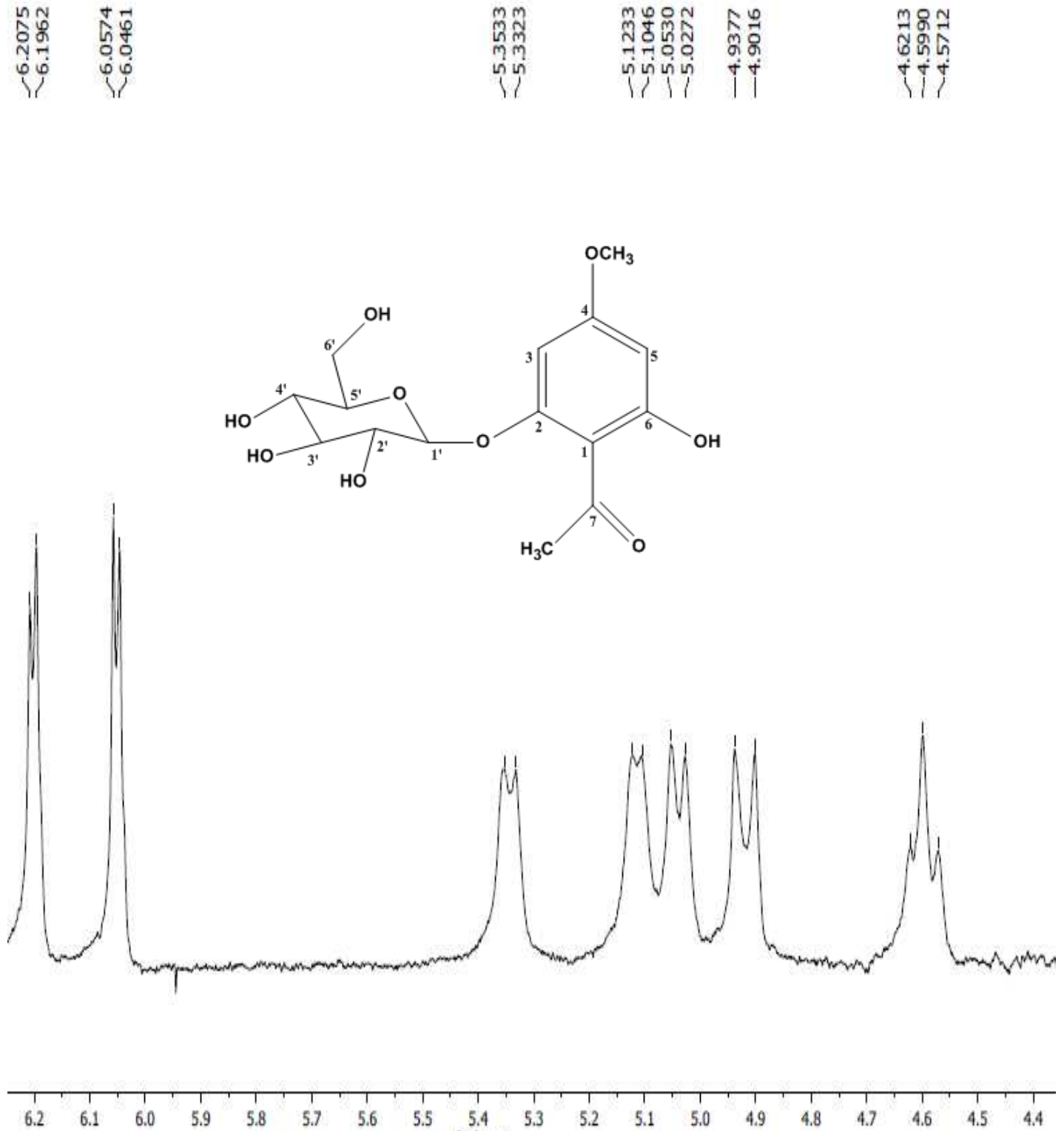


Figura 29.: Expansão do espectro RMN de ^1H (δ , DMSO, 500 MHz) do composto HA-2.

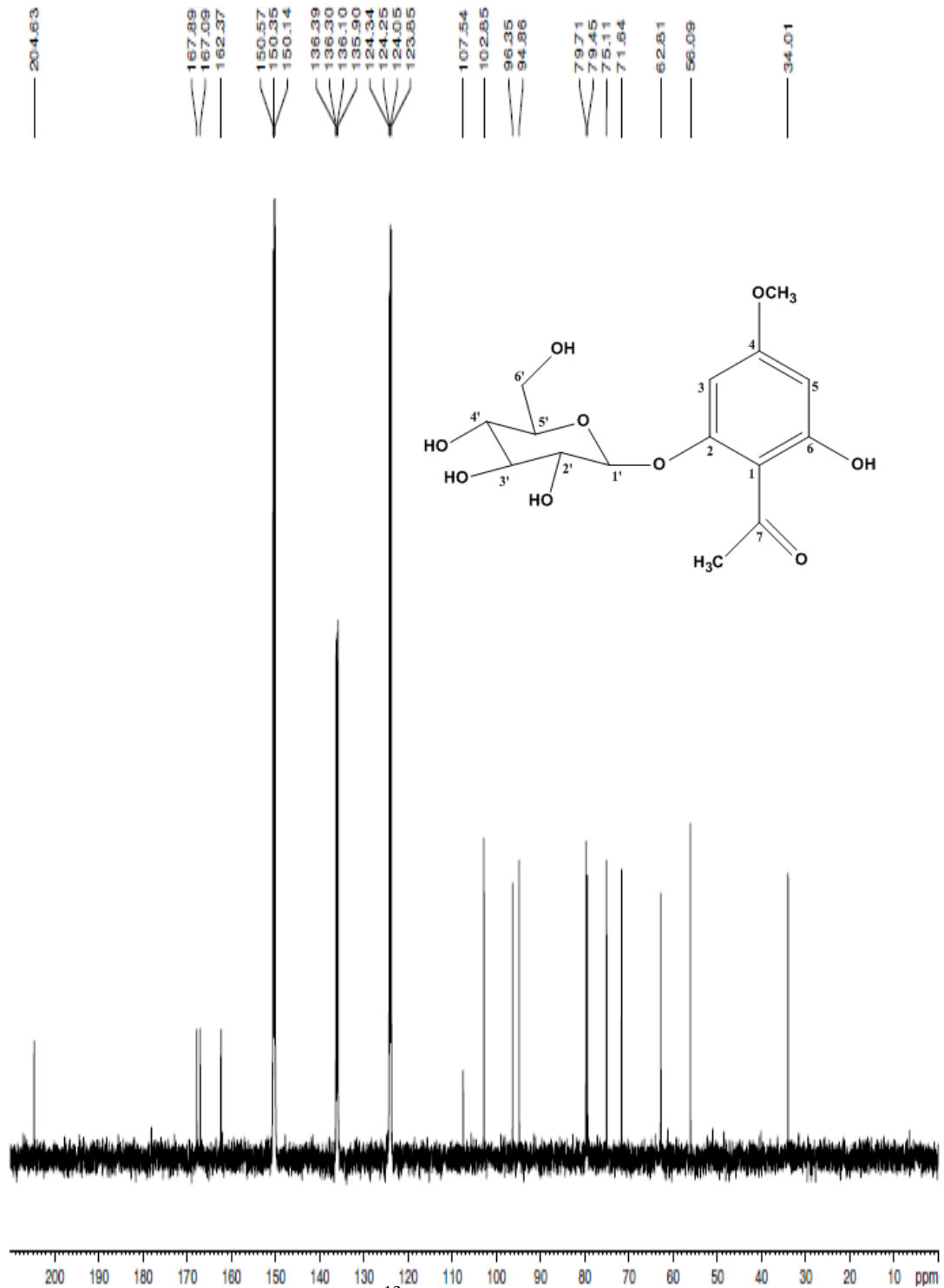


Figura 30.: Espectro RMN de ^{13}C (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) do composto HA-2.

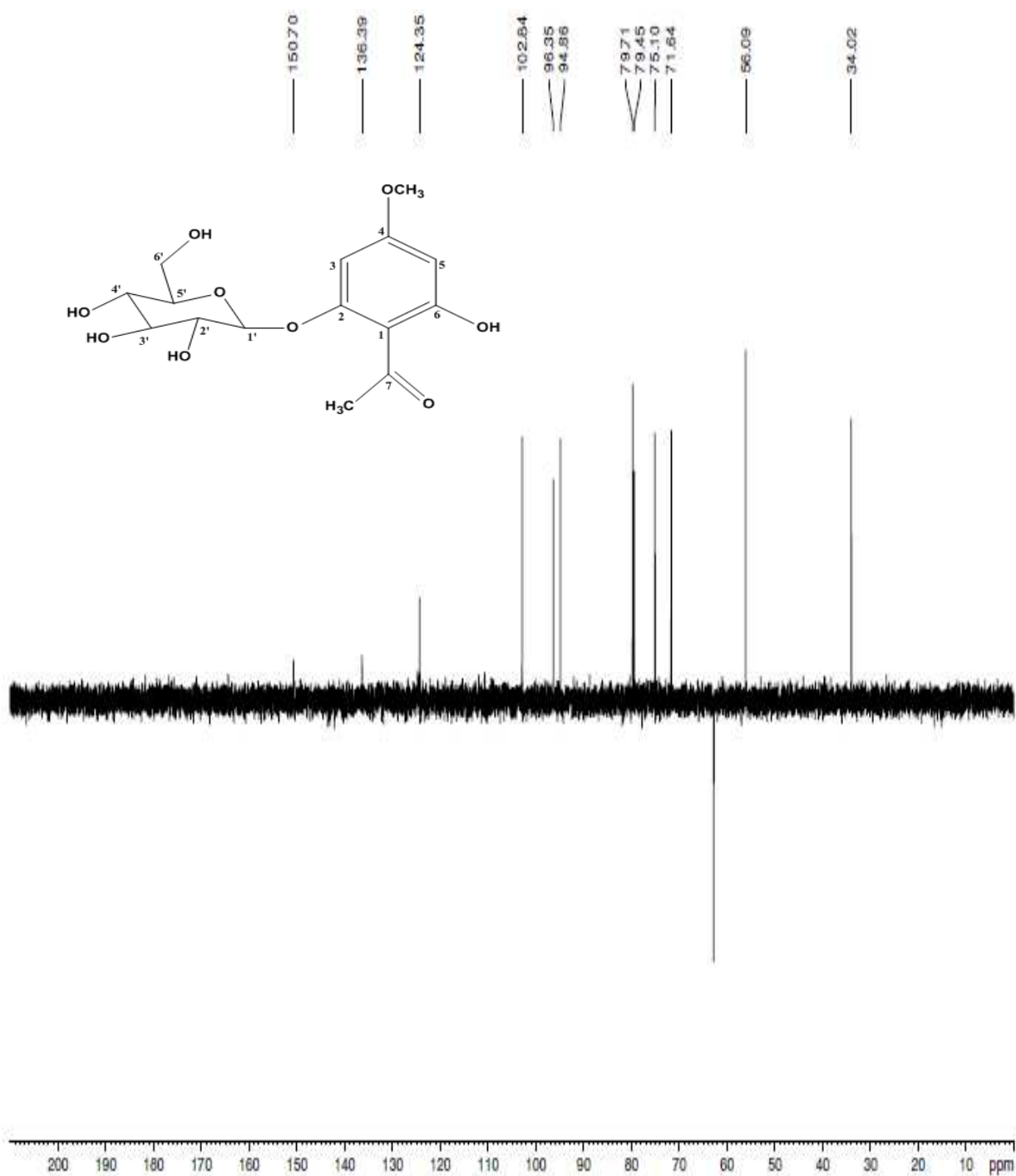


Figura 31.: Espectro RMN de ^{13}C , técnica DEPT 135 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz) do composto HA-2.

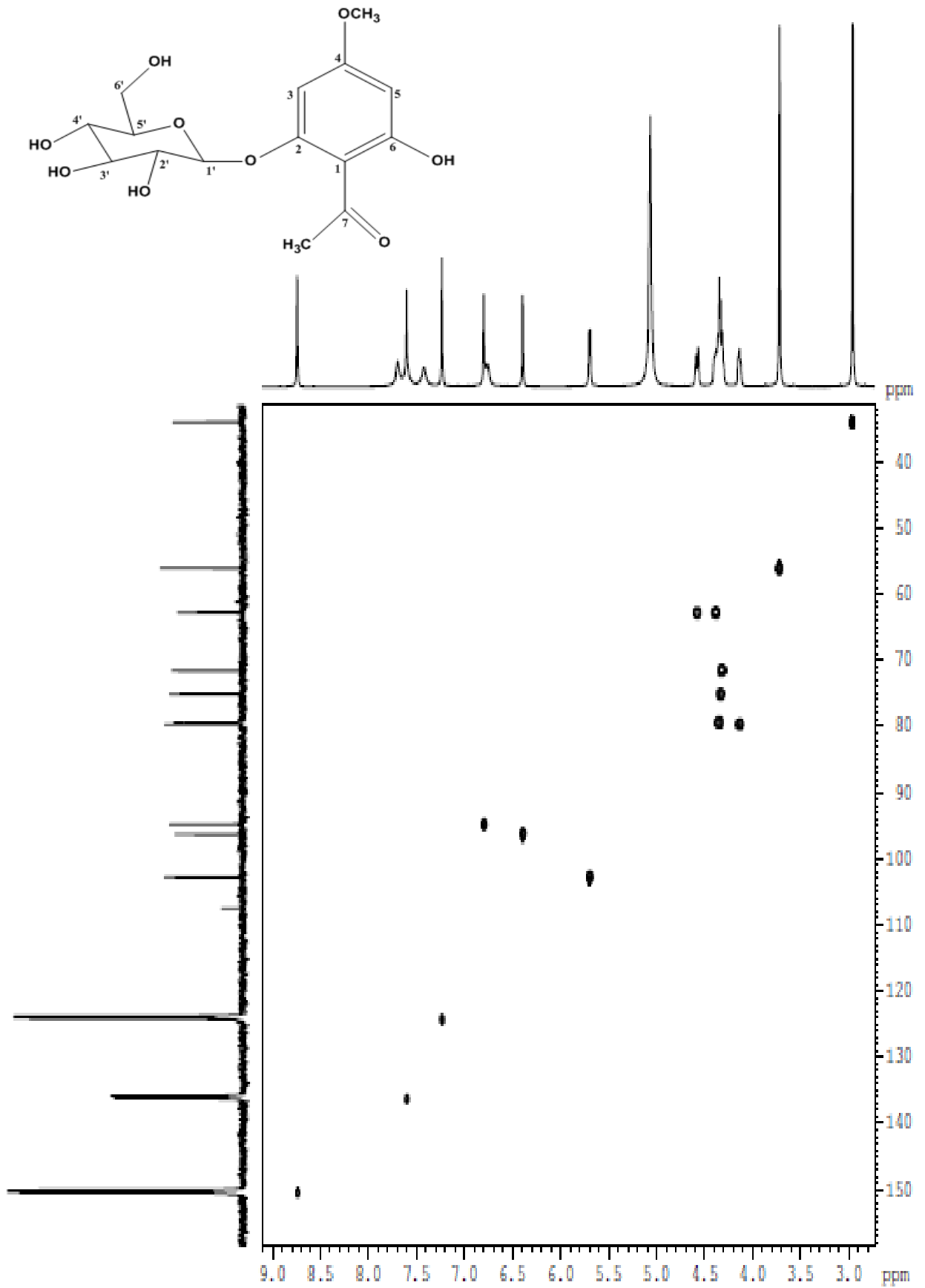


Figura 32.: Espectro do mapa de contorno HSQC - ¹H x ¹³C do composto HA-2.

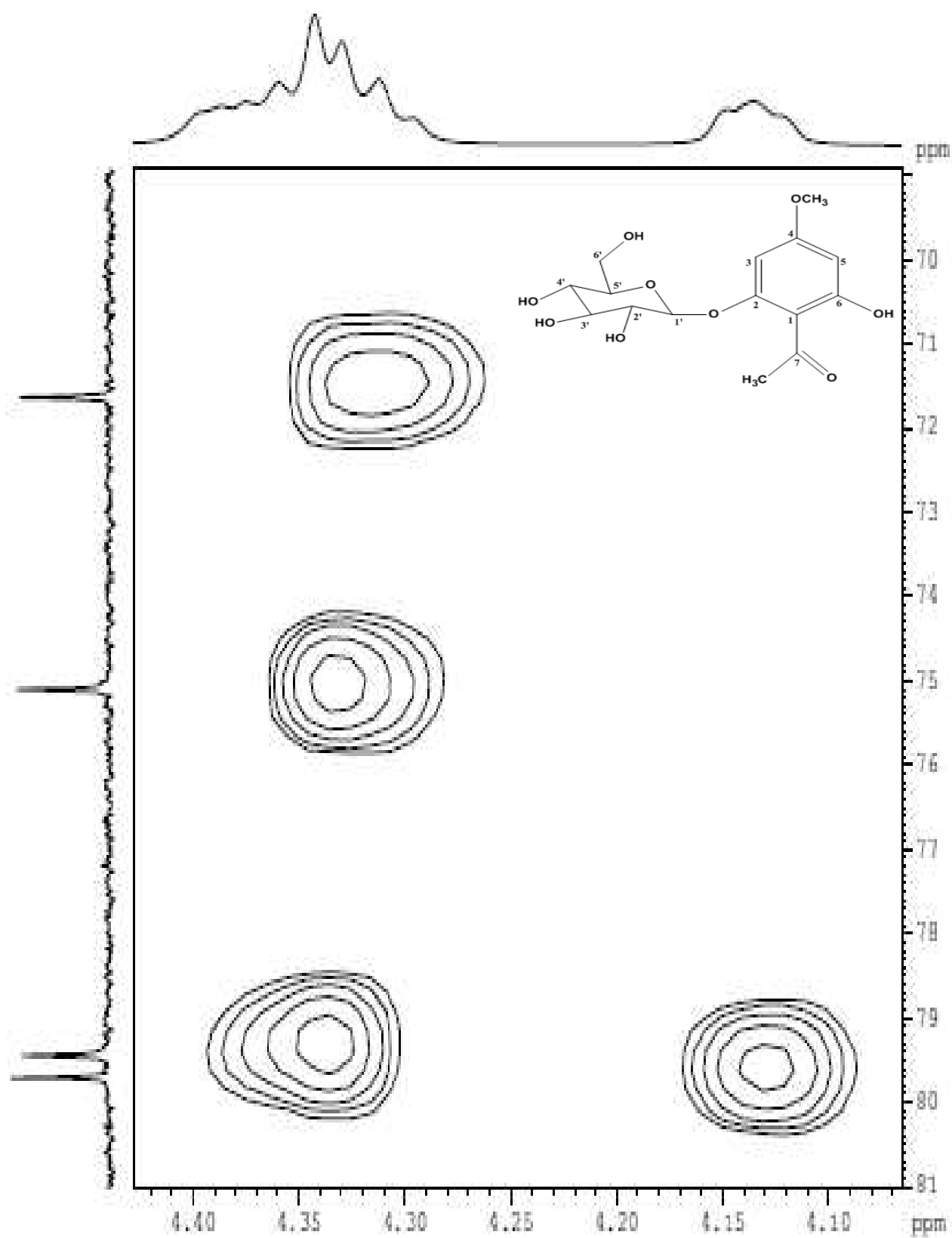


Figura 33.: Expansão do espectro do mapa de contorno HSQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.

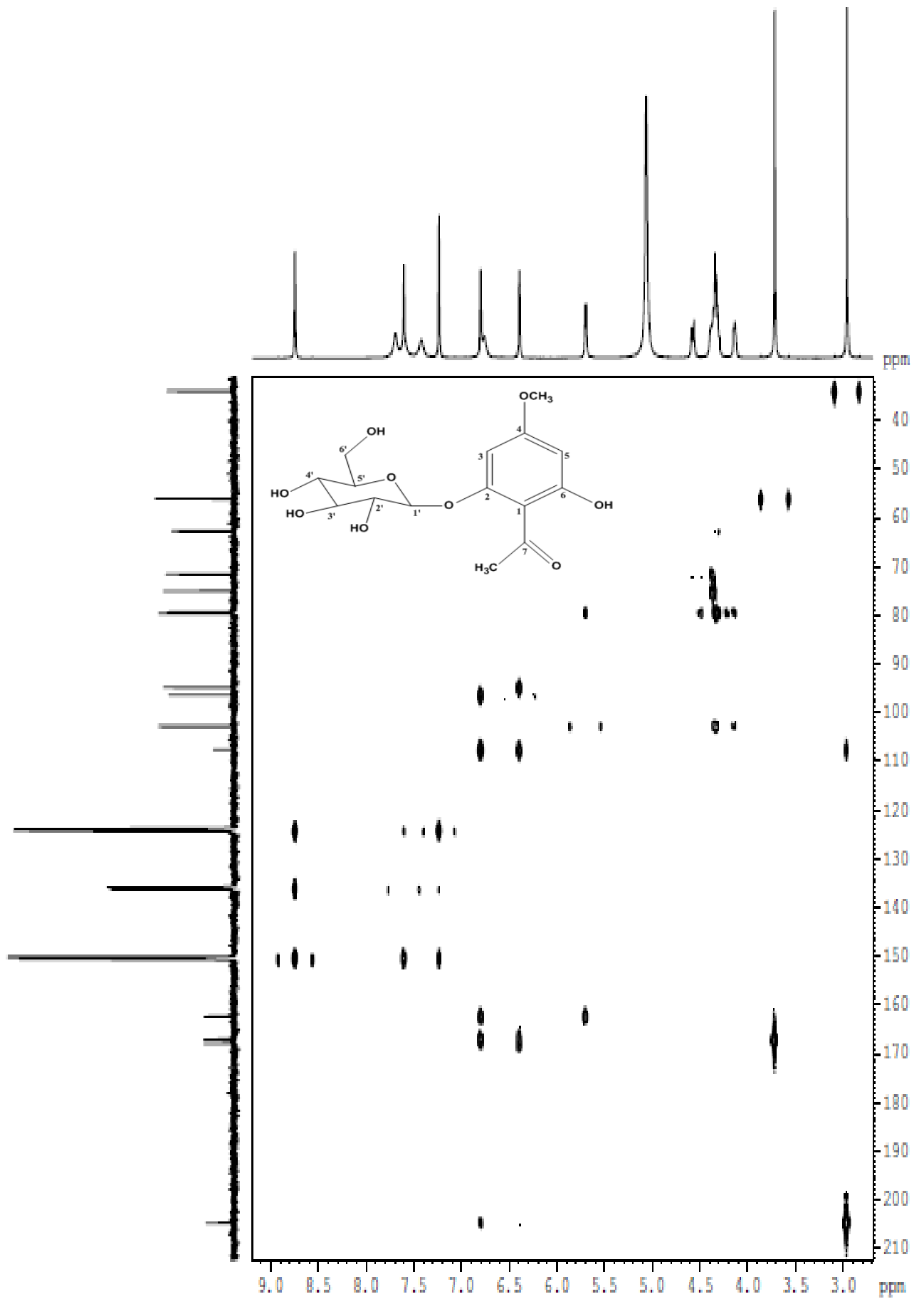


figura 34.: Espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.

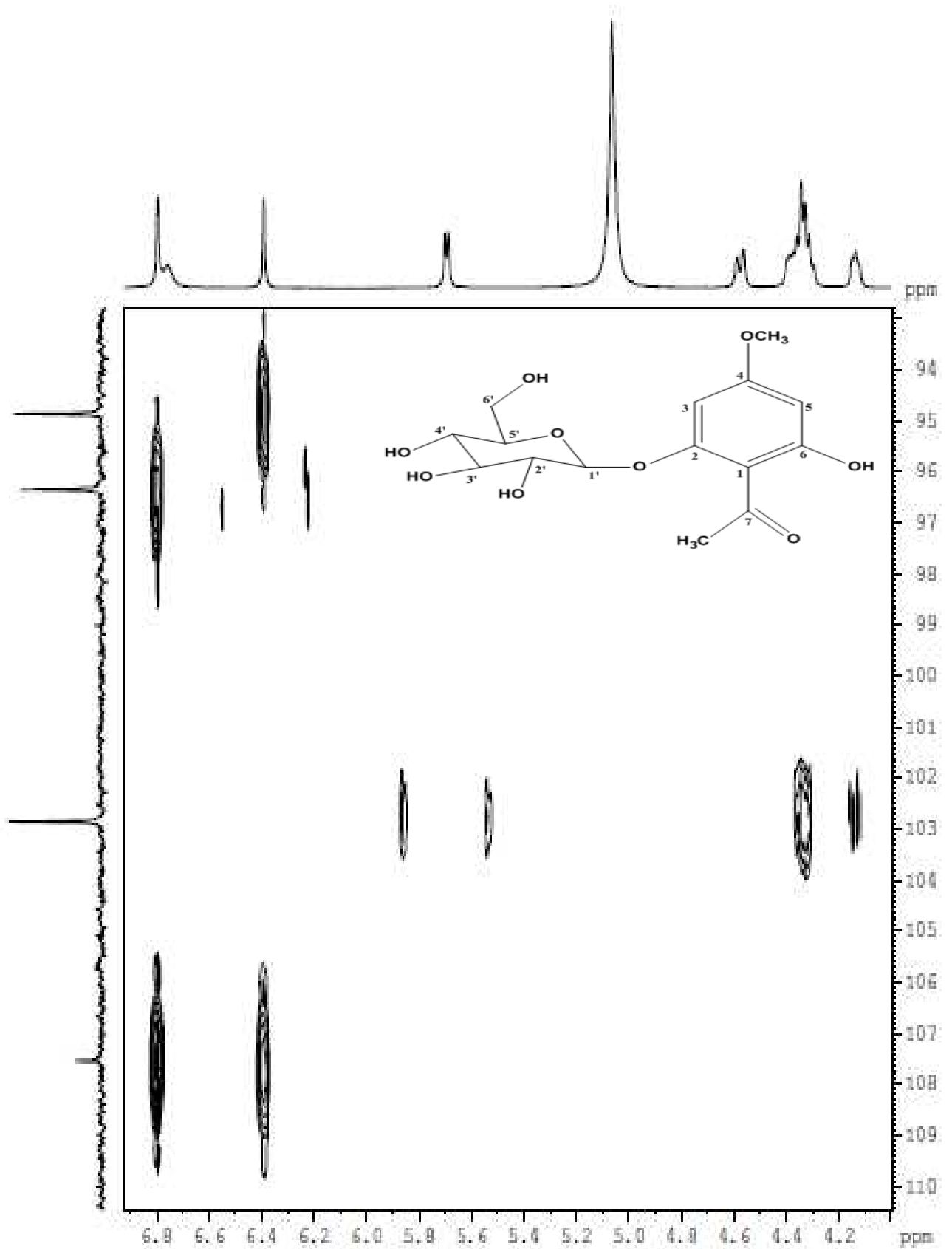


Figura 35.: Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.

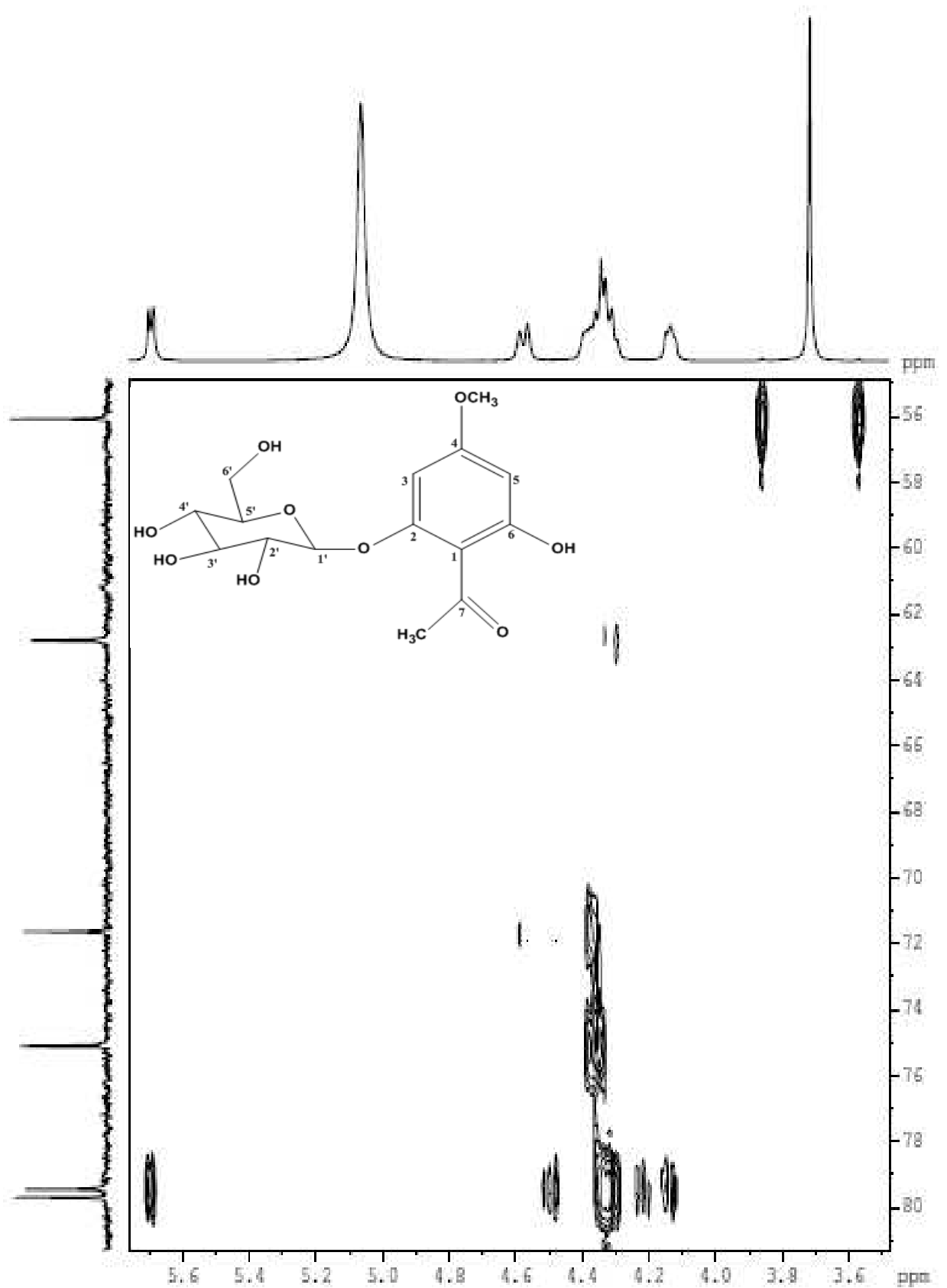


Figura 36.: Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.

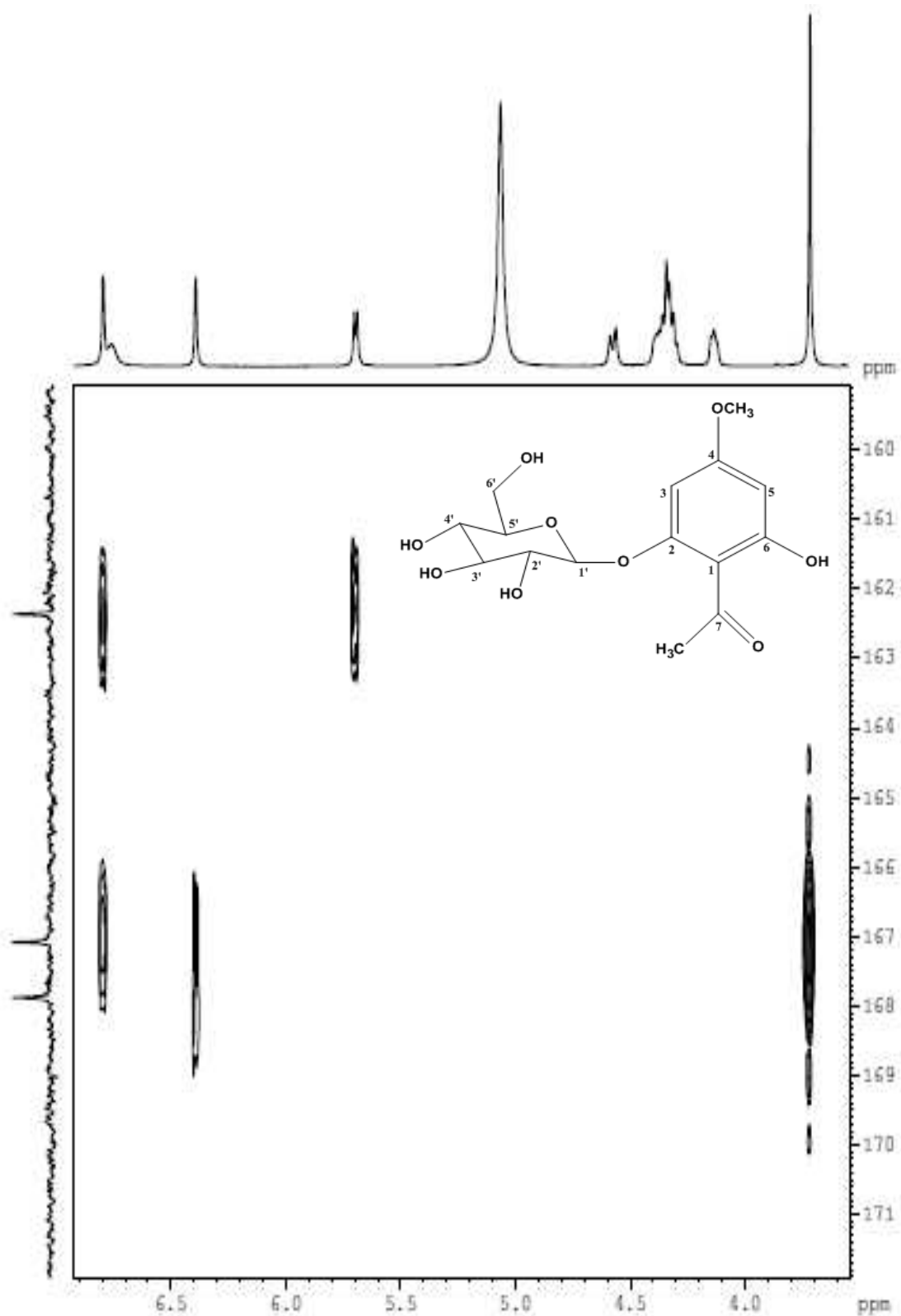


Figura 37.: Expansão do espectro do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto HA-2.

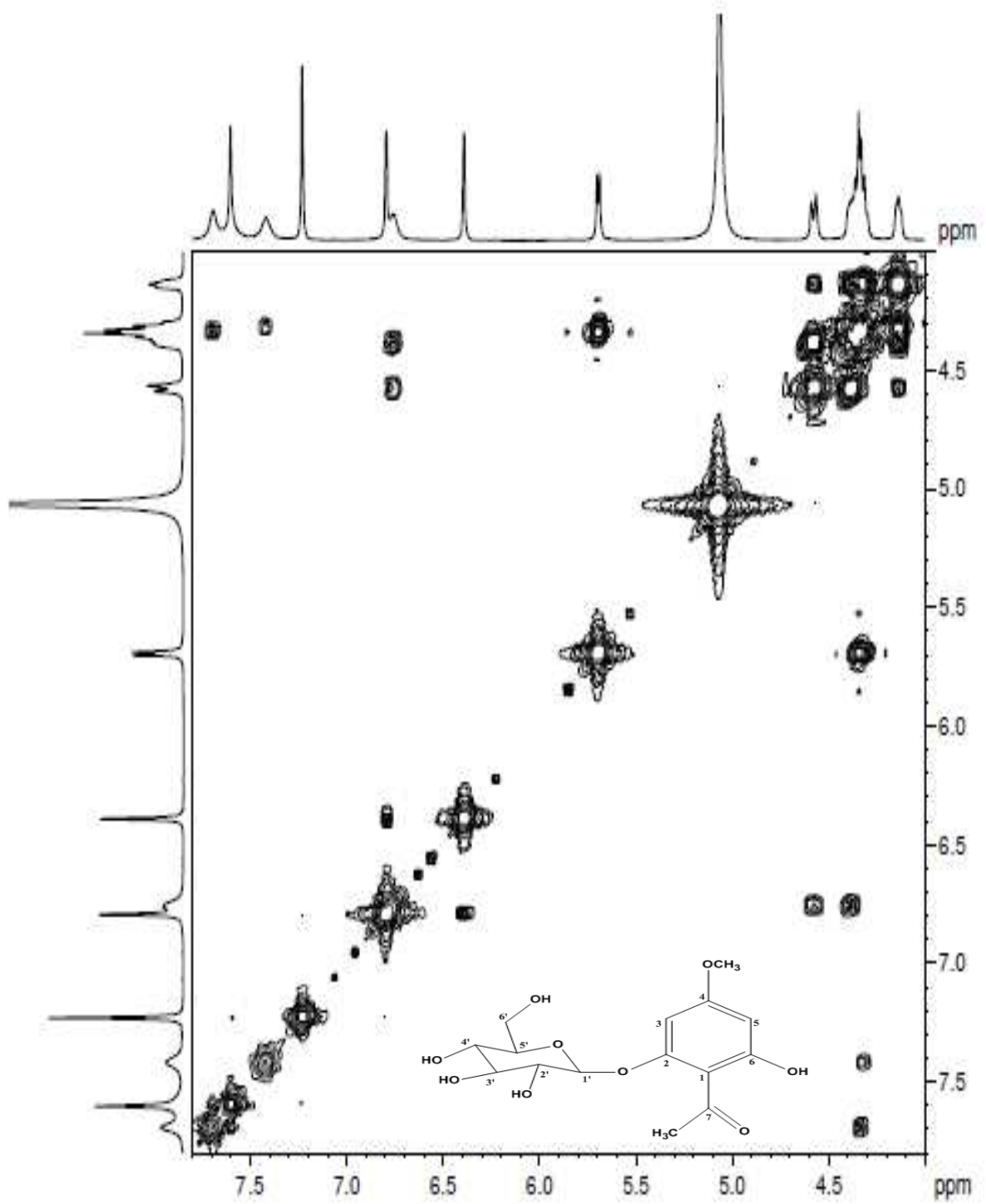


Figura 38.: Espectro do mapa de contorno COSY - $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ do composto HA-2.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho cumpriu o objetivo principal que se fundamentou na realização do estudo fitoquímico, caracterização físico-química e atividade biológica das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose.

Os dados físico-químicos e da análise térmica obtidos com o estudo de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose mostraram informações relevantes relacionadas ao desenvolvimento de novos fitoterápicos/fitofármacos.

Com relação à atividade biológica analisada, os extratos EEB e HABs não obtiveram atividade antimicrobiana através da concentração inibitória mínima frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Escherichia coli*, *Candida tropicalis* e *Candida albicans*.

O estudo fitoquímico das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose resultou no isolamento de duas substâncias: um alcalóide β -carbolínico 2-metil-9H- β -carbolina-2-íon e a acetofenona 2',6'-dihidroxi-4'-metoxiacetofenona-2'O- β -glicose, domesticoside ou pleoside. As duas substâncias são inéditas tanto na espécie *Harrisia adscendens* quanto na família Cactaceae.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P.; MUNIZ, M. P.; ALMEIDA, A. L.; MONTEIRO, J. M.; MACHADO, F. L. N. E.; GOMES, M. J.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the *Caatinga* (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 114, p. 325-354, 2007.
- AGURELL, S; LUNDSTRÖM, J; MASOUD, Cactaceae alkaloids VII: alkaloids of *Echinocereus merkeri*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 58, n. 11, p. 1413-1414. Nov-1969.
- ALVES, A. J. **Atividade biológica de óleos essenciais e fitoconstituintes sobre espécies de *Mycobacterium***. João Pessoa, Tese de Doutorado. 2006. 143p. Universidade Federal da Paraíba.
- ARECES, A. 2004. Cactaceae. In Flowering plants of the Neotropics. (N. Smith, S.A. Mori, A. Henderson, W.D. Stevenson & S.V. Heald, eds.). Princeton and Oxford
- BARROSO, G. M.; GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; PEIXOTO, A. L. Sistemática das angiospermas do Brasil. São Paulo: Livros Técnicos e Científicos, EDUSP, 1978. v. 1, 255 p.
- BARTHLOTT, W; HUNT, D. R. 1993. Cactaceae. In K. Kubitzki, J. G. Rohwer, and V. Bittrich (eds.), The families and genera of vascular plants. Springer Verlag, Berlin, Germany. 2, 161-197.
- BIANCHI, Otávio et al. Avaliação da degradação não-isotérmica de madeira através de termogravimetria-TGA. **Polímeros**. Vol.20, n.5, pp. 395-400, 2010.
- BLOM, F. J.; BRUTSCH, T.; BARBARAS, D.; BETHUEL, Y.; LOCHER, H. H.; HUBSCHWERLEN, C.; GADEMANN, K. Potent Algicides Based on the Cyanobacterial Alkaloid Nostocarboline. **Organic Letters**. Vol. 8, nº 4, 737-740, 2006.
- BOECK, P. **Obtenção de Moléculas com Potencial Terapêutico a partir de Compostos Naturais e Sintéticos**. Florianópolis, 2005. 117 p. Tese de Doutorado em Química – Programa de Pós-Graduação em Química, UFSC.
- BORDIGNON JR., Celso Luiz et al. **Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. 2009, vol.29, n.1, pp. 183-188.
- BRASIL. Ministério da saúde. secretaria de atenção à saúde. departamento de atenção Básica. Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS: atitude de ampliação de acesso / Ministério da saúde. secretaria de atenção à saúde. departamento de atenção Básica. – 2. ed. – Brasília : Ministério da saúde, 96 p., 2015.
- BRHUN, J; AGURELL, S. Cactaceae Alkaloids XVIII: two new alkaloids from *Coryphantha calipensis* H. Bravo. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 63, n. 4, p.574-576, 1974.

BRUNETON, J. Elementos da Fitoquímica y de Farmacognosia. Editorial Acriba S.A., Zaragoza, 1992.

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

BURT, S. A.; REINDERS, R. D. Antimicrobial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* 0157:h7. **Letters in Applied Microbiology**, Great Brickhill-UK, v.26, n.3, p.162-167, 2003.

CHEVALLEY, I.; MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K.. Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry for Detection and Isolation of an Antifungal Acetophenone from *Ribes rubrum* (Saxifragaceae). **Chromatographia**, 54, August (N. 3/4), 2001.

CRIVELARO, F. **Síntese e caracterização óptica de derivados de acetofenona iodados**. 2013. 91 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUT – CLSI. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão: Norma Aprovada – 8ª ed. M1-A8, v. 23, n. 1, Substitui a Norma M2-A7, v. 20, n. 1, 2005.

COSTA, R.S. **Estudos de Pré-Formulação e Formulação de *Heliotropium indicum* (L.) DC (Boraginaceae)**. Dissertação Belém – PA, 2010.

DAVET, A.; VIRTUOSO, S.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, M. D.; OLIVEIRA, A. B.; MIGUEL, O. G. Atividade antimicrobiana de *Cereus jamacaru* DC, Cactaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19 (2B): 561-564, Abr./Jun. 2009.

DELNAVAZI, M. R.; HADJIAKHOONDI, A. D.; AJANI, Y.; YASSA, N. Azeroside A and B: Two new phoroacetophenone glycosides from the roots of *Dorema glabrum* Fisch. & C.A Mey. **Med. Chem. Re.** 24: 787-796, 2015.

DOLFERUS, R. To grow or not to grow: A stressful decision for plants. **Plant Science**. 229, 247-261, 2014.

DOMINGUES, E. A. et. al. Estudo fitoquímico e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* e da atividade antimicrobiana de *Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral, Myrtaceae. **Rev. bras. farmacogn.** Vol. 20, n.1, pp. 23-27, 2010.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5º ed. Brasília: Fiocruz; 2010.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e agrotecnologia**, vol.31, n.1, p. 113-120, 2007.

FRANCK, A. R.; COCHRANE, B. J.; GAREY, J. R. Phylogeny, Biogeography, and Infrageneric Classification of *Harrisia* (Cactaceae). **Systematic Botany**. 38 (1): 210-223, 2013.

GERTSCH, J. How scientific is the science in ethnopharmacology? Historical perspectives and epistemological problems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, n. 2, p. 177-183, 2009.

GLENNON, R. A., DUKAT, M., GRELLA, B., HONG, S. S., COSTANTINO, L., TEITLER, M., SMITH, C., EGAN, C., DAVIS, K. & MATTSON, M. V. Binding of β -carbolines and relating agents at serotonin (5-HT₂ and 5-HT_{1A}), dopamine (D₂) and benzodiazepines receptors. **Drug and Alcohol Dependence**, 60: 121-132, 2000.

HASHIMOTO, Y., KAWANISHI, K. & MOTTIYASU, M. Forensic chemistry of alkaloids. The alkaloids: Chemistry and Pharmacology, 32: 40-45, 1988.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Paulo: EDUFSCAR, 2003.

HUSBANDS, S. M., GLENNON, R. A., GORGERAT, S., GOUGH, R., TYACKE, R., CROSBY, J., NUTT, D. J., LEWIS, J. W., HUDSON, A. L. β -Carboline binding to imidazoline receptors. *Drug Alcohol Depend.* 64, 203–208, 2001.

KIRCHER, HW. Triterpenes in organ pipe cactus. **Phytochemistry**, v. 19, p. 2707-2712. 1980.

KITAJIMA, M.; OHARA, S., KOGURE, N.; SANTIARWORN, D.; TAKAYAMA, H. β -Carboline-type indole alkaloid glycosides from *Ophiorrhiza trichocarpon*. **Tetrahedron**. Vol. 69, 9451-9456, 2013.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum*) and thyme leaves (*Thymes vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LUNARDI, F.; GUZELA, M.; RODRIGUES, A. T.; CORRÊA, R.; EGERMANGRICH, I.; STEINDEL, M.; GRISARD, E. C.; ASSREUY, J.; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R. S. Trypanocidal and leishmanicidal properties of substitution containing chalcones. **Antimicrobial Agents Chemoth.** V. 47, p. 1449-1451, 2003.

LUO, J. G.; CAO, L. H.; KONG, L. Y. Two new β -carboline type alkaloids from *Stellaria dichotoma* var. lanceolata. **Chinese Chemical Letters**. 23, 1385–1388, 2012.

MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.84, n.5, p.538-544, 1998.

MARIATH, I. R.; FALCÃO, H. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SOUSA, L. C. F.; TOMAZ, A. C. A.; BATISTA, L. M.; DINIZ, M. F. F. M.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. F.; CUNHA, E. V. L. Plants of the American continent with antimalarial activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, p. 158-192, 2009.

MARQUES, G.S., LYRA, M.A.M., PEIXOTO, M.S., MONTEIRO, R.P.M., LEÃO, W.F., XAVIER, H.S., SOARES, L.A.L, ROLIM NETO, P.J. Caracterização fitoquímica e físico-

química das folhas de *Bauhinia forficata* Link coletada em duas regiões brasileiras. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**; 33(1):57-62, 2012.

MATOS, F. J. A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 2º edição. Fortaleza-CE. Editora UFC. 1997.

MESQUITA, J. M. O.; CAVALEIRO, C.; CUNHA, A. P.; LOMBARDI, J. A.; OLIVEIRA, A. B. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. **Revista Brasileira de Farmacologia**, João Pessoa, v. 15, n. 01, p. 6-12, 2005.

MORI T.; HOSHINO, S.; SAHASHI, S.; AKIMOTO, T.; MATSUI, T.; MORITA, H.; ABE I. Structural Basis for β -Carboline Alkaloid Production by the Microbial Homodimeric Enzyme McbB. **Chemistry & Biology**. 22, 898–906, July 23, 2015

MOURA, D. J. Estudos dos alcaloides β -carbolínicos em diferentes modelos biológicos. 2006. 132f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of p henolics in food. *Journal of Chromatografy A*, v. 1054, n. 1/2, p. 95-111, 2004.

NEAL, J.M. et al. Cactus alkaloids X: Isolation of hordenine and N-methyltyramine from *Ariocarpus kotschoubeyanus*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 60, n. 3. p. 477- 488. Mar-1971.

NOVAIS, T. S; et al. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semiárido brasileiro. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.13, n.2, p.5-8, 2003.

NYFFELER, R.; EGGLI U.. 2010. A farewell to dated ideas and concepts - molecular phylogenetics and a revised suprageneric classification of the family Cactaceae. *Schumannia* 6: 109–149.

OSTROSKY, Elissa A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.** 2008, vol.18, n.2, pp. 301-307.

PAVIA, D. L. et. al. *Introdução à espectroscopia*. Trad. Pedro Barros. – São Paulo: Cengage Learning, 2012.

PERES, A. Efeitos dos alcalóides harmina, harmalina, harmol, harmalol, harmano sobre a resposta proliferativa in vitro de linfócitos periféricos humanos estimulados por fitoemaglutinina. Dissertação de Mestrado, curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Bioquímica, UFRGS, Porto Alegre, 1999.

PICADA, J. N., DA SILVA, K. V. C. L., ERDTMANN, B., HENRIQUES, A. T. & HENRIQUES, J. A. P., Genotoxic effects of structurally related β -carboline alkaloids. *Mutation Research*, 379: 135-149, 1997.

PUMMANGURA, S; MCLAUGHLIN, J.L.; SCHIFFERDECKER, R.C. Cactus alkaloids XLVII: β -phenethylamines from the “missouri pincushion”, *Coryphantha (neobessya) missouriensis*. **Journal of Natural Products**. v.44, n. 5. p. 614-616. Set-Out. 1981.

ROCHA, Emerson Antonio and AGRA, Maria de Fátima. **Flora do Pico do Jabre, Paraíba, Brasil: Cactaceae juss.** *Acta Bot. Bras.* [online]. 2002, vol.16, n.1, pp. 15-21.

ROCHA, E. A.; AGRA, M. F. Cactaceae do Cariri Paraibano: taxonomia e etnomedicina. **Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas**, v. 8, p. 11-18, 2011.

ROOK, Y.; SCHMIDTKE, K. U.; GAUBE, F.; SCHEPMANN, D.; WUNSCH, B.; HEILMANN, J.; LEHMANN, J.; WINCKLER, T. Bivalent β -Carbolines as Potential Multitarget Anti-Alzheimer Agents. **J. Med. Chem.** 53, 3611–3617, 2010.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B.; Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.1, p.31-42, 2010.

SALVAT, A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R. H.; SUAREZ, E. Y.; GODOY, H.M. Screening of some plants from Northern Argentina for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.32, n.3, p.293-297, 2001.

SANTOS, E.V.M. Extração de matérias-primas vegetais. In: Sharapin, N. **Fundamentos de tecnologia de Produtos Fitoterápicos**. Santafé de Bogotá: Cytod. 2000. p. 27-60.

SANTOS, F. P.; ALVES, H. S.; LIMA, E. O.; CHAVES, M. C. O. FLAVONOIDES DE *Piper glandulosissimum* Yuncker (Piperaceae). *Quím. Nova.* vol. 38, n.2, pp. 172-177, 2015.

SHARAPIN, N. **Fundamentos de tecnologia de Produtos Fitoterápicos**. Santafé de Bogotá: Cytod, 2000. p 145-157.

SIMÕES, C. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMÃO, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 1999. *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*. 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC.

STANIFORTH, J.N. Fluxo de pós. In: AULTON, M. E., (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2a ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 208-221p.

USP 30/NF 25. United States Pharmacopeia & National Formulary. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2007.

Voigt R, Bornschein M. Tratado de tecnologia farmacêutica. 3ª. ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 1982.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The world medicines situation 2011: traditional medicines: global situation, issues and challenges**. Geneva: WHO, 2011.

ZHANG, M.; MA, Y.; YUAN, Z. Chemical constituents from the Roots of *Rhodiola algida* var. *tangutica*. **Asian Journal of Traditional Medicines**, 5 (4), 2010.

ZAPPI, D.; Taylor, N.; Santos, M.R.; Larocca, J. *Cactaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1540>>. Acesso em: 23 Jul. 2015.

ZAPPI, D. et al. Plano de Ação Nacional para a Conservação das Cactáceas; Organizadores: Suelma Ribeiro Silva. – Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBIO, 2011. 112 p.: IL. Color.:21cm. (Série Espécies Ameaçadas).