



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

JOANDA PAOLLA RAIMUNDO E SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DA *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy

CAMPINA GRANDE-PB

2016

JOANDA PAOLLA RAIMUNDO E SILVA

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DA *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy

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

Orientador: Dr. Harley da Silva Alves
Co-orientadora: Dra. Ivana Maria Fechine

CAMPINA GRANDE-PB
2016

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.

S586 Silva, Joanda Paolla Raimundo e.
Estudo fitoquímico e atividade biológica da Tacinga inamoena (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy [manuscrito] / Joanda Paolla Raimundo e Silva. - 2016.
141 p. : il. color.

Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2016.
"Orientação: Prof. Dr. Harley da Silva Alves, Departamento de Farmácia".
"Co-Orientação: Profa. Dra. Ivana Maria Fachine, Departamento de Farmácia".
1. Cactaceae. 2. Quipá. 3. Atividade biológica. 4. Etnofarmacologia. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

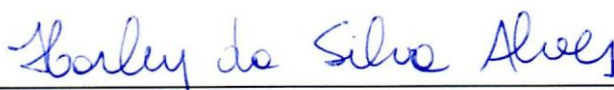
JOANDA PAOLLA RAIMUNDO E SILVA

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DA *Tacinga inamoena*
(K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy**

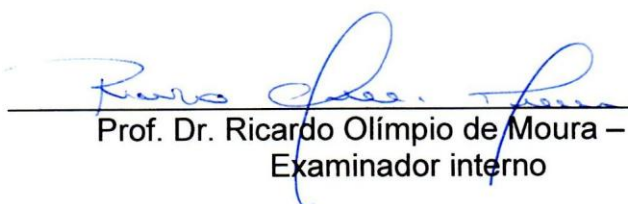
Aprovado em 31/08/16

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. Ricardo Dias de Castro – UFPB
Examinador externo

AGRADECIMENTOS

Eu tenho um muito obrigado que não se mede ao meu Senhor e minha mãezinha do céu, chamei por eles nos dias felizes e nos dias que nada deu certo, e sempre me senti forte e acompanhada por seu imenso amor nessa caminhada.

Agradeço aos meus pais, Rivaldo e Maria, estes dois guerreiros, que nunca me abandonaram e sempre tinham uma palavra de conforto e coragem pra me ajudar, este título é todo de vocês, porque foram vocês que viveram para o meu estudo desde o dia eu deixei nossa cidade, deu certo, nós conseguimos. A Rangel, Cida, Neide, Nilda, Milinha e Fran por me cobrirem de amor e cuidados em todos os momentos que precisei. Obrigada. A minha família Louva Deus, a meus irmãos, meu painho Buriti e minha mainha Zélia que sempre torceram por mim. A minha família Divino Manto Azul, por toda compreensão nos momentos que faltei, por todo o apoio e carinho que me fizeram tão bem ao longo desta jornada.

Ao meu namorado André Luiz, por ter sido meu suporte todos esses dias, por não me deixar desanimar, por me acompanhar pelas madrugadas, por toda ajuda, carinho e amor, meu muito obrigada, minha vida.

Aos meus amigos que conheci na universidade, e descobri que são minhas paréas pro resto da vida, Gisele, Lianne, Cleildo, Tamires, Monique, Elaine e Monik. Aos meus colegas de mestrado Sabrina, Anna Flávia, George, lamara e Malu por todos os momentos que compartilhamos e por toda ajuda.

A Thiago Chaves por toda paciência, amizade, conselhos e ajuda científica, sem a sua ajuda este trabalho não estaria concluído. Muito obrigada.

As professores Raissa Catão, Conceição, Ricardo Dias e Ricardo Olimpio pela enorme contribuição ao trabalho, bem como conselhos e apoio.

Agradeço ao professor Harley Alves, por ter aceitado a orientação e por todo ensinamento e ajuda na caminhada do mestrado e construção deste trabalho. Como também a professora Ivana Fachine, por toda dedicação, alto estral, palavras e a enorme ajuda à conclusão deste trabalho.

Agradeço à CAPES pelo financiamento e fomento à pesquisa

Agradeço à secretária do Programa de Pós-Graduação, Dilma, pela disponibilidade, carinho e atenção dedicados aos alunos.

À UEPB agradeço, a possibilidade de acesso ao conhecimento através da disponibilização de toda infra-estrutura necessária.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa do semiárido brasileiro, segundo Ministério da Integração Nacional (2005)	23
Figura 2	Aspectos gerais da <i>Tacinga inamoena</i> (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy	28
Figura 3	Molécula do DPPH	34
Figura 4	Variação estrutural dos fitoesteróis em sua cadeia lateral	35
Figura 5	Molécula do ácido cinâmico	36
Figura 6	Localização da cidade de Nova Olinda-PB	39
Figura 7	Etiqueta referente exsicata herborizada na UFPB	39
Figura 8	Curva Termogravimétrica da droga vegetal de <i>T. inamoena</i>	56
Figura 9	Espectro de Infravermelho da droga vegetal oriunda da raiz de <i>T. inamoena</i>	57
Figura 10	Espectro na região do IV de β -sitosterol-3-O-glicosídeo (KBr)	60
Figura 11	β -sitosterol-3-O-glicosídeo	61
Figura 12	Espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) do Ti-1	63
Figura 13	Expansão do espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) de Ti1	64
Figura 14	Espectro de RMN de ^{13}C (piridina- d_5 , 125 MHz) de Ti1	65
Figura 15	Mapa de contorno HMQC ^1H x ^{13}C do composto Ti1	66
Figura 16	Mapa de contorno HMBC ^1H x ^{13}C do composto Ti1	67
Figura 17	Espectro na região do IV de Ti-2 (KBr)	68
Figura 18	<i>N-trans</i> -feruloyl 4-O-metildopamina	70
Figura 19	Espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2	72
Figura 20	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2 na região de 2,3 a 3,6 ppm	73
Figura 21	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2 na região de 6,4 a 6,8 ppm	73

Figura 22	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2 na região de 7,1 a 7,9 ppm	74
Figura 23	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2 na região de 7,1 a 7,9 ppm	74
Figura 24	Espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-2	75
Figura 25	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz)	76
Figura 26	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz)	76
Figura 27	Mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-2	77
Figura 28	Expansão do mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-2	77
Figura 29	Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-2	78
Figura 30	Expansão do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-2	78
Figura 31	<i>N-cis-feruloyl 4-O-metildopamina</i>	80
Figura 32	Espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-3	81
Figura 33	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-3 na região de 5,8 a 6,5 ppm	82
Figura 34	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-3 na região de 6,6 a 6,8 ppm	82
Figura 35	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-3 na região de 7,0 a 7,9 ppm	82
Figura 36	Espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-3	83
Figura 37	Expansão do mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-3	84
Figura 38	Expansão do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-3	84
Figura 39	<i>N-trans-feruloyl tiramina</i>	86
Figura 40	Espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-4	88

Figura 41	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-4 na região de 2,7 a 3,9 ppm	89
Figura 42	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-4 na região de 6,4 a 7,5 ppm	90
Figura 43	Espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-4	91
Figura 44	Mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-4	92
Figura 45	Expansão do mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-4	92
Figura 46	Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-4	93
Figura 47	Expansão do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-4	93
Figura 48	<i>N-cis-feruloyl</i> tiramina	95
Figura 49	Espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-5	96
Figura 50	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-5	97
Figura 51	Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-5	97
Figura 52	Espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-5	98
Figura 53	Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-5	99
Figura 54	Expansão do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-5	100
Figura 55	Expansão do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-5	100
Figura 56	Atividade moduladora do extrato etanólico de <i>T. inamoena</i> e fases particionadas frente à cepa de <i>E. coli</i> 5A multiresistente	106
Figura 57	Atividade moduladora do extrato etanólico de <i>T. inamoena</i> e fases particionadas frente à cepa de <i>P. aeruginosa</i> 2 multiresistente	106
Figura 58	Atividade moduladora do extrato etanólico de <i>T. inamoena</i> e fases particionadas frente a cepa de <i>S.aureus</i> 109 multiresistente	108
Figura 59	Atividade moduladora do β -sitosterol-3-O-glicosídeo frente a sobre cepa de <i>E.coli</i> 5A multiresistente	109
Figura 60	Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após	111

tratamento com EEB de *Tacinga inamoena*

Figura 61	Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com a fração hexânica	111
Figura 62	Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com a fase diclorometano	112
Figura 63	Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com a fase acetato de etila	112
Figura 64	Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com a fase butanólica	113
Figura 65	Atividade antioxidante do EEB de <i>T. inamoena</i> através da redução do DPPH.	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Espécies da família Cactaceae com atividade biológica e compostos secundários isolados	26
Tabela 2	Pesquisa de metabólitos secundários em <i>T. inamoena</i>	43
Tabela 3	Perfil de resistência das bactérias a antimicrobianos	48
Tabela 4	Parâmetros obtidos no ensaio de propriedades de fluxo do pó das raízes de <i>T. inamoena</i>	53
Tabela 5	Escala para a avaliação do fluxo do pó (USP 30, 2007; British Pharmacopoeia, 2007)	54
Tabela 6	Dados da curva derivada do extrato hidroalcoólico liofilizado das raízes de <i>T. inamoena</i>	56
Tabela 7	Dados da curva termogravimétrica obtida da droga vegetal <i>T. inamoena</i> com suas respectivas perdas de massa, em cada intervalo de temperatura (°C)	56
Tabela 8	Atribuições dos sinais de ¹³ C para molécula Ti-1	62
Tabela 9	Dados comparativos com a literatura dos espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C do composto Ti-2	76
Tabela 10	Atribuições de sinais para a <i>N-cis-feruoyl 4-O-metildopamina</i>	80
Tabela 11	Dados comparativos com a literatura dos espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C do composto Ti-4	87
Tabela 12	Dados comparativos com a literatura dos espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C do composto Ti-5	95
Tabela 13	CIM do EEB, EHAs, fases particionadas e β -sitosterol-3-O-glicosídeo frente as cepas testadas	103
Tabela 14	CIM do EEB, EHAs, fases particionadas frente as cepas testadas de Cândidas	104

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt – Acetato de Etila
ATCC – American Type Culture Collection
CC – Cromatografia em Coluna
CCDA – Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CDCI₃ – Clorofórmio Deuterado
CH₂Cl₂ – Diclorometano
CHCl₃ – Clorofórmio
CIM – Concentração Inibitória Mínima
cm – Centímetros
d – dubleto
da – Densidade Aparente
dc – Densidade Compactada
dd – Duplo Dubleto
EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
EEB – Extrato Etanólico Bruto
EH's – Extratos Hidroalcoólicos
FH – Fator Hausner
g – Gramas
h – horas
Hex - Hexano
IC – Índice de Compressibilidade
IV – Infravermelho
J – Constante de acoplamento
MeOH – Metanol
MeOH:H₂O – Metanol:Água
MHz – Mega Hertz
m – Multiplete
min – Minutos
mg – Miligramas
mL – Mililitros
NaCl – Cloreto de Sódio
nm - nanômetros
ppm – Parte por Milhão
RMN de ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN de ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
rpm – Rotações Por Minuto
s – singleto
TG – Termogravimetria
TMS – Trimetil-hidroxissilano
UFC – Unidade Formadora de Colônia
UV – Ultravioleta
δ – Deslocamento Químico em partes por milhão.
δ_c – Deslocamento Químico em partes por milhão de carbono
δ_H – Deslocamento Químico em partes por milhão de hidrogênio
μL - microlitros
μm – Micromêtro

RESUMO

Tacinga inamoena (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy, conhecida como quipá, é um cacto nativo da região Nordeste distribuído em quase todo o semiárido, sendo indicado na medicina popular para afecções na uretra, asma, inflamações e no combate a vermes. Entretanto, suas propriedades químicas e farmacológicas são desconhecidas. Este estudo propôs isolar compostos secundários e investigar as atividades biológicas de *Tacinga inamoena*. Das raízes foi preparado o extrato etanólico bruto (EEB) e os extratos hidroalcoólicos (EHA), e realizado a caracterização físico-química e termogravimétrica. O isolamento e a identificação dos compostos foram obtidos, respectivamente, por técnicas cromatográficas e espectroscópicas, como infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , utilizando técnicas uni e bidimensionais, além da comparação com dados da literatura. A atividade antimicrobiana foi testada frente às cepas bacterianas e fúngicas *American Type Culture Collection* (ATCC) e cepas multiresistentes de isolados clínicos. A concentração inibitória mínima (CIM) e a capacidade de modular a resistência das cepas microbianas foram avaliadas pelo método de microdiluição. Foi realizada a citotoxicidade frente a eritrócitos e a atividade antioxidante por consumo do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Na curva termogravimétrica verificou-se a presença de três eventos relativos à perda de massa, estes dados atuam na padronização do material vegetal, corroborando com seu controle de qualidade. O *screening* qualitativo foi sugestivo para presença de alcaloides, flavonoides e taninos. O espectro de infravermelho do material pulverizado das raízes reforça a presença destes compostos por apresentar grupamentos característicos de grupos hidroxila e éster. No *screening* semi-quantitativo obteve-se uma concentração de 65 mg/g de polifenóis e 3,3 mg/g de flavonoides no EEB. Foram isolados cinco compostos, a partir da fase diclorometano (Fdic): β -sitosterol-3-O-glicosídeo, *N-trans*-feruloyl-4-O-metildopamina, *N-cis*-feruloyl-4-O-metildopamina *N-trans*-feruloyl tiramina e *N-cis*-feruloyl tiramina, todos inéditos no gênero e na espécie. Foi observada atividade antimicrobiana da fase acetato de etila (Facet) frente à cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC (25923) (125 $\mu\text{g/mL}$) e fraca atividade antimicrobiana frente a cepa multiresistente de *S. aureus* 109 (1000 $\mu\text{g/mL}$). As Fdic, Facet e fase butanólica (Fbut) apresentaram ação frente a *Escherichia coli* 5I (500 $\mu\text{g/mL}$) e a Fdic apresentou ação também contra *Escherichia coli* 5A (500 $\mu\text{g/mL}$). O EEB e fases particionadas apresentaram efeito potencializador frente às cepas multiresistentes Gram positivas (*S. aureus* 109) e Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* 2 e *E. coli* 5A) em combinação com os antimicrobianos testados. O β -sitosterol-3-O-glicosídeo apresentou forte ação moduladora frente a neomicina, ciprofloxacino, norfloxacino, cefazolina e ceftriaxona. O EEB e as fases particionadas demonstraram baixo potencial hemolisante (<10%) nas concentrações que se correlacionaram com sua atividade biológica ≤ 500 $\mu\text{g/mL}$. O EEB apresentou fraca atividade antioxidante frente ao radical DPPH, com IC_{50} equivalente a 348.66 $\mu\text{g/mL}$. *Tacinga inamoena* demonstrou importantes atividades biológicas e compostos inéditos no gênero, indicando-a como potencial candidato a produção de medicamentos.

Palavras chave: Cactaceae; quipá, esteroides, modulação.

ABSTRACT

Tacinga inamoena (K. Schum.) N. P. Taylor & Stuppy, known as quipá, is a native cactus Northeast distributed almost everywhere in the semiarid region, it is indicated in folk medicine for diseases in the urethra, asthma, inflammations and combating worms. However, their chemical and pharmacological properties are known. This study aimed to isolate secondary compounds and investigate the biological activities of *Tacinga inamoena*. The roots was prepared ethanol extract (EEB) and hydroalcoholic extracts (EHA), and performed the physicochemical characterization and thermogravimetric. Isolation and identification of compounds were obtained, respectively, by chromatographic and spectroscopic techniques such as infrared (IR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) ^1H and ^{13}C NMR, using techniques one- and two-dimensional beyond comparison with literature data. Antimicrobial activity was tested across bacterial and fungal strains American Type Culture Collection (ATCC) and multiresistant strains of clinical isolates. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the ability to modulate the resistance of microbial strains were assessed by broth microdilution method. Cytotoxicity forward the erythrocytes and the antioxidant activity by consumption of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was performed. In thermogravimetric curve there was the presence of three events related to weight loss, this data standardization work in the plant material, corroborating its quality control. The qualitative screening was suggestive for the presence of alkaloids, flavonoids and tannins. The infrared spectrum of the pulverized material reinforces the roots by the presence of these compounds display characteristic of hydroxyl groups and ester groups. In the semi-quantitative screening yielded a concentration of 65 mg/g polyphenols and 3.3 mg/g of flavonoids in EEB. Five compounds were isolated from the dichloromethane phase (Fdic): β -sitosterol-3-O-glycoside, *N-trans* feruloyl 4-O methyl dopamine, *N-cis* feruloyl 4-O methyl dopamine, *N-trans*-feruloyl tyramine and *N-cis*-feruloyl tyramine, all new to the genre. It was observed antimicrobial activity of the ethyl acetate phase (Facet) against the strain of *Staphylococcus aureus* ATCC (25923) (125 $\mu\text{g/ml}$) and low antimicrobial activity against multidrug resistant strain of *S. aureus* 109 (1000 $\mu\text{g/mL}$). The Fdic, Facet and butanol phase (Fbut) showed activity against *Escherichia coli* 5l (500 $\mu\text{g/ml}$) and showed Fdic action also against *Escherichia coli* 5A (500 $\mu\text{g/mL}$). The phases partitioned and EEB showed potentiating effect opposite to multiresistant Gram-positive strains (*S. aureus* 109) and Gram negative (*Pseudomonas aeruginosa* and *E. coli* 5A 2) in combination with the tested antibiotics. The β -sitosterol-3-O-glycoside showed strong action modulatory front neomycin, ciprofloxacin, norfloxacin, cefazolin and ceftriaxone. The EEB and partitioned phases demonstrated low potential Hemolyzing (<10%) at concentrations that correlated with its biological activity \leq 500 $\mu\text{g/mL}$. The EEB showed weak antioxidant activity against the DPPH radical, with IC50 equivalent to 348.66 $\mu\text{g/mL}$. *Tacinga inamoena* demonstrated important biological activities and novel compounds in the genus, indicating it as drug production potential candidate.

Keywords: Cactaceae; quipa, steroids, modulation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo Geral	19
2.2. Objetivos Específicos	19
3. REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1 Etnobotânica	21
3.2 Etnofarmacologia	21
3.3 Considerações sobre o bioma Caatinga	22
3.4-Considerações sobre família, gênero e espécie de <i>Tacinga inamoena</i>	24
3.5 Atividades biológicas	30
3.5.1 Atividade antimicrobiana e moduladora	30
3.5.2 Citotoxicidade <i>in vitro</i>	31
3.5.3 Atividade antioxidante	32
3.6 Compostos secundários	34
3.6.1 Fitoesteróis	35
3.6.2 Amidas dos ácidos hidroxicinâmicos	36
4 METODOLOGIA	39
4.1 Matéria-prima vegetal	39
4.2 Processamento da matéria vegetal	40
4.3 Caracterização físico-química do pó obtido	40
4.3.1 Granulometria	40
4.3.2 Determinação da Densidade	40
4.3.3 Teor de Cinzas	41
4.3.4 Determinação do teor de umidade	41
4.3.5 Determinação do pH	42
4.4 Obtenção dos extratos	42
4.5 Caracterização fitoquímica do extrato etanólico de <i>T. inamoena</i>	42
4.5.1 <i>Screening</i> fitoquímico	42
4.6 Determinação do teor de metabólitos secundários	43
4.6.1 Teor de polifenóis totais	43
4.6.2 Teor de flavonoides	44

4.6.3 Teor de taninos condensados.....	44
4.7 Fracionamento do EEB.....	44
4.8 Fracionamento cromatográfico das fases	45
4.9 Métodos Espectroscópicos e espectrométricos	47
4.9.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV)	47
4.9.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	47
4.10 Análise térmica	47
4.11 Atividade antimicrobiana	47
4.11.1 Preparação das amostras	47
4.11.2 Cepas Microbianas	48
4.11.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	49
4. 12 Modulação da resistência antimicrobiana	49
4.12.1 Análise estatística	49
4.13 Citotoxicidade em hemácias	49
4.14 Atividade antioxidante	50
5 RESULTADO E DISCUSSÃO	53
5.1 Caracterização físico-química.....	53
5.1.1 Distribuição granulométrica	53
5.1.2 Densidade	53
5.1.3 Teor de Cinzas	54
5.1.4 Perda por dessecação	55
5.1.5 pH.....	55
5.1.6 Rendimento	55
5.1.7 Perfil Térmico por Termogravimetria.....	55
5.1.8 Espectro de Infravermelho da droga vegetal.....	57
5.2 Caracterização fitoquímica	57
5.3 Compostos isolados.....	59
5.3.1 Identificação de Ti-1	59
5.3.2 Identificação de Ti 2.....	68
5.3.3 Identificação de Ti-3	79
5.3.4 Identificação de Ti-4	85
5.3.5 Identificação de Ti-5	94
5.4 Atividade antimicrobiana	101

5.5 Atividade moduladora	105
5.6 Atividade citotóxica frente a eritrócitos	110
5.7 Atividade antioxidante.....	114
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	116
REFERENCIAS	117

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a população mundial sofre com diversas patologias que produzem agravos significativos a suas funções cotidianas, um destes problemas está no aumento da resistência bacteriana frente as mais diversas classes de antimicrobianos, limitando assim a chances de combate a estes microrganismos, outro quadro preocupante de saúde pública, está na relação que diversas patologias possuem com a produção de radicais livres, onde estes estão relacionados à sua etiologia e morbidade.

As espécies vegetais perfazem uma das fontes mais importantes de novas substâncias bioativas frente às necessidades da humanidade, atuando como suporte na inspiração e construção de novas arquiteturas moleculares, fornecendo também modelos para modificações estruturais, a fim de otimizar propriedades funcionas, farmacológicas e bioquímicas (RAIMUNDO FILHO, 2010). Estima-se que pelo menos 25% de todos os medicamentos modernos são derivados diretamente ou indiretamente de plantas medicinais, principalmente por meio da aplicação de tecnologias modernas ao conhecimento tradicional (BRASIL, 2012). No caso de certas classes de produtos farmacêuticos, como medicamentos antitumorais e antimicrobianos, essa percentagem pode ser maior que 60% (NEWMAN; CRAGG, 2012).

A etnofarmacologia é uma importante aliada de pesquisadores na busca por espécies vegetais produtoras de substâncias de interesse farmacológico, visto que a abordagem etnodirigida pode trazer uma maior taxa de sucesso na seleção de tais espécies (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006). Diversos estudos etnofarmacológicos realizados na região do semiárido tem revelado um grande potencial medicinal de sua flora, assim como um vasto conhecimento da população local sobre suas propriedades (ALBUQUERQUE; ANDRADE 2002; GAZZANEO et al., 2005; ALMEIDA et al., 2006; ANDRADE et al., 2006; ALBUQUERQUE; OLIVEIRA, 2007; ALBUQUERQUE et al., 2007a, b; AGRA et al., 2008; ALMEIDA et al., 2010, 2012; CARTAXO et al., 2010; LUCENA et al., 2012; RIBEIRO et al., 2014), porém a quantidade de estudos ainda é insuficiente, considerando a grande biodiversidade local, sendo necessário também a elaboração do perfil químico destas espécies, a fim de otimizar as potencialidades presentes nas plantas medicinais.

Nesta região observa-se que as cactáceas apresentam funções na alimentação humana e animal, prevenção e cura de doenças entre os habitantes, e em muitas destas as raízes se destacam pela presença de metabólitos secundários de importância clínica (OLIVEIRA, 2011; ALIMÍ et al., 2010)

Entre as espécies vegetais a *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy é uma espécie do gênero *Tacinga*, da família Cactaceae com relativa frequência de uso na cura de afecções pela população local, como problemas na uretra, asma, inflamações e no combate a vermes. (CASTRO; CAVALCANTE, 2011; LUCENA et al., 2013, 2015). Entretanto não possui referência sobre seus metabólitos secundários e estudos que avaliaram sua atividade farmacológica. Diante deste cenário, observa-se a necessidade de um maior conhecimento químico e farmacológico a respeito desta espécie, através de estudos para determinar suas atividades biológicas, como também realizar o isolamento e caracterização estrutural de seus metabólitos secundários.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Contribuir com o perfil fitoquímico e farmacológico da família Cactaceae, a fim de isolar constituintes químicos da espécie *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P.Taylor & Stuppy e avaliar a atividade biológica da mesma.

2.2. Objetivos Específicos

- Coletar as raízes de *Tacinga inamoena*;
- Estabelecer o perfil físico químico do pó da planta;
- Preparar o extrato etanólico bruto (EEB) e extratos hidroalcoólicos (EHAs);
- Extrair, isolar e purificar metabólitos secundários presentes nas raízes de *Tacinga inamoena*;
- Identificar e/ou elucidar a estrutura dos constituintes químicos isolados;
- Quantificar por espectrofotometria na região UV a concentração de polifenóis totais e flavonoides do EEB e EHAs;
- Realizar ensaios de atividade antimicrobiana com determinação de concentração inibitória mínima (CIM) frente a cepas ATCC bacterianas Gram positivas e Gram negativas e fungos leveduriformes do EEB, EHAs, fases particionadas e compostos isolados.
- Testar frações e substâncias isoladas como moduladores da resistência a cepas bacterianas multirresistentes a antimicrobianos usuais;
- Avaliar a atividade antioxidante do EEB de *Tacinga inamoena*;
- Verificar a citotoxicidade do EEB e das fases particionadas frente a eritrócitos humanos.

REFERENCIAL TEÓRICO

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Etnobotânica

Diversos grupos populacionais são detentores de um profundo conhecimento acerca das plantas medicinais. Aplicando estas informações nas suas mais diversas necessidades, passando este conhecimento de geração em geração (VASQUES et al., 2014). No entanto, a evidente descaracterização das comunidades tradicionais, acompanhada da destruição de habitats e da inserção de novos elementos culturais, põe em risco um grande acervo de conhecimentos empíricos e um patrimônio genético de valor inestimável para as futuras gerações (PIRES et al., 2009).

No Brasil, tem crescido o interesse pelo estudo das plantas medicinais em resposta a recente tendência mundial de preocupação com a biodiversidade, pautada na ideia de desenvolvimento sustentável (MOSCA; LOIOLA, 2009). A Etnobotânica tem grande importância para as populações regionais no que toca à exploração e manejo de recursos para obtenção de remédios, alimentos e matérias-primas (FERRO, 2006), pois faz a mediação dos variados discursos culturais, almejando a compreensão do outro, do seu modo de vida, dos seus códigos e costumes que racionalizam suas relações com a natureza (ALBUQUERQUE, 2000), contribuindo para descobertas de novas drogas com princípios ativos para o tratamento de enfermidades. Pesquisas nesta linha têm fornecido importante contribuição para o conhecimento da flora medicinal brasileira.

3.2 Etnofarmacologia

A etnofarmacologia é a ciência que tem por meta o resgate e a documentação do saber medicinal de grupos sociais, a fim de descobrir novas drogas, permitindo a formulação de hipóteses relacionadas às atividades farmacológicas e às substâncias ativas responsáveis pelas ações terapêuticas destas plantas (ELISABETSKY, 2003).

A investigação etnofarmacológica tem sido a principal abordagem reconhecida por cientistas em todo o mundo, como uma estratégia de seleção de plantas medicinais. Dentre os vários caminhos para o estudo destas, destaca-se quatro tipos básicos de abordagens: randômica, etológica, quimiotaxonômica e etnodirigida. A investigação randômica refere-se a escolha aleatória de plantas para triagens fitoquímicas e farmacológicas. A abordagem etológica baseia-se na observação do comportamento animal perante algumas espécies vegetais. A

abordagem quimiotaxonômica, busca uma família ou gênero, no qual se tenha algum conhecimento fitoquímico de ao menos uma espécie do grupo. A abordagem etológica baseia-se na observação do comportamento animal perante algumas espécies vegetais (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

A abordagem etnodirigida consiste na seleção de espécies de acordo com a indicação de grupos populacionais específicos em determinados contextos de uso, enfatizando a busca pelo conhecimento construído localmente a respeito de seus recursos naturais e a aplicação que fazem deles em seus sistemas de saúde e doença. Sendo o tempo e o baixo custo envolvidos na coleta dessas informações a principal vantagem na aplicação deste caminho (MACIEL et al., 2002; ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

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

Estudos sobre o potencial químico e farmacológico das espécies medicinais presentes no semiárido podem contribuir não só para a valorização ecológica dessa região fitogeográfica, mas também para a seleção de espécies para bioprospecção, com retorno para a conservação da biodiversidade vegetal (PEREIRA; LIMA, 2008).

3.3 Considerações sobre o bioma Caatinga

A palavra “Caatinga” significa “floresta branca” na língua tupi, referindo-se a florestas abertas de dossel médio a altas e secas que apresentam uma vegetação arbustivo-arbórea, com folhas caducas no verão e espinhos. Tais mecanismos possibilitam a sobrevivência das espécies nas condições climáticas do semiárido nordestino. A Caatinga possui uma área de cerca de 820.000 km², perfazendo um rico ecossistema, com grande diversidade de espécies e elevado endemismo. Em recente levantamento florístico de todo o território brasileiro, o bioma caatinga apresentou o total de 4.322 espécies de plantas com sementes, sendo 744 endêmicas deste bioma, o que corresponde a 17,2% do total de táxons registrados (FORZZA et al., 2012; MMA/IBAMA, 2011).

O bioma Caatinga apresenta diversas espécies vegetais amplamente empregadas pelas populações rurais, especialmente na fitoterapia abrangendo diversos usos no tratamento de determinadas enfermidades. No Semiárido brasileiro, observa-se crescente interesse pelo estudo das plantas medicinais da região (ALBUQUERQUE et al., 2007), uma vez que são potencialmente ricas em propriedades curativas, sendo ainda pouco estudadas do ponto de vista taxonômico e químico (ARRAIS et al., 2014).

Albuquerque et al. (2007) realizaram um levantamento das espécies utilizadas para fins medicinais por comunidades indígenas e rurais na região Nordeste do Brasil, nos 27 estudos etnofarmacológicos encontrados, foram citadas 275 espécies medicinais, das quais 15,3% endêmicas da caatinga.

O clima semiárido dominante nesse bioma caracteriza-se por apresentar baixa umidade relativa do ar e regime pluvial irregular, com 400 a 800 mm anuais, como também pelas elevadas médias anuais de temperatura (27 °C), o solo é raso, com localizados afloramentos de rocha e chão pedregoso. Decorre da combinação desses elementos um balanço hídrico negativo em grande parte do ano, presença de rios e riachos intermitentes e ocorrência de secas periódicas, com isto grande parte da sua vegetação é característica do tipo xerófila, resistente a longos períodos de estiagem (CORREIA LIMA et al., 2011).



Figura 1. Mapa do semiárido brasileiro, segundo Ministério da Integração Nacional (2005)

O clima árido e vegetação adaptada à falta de água é uma característica da Caatinga e segundo Gobbo Neto (2007), há uma correlação positiva bem

estabelecida entre intensidade de radiação solar e produção de compostos fenólicos, tais como flavonoides, taninos e antocianinas. Enquanto o estresse hídrico frequentemente tem consequências significantes nas concentrações de metabólitos secundários em plantas, havendo vários relatos de que estas condições geralmente levam a um aumento na produção de vários tipos de metabólitos secundários, como glicosídeos cianogênicos, alguns terpenoides, antocianinas e alcaloides, assim como elevadas concentrações de metabólitos secundários podem resultar em uma planta mais resistente a adversidades (MAZID et al., 2011).

A acelerada perda de espécies e de habitats em todo o mundo acrescenta caráter de urgência ao conhecimento químico das plantas medicinais. Segundo avaliação do Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFlora), das 1.026 espécies avaliadas na Caatinga, 253 receberam o status de ameaçada de extinção (MARTINELLI; MORAES, 2013). A Caatinga carece de planejamento estratégico para evitar a perda da biodiversidade decorrente de ações antrópicas como às atividades agrícolas, pecuárias e de extrativismo predatório que geram efeitos deletérios sobre a biodiversidade do semiárido (GARIGLIO et al., 2010).

3.4-Considerações sobre família, gênero e espécie de *Tacinga inamoena*

A família Cactaceae está adaptada às condições de intenso xerofitismo que são os vegetais que desenvolvem uma estrutura especial para se adaptar a condições extremas, e caracterizam a paisagem vegetal das regiões mais secas da América Intertropical. As espécies desta família são plantas suculentas com talos carnosos, roliços ou aplanados. Algumas variedades sem espinhos são usadas como forragem, e os frutos de algumas espécies são usados na alimentação humana e animal (SOUZA, 2013; SILVA, et al., 2009)

O Brasil é considerado o terceiro maior centro de diversidade da família Cactaceae. Apresenta 39 gêneros, 260 espécies e 92 Subespécies, sendo 162 espécies nativas, e $\frac{3}{4}$ destas endêmicas (TAYLOR; ZAPPI, 2004). Esta família está dividida em três subfamílias:

- Opuntioideae – com espécies arbóreas ou arbustivas e folhas;
- Pereskioideae – apresenta árvores sem folhas ou com vestígios de folhas;
- Cactoideae – esta subfamília possui hastes suculentas sem folhas, com aréolas bem desenvolvidas (BARTHLOTT; HUNT, 1993).

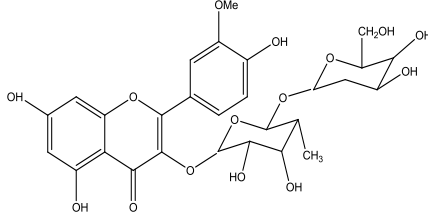
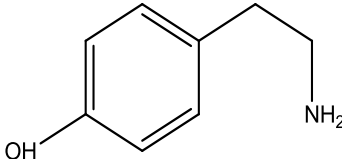
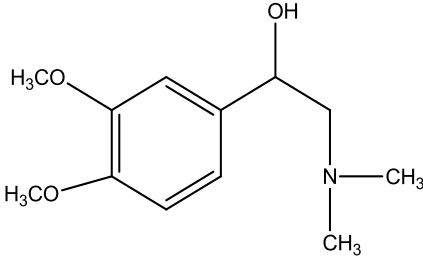
Os membros da Opuntioideae e Cactoideae podem ser encontrados em quase todos os habitats terrestres: desertos quentes ou frios, pastagens, florestas tropicais e sombrias, ambientes molhados ou cobertos de neve (MAUSETH, 2006). Estima-se que de 12 a 15 gêneros, e 50 a 80 espécies, possuem aptidões agrícolas, sendo que os frutos das cactáceas são os principais produtos para a agricultura, pois a maioria dos cactos possui frutos comestíveis (KIESLING, 2001).

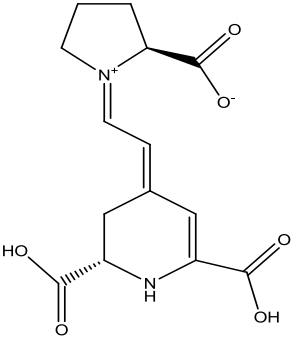
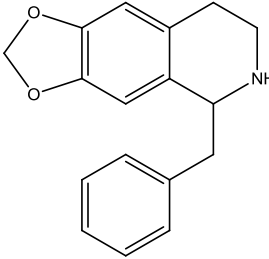
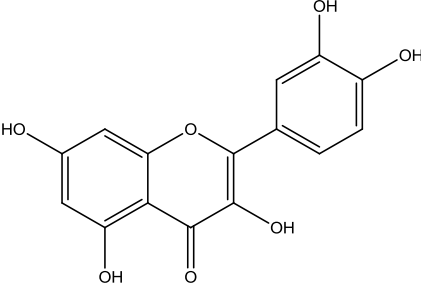
As Cactáceas se destacam pela importância econômica, sendo usadas na alimentação humana e de determinados animais, como fonte de madeira, para o paisagismo e na medicina tradicional (LIMA, 1996). Entretanto, há atividades que ameaçam diretamente suas espécies, como a coleta indiscriminada, que alimenta o comércio ilegal para colecionadores e estabelecimentos de ornamentação, que resultam na redução das populações das espécies e comprometem sua sobrevivência na natureza, como ocorre, por exemplo, com espécies de *Discocactus*, *Melocactus*, *Uebelmannia* e *Parodia* (ZAPPI et al., 2011). Outras ameaças são a destruição de habitats únicos pela mineração (ouro, pedras preciosas e semipreciosas, cristais e outros minérios), o turismo não planejado, a expansão urbana e a agropecuária (ZAPPI; TAYLOR; MACHADO, 2008).

A coroa de frade (*Melocactus* sp.), xique xique ((Lem.) Byles & Rowley) mandacaru (*Cereus jamacaru* DC), facheiro (*Pilosocereus paclrycladus* Riter) e a palma (*Opuntia ficus-indica* Mill) são as espécies de maior citação e reconhecimento pela população e são amplamente utilizadas na medicina tradicional como: analgésicos, antibióticos, diuréticos, para tratar problemas intestinais, tosses, afecções cardíacas e nervosas, úlceras, controle de diabetes e colesterol (HOLLIS; SHEINVAR, 1995; LUCENA, 2012). O uso de raízes *P. gounellei*, na forma de decócto, no tratamento de inflamações prostáticas foi mencionado em levantamento de plantas medicinais do Nordeste brasileiro (AGRA et al., 2008). Em outro estudo, as raízes maceradas dessa cactácea foram utilizadas no tratamento de inflamação da uretra (ROQUE; LOIOLA, 2013).

A família apresenta inúmeros estudos nacionais e internacionais, com perfil químico definido, onde se observa um predomínio de alcaloides e flavonoides entre seus compostos secundários. Há também inúmeras atividades biológicas comprovadas, como mostrado na tabela 1.

Tabela 1. Espécies da família Cactaceae com atividade biológica e compostos secundários isolados

Espécie	Parte	Indicação	Atividade farmacológica	Compostos isolados	Estrutura química	Referencia
<i>Cereus fernambucensis</i> Lem	Raiz, cladódio	Vitiligo	Antioxidante, anti-inflamatório	Isoramnetina-3-O-rubinosídeo isoramnetina-3-O-raminosídeo	 <p>Isoramnetina-3-O-rubinosídeo (flavonoide)</p>	Souza, 2013
<i>Cereus jamacaru</i> DC.	Raiz, cladódio	Anti-inflamatório e problemas renais, tosse, bronquites, úlceras, Antioxidante, antitumoral.	Antibacteriano	Tiramina e <i>N</i> -metiltiramina, β -sitosterol, hordenina, camferol	 <p>Tiramina (alcaloide)</p>	Burret et. al., 1982; Davet, 2005
<i>Coryphantha calipensis</i> H. Bravo	-	Alucinatória	-	Macromerina, normacromerina	 <p>Macromerina, (alcaloide)</p>	Davet, 2005

Espécie	Parte	Indicação	Atividade farmacológica	Compostos isolados	Estrutura química	Referencia
<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill	Cladódio, flor	Alimentícia, analgésica, anti-inflamatória, afecções respiratórias, hipoglicemiante	Antioxidante, Antiulcerogênica, analgésica, hepatoprotetora e anti-inflamatórias	Indicaxantina, isoramnetina Camferol, Quercetina, Isorhamnetina 3-O-rubinobiosídeo, Isorhamnetina 3-O-galactosídeo, 3-O-ramnósido, miricetina e vitexina	 <p data-bbox="1576 587 1921 619">Indicaxantina (alcaloide)</p>	Martins, 2011; Moussa-Ayoub 2011; Leo et al. 2010; Galati et al. 2002; Saleem et al. 2006; Park et al. 2001
<i>Opuntia monacantha</i> Haw	Cladódio	Decorativa	Antitumoral, antioxidante	Camferol, isoramnetina, Benzilisoquinolona	 <p data-bbox="1615 922 1883 994">Benzilisoquinolona (alcaloide)</p>	Valente et al. 2010, Naseer, et al. 2015
<i>Pilocereus arrabidaei</i> B.	Frutos	Alimentícia	Tripanomicida	Alcaloides feniletilamínicos quercetina, rutina, catequina, dihidrocamferol, isorhamnetina	 <p data-bbox="1585 1289 1921 1321">Quercetina (flavonoide)</p>	Davet, 2005; Valente et al. 1998; Gonçalves, 2015

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

T. inamoena (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy se distingue das demais tacingas por ser um subarbusto com cladódios orbiculares ou obovados, atingindo até 1 m de altura, apresentando cladódio complanado, segmentado em artículos elípticos a obovados com gloquídeos abundantes. Seus espinhos muito pequenos estão agrupados em tufo, sendo muito irritantes (*inamoena* quer dizer não amigável). Produz poucas flores de cor laranja-escuro com 50 × 35 – 40 mm. Fruto globoso (figura 2), com 30 mm de diâmetro, pericarpo amarelo ou alaranjado; 30 – 40 aréolas no pericarpo, com gloquídeos e polpa funicular translúcida com dezenas de sementes de aproximadamente 3 mm. Apesar de bastante característica a *T. inamoena* apresenta grande variabilidade morfológica entre suas populações (MENEZES, 2013; CASTRO; CAVALCANTE, 2011).



Figura 2. Aspectos gerais da *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy
Fonte: Arquivo pessoal

Tacinga inamoena, também conhecido como palmatória, quipá, cumbeba ou gogóia, tem os frutos e caules de grande utilidade no período seco, na alimentação dos animais e humana em situações de escassez. Porém, o consumo da planta sem a retirada dos espinhos na pecuária, ocasiona sérios danos ao tubo digestivo dos animais. As características químicas, forma, cheiro e sabor do quipá são similares às dos frutos da Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*). O fruto do quipá, dado seu potencial nutricional por conter cálcio, magnésio, fósforo e potássio, pode vir a ser explorado como alternativa alimentar e/ou como fonte de renda complementar para a agricultura familiar (CASTRO; CAVALCANTE, 2011).

Tacinga inamoena possui distribuição extremamente ampla, ocorrendo em todos os estados do nordeste do Brasil e também no norte de Minas Gerais. A sua distribuição corresponde de forma bem próxima aos limites do bioma caatinga. Ocorrendo em diversos ambientes, habitando desde o solo das áreas de caatinga a afloramentos rochosos diversos, como granito, quartzo, arenito e rochas calcáreas, também ocorre em áreas de campos rupestres, em afloramentos rochosos ou em solos arenosos e populações disjuntas em áreas de transição entre a vegetação semiárida da caatinga e a vegetação florestal da mata atlântica no leste da Bahia, (TAYLOR et al., 2002; TAYLOR; ZAPPI, 2004).

Por ser endêmico do bioma caatinga, o gênero *Tacinga* é um bom candidato para o estudo da influência das flutuações climáticas históricas na distribuição da variação genética de suas espécies, em especial de *Tacinga inamoena*, tendo em vista que a distribuição desta espécie corresponde de forma bem próxima aos limites da caatinga, por possuir grande variabilidade morfológica e ser um táxon ecologicamente versátil, ocupando vários ambientes diferentes dentro deste bioma (TAYLOR; ZAPPI, 2004).

No livro vermelho da flora brasileira, *Tacinga inamoena* se encontra na lista de espécies não ameaçadas de interesse para pesquisa e conservação (MARTINELLI; MORAES, 2013). Mas estudos sobre *Tacinga inamoena* atualmente circunscrito consistem em sua maioria de investigações taxonômicas sinóticas. Apesar da escassez de estudos que tratem sobre as propriedades farmacológicas e toxicidade, existem registros etnobotânicos do emprego dessa cactácea no tratamento para males da uretra, asma, inflamações e no combate a vermes. perfazendo a necessidade de estudos que elucidem sua constituição química e

ações farmacológicas (CASTRO; CAVALCANTE, 2011; LUCENA et al., 2015; LUCENA et al., 2013).

3.5 Atividades biológicas

3.5.1 Atividade antimicrobiana e moduladora

Apesar de a indústria farmacêutica produzir um expressivo número de novos antimicrobianos, a resistência microbiana a essas drogas é progressiva. Em geral, as bactérias têm a habilidade genética de adquirir e de transmitir resistência às drogas utilizadas como agentes terapêuticos. A pesquisa de novos agentes antimicrobianos se faz necessária devido ao surgimento de microrganismos resistentes e de infecções oportunistas fatais, associadas a AIDS, quimioterapia antineoplásica e transplantes (PENNA et al., 2001)

Segundo Tintino et al. (2013), o uso de extratos e frações obtidos de produtos naturais como agentes antimicrobianos, apresentam uma baixa possibilidade de proporcionar resistência microbiana, já que são misturas complexas, tornando a adaptabilidade microbiana muito mais difícil. O Brasil oferece uma imensa biodiversidade, capaz de contribuir significativamente no desenvolvimento do campo da saúde em nível mundial, encontrando substâncias mais eficazes e menos tóxicas na corrida contra a resistência e o surgimento de microrganismos patogênicos (MORAIS BRAGA et al., 2013)

Diversas plantas têm sido avaliadas não apenas para demonstrar seu potencial antimicrobiano de forma direta, mas também como fontes de substâncias com potencial de serem agentes capazes de modificar a ação antimicrobiana. Diversos compostos químicos de origem natural, como flavonoides, terpenos e outros, além de poderem apresentar atividade antibacteriana direta, também aumentam a atividade de antibióticos específicos, revertendo à resistência de alguns tipos bacterianos a determinados antibióticos, promovendo a eliminação de plasmídios que carregam determinantes de resistência e inibindo as funções de transporte da membrana plasmática de algumas classes de antibióticos (GIBBONS, 2004; GURIBFAKIM, 2006).

A utilização de plantas e drogas em uma abordagem com mono ou multi extratos combinados, tem demonstrado pronunciada atividade por interagir com diversos alvos dos microorganismos ao mesmo tempo, atuando de forma sinérgica,

este fato é reportado não somente a partir da combinação de extratos vegetais, mas também de produtos naturais ou extratos e produtos sintéticos ou antibióticos (WAGNER; ULRICH MERZENICH, 2009).

Portanto, o estudo e a descoberta de produtos naturais que apresentem atividade antibacteriana intrínseca ou combinada a antimicrobianos, podem representar uma nova forma de fazer frente aos microrganismos multirresistentes. Dessa forma, poderia haver pela indústria farmacêutica a produção de fitoterápicos como adjuvantes de determinados tratamentos contra agentes infecciosos ou outras doenças. Além disso, estudos sobre as propriedades farmacológicas de plantas etnofarmacologicamente importantes no semiárido nordestino, pode abrir um novo índice de opções para estas pesquisas, bem como possibilitar a descobertas de uma ampla diversidade de substâncias.

3.5.2 Citotoxicidade *in vitro*

Com o controle cada vez mais rigoroso em relação ao uso de animais de laboratório, há a necessidade de desenvolver e padronizar testes *in vitro* que possam detectar a toxicidade de produtos e substâncias para uso em seres humanos, principalmente aqueles de aplicação clínica, que não devem causar reações adversas e nem lesar o organismo do paciente. A avaliação da toxicidade tem o intuito de determinar o potencial da substância teste de causar danos à saúde e estabelecendo a relação dose resposta (VALADARES, 2006).

O sangue humano constitui uma fonte simples de vários tipos celulares com propriedades estruturais e metabólicas peculiares, que o torna um alvo para estudos farmacológicos e toxicológicos. Um dos modelos experimentais utilizados para a avaliação da toxicidade *in vitro* é o ensaio de citotoxicidade em eritrócitos. Os eritrócitos são células sanguíneas que contêm altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados, oxigênio molecular e íons ferrosos, como consequência, são altamente vulneráveis à ação de agentes citotóxicos, oxidantes e de radicais livres, pois sua membrana eritrocítica é uma estrutura delicada que pode ser significativamente alterada por interações com drogas, que podem provocar alterações na integridade estrutural como: mudanças na fluidez da membrana e hemólise (SANTOS, 2009; YAMOTO; AKI, 1991).

Estas células são consideradas bons modelos para estudo de toxicidade, sendo a hemólise *in vitro* um método de triagem para toxicidade de substâncias,

estimando dano que podem induzir *in vivo* nos eritrócitos e indicando bioatividade das substâncias testadas (APARÍCIO et al., 2005).

No processo de hemólise há a liberação de hemoglobina, facilmente quantificada por leitura espectrofotométrica de absorvância na região do Ultravioleta (UV) visível, esta absorvância é proporcional à lise dos eritrócitos (liberação de hemoglobina). A quantificação de íons, presentes nos eritrócitos, na solução afirma a lise das células (NETO, 2006).

As vantagens da utilização de eritrócitos humanos residem no fato do mesmo ser facilmente obtido, em grande quantidade e com baixo custo devido a sua estabilidade e facilidade de trabalho (CHAVES, 2007; SANTOS, 2009). Estudos com estes métodos demonstraram que os testes com células podem ser utilizados com sucesso, pois são reprodutíveis, rápidos, sensíveis e financeiramente acessíveis para a execução do estudo de biocompatibilidade *in vitro* (ROGERO et al., 2003).

Muitas são as metodologias que indicam a atividade hemolítica como um critério de citotoxicidade. Uma técnica mais recente e recomendada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o *Red Blood Cell System* (RBC), permite quantificar e avaliar os efeitos adversos dos tensoativos empregados em xampus, sabonetes líquidos e produtos de higiene sobre a membrana plasmática das hemácias e a consequente liberação da hemoglobina (hemólise) quantificados por espectrofotometria no Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos (ANVISA, 2003). Independente da metodologia escolhida faz-se necessário a avaliação dessa atividade, indicando possíveis danos da espécie estudada sobre os eritrócitos (BEDNARCZUK et al., 2010).

3.5.3 Atividade antioxidante

Nos últimos anos, uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais, devido á lesões celulares decorrentes das espécies reativas do oxigênio e do nitrogênio derivadas do metabolismo mitocondrial (SILVA et al., 2011; SOUZA et al., 2007).

Antioxidantes são definidos como substâncias capazes de prevenir e atrasar os processos oxidativos dos substratos oxidáveis. Podem ser classificados em dois grupos: enzimático e não enzimático. O enzimático é composto por enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GPx) e Catalase (Cat), enquanto o não enzimático é representado pelos oligoelementos, vitaminas, carotenoides, flavonoides, dentre outros compostos (MARTINS, 2010).

A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena, ou serem provenientes da dieta alimentar e outras fontes. Destas últimas destacam-se tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio e carotenoides. Quando há limitação na disponibilidade de antioxidantes podem ocorrer lesões oxidativas de caráter cumulativo. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (SOUZA et al., 2007).

Duas classificações básicas são conferidas aos antioxidantes: sintéticos ou naturais. De modo geral os sintéticos são compostos fenólicos contendo vários graus de substitutos de alquila, enquanto que os naturais podem ser compostos fenólicos, quinonas, lactonas entre outros (CRUZ, 2014).

Há uma busca por compostos naturais com propriedades antioxidantes principalmente porque nos últimos anos os antioxidantes sintéticos demonstraram efeitos deletérios a saúde humana, com indícios de serem potencialmente carcinogênicos, o que leva a uma tendência em substituí-los por antioxidantes naturais, mesmo não havendo trabalhos suficientes que também atestem concentrações seguras de consumo destes (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKY, 2004).

Várias pesquisas com plantas medicinais têm sido realizadas em busca de compostos com elevada atividade antioxidante, devido suas propriedades redutoras para a inibição de radicais livres. Assim também, os metabólitos secundários, comparando com antioxidantes sintéticos, possuem baixa toxicidade e estão sendo cada vez mais investigados, como alternativa a doenças relacionadas a produção de radicais livres (POTTERAT, 1997).

Os antioxidantes naturais compreendem uma vasta classe de compostos químicos, que atuam de diferentes meios, doando prótons (antioxidante primário), como os compostos fenólicos, e/ou quelando com catalisadores da reação de oxidação (sinérgicos), como os ácidos cítrico e ascórbico. Dentre os antioxidantes

naturais mais utilizados destacam-se os ácidos fenólicos, tocoferóis e extratos de plantas (RAMALHO; JORGE, 2006).

Existem diversos métodos para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas, envolvendo desde ensaios químicos com substratos lipídicos a ensaios mais complexos utilizando as mais diversas técnicas instrumentais. O Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) é um dos mais utilizados. A molécula de DPPH é caracterizada como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula (figura 3). Esta deslocalização confere a esta molécula uma coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em cerca de 520 nm. Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH. Este método é considerado, do ponto de vista metodológico, um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da atividade antioxidante de sucos de frutas, extratos vegetais e substâncias puras, tais como flavonoides e terpenoides (CHEN et al., 2000; ALVES et al., 2010)

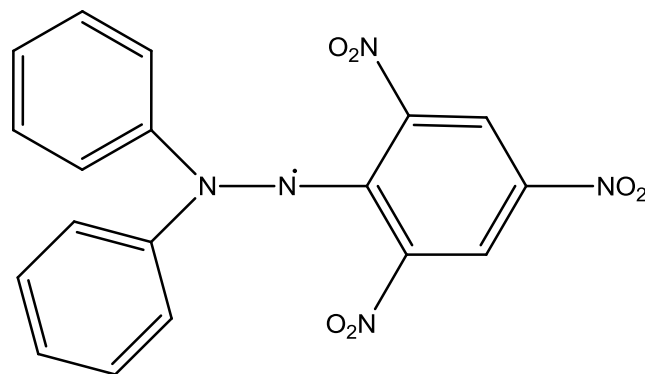


Figura 3. Molécula do DPPH

3.6 Compostos secundários

Os metabólitos secundários desempenham um papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes e também representam uma fonte importante de substâncias farmacologicamente ativas. Podem atuar como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger as plantas dos patógenos, como sinalizadores químicos para polinizadores dispersores, simbiose entre plantas e microorganismos e também apresentando atividades antigerminativas ou tóxicas

para outras plantas, essas substâncias pertencem a diferentes classes químicas, tendo distribuição heterogênea em diferentes grupos taxonômicos, órgãos e tecidos vegetais (FUMAGALI et al., 2008; GOTTLIEB, 1982; LI et al., 1993).

3.6.1 Fitoesteróis

Na biossíntese dos terpenoides é formada a molécula de escaleno, o precursor comum também para os fitoesteróis. Estes são triterpenoides modificados, que constituem os esteróis presentes nas espécies vegetais, são compostos por 27 a 29 átomos de carbono, sendo estruturalmente semelhantes ao colesterol (C-27), diferenciando-se deste pelas configurações no núcleo ou na cadeia lateral (figura 4). O β sitosterol e estigmasterol são os fitoesteróis de maior frequência nas espécies vegetais (figura 3) (BREDA, 2010; BRUFAU; REBECAS, 2008).

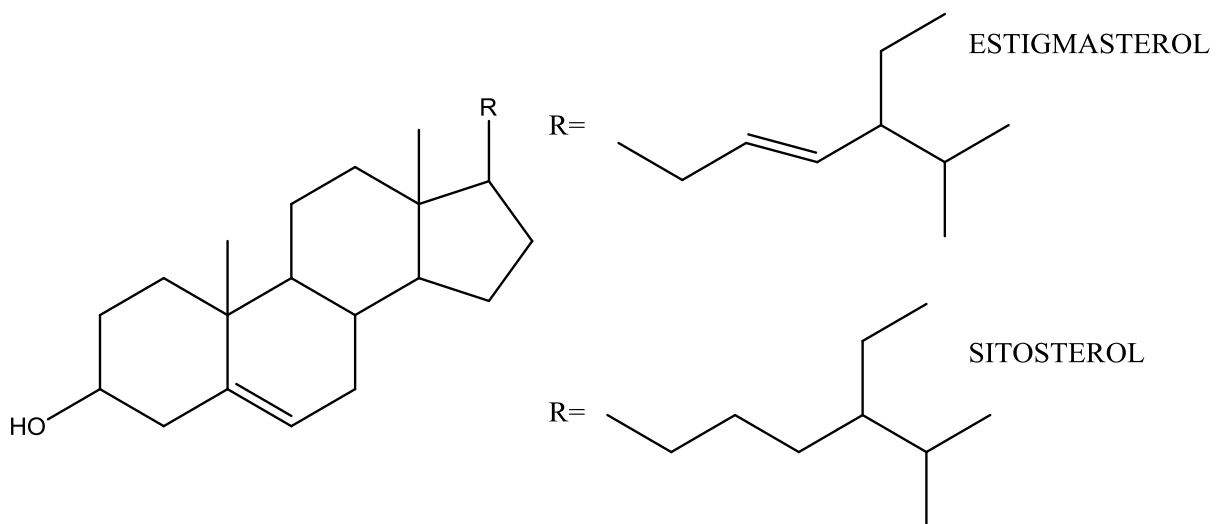


Figura 4. Variação estrutural dos fitoesteróis em sua cadeia lateral

O β -sitosterol apresenta diversas funções, como na composição das membranas celulares, participando no transporte intracelular, além de desempenhar outras funções biológicas. Pode ser encontrado na forma de derivados, como ésteres de ácidos graxos, aromáticos ou glicosilados (ROBINSON, 1991).

O β -sitosterol pode está ligado a uma molécula de glicose, sendo então comumente chamado de daucosterol (β -sitosterol 3-O-glicosídeo), que possui

importante atividade imunomoduladora e indutora de apoptose em linhagens de células cancerígenas de origem leucêmica (BOUIC et al., 1996; MANAYI et al., 2013).

Diversos estudos indicam o potencial biológico do β -sitosterol, como agente anti-inflamatório, analgésico, antioxidante, hipoglicemiante, antihelmíntico, antimutagênico, hipocolesterolemizante e antifúngico frente a *Aspergillus flavus* (VILLASEÑOR et al., 2002; LOTTENBERG et al., 2002; LALL et al., 2006; LOWE; KU, 1996; SAEIDNIA et al., 2014). Park et al. (2000) associou a presença β -sitosterol na *Opuntia ficus-indica* a alguns de seus usos populares como auxiliar no tratamento de edemas e como anti-inflamatório.

3.6.2 Amidas dos ácidos hidroxicinâmicos

Os fenilpropanóides são compostos formados a partir do ácido chiquímico que origina os ácidos p-cumárico e cinâmico. Ácidos cinâmico (figura 5) foram categorizados como constituintes estruturais e funcionais de paredes celulares de plantas e também como ingredientes bioativos da dieta (KROON; WILLIAMSON, 1999; SIMÕES et al., 2007; SHAHIDI ;CHANDRASEKARA, 2010).

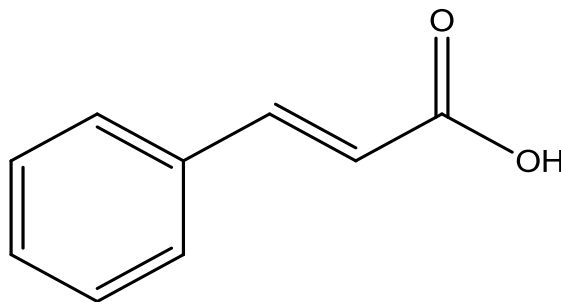


Figura 5. Molécula do ácido cinâmico

Os ácidos hidroxicinâmicos representam uma classe de compostos fenólicos de estrutura C6-C3 (compostos benzênicos unidos a uma cadeia de 3 átomos de carbono), derivados do Ácido-(E)-3-fenilprop-2-enóico, com um ou mais grupos hidroxilas unidos ao anel aromático, alguns podem ser metilados (TEIXEIRA et al., 2013). Os principais ácidos hidroxicinâmicos são o ácido p-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico, estes são sido considerados como antioxidantes potenciais e antivirais (BAILLY; COTELLE, 2005; GASPAR et al., 2009).

Os ácidos hidroxicinâmicos são encontrados também em várias formas conjugadas, incluindo amidas (conjugados com mono ou poliaminas, aminoácidos ou peptídeos), ésteres, sobretudo os ésteres de hidroxí-ácidos e glicosídeos (TEIXEIRA et al., 2013).

A conjugação de amina ao grupo carboxílico de ácidos hidroxicinâmicos origina as amidas dos ácidos hidroxicinâmicos, estas caracterizam-se por possuir uma poliamina acilada com um ácido hidroxicinâmico mono, di ou trissubstituído (FONTANIELLA et al, 2001).

A biossíntese de amidas de ácidos hidroxicinâmicos é frequentemente induzida por estresse e estas se acumulam nas raízes, tubérculos, caules, folhas e órgãos reprodutivos, podendo ser metabolizadas por peroxidases (KRISTENSEN et al., 2004).

As amidas dos ácidos hidroxicinâmicos podem ser classificadas de acordo com suas propriedades químicas e físicas em amidas básicas e amidas neutras. As amidas básicas possuem uma função de amina primária, são solúveis em água e resultam da acilação de poliaminas alifáticas. As amidas neutras não possuem funções fortemente ionizáveis, são insolúveis em água e contêm na sua maioria aminas aromáticas (FACCHINI et al., 2002).

METODOLOGIA

4 METODOLOGIA

4.1 Matéria-prima vegetal

As raízes de *Tacinga inamoena* foram coletadas em fevereiro de 2014 (período de chuva) e setembro de 2014 (período de seca), no sítio Canhoto (latitude: 07° 28' 47", longitude: 38° 02' 32"), município de Nova Olinda, alto sertão paraibano

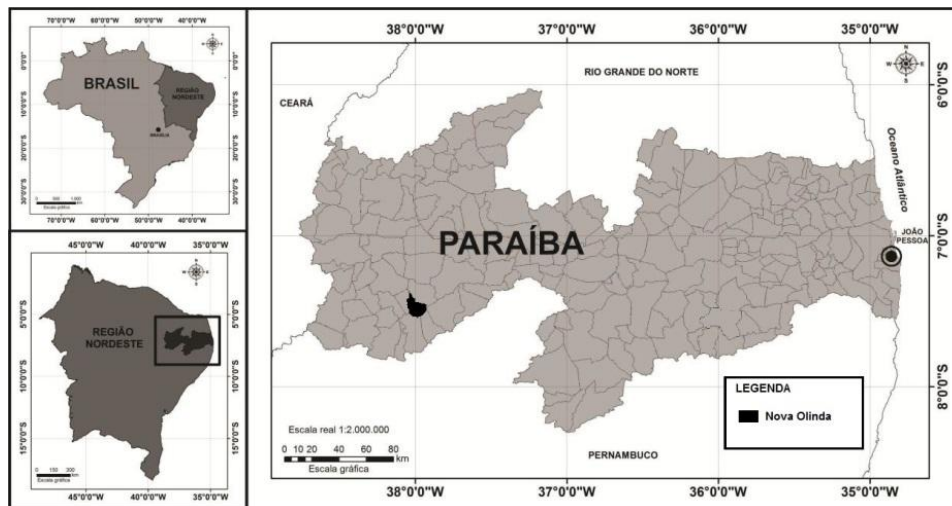


Figura 6. Localização da cidade de Nova Olinda-PB

O material vegetal foi preparado para confecção da exsicata e enviado ao Herbário Lauro Pires Xavier da UFPB, para identificação botânica. Onde se encontra sob o número de registro JPB 61263 (figura 6).

HERBÁRIO JPB	JPB n° 61263
Universidade Federal da Paraíba João Pessoa - Paraíba - Brasil	
Brasil, Paraíba, Nova Olinda, Sítio Canhoto Caatinga 7°28'47" S, 38°02'32" W Elev.: 319m	
<i>Tacinga inamoena</i> (K.Schum.) N.P.Taylor & Stuppy	CACTACEAE
Cumbeba (Português) R.R. Silva 1 & J.P.R. Silva - 25 VIII 2015	
Det:	

Figura 7. Etiqueta referente exsicata herborizada

4.2 Processamento da matéria vegetal

A matéria-prima vegetal foi lavada, submetida à secagem em estufa de circulação de ar (Nova Ética) não ultrapassando 40°C e micronizada a pó usando moinho de facas. Parte do pó (50 gramas) foi selecionada para os ensaios de caracterização físico-química e outra (322 g) para a produção de EEB e EHAs.

4.3 Caracterização físico-química do pó obtido

4.3.1 Granulometria

O ensaio de granulometria seguiu a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (2010). O procedimento utilizou 25 gramas do pó resultante das raízes de *T. inamoema*, e esta foi submetida a uma série de tamises com abertura de malha diferenciadas (710, 355, 180, 150, 75 e 38 µm) dotado de um vibrador (Bertel), durante 20 minutos. O tamanho das partículas foi analisado em triplicata e avaliado pela quantificação percentual de retenção do pó em cada tamis de acordo com a seguinte equação (1).

$$\% \text{ Retida pelo tamis} = P_1/P_2 \times 100 \quad (1)$$

Onde,

P_1 = peso da amostra retida em cada tamis (em gramas)

P_2 = soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas)

4.3.2 Determinação da Densidade

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

$$d_a = \frac{M_a}{V_a} \quad (2)$$

$$d_c = \frac{M_a}{V_c} \quad (3)$$

$$FH = \frac{dc}{da} \quad (4)$$

$$IC = \frac{dc-da}{dc} \times 100 \quad (5)$$

Onde,

Ma = massa aparente

Va = volume aparente

Vc = volume compactado

4.3.3 Teor de Cinzas

O método para determinação do teor de cinzas totais seguido está descrito na Farmacopeia Brasileira (2010). 9 gramas da do pó resultante das raízes de *T. inamoema* foram distribuídos de forma igual em três cadinhos de porcelana previamente calcinados, resfriados e pesados. As amostras foram carbonizadas em mufla e incineradas a 450 °C por 2 horas. Após resfriamento em dessecador, as mesmas foram pesadas em balança analítica, repetindo-se o procedimento até a obtenção de peso constante. A porcentagem de cinzas, obtidas em triplicata, foi calculada em relação à droga seca, de acordo com a equação 6.

$$\%Cinzas = \frac{P_2-P_1}{P_3} \times 100 \quad (6)$$

Onde,

P_1 = peso do cadinho após a calcinação e resfriamento

P_2 = peso do cadinho com amostra após a calcinação e resfriamento

P_3 = peso inicial da amostra

4.3.4 Determinação do teor de umidade

O teste foi realizado em triplicata e os valores obtidos foram avaliados em termos de porcentagem ponderal sobre a quantidade da amostra, utilizando a equação 7, sendo realizado de acordo com o que preconiza a Farmacopéia Brasileira (1988).

$$\% \text{ perda} = \frac{P_u-P_s}{P_a} \times 100 \quad (7)$$

P_a = peso da amostra (g)

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

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

4.3.5 Determinação do pH

Foi preparada uma solução a 1% por infusão com a droga vegetal. Em erlenmeyer, a água foi colocada sobre uma chapa-elétrica para ebulir durante 5 minutos. Em seguida, a água foi vertida sobre 1 g da droga e o recipiente foi fechado e deixado em infusão por 15 minutos. Após este tempo, a mistura foi filtrada e arrefecida, procedendo-se à leitura em phmetro calibrado. O experimento foi realizado em triplicata e os resultados equivalem à média dessas medições (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988).

4.4 Obtenção dos extratos

O pó obtido foi submetido ao processo de extração por percolação em etanol 96%, para obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) e em uma mistura de etanol:água nas proporções de 9:1; 7:3; 1:1; 3:7 e 1:9 (v/v) para obtenção dos extratos hidroalcoólicos (EHs). Ambos acondicionados em recipiente de vidro, com a realização de extrações em intervalo de 72 horas e posterior eliminação do solvente em evaporador rotativo Tecnal (TE-211) com temperatura $< 50^{\circ}$ C e uso de secador com jato frio para concentração dos extratos. Parte do extrato hidroalcoólico foi levada ao liofilizador LioBras, modelo L101, dando origem ao extrato bruto hidroalcoólico liofilizada para análise termogravimétrica.

4.5 Caracterização fitoquímica do extrato etanólico de *T. inamoena*

4.5.1 *Screening* fitoquímico

O *screening* fitoquímico realizado avaliou a presença de alcaloides, esteroides/triterpenoides, catequinas fenóis, flavonoides, açúcares redutores, polissacarídeos e taninos, realizados de acordo com a metodologia descrita por Barbosa (2001) e Peixoto Sobrinho et al. (2012), especificadas na tabela 2.

Tabela 2. Pesquisa de metabólitos secundários em *T. inamoena*

Metabólito secundário	Reagente
Açúcares redutores	Reação de Benedict: Fehling
Alcaloides	Drangedorf, Mayer, Bouchardat
Catequinas	Reação com ácido clorídrico
Esteroides/Triterpenoides	Liebermann – Buchard
Fenóis	Solução alcólica de FeCl ₃ a 1%
Flavonoides	Shinoda; oxalo-bórico
Polissacarídeo	Lugol
Taninos	Solução alcólica de FeCl ₃ a 1%

4.6 Determinação do teor de metabólitos secundários

A determinação do teor de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados foi realizada por espectrofotometria na região UV (Shimadzu), ambos os métodos avaliaram a absorvância das soluções preparadas do extrato, definidas em metodologias específicas, frente a absorvância de soluções com reagentes padronizados, a qual expressou os resultados baseados na concentração do metabólito secundário por miligramas equivalentes do reagente padrão. Inicialmente se obteve uma curva de calibração, específica para cada metabólito, feita a partir de uma solução do reagente padrão referente. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e tratados estatisticamente por ANOVA ($p < 0,005$).

4.6.1 Teor de polifenóis totais

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

Para a obtenção da curva analítica, uma solução padrão ácido gálico foi preparada nas concentrações de 1, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 35, e 40 µg/mL. A concentração de polifenóis foi expressa em miligramas equivalentes de ácido gálico. As análises foram realizadas em triplicata e a equação de calibração do ácido gálico foi $y = 0,0247x - 0,0747$ ($R^2 = 0,9894$).

4.6.2 Teor de flavonoides

Seguindo o método descrito por Meda et al. (2005), o EEB foi solubilizado em 5 mL de metanol, sendo adicionado o mesmo volume de uma solução (em metanol) de AlCl_3 a 2% (p/v). A mistura permaneceu em repouso por 10 minutos antes da leitura da absorbância a 415 nm, frente a um branco composto pela solução metanólica de AlCl_3 .

A curva de calibração foi construída a partir da solução do padrão quercetina em concentrações de 2, 4, 6, 8, 10, 13, 16, 19, 22, 26, 28 e 30 $\mu\text{g/mL}$. O teor de flavonoides foi expresso em miligramas equivalentes de quercetina. Todas as análises foram realizadas em triplicata e a equação de calibração da quercetina foi $y = 0,034x - 0,0053$ ($R^2 = 0,9977$).

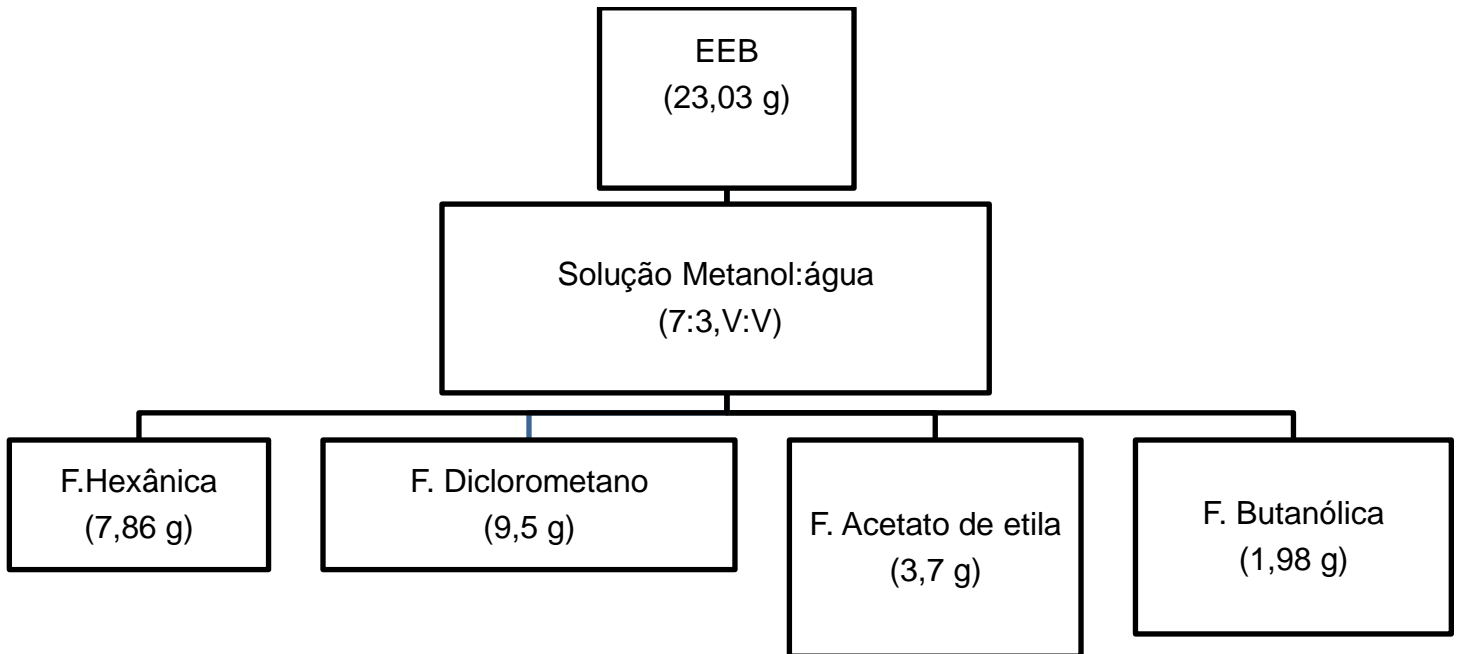
4.6.3 Teor de taninos condensados

Este metabólito foi quantificado utilizando o método de Makkar e Becker (1993), no qual a amostra do EEB foi adicionada a 3 mL de uma solução de catequina (4% p/v em metanol). A reação ocorreu em tubos de ensaio que estavam em banho-maria a cerca de 22 °C. A leitura foi realizada a 500 nm, frente a um branco composto pela solução de catequina, HCl em etanol:água 50% (v/v).

A curva de calibração para este ensaio foi obtida a partir das soluções nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 $\mu\text{g/mL}$ do padrão catequina. A concentração de taninos condensados foi expressa em miligramas equivalentes de catequina. Todas análises foram realizadas em triplicata e a equação de calibração da catequina foi $y = 0,0024x + 0,0522$ ($R^2 = 0,9924$).

4.7 Fracionamento do EEB

Para o fracionamento do EEB foi realizada uma partição líquido:líquido com solventes de polaridade crescente de acordo com a solubilidade dos constituintes químicos. 23,03 gramas do EEB foi dissolvido em uma solução de MeOH:H₂O (7:3), (v:v) obtendo-se uma solução hidroalcolica, posteriormente, particionada com hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e *n*-butanol, conforme descrito no esquema 1, obtendo as respectivas fases particionadas (FP).

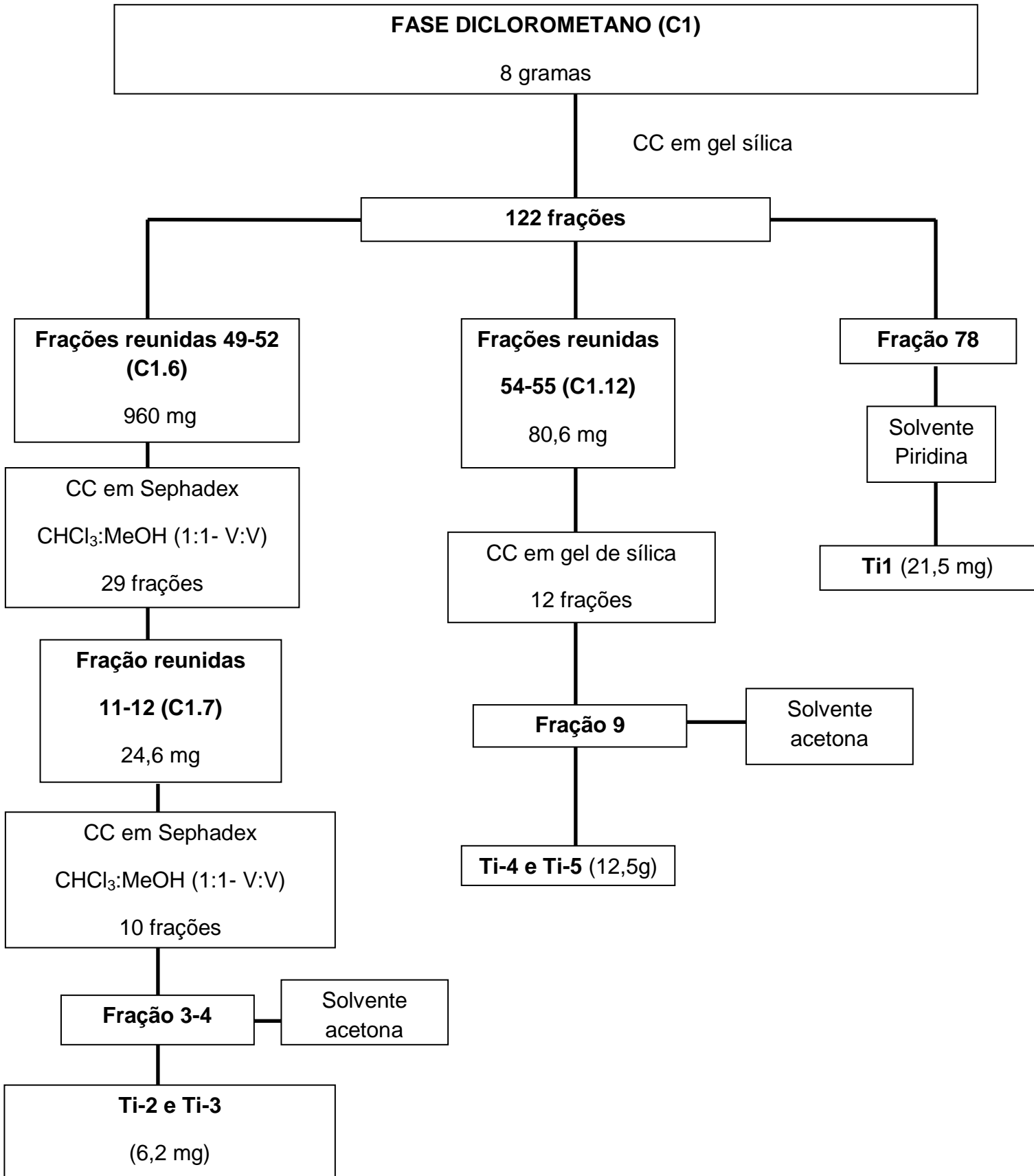


Esquema 1. Particionamento das raízes de *T. inamoena*

4.8 Fracionamento cromatográfico das fases

As fases particionadas obtidas foram submetidas à cromatografia em coluna (CC) usando-se gel de sílica (Macherey-Nagel), 0,063-0,2mm/70-230 mesh, como fase estacionária e hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros e/ou misturas binárias como fase móvel. As frações foram analisadas comparativamente em cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) utilizando diversos sistemas de eluição e reunidas, quando semelhantes, mediante o uso de sistemas reveladores como luz ultravioleta (Spencer Equipamentos), em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm) e/ou vapores de iodo sublimado.

A fase diclorometano devido a ser a fase de maior rendimento, foi selecionada para o fracionamento através de cromatografia em coluna (CC), utilizando 8 g da amostra, tendo como fase estacionária gel de sílica, para a fase móvel foi utilizado o hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou em misturas, por ordem crescente de polaridade. Obteve-se 122 frações, estas foram reunidas por semelhança de fator de retenção (RF) e conforme verificado em CCDA, descrito no esquema 2.



Esquema 2. Fracionamento da fase diclorometano das raízes de *T. inamoena*

A fase acetato de etila foi submetida a cromatografia de média pressão (C2), com o mesmo esquema de fase móvel descrita para a fase diclorometano. Foram utilizados 3 gramas e obteve-se 28 frações, porém nenhum composto foi isolado.

4.9 Métodos Espectroscópicos

4.9.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os dados espectrais na região do infravermelho (4000 a 400 cm^{-1}) foram obtidos em aparelho BOMEN FT-IR (modelo MB 100), utilizando amostras em pastilhas de brometo de potássio (KBr), com número de onda medido em cm^{-1} .

4.9.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN, uni e bidimensionais, foram registrados em espectrômetros VARIAN SYSTEM e BRUKER AVANCE III operando a 200 MHz e 500 MHz do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM), da UFPB. Utilizando Piridina- d_5 e Acetona- d_6 , como solventes. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H serão indicadas segundo as convenções.

4.10 Análise térmica

As curvas termogravimétricas não isotérmicas foram obtidas em uma termobalança simultânea TG/DTA, modelo Q600 (TA Instruments), utilizando cadinhos de alumina, com cerca de $8 \pm 0,1$ mg de amostra, em atmosfera de nitrogênio (50 mL min^{-1}). Os experimentos foram realizados entre as temperaturas de 25 e 900 $^\circ\text{C}$, com razão de aquecimento de 10 min^{-1} .

4.11 Atividade antimicrobiana

4.11.1 Preparação das amostras

Os EHAs, o EEB, as fases particionadas (Fhex, Fdic, Facet e Fbut) e a substância Ti-1 (β -sitosterol 3-O-glicosídeo) foram solubilizadas em água destilada e DMSO a 10%, obtendo-se uma concentração de $4000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para o EHAs, o EEB

e fases particionadas, sendo a concentração final de 2000 µg.mL⁻¹ para produto isolado.

4.11.2 Cepas Microbianas

As Linhagens bacterianas e fúngicas foram provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 76645, *Candida glabrata* ATCC 10451, *Candida krusei* ATCC 14243, *Candida tropicalis* ATCC 13803. As cepas selecionadas foram estocadas e mantidas em meios de culturas apropriados, de acordo com as recomendações do fornecedor. Cepas multiresistentes foram utilizadas para a determinação da CIM e atividade moduladora, sendo estas a *Escherichia coli* 5A, *Escherichia coli* 5I, *Pseudomonas aeruginosa* 2 e *Staphylococcus aureus* 110, obtidas no Laboratório de Desenvolvimento de medicamentos (LABDEM) da UEPB, com perfil de resistência definindo pelo mesmo, como identificado na Tabela 3.

Tabela 3. Perfil de resistência das bactérias a antimicrobianos

CEPAS	PERFIL DE RESISTÊNCIA
<i>E. coli</i> 5A	CIP, CLO, NOR, TET, AMP
<i>E. coli</i> 5I	AMP; CFO; NOR; CAZ; ATM; TET; CPM; GEN; CFL; CLI.
<i>P. aeruginosa</i> 2	TOB; AMI; AMP; GEN; NOR; CLI; TET.
<i>S. aureus</i> 109	OXA, PEN, AZT, CFX, NOR, AMP, GEN

Fonte: LABDEM

Aminoglicosídeos: AMI – Amicacina (30 µg), GEN – Gentamicina (10 µg), TOB – Tobramicin (10 µg); Anfenicóis: CLO – Cloranfenicol (30 µg); Betalactâmicos: ATM – Aztreonam (30 µg); Cefalosporinas: CFL- Cefalotina (30 µg), CPM – Cefepime (30 µg), CFO – Cefoxitina (30 µg), CAZ – Ceftadizima (30 µg); Lincosamidas: CLI – Clindamicina (2 µg); Macrolídeos: AZT- Azitromicina (15 µg); Penicilinas: AMP- Ampicilina (10 µg), PEN – Penicilina (10 un), OXA – Oxacilina (1 µg); Quinolonas: CIP –Ciprofloxacino (5 µg), NOR – Norfloxacino (10 µg); Tetraciclina: TET – Tetraciclina (30 µg).

4.11.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pela técnica de microdiluição proposta pelo CLSI (2012), para bactérias e NCCLS (2002) para fungos, utilizando placas de 96 cavidades, usando caldo Mueller Hinton para as bactérias e caldo Sabouraud dextrose para as leveduras. Colônias dos microorganismos foram suspensas em solução salina (NaCl) 0,9%, sendo a suspensão ajustada em espectrofotômetro a 625 nm para bactérias e 530 nm para as *Candida*, que resultaram em uma concentração final de 5×10^5 UFC mL⁻¹ e $2,5 \times 10^3$ UFC mL⁻¹, respectivamente. Foram realizadas diluições seriadas do extrato em um intervalo de concentrações entre 1000 e 3,9 µg mL⁻¹. Solução de DMSO a 10% que foi empregada para dissolver os produtos naturais, foi utilizada como controle negativo. As placas foram incubadas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 h. O crescimento microbiano foi indicado pela adição de 20 µL de solução aquosa de resazurina (Sigma-Aldrich) a 0,01 %, com nova incubação a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ durante 2 h. A CIM foi definida como a concentração mais baixa onde não houve crescimento microbiano visível. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.12 Modulação da resistência antimicrobiana

A avaliação dos extratos como moduladores da resistência a antibióticos foi realizada de acordo com Coutinho et al. (2008), utilizando caldo Mueller-Hinton 10%. A CIM dos antibióticos foi determinada na presença e na ausência do extrato em concentrações sub-inibitórias (CIM/8). Os antimicrobianos utilizados (norfloxacino, ciprofloxacino, gentamicina, neomicina, ceftriaxona e cefazolina) foram os padronizados pelo LABDEM, A concentração inicial dos antimicrobianos foi padronizadas em 1000 µg.mL⁻¹. As placas foram incubadas como descrito anteriormente e cada ensaio foi realizado em triplicata.

4.12.1 Análise estatística

Os resultados dos ensaios microbiológicos foram expressos em média geométrica, aplicada à análise de variância two-way seguida pelo pós-teste de Bonferroni utilizando o software GraphPad Prism 5.0.

4.13 Citotoxicidade em hemácias

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

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

$$Ph = \frac{A_e - A_b}{A_t} \times 100 \quad (8)$$

Ph= Potencial Hemolisante (em porcentagem)

A_e = Absorbância do extrato

A_b = Absorbância do branco (controle negativo)

A_t = Absorbância do Triton-X 100 (controle positivo)

4.14 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pela captura do radical livre DPPH. A técnica foi adaptada de Rufino et al. (2007) e Sousa et al. (2007). O método baseia-se na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante, o DPPH (cor púrpura) é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, (coloração amarela), com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. Preparou-se soluções do extrato etanólico nas seguintes concentrações: 500 µg.mL⁻¹, 300 µg.mL⁻¹, 200 µg.mL⁻¹ e 50 µg.mL⁻¹. Um

controle negativo foi feito pela adição de etanol e DPPH e o controle positivo foi feito pela adição de solução de um padrão de rutina e DPPH.

Adicionou-se a cada concentração de extrato etanólico uma solução de DPPH 300 μMol , exceto nos brancos, onde foi adicionado o solvente. Após a adição do DPPH, esperou-se 40 minutos e procedeu-se a leitura no espectrofotômetro a 515 nm. A capacidade de eliminar o radical DPPH (% de atividade antioxidante) foi calculada utilizando-se a equação 9, a partir dos resultados obtidos determinou-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres

$$\text{Atividade antioxidante} = \frac{A_{\text{controle(-)}} - A_{\text{amostra}} \times 100}{A_{\text{controle(-)}}} \quad (9)$$

Em que:

$A_{\text{controle(-)}}$ = Absorbância da solução de DPPH sem a amostra

A_{amostra} = Absorbância da amostra com o DPPH.

Para a curva padrão de DPPH, preparou-se uma solução etanólica de DPPH a 300 μMol (120 $\mu\text{g/mL}$). Em seguida, foram preparadas diluições dessa solução para obtenção de diferentes concentrações: 500 $\mu\text{g/mL}$, 300 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$ e 50 $\mu\text{g/mL}$. Foram feitas as leituras das absorbâncias das soluções, em triplicata, utilizando-se etanol como branco. Foi construída a curva padrão de DPPH, plotando-se o valor médio das absorbâncias obtidas pela concentração da solução.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-química

5.1.1 Distribuição granulométrica

O tamanho das partículas contidas na droga vegetal influencia a interação com o solvente e o material vegetal. Portanto a distribuição granulométrica configura um parâmetro preliminar importante para a escolha do processo extrativo e do solvente adequado, já que influencia diretamente na eficiência do processo extrativo (SANTOS, 2000; MIGLIATO et al., 2007). De acordo com a farmacopeia o pó resultante das raízes de *T. inamoena* foi classificado como semifino. Este parâmetro constitui um fator determinante na homogeneidade e reprodutibilidade dos processos extrativos. Pós de tamanho maior favorecem o processo extrativo, pois partículas muito finas podem aderir às partículas maiores, aumentando a viscosidade do meio e criando uma barreira que impeça a penetração de solventes, portanto, o pó obtido precisa ser testado frente a outros processos extrativos, para obtenção de maior eficiência na extração, tais como a extração por ultrassom.

5.1.2 Densidade

A determinação da densidade foi utilizada para avaliar as características de escoamento e compressibilidade do pó (tabela 4). Segundo Aulton (2005), a densidade aparente é característica do pó e não das partículas individuais que o compõem, já a determinação da densidade compactada é realizada quando o pó atinge um estado de maior equilíbrio.

Tabela 4. Parâmetros obtidos no ensaio de propriedades de fluxo do pó das raízes de *T. inamoena*

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	VALORES
Densidade de compactação (g.mL ⁻¹)	0,33
Densidade bruta (g.mL ⁻¹)	0,23
Compressibilidade (mL)	10,5
Índice de Compressibilidade (%)	43,47
Fator de Hausner	1,43

om base na densidade bruta e de compactação foi calculado o Fator de Hausner

que correspondeu a 1,43. O fator de Hausner (FH) é uma medida indireta da facilidade de fluxo de pó, sendo que materiais que possuem valores superiores a 1,40 são classificados como coesivos, enquanto que os que apresentam valores inferiores a 1,25 são enquadrados como de fácil escoamento como apresentado na Tabela 5 (LAGOS et al., 2012). Desta forma o pó das raízes de *T. inamoena* apresentou propriedades de fluxo pobre, como reafirmado pelo índice de compressibilidade (43,47%). O pó de *T. Inamoena* foi classificado como de difícil escoamento, sugerindo que ocorrerão problemas durante a compressão do pó, que é fundamental no processo de fabricação de formas farmacêuticas sólidas, a exemplo dos comprimidos e cápsulas (GUPTA et al., 2013).

Tabela 5. Escala para a avaliação do fluxo do pó (USP 30, 2007; British Pharmacopoeia, 2007)

Característica do pó	Índice de compressibilidade (%)	Fator de Hausner
Excelente	<10	1,00 -1,11
Bom	11 -15	1,12 -1,18
Fraco	16 – 20	1,19 – 1,25
Mediano	21 -25	1,26 – 1,34
Deficiente	26 -31	1,35 – 1,45
Muito deficiente	32 – 37	1,46 – 1,59
Bastante deficiente	>38	>1,60

Lagos et al., 2012

5.1.3 Teor de Cinzas

A determinação do teor de cinzas avalia a pureza do material e detecta a presença excessiva de substâncias aderentes e adulterações, o que pode evitar a exposição do consumidor ao risco real de uso de material vegetal inadequado (AMARAL et al., 2003). As cinzas obtidas por incineração representam a soma de material inorgânico integrante da espécie (cinzas intrínsecas) com as substâncias aderentes de origem terrosa (cinzas extrínsecas) (BRAGA et al., 2007; SIMÕES et al., 2007). Neste estudo o ensaio de cinzas totais revelou percentual de 11,06% de matéria inorgânica, abaixo de 14%, conforme os limites estabelecidos na Farmacopeia Brasileira (2010), indicando que as mesmas não possuem excesso de terra e/ou areia e o processo de higienização foram eficientes.

5.1.4 Perda por dessecação

A média do valor obtido da perda por dessecação da *Tacinga inamoena* foi de 10,11%, apresentando-se de acordo com a Farmacopeia Brasileira IV ed., na qual este resultado pode variar de 8 a 14%. Esta determinação é importante para o controle microbiológico, pois, uma vez que, teores de umidade acima do especificado possibilitam o desenvolvimento de fungos e bactérias, hidrólise e atividade enzimática, com consequente deterioração de constituintes químicos (COUTO et al., 2009; SHARAPIN, 2000).

5.1.5 pH

O pH do pó das raízes pulverizadas de *T. inamoena*, apresentou um valor médio de 6,28. O valor do pH da água destilada foi de 6,77.

5.1.6 Rendimento

T. inamoena apresentou um rendimento de 7,14%, perante a produção de EEB a partir do pó resultante da pulverização das raízes, sendo este considerado baixo, sendo necessários estudos tecnológicos para aperfeiçoar uma produção em maior escala (OLIVEIRA et al., 2016).

5.1.7 Perfil Térmico por Termogravimetria

A curva termogravimétrica (TG) da droga vegetal mostra a ocorrência de três eventos de perda de massa (figura 8). No primeiro, observou-se um evento endotérmico, com perda de massa de 9,7%, este evento pode ser relacionado à desidratação da droga vegetal e evaporação de constituintes voláteis (SANTOS et al., 2011). No segundo evento, houve uma perda equivalente a 47,16% da massa do material, uma perda significativa, que pode ser atribuída a decomposição térmica de carboidratos e demais compostos orgânicos presentes na droga (WESOLOWSKI et al., 2003; ARAÚJO et al., 2006; COSTA, 2010). No terceiro e último evento a perda de massa foi equivalente a 32,34% entre as temperaturas de 359,03 °C e 532,49 °C (tabela 6 e 7). Esta última perda pode ser referente à queima dos restos carbonizados da matéria orgânica (COSTA, 2010).

Os eventos descritos pela curva TG também podem ser observados ao analisar a curva derivada (DTA), o que confirma a ocorrência dos 3 eventos relativos

as perdas de massa, sendo estes eventos importantes para a padronização da droga vegetal obtida das raízes de *T. inamoena*.

Tabela 6. Dados da curva derivada do extrato hidroalcoólico liofilizado das raízes de *T. inamoena*.

Eventos	Onset - Endset (°C)	ΔH (J/g)	Pico (°C)
1ª Etapa	25,32 – 111,27	- 530,59	63,22
2ª Etapa	229,89 – 400,55	2440,72	342,83
3ª Etapa	400,16 – 539,46	2884,22	473,06

Tabela 7. Dados da curva termogravimétrica obtida da droga vegetal *T. inamoena* com suas respectivas perdas de massa, em cada intervalo de temperatura (°C)

Eventos	Onset - Endset (°C)	Perca de massa (%)	Massa inicial
1ª Etapa	33,59 – 160,58	9,7	7,11 mg
2ª Etapa	203,78 - 359,03	47,16	Residuo
3ª Etapa	359,03 – 532,49	32,31	10,97 %

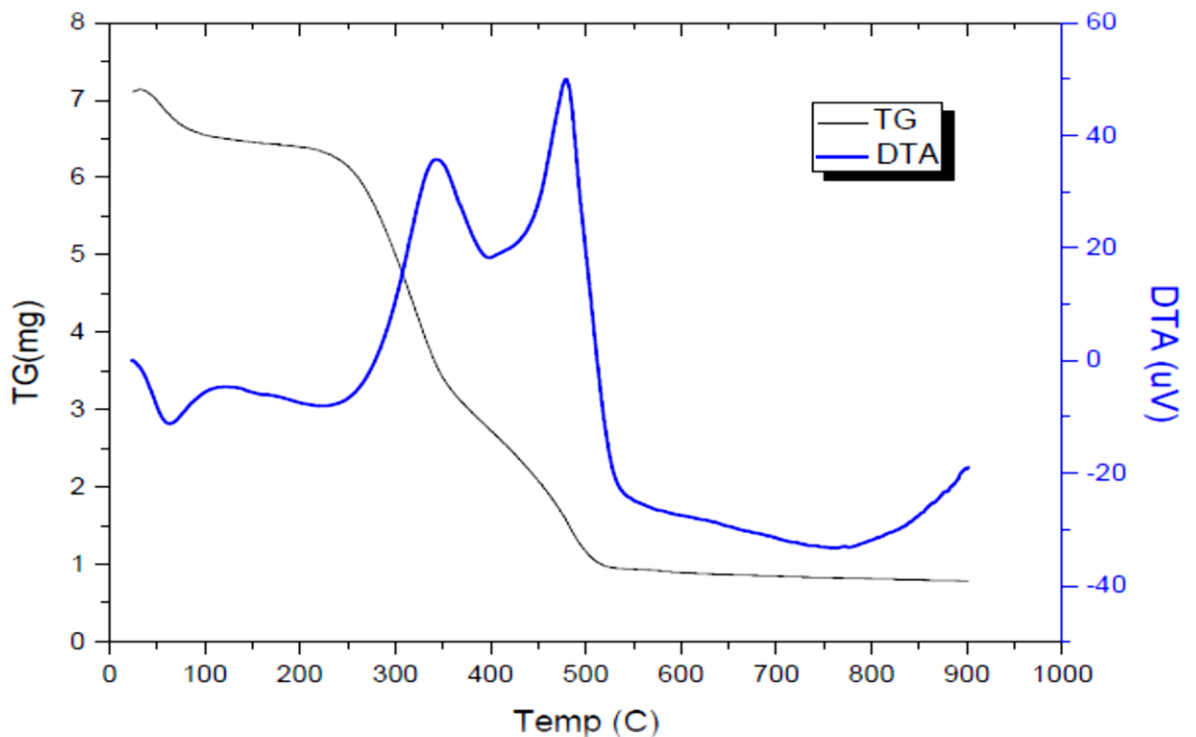


Figura 8. Curva Termogravimétrica da droga vegetal de *T. inamoena*

5.1.8 Espectro de Infravermelho da droga vegetal

No espectro IV da droga vegetal de *T. inamoena*, obtida da coleta do material vegetal na época de estiagem, foi possível visualizar diversas bandas referentes a absorção de certos grupos funcionais como demonstra a figura 9.

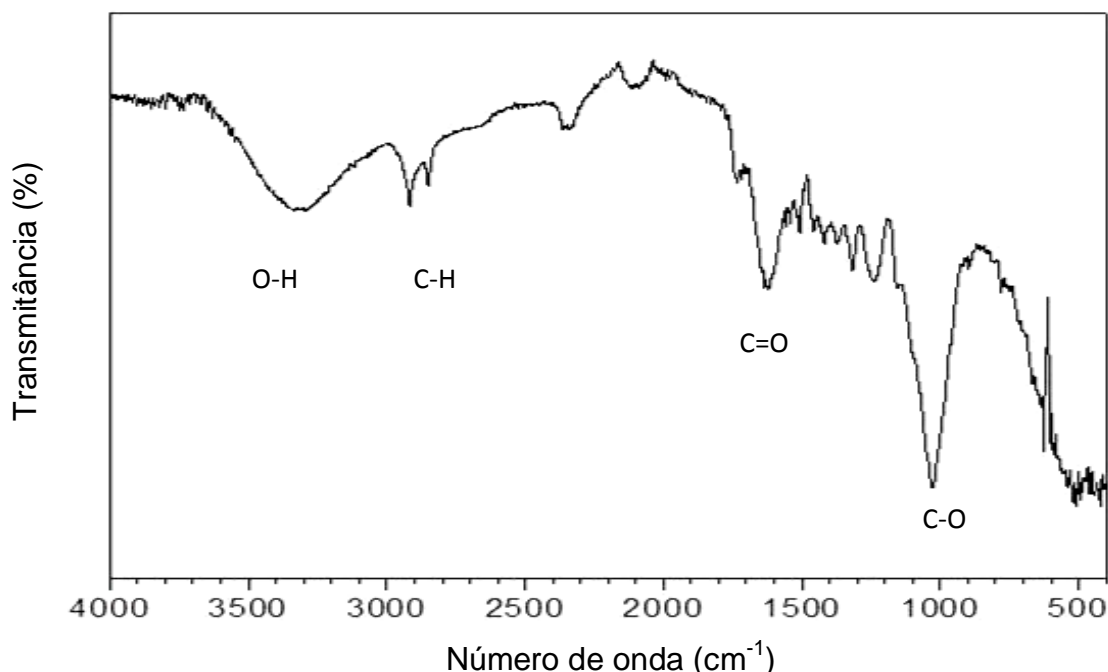


Figura 9. Espectro de Infravermelho da droga vegetal oriunda da raiz de *T. inamoena*

O espectro apresenta uma banda larga e de média intensidade em 3300 cm^{-1} característica de grupamento hidroxila, duas bandas de pequena intensidade foram observadas em 2900 cm^{-1} e 2880 cm^{-1} , a qual é indicativa de hibridização sp^3 correspondente a grupos metílicos e metilênicos, em 1650 cm^{-1} pode se observar uma banda estreita sugestiva de grupamento carbonila, uma banda intensa e estreita foi observada em 1000 cm^{-1} característica de grupamento CO (PAVIA et al., 2012).

5.2 Caracterização fitoquímica

O *screening* fitoquímico mostrou resultados positivos para taninos, flavonoides e alcaloides na pesquisa de metabólitos secundários, a presença destes compostos é reforçada pelo espectro de IV da droga vegetal (figura 9), onde os grupos funcionais presentes corroboram com a estrutura de taninos, flavonoides e alcaloides. Estes produtos secundários têm um papel importante na adaptação ao meio ambiente, pois são responsáveis por diversas atividades biológicas, como,

antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger as plantas dos patógenos, e também apresentam atividades antigerminativas ou tóxicas para outras plantas (LI et al., 1993).

Santana et al. (2015) observou a presença de terpenos, esteroides e flavonoides no extrato da raiz de *Cereus jamacaru* DC. No trabalho de Oliveira (2011) foi descrito a presença no extrato etanólico das raízes de *P. gounellei* (Weber) Byles & Rowley, de polifenóis, cumarinas, açúcares redutores, triterpenos e esteroides, e a ausência de fenilpropanoglicosídeos, proantocianidinas e alcaloides. As raízes de *Opuntia ficus indica*, também apresentaram a presença de compostos fenólicos e flavonoides e estes segundo Alimi et al. (2010) foram os responsáveis por uma pronunciada atividade gastroprotetora semelhante à da ranitidina.

A quantificação dos compostos secundários revelou a presença no EEB de 65 mg/g de polifenóis e 3,3 mg/g de flavonoides, sem valor quantificável para taninos. A maior quantidade de compostos fenólicos frente ao teor de flavonoides demonstra a presença nas raízes de *T. inamoena* de demais compostos com caráter fenólico, como revelou o *screening* realizado.

Os compostos fenólicos são substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos. Dentre os compostos fenólicos pertencentes ao metabolismo secundário dos vegetais encontram-se estruturas como ácidos fenólicos, flavonoides, derivados de cumarina, pigmentos hidrossolúveis, ligninas, taninos, e ainda fazem parte de proteínas, alcaloides e terpenoides conjugados estão relacionados, principalmente, com a proteção, conferindo alta resistência a microrganismos e pragas (PROENÇA DA CUNHA et al., 2003).

Existe uma correlação positiva bem estabelecida entre intensidade de radiação solar e produção de compostos fenólicos, tais como flavonoides, taninos e antocianinas. Isso pode ser explicado, principalmente no caso de flavonoides e fenilpropanoides correlatos, pela proteção contra a foto-destruição proporcionada por estes metabólitos ao absorver e/ou dissipar a energia solar, dificultando assim a danificação dos tecidos mais internos pela radiação UV-B (GOBBO NETO et al., 2008).

A presença de flavonoides nas raízes é um fato importante, visto que as plantas liberam uma grande quantidade de compostos orgânicos no solo, onde a maioria é responsável pelo desenvolvimento de microrganismos na rizosfera, os quais são responsáveis, pela fixação biológica do nitrogênio. Vários flavonoides

atuam ativando a expressão de genes reguladores da nodulação, sendo estes importantes no período de seca, onde estes microrganismos podem conceder certo grau de tolerância às plantas contra o estresse hídrico ou ainda auxiliando no seu desenvolvimento por meio de mecanismos de promoção de crescimento (SANTOS; REIS, 2008; KAVAMURA, 2012)

Foi feita uma correlação do teor de flavonoides presente no EEB das raízes de *T. inamoena* correspondente ao inverno (setembro/2014), período de seca no sertão paraibano, onde se encontrou um teor de 3,3 mg/g e no período de verão (fevereiro/2014), estação mais chuvosa para a região, obteve-se 10,6 mg/g. Diante deste cenário percebeu-se que há 3,2 vezes mais flavonoides na fase com maior índice pluviométrico. Pode-se inferir que o quadro de maior disponibilidade hídrica, assim como temperatura e umidade predispõem um aumento na produção de flavonoides, possivelmente também porque nesse período as espécies xerófitas dispõem de uma maior produção metabólica, ocorrendo, por exemplo, nesta fase sua brotação, floração e frutificação. Enquanto que no período de seca a planta tende a apresentar o silenciamento de algumas funções para a sobrevivência da espécie. Esta variação na síntese de metabólitos secundários, afetada por condições ambientais representa uma interface química entre a planta e o ambiente circundante (QUIRINO, 2006; KUTCHAN, 2001)

Macedo et al. (2013) também verificou uma maior produção de flavonoides no período correspondente ao verão no extrato etanólico das folhas de *Davilla rugosa* Poir, assim como na resina de *Heliotropium stenophyllum* no trabalho de Modak et al. (2011).

5.3 COMPOSTOS ISOLADOS

5.3.1 Identificação de Ti-1

O constituinte químico codificado como Ti-1 apresentou-se como um sólido branco e amorfo, solúvel em piridina.

No espectro de IV (Figura 10), é possível observar banda de absorção em 3400 cm^{-1} característica de estiramento de ligação O-H de hidroxila, bandas em $2958\text{-}2868\text{ cm}^{-1}$ sugestivas de estiramento simétrico e assimétrico de ligações C-H de carbonos sp^3 , e em 1462 e 1379 cm^{-1} bandas características de deformação angular no plano de grupos CH_2 e CH_3 , respectivamente, também foram observadas

duas bandas de média intensidade em 1075 e 1024 cm^{-1} , sugestivas de estiramento da ligação C-O de álcool.

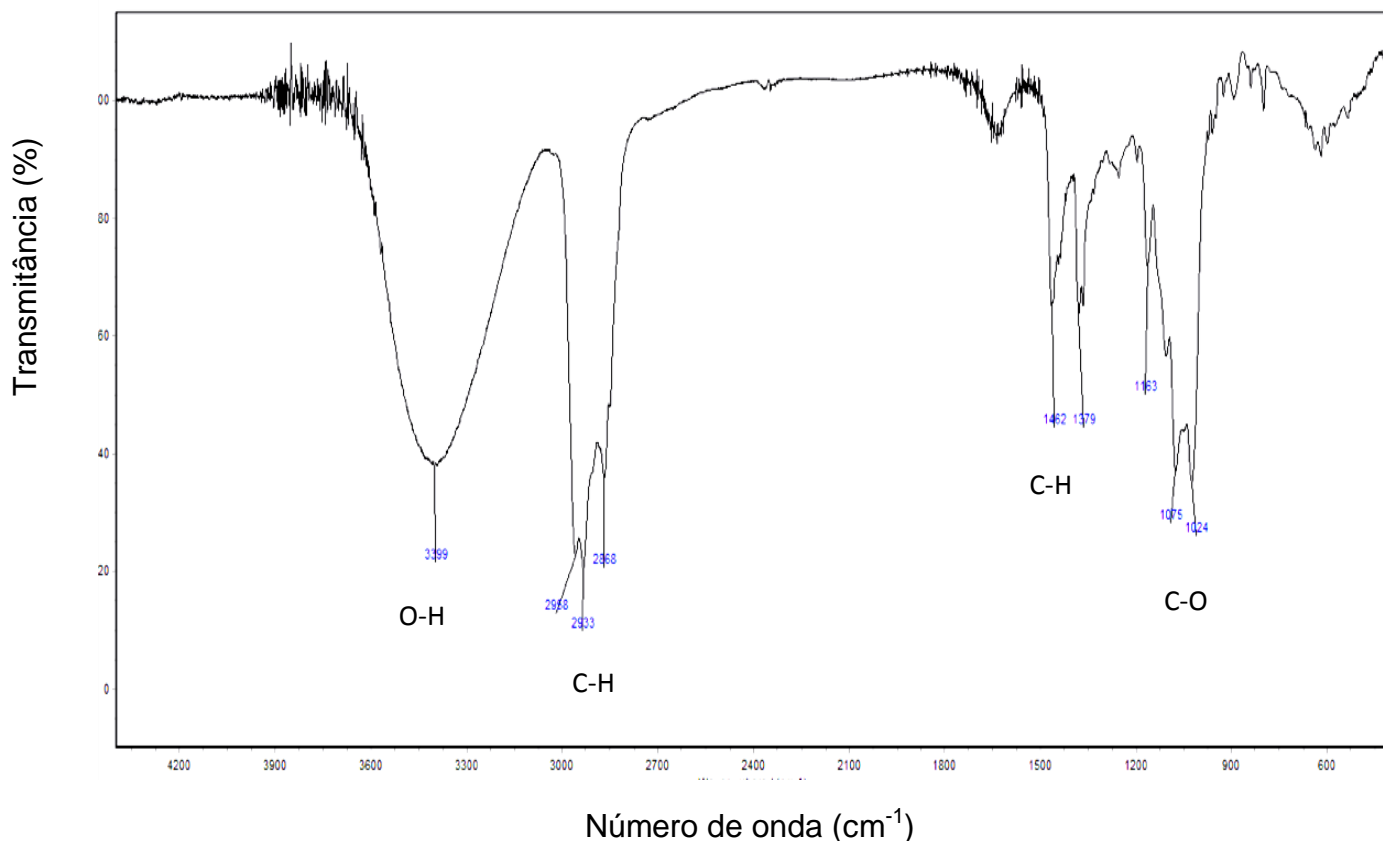


Figura 103. Espectro na região do IV de β -sitosterol-3-O-glicosídeo (KBr)

No espectro de RMN de ^1H (δ , Piridina- d_5 500 MHz), (figura 12) Foi possível visualizar um sinal em δ_{H} 5,35 (dd, $J = 1,6$ e $3,5$ Hz, 1H), característico de hidrogênio ligado a carbono sp^2 . O sinal em δ_{H} 5,06 (sl, 1H), aliado aos sinais em δ_{H} 4,59 (dl, $J=11,1$ Hz, 1H), 4,41 (m, 1H), 4,29 (m, 2H), 4,07 (m, 1H) sugerem a presença de uma unidade osídica na molécula, conforme trabalhos de Fico et al, 2001, Kojima et al, 1990 e Silva et al, 2006. Foram observados ainda a presença dos sinais em δ_{H} 3,98 (m, 1H), δ_{H} 2,74 (m, 1H) e δ_{H} 2,47 (m, 1H) e um envelope de sinais entre δ_{H} 2,15-0,66, sugestivos de núcleo esteroidal (figura 13).

No espectro de ^{13}C pela técnica *Broad Band* (BB), (δ , Piridina- d_5 125 MHz), (figura 14) foram visualizados 35 sinais, sendo 3 para carbonos não hidrogenados (δ_{C} , 141,2; 37,2; 42,8), 14 sinais para carbonos metínicos (δ_{C} 78,4; 122,2; 32,5; 50,6; 57,1; 56,5; 36,7; 46,4; 102,8; 75,7; 78,9; 72,0; 78,8; 29,8), 12 sinais referentes a carbono do tipo metilênicos (δ_{C} 37,8; 30,0; 40,7; 32,4; 21,6; 39,7; 24,8; 28,9; 34,5; 26,7;

23,7;63,1), 6 sinais para carbonos metílicos (δ_c 12,3; 19,3; 19,5; 20,3; 19,7; 12,5). Os sinais em δ_c 141,2 e 122,2, são sugestivos das posições 5 e 6 da estrutura de um β -sitosterol (tabela 8) (RAGASA; CORNELIO, 2013).

No mapa de cotorno HMQC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) foi possível visualizar as correlações diretas de: δ_H 5,35/ δ_c 122,2; δ_H 3,98/ δ_c 78,4; δ_H 5,06/ δ_c 102,8 e δ_H 2,74/ δ_c 39,6 sugestivos dos hidrogênios ligados a carbono nas posições 6, 3, 1'e 4 (figura 15). No mapa de cotorno no HMBC (^1H e ^{13}C), foram visualizadas as correlações: δ_H 5,35/ δ_c 39,6; δ_H 3,98/ δ_c 102,8; δ_H 5,06/ δ_c 78,4 e δ_H 2,74/ δ_c 78,4; 102,8; 122,2; 141,2 para os carbonos 1', 3, 5 e 6, respectivamente e a presença da glicose ligada ao C-3 (figura 16).

Essas correlações em conjunto com os dados da literatura (SOARES, 2015) confirmam a molécula de β -sitosterol-3-O-glicosídeo (figura 11).

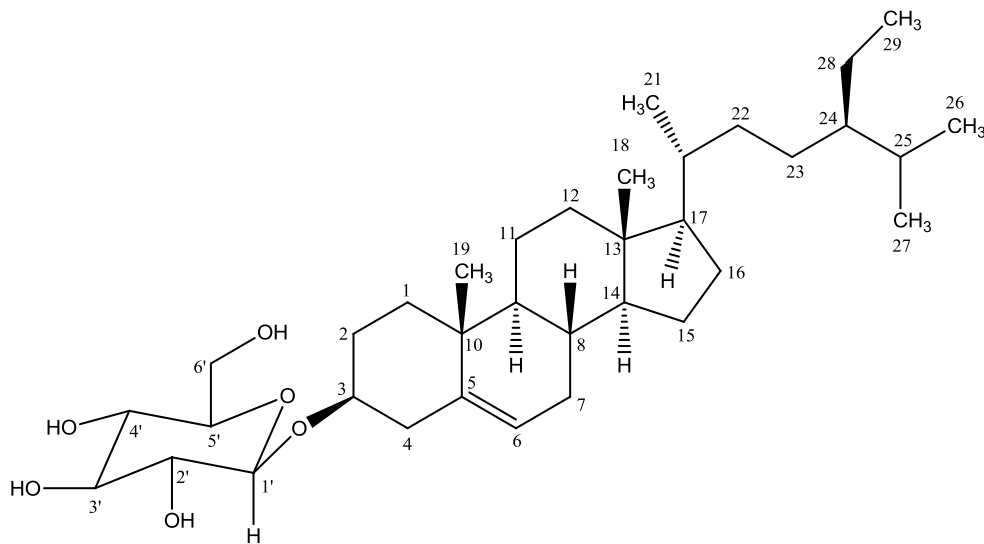


Figura 4. β -sitosterol-3-O-glicosídeo

Tabela 8. Atribuições dos sinais de ^{13}C para molécula Ti-1

Carbono	β-sitosterol-3-O glicosídeo (Ti-1) (ppm)	Referencia (SOARES, 2015)	
1	CH ₂	37,8	37,5
2	CH ₂	30,5	26,4
3	CH	78,4	75,3
4	CH ₂	40,7	40,0
5	C	141,2	140,9
6	CH	122,2	121,9
7	CH ₂	32,4	32,1
8	CH	32,5	32,2
9	CH	50,6	50,4
10	C	37,2	36,9
11	CH ₂	21,6	21,3
12	CH ₂	39,7	39,3
13	C	42,8	42,5
14	CH	57,1	56,8
15	CH ₂	24,8	24,5
16	CH ₂	28,9	28,6
17	CH	56,5	56,3
18	...CH ₃	12,3	12,0
19	CH ₃	19,3	19,0
20	CH	36,7	36,4
21	CH ₃	19,5	19,2
22	CH ₂	34,5	34,2
23	CH ₂	26,7	26,4
24	CH	46,4	46,1
25	CH	29,8	29,5
26	CH ₃	20,3	20,0
27	CH ₃	19,7	19,4
28	CH ₂	23,7	23,4
29	CH ₃	12,5	12,2
1'	CH	102,8	102,6
2'	CH	75,7	75,4
3'	CH	78,4	78,7
4'	CH	72,0	71,7
5'	CH	78,8	78,5
6'	CH ₂	63,1	62,8

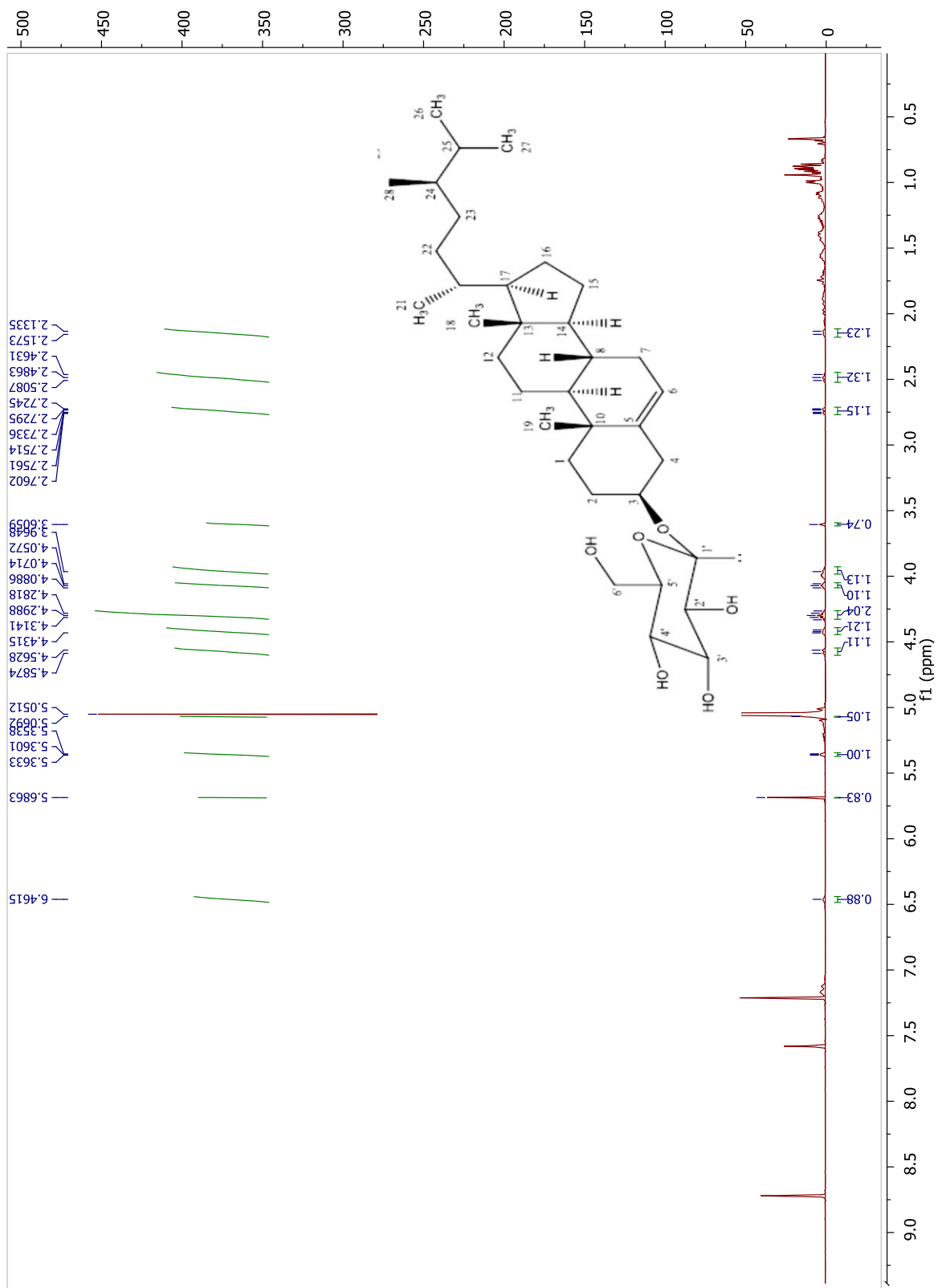


Figura 5. Espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) do Ti1

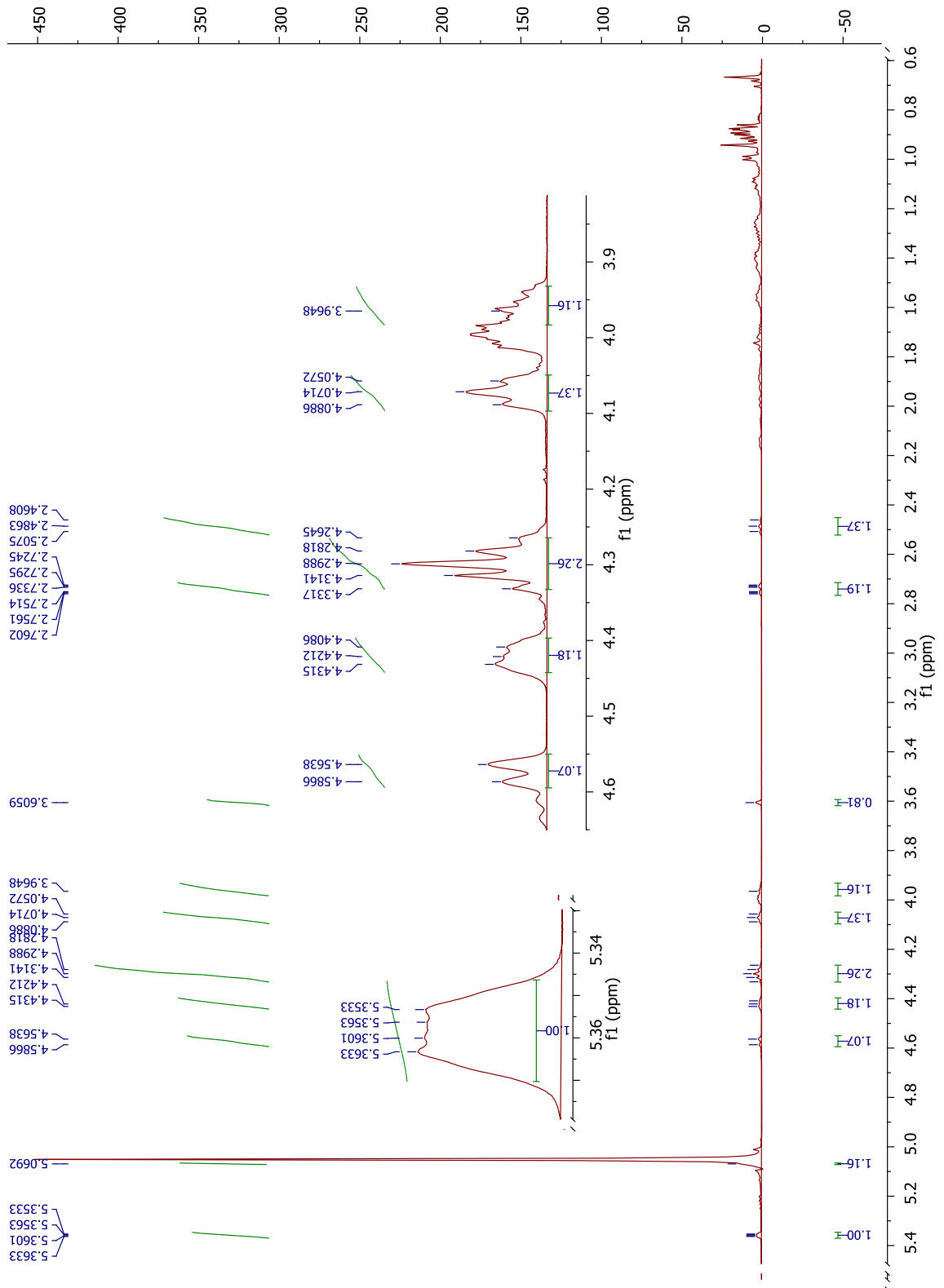


Figura 6. Expansão do espectro de RMN de ^1H (piridina- d_5 , 500 MHz) de Ti-1

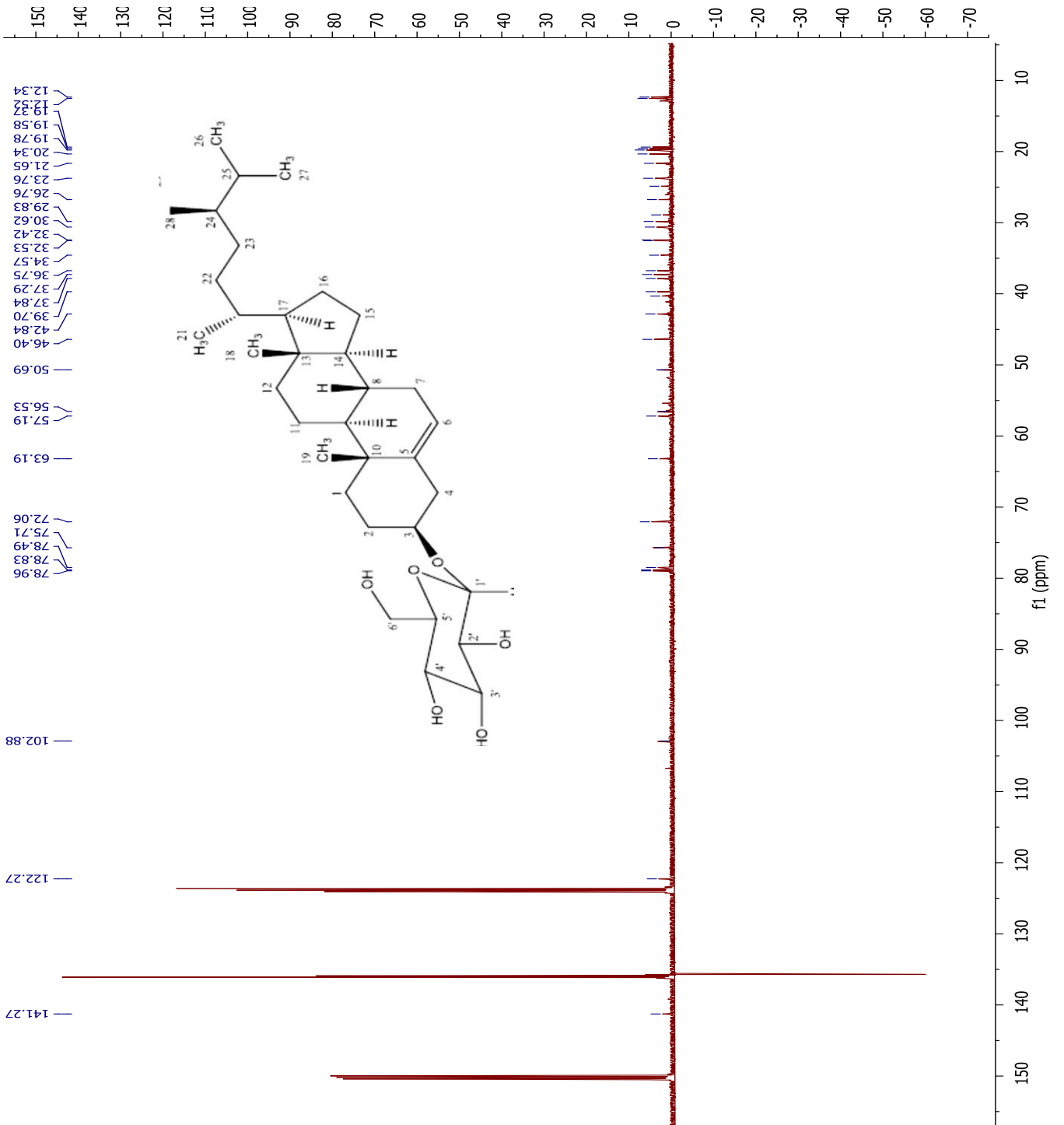


Figura 7. Espectro de RMN de ^{13}C (piridina- d_5 , 125 MHz) de Ti1

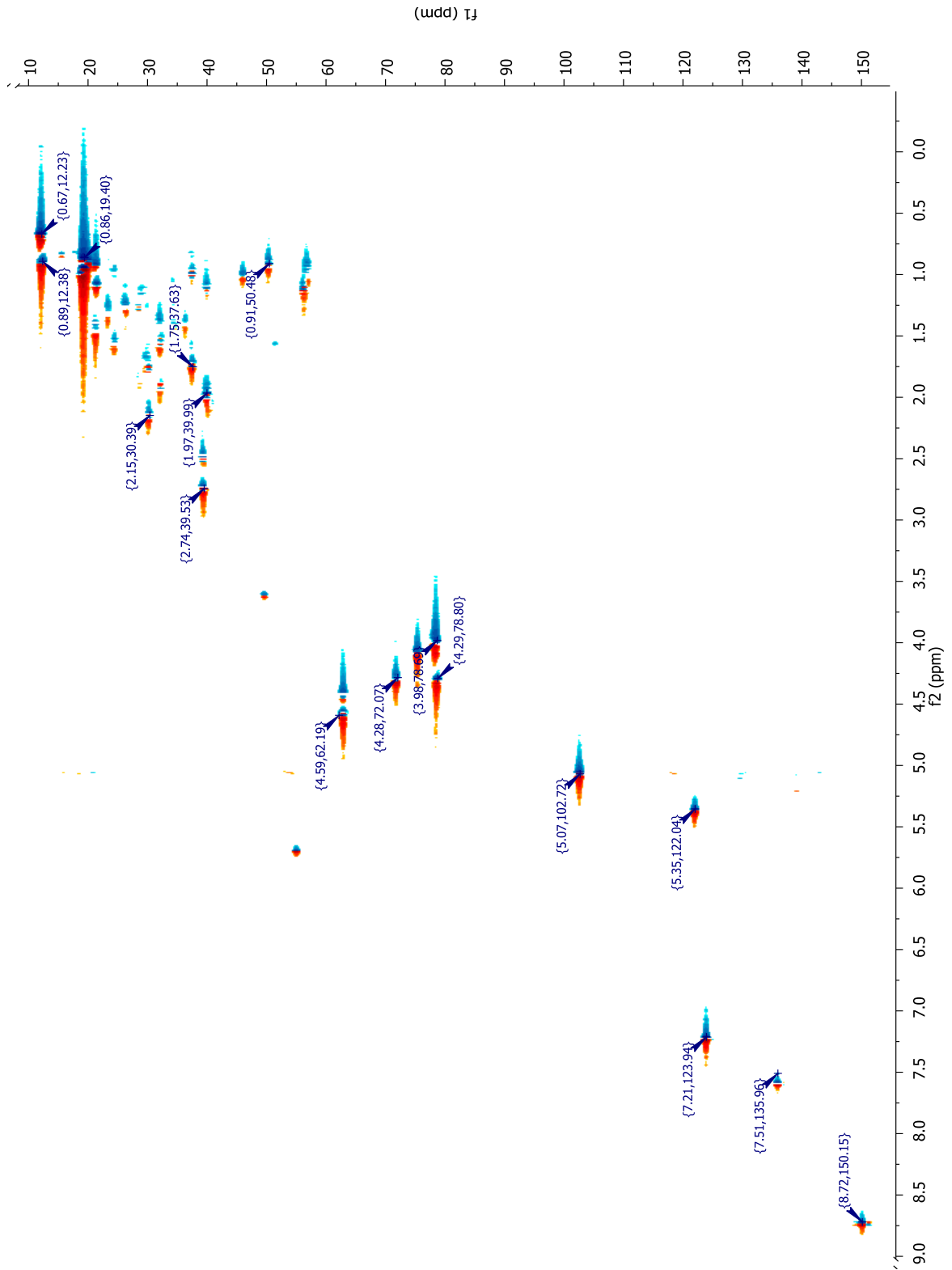


Figura 8. Expansão do mapa de contorno HMQC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-1

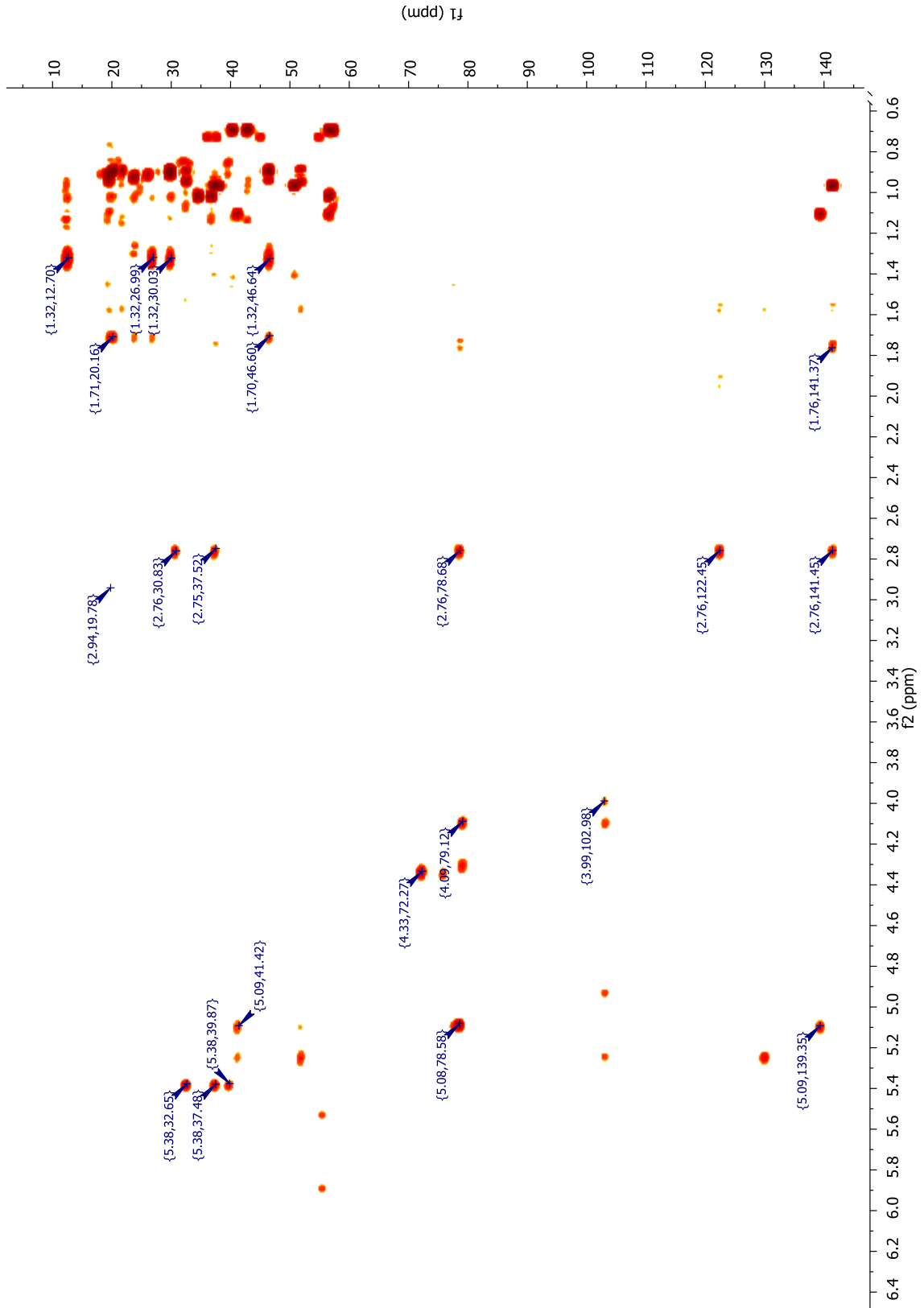


Figura 16. Expansão do mapa de contorno HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-1

5.3.2 Identificação de Ti 2

O composto codificado como Ti-2 apresentou-se como um sólido amarelo, amorfo, solúvel em acetona.

No espectro na região do IV (figura 17) é possível observar banda de absorção em 3406 cm^{-1} característica de estiramento da ligação N-H, de amida monosubstituída, bandas em 2929 cm^{-1} características de estiramento C-H. Em 1653 cm^{-1} há uma banda característica de grupamento carbonila. O espectro também mostrou bandas em 1591 cm^{-1} e 1513 cm^{-1} , características de estiramento C=C. Também foi observada vibrações de estiramento características de ligação C-O em 1273 cm^{-1} .

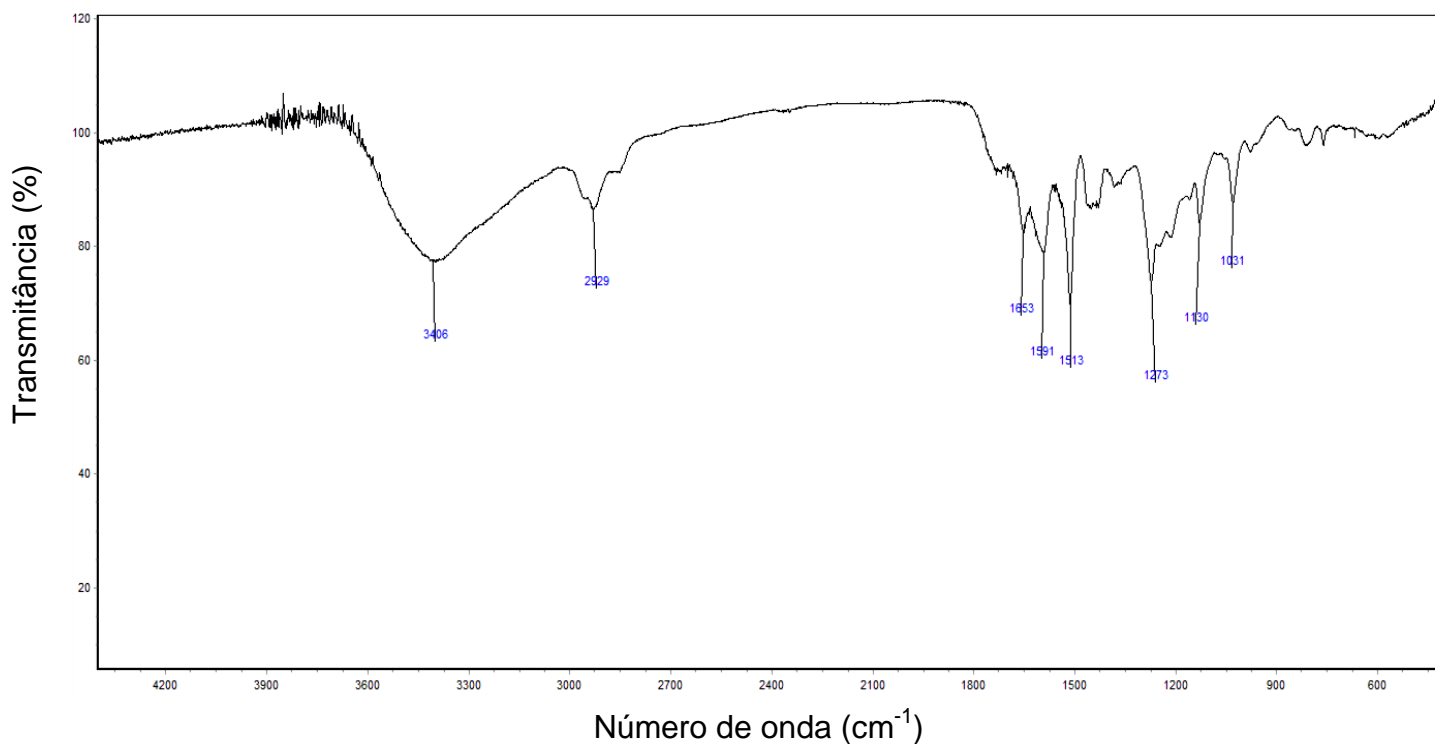


Figura 97. Espectro na região do IV de Ti2 (KBr)

No espectro de RMN de ^1H (δ , Acetona- d_6 , 500 MHz), (figura 19), foi possível visualizar dois sinais, o primeiro em δ_H 6,49 (*d*, $J=15,6$ Hz, 1H) e o segundo em δ_H 7,44 (*d*, $J=15,6$ Hz, 1H) sugestivos de hidrogênios vinílicos, com estereoquímica *trans* (PAVIA et. al., 2012). Foram visualizados sinais em δ_H 7,02 (*dd*, $J=2,1$ e 8,3 Hz, 1H), δ_H 6,76 (*d*, $J=8,3$ Hz, 1H) e δ_H 7,15 (*d*, $J=1,9$ Hz, 1H) característicos de anel aromático trissubstituído. Foram observados também sinais em 2,72 (*t*, $J=7,3$ Hz, 2H), e δ_H 3,48 (*m*, 2H) (figura 20). Os sinais em δ_H 6,73 (*d*, $J=2,2$ Hz, 1H), 6,66

(*dd*, $J=2,1$ e $8,1$ Hz, 1 H) e $6,83$ (*d*, $J=8,1$ Hz, 1H) sugestivos de um segundo anel aromático trissubstituído (figura 20 e 23).

No espectro de ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 125 MHz), pela técnica *Broad Band* (figura 24), foram visualizados 21 sinais, sendo 7 deles para carbonos não hidrogenados (δ_c 128,3; 166,4; 133,5; 148,6; 149,1; 147,4 e 147,4) (figura 23). 8 sinais para carbonos metínicos (δ_c 111,2; 112,5; 115,2; 116,0; 120,0; 120,4; 140,3; 122,5), 2 sinais para carbonos metilênicos (δ_c 35,7 e 41,7) e 4 sinais para carbonos metílicos (δ_c 56,2; 56,2; 56,3; 56,3) (figura 25 e 26),

No espectro do mapa de contorno HMQC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) (figura 27), foi possível visualizar as correlações entre δ_H 7,43/ δ_c 140,3 e δ_H 6,49/ δ_c 120,0 e de δ_H 7,02/ δ_c 122,4, δ_H 6,76/ δ_c 114,6 e δ_H 7,15/ δ_c 111,1 sugestivos para as posições 7,8,6,5 e 2, respectivamente. Foram observados acoplamentos entre δ_H 3,48/ δ_c 41,52; δ_H 2,72/ δ_c 35,7; δ_H 6,73/ δ_c 116,4; δ_H 6,66/ δ_c 120, e δ_H 6,83/ δ_c 116,0 correlacionados as posições 8',7',3',6' e 5' respectivamente (figura 28).

No mapa de cotorno a longa distância (^1H e ^{13}C), técnica HMBC (figura 29), foram visualizadas as correlações δ_H 7,43/ δ_c 122,5; 111,3 e 166,5 e δ_H 6,48/ δ_c 128,3; 166,5, confirmando δ_H 7,43 e 6,49 para as posições 7 e 8, além da presença da carbonila no carbono 9, corroborada pelo acoplamento de δ_H 3,48/ δ_c 166,3. As correlações de δ_H 7,02/ δ_c 140,3 e 149,1; δ_H 6,76/ δ_c 128,3 e 147,6; δ_H 7,15/ δ_c 122,4; 140,3 e 149,7 confirmam δ_H 7,02, 6,76 e 7,15 para as posições 6,5 e 2, respectivamente na posição 5 (149,0) e 4 (147,6), vistas nas correlações de HMQC entre δ_H 3,86/ δ_c 56,2 e δ_H 3,89/ δ_c 56,2 e no HMBC de δ_H 3,86/ δ_c 149,1 e δ_H 3,89/ δ_c 147,6 (figura 30).

As correlações de δ_H 3,48/ δ_c 133,5 e de δ_H 2,72/ δ_c 116, 4;120,5 e 133,5 vistos no HMBC, confirmam δ_H 3,48 e 2,72 para as posições 8' e 7' e reforçam δ_c 133,5,116,4 e 120,5 para os carbonos 1',2' e 6', respectivamente, sendo estas posições reforçadas pelas correlações δ_H 6,73/ δ_c 133,5 e 120,4 e δ_H 6,66/ δ_c 116,4; 35;7. Os sinais em δ_H 6,66 e 6,73 mostram correlação a longa distância com δ_c 146,9, o sinal em δ_H 6,83 com δ_c 133,5 e 147,4, que pelos acoplamentos no HMQC entre δ_H 3,79/ δ_c 56,2 e no HMBC entre δ_H 3,79/ δ_c 146,9, confirmam δ_H 6,83 para o H-4' e a metoxila em δ_H 3,79 para o C-4', a metoxila em δ_H 3,80 para o C – 3'.

A interpretação dos espectros de IV e de RMN de ^1H e ^{13}C , por técnicas uni e bidimensionais, aliados aos dados da literatura (tabela 9) (ADESINA e REISCH

1988; BACKES et al., 2015) permitiram identificar Ti-2 como sendo *N-trans-feruloyl* 4-*O*-metildopamina (figura 18).

Este composto já foi encontrado na espécie *Chenopodium album* (Amaranthaceae), mas isolada pela primeira vez no gênero *Tacinga* e na espécie *T. inamoena*.

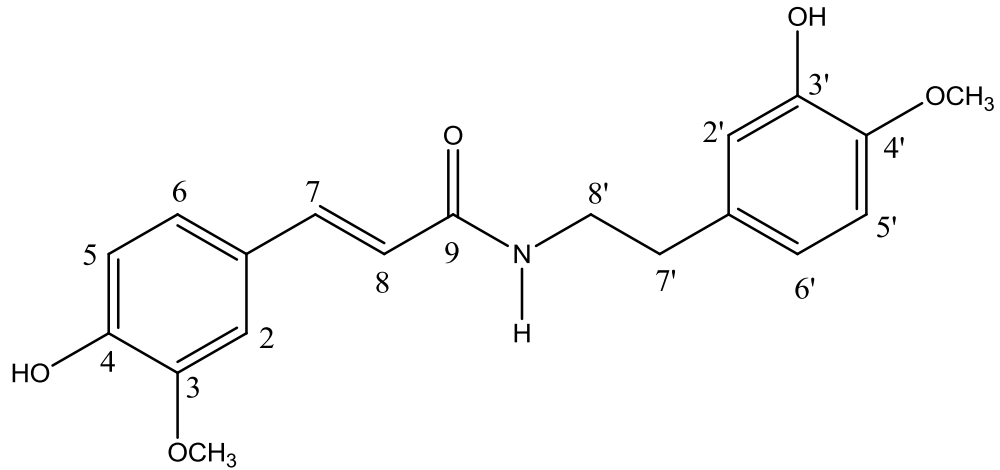
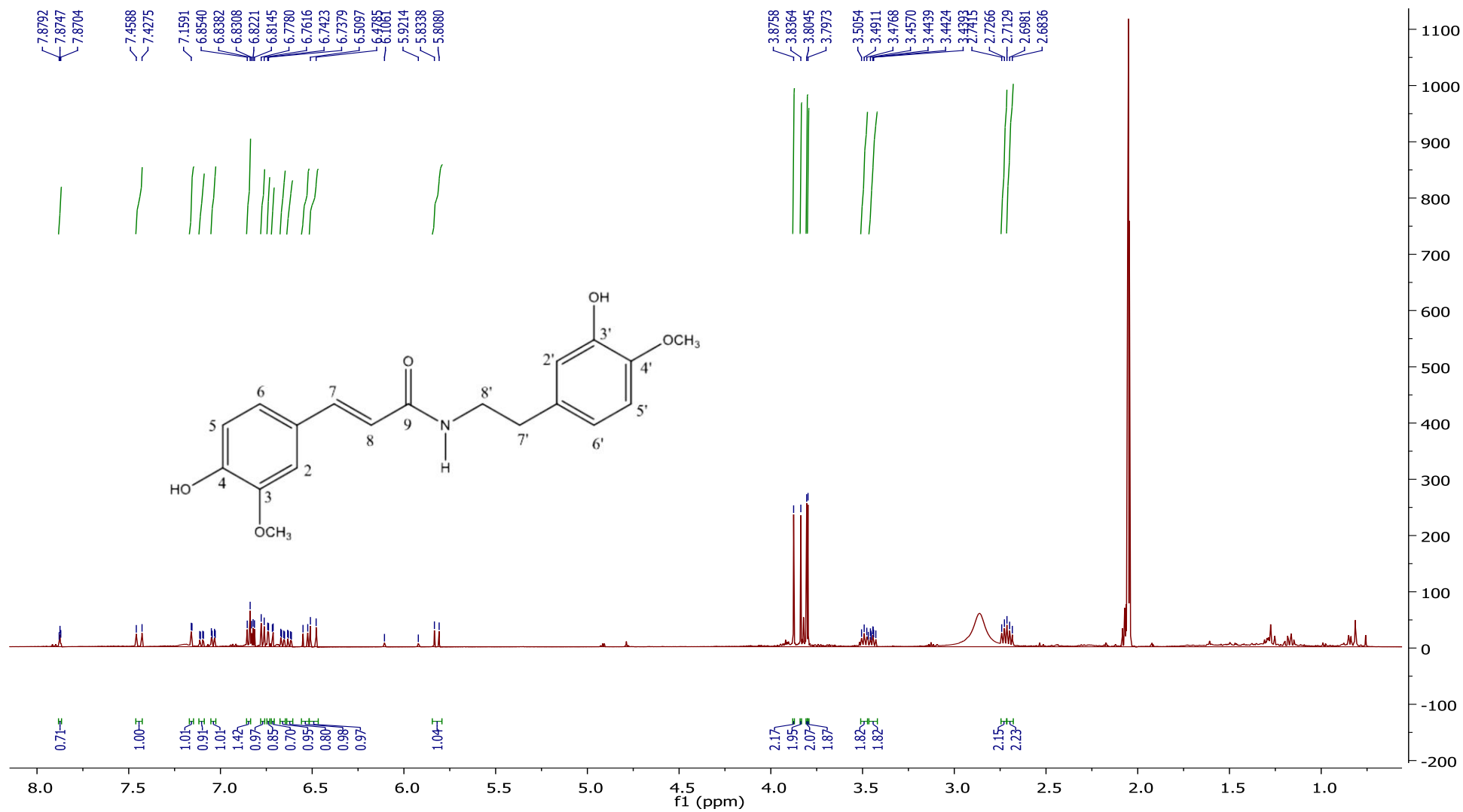


Figura 108. *N-trans-feruloyl* 4-*O*-metildopamina

Tabela 9. Dados comparativos com a literatura dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto Ti-2

<i>N-trans-feruloyl 4-O-metildopamina</i>			Cutillo et al. 2003		Horio et al. 1993
	$\bar{\delta}_C$	$\bar{\delta}_H$		$\bar{\delta}_C$	$\bar{\delta}_H$
1	128,3	-	1	127.3	-
2	111,1	7,15 (d, $J=1,9$ Hz)	2	109.7	7.16 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H)
3	147,6	-	3	146.8	-
4	149,1	-	4	145.4	-
5	114,6	6,76 (d, $J=8,2$ Hz)	5	114.8	6.83 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H)
6	122,4	7,02 (dd, $J=2,1$ e 8,4 Hz, 1H)	6	122.1	7.04(dd, $J=1.9$ e 8.2Hz, 1H)
7	140,3	7,43 (d, $J=15,6$ Hz, 1H)	7	141.1	7.44 (d, $J= 15.6$ Hz, 1H)
8	120,0	6,49 (d, $J=15,6$ Hz, 1H)	8	118.2	6.50 (d, $J=15.6$ Hz, 1H)
9	166, 4	-	9	166.4	-
1'	133,5	-	1'	132.1	-
2'	116,4	6,71(d, $J=2,1$ Hz, 1H)	2'	115.0	6.74 (d, $J=2.1$ Hz, 1H)
3'	148,6	-	3'	145.4	-
4'	146,9	-	4'	145.7	-
5'	116,0	6,83 (d, $J=8,1$ Hz)	5'	110.9	6.85 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H)
6'	120,0	6,66 (dd, $J=2,1$ e 8,1 Hz, 1H)	6'	120.2	6.66 (dd, $J= 2.1,$ 8.1 Hz, 1H)
7'	35,7	2,72 (t, $J=7,3$ Hz, 2H)	7'	34.9	2.73 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H)
8'	41,7	3,49 (m, 2H)	8'	40,8	3.50 ($J=7.3$ Hz, 2H),
OCH3	56,2/56,2/56,3/56,3	3,79;3,80;3,83;3,87 (s)	OCH3	55.9; 56,0	3.81 (s, 3H); 3.88 (s, H)

Figura 19. Espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2

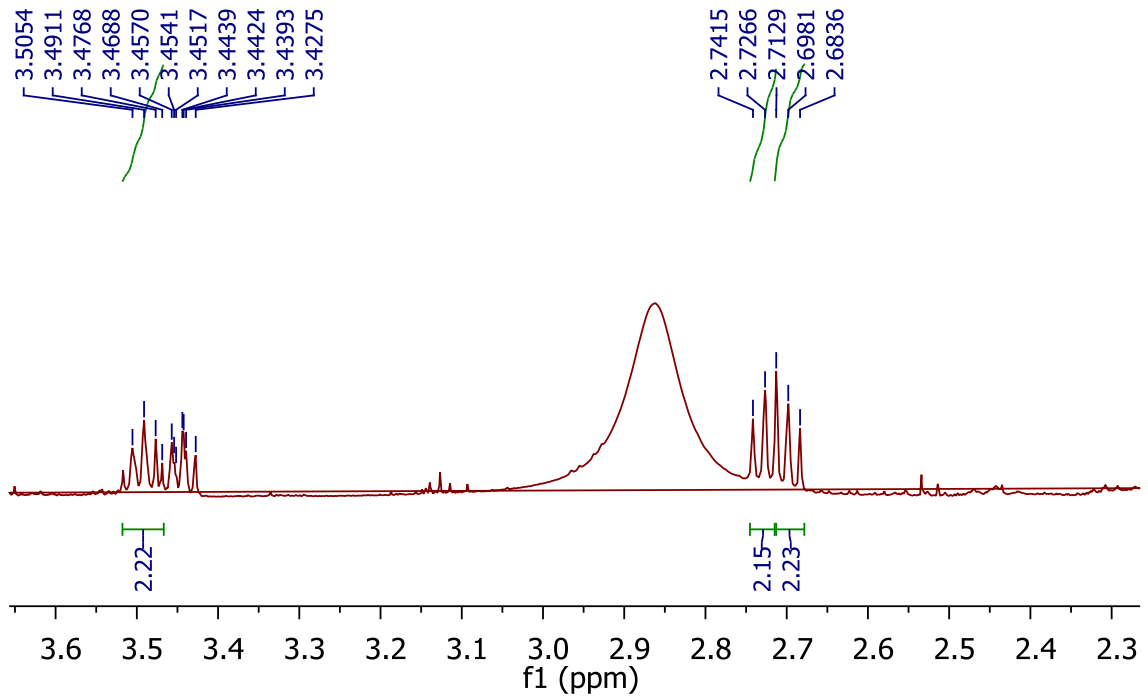


Figura 20. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2 na região de 2,3 a 3,6 ppm

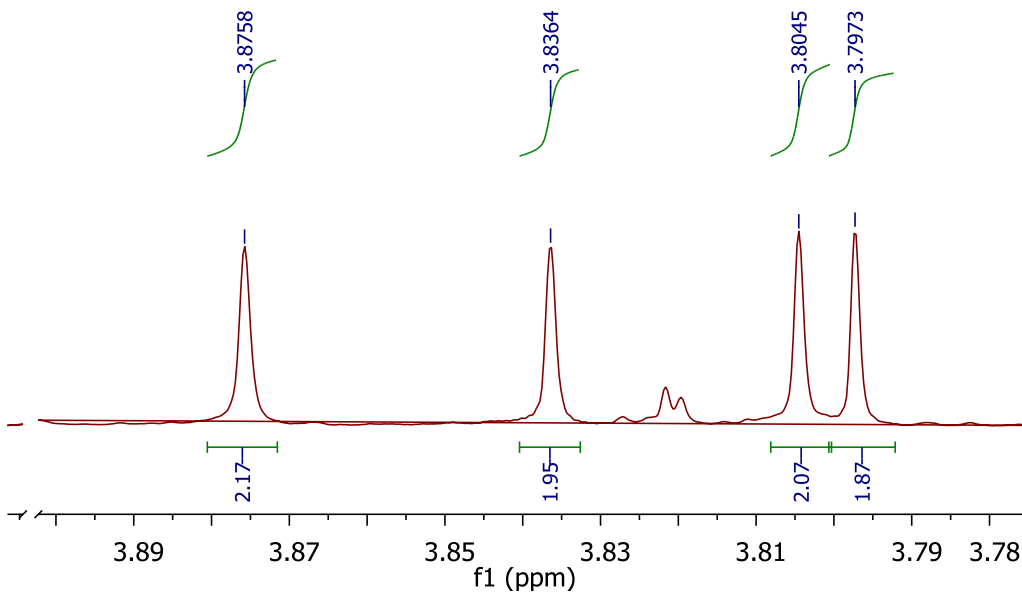


Figura 21. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2 na região de 3,7a 3,8 ppm

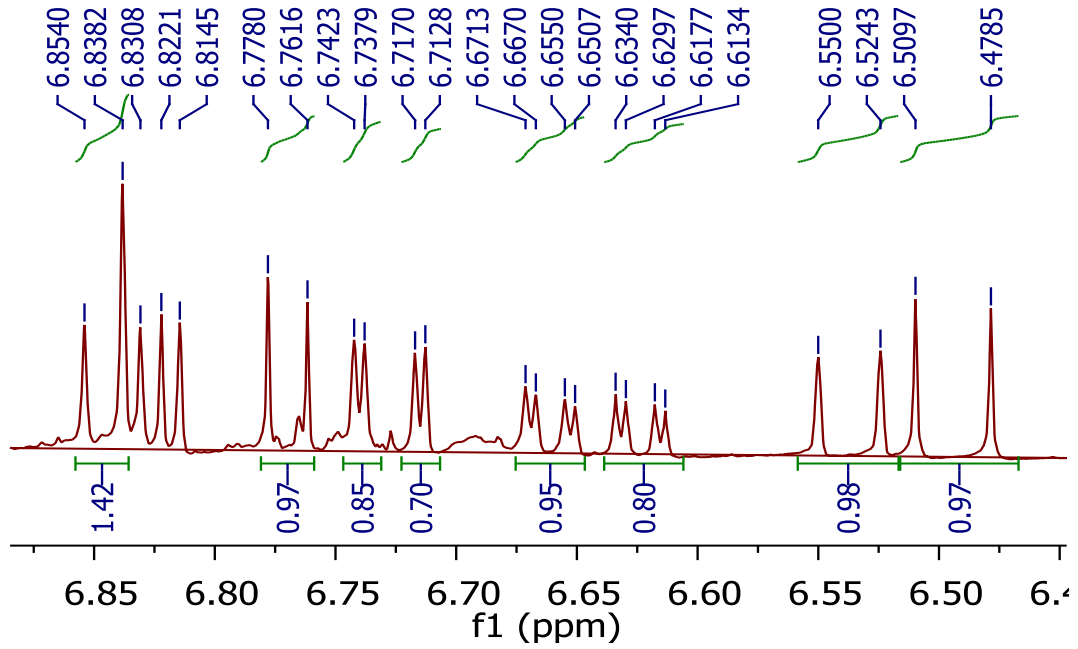


Figura 22. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2 na região de 6,4 a 6,8 ppm

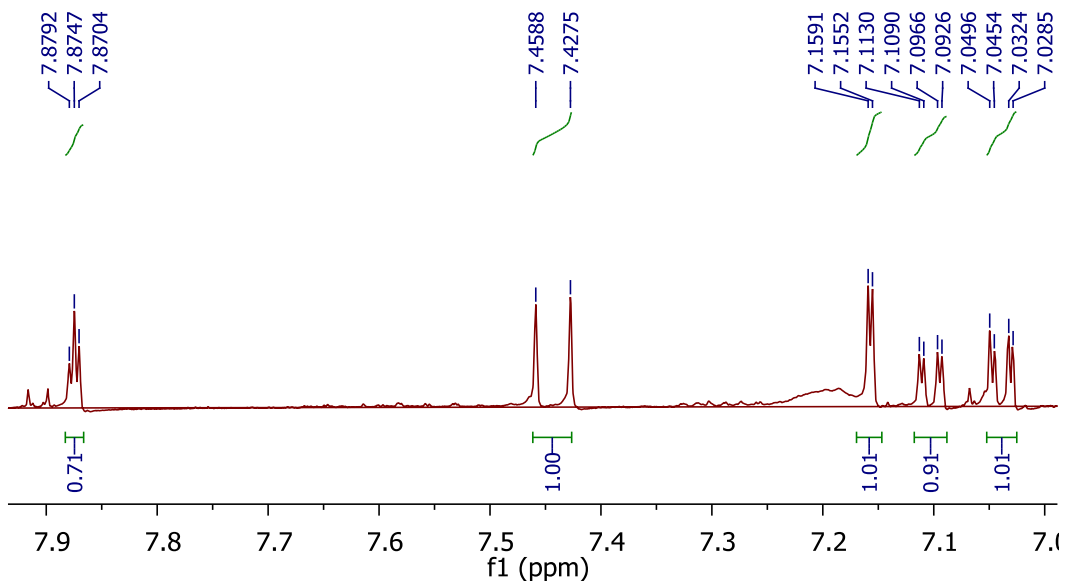


Figura 23. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-2 na região de 7,1 a 7,9 ppm

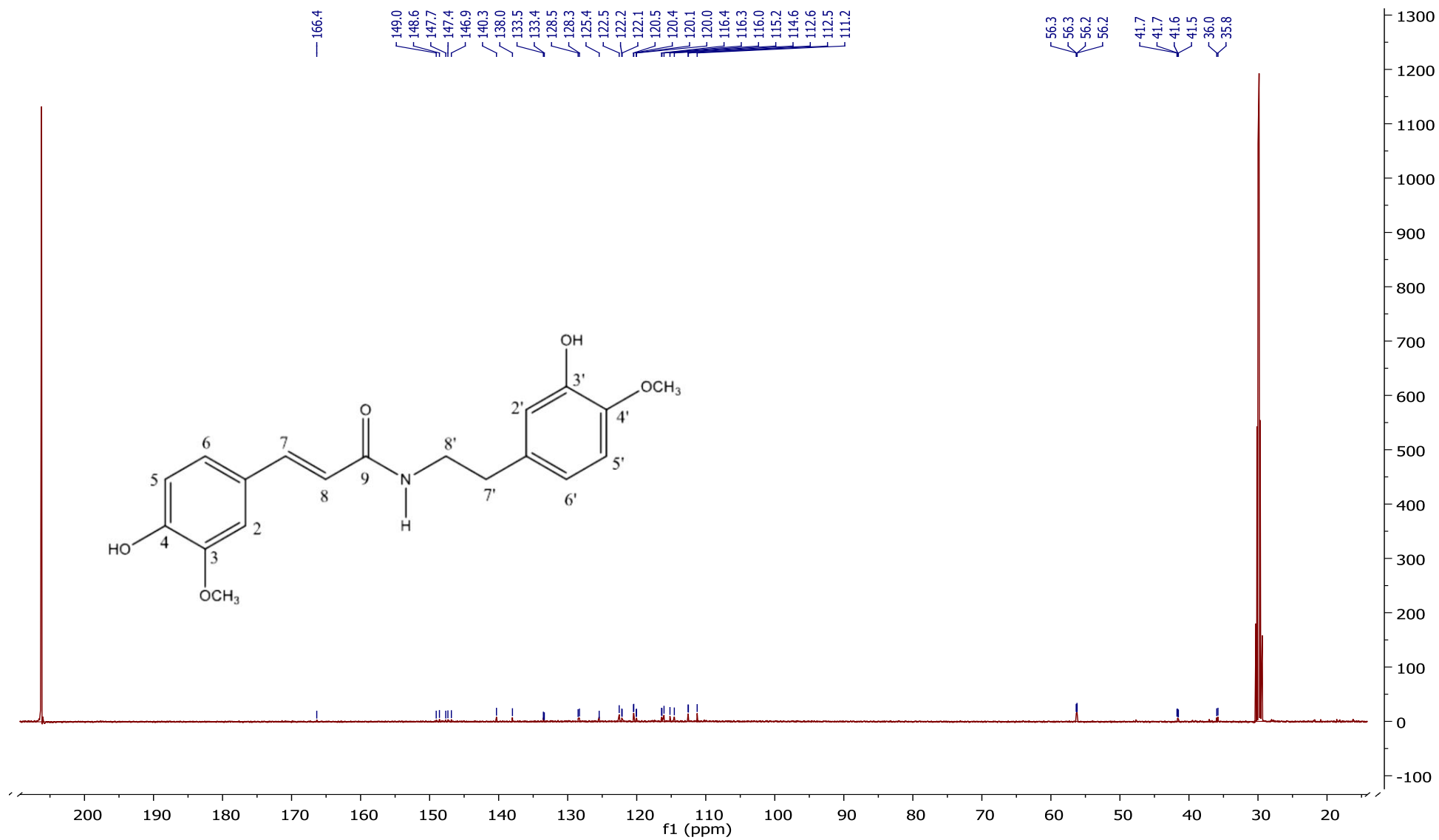


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-2

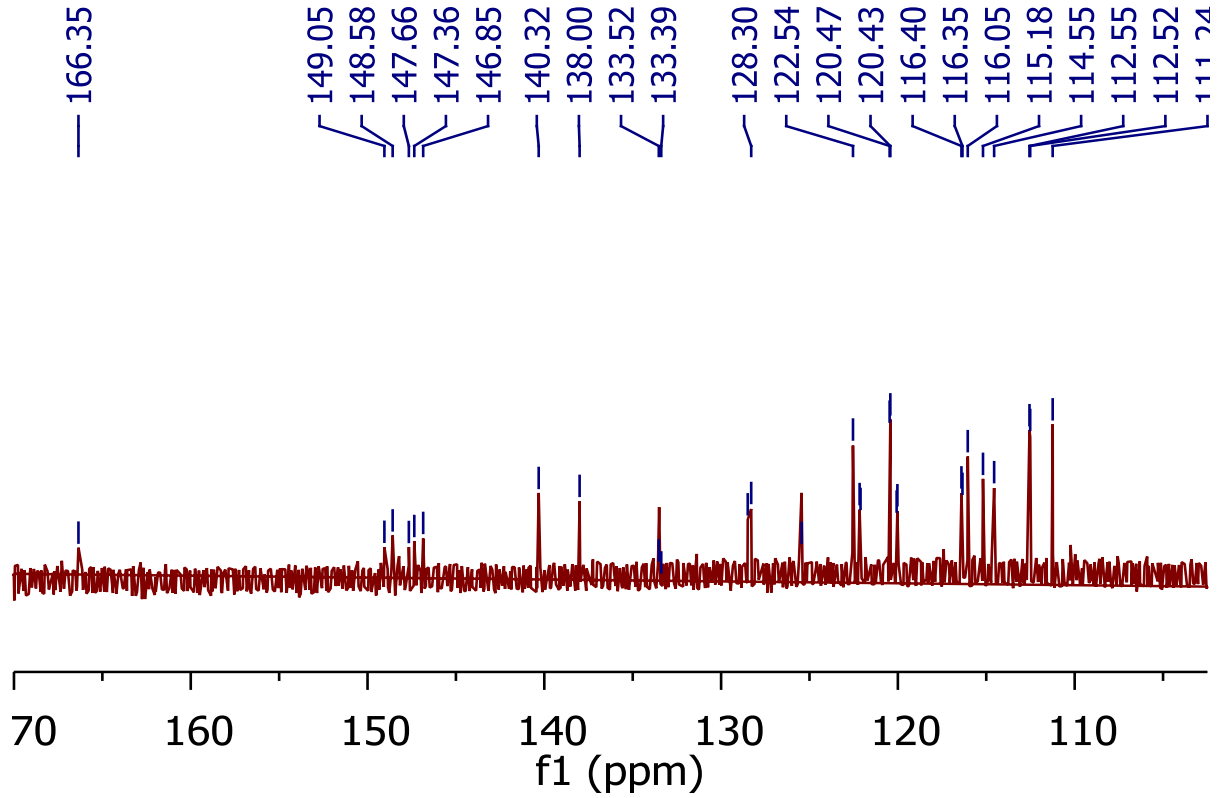


Figura 2511. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-2

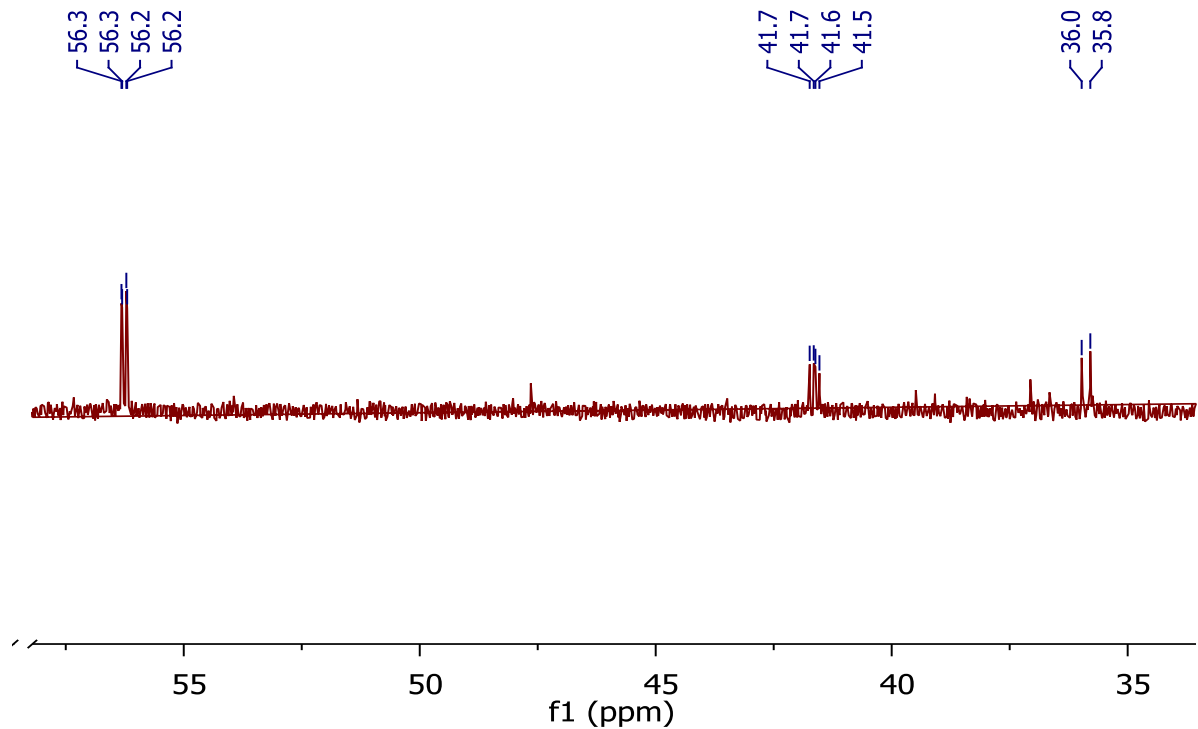


Figura 2612. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-2

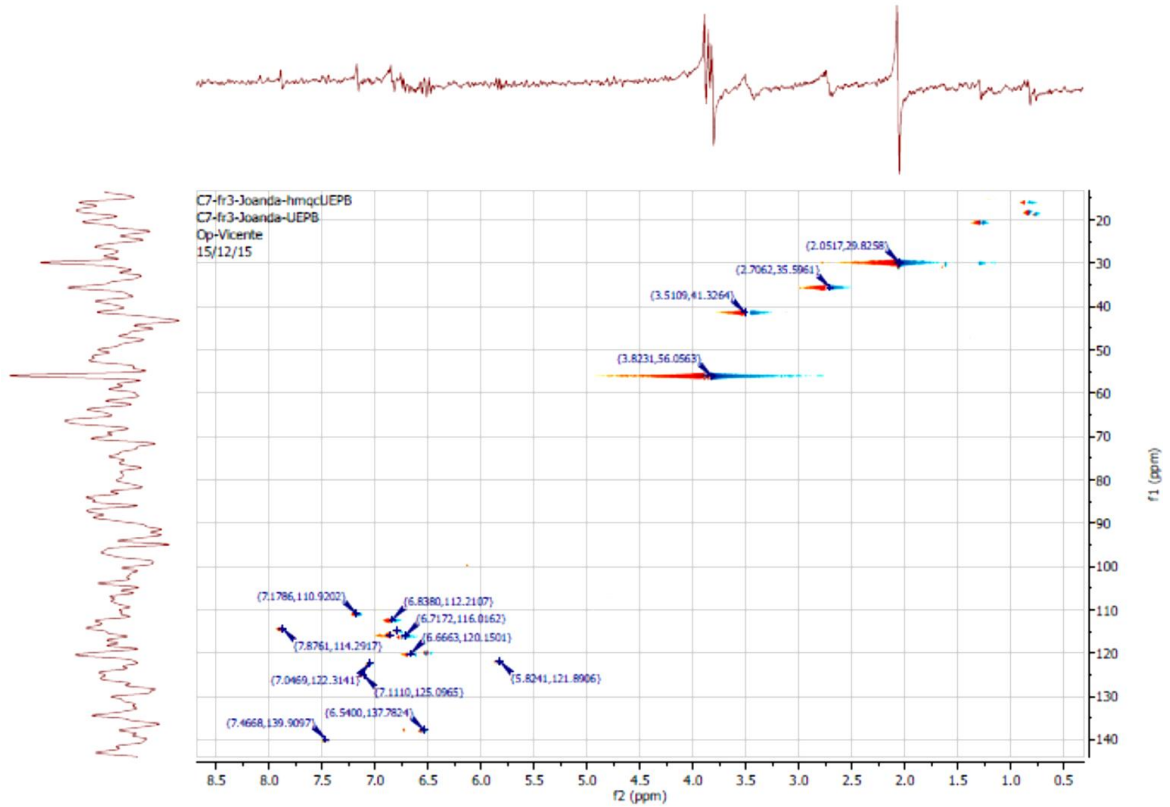


Figura 27. Mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-2

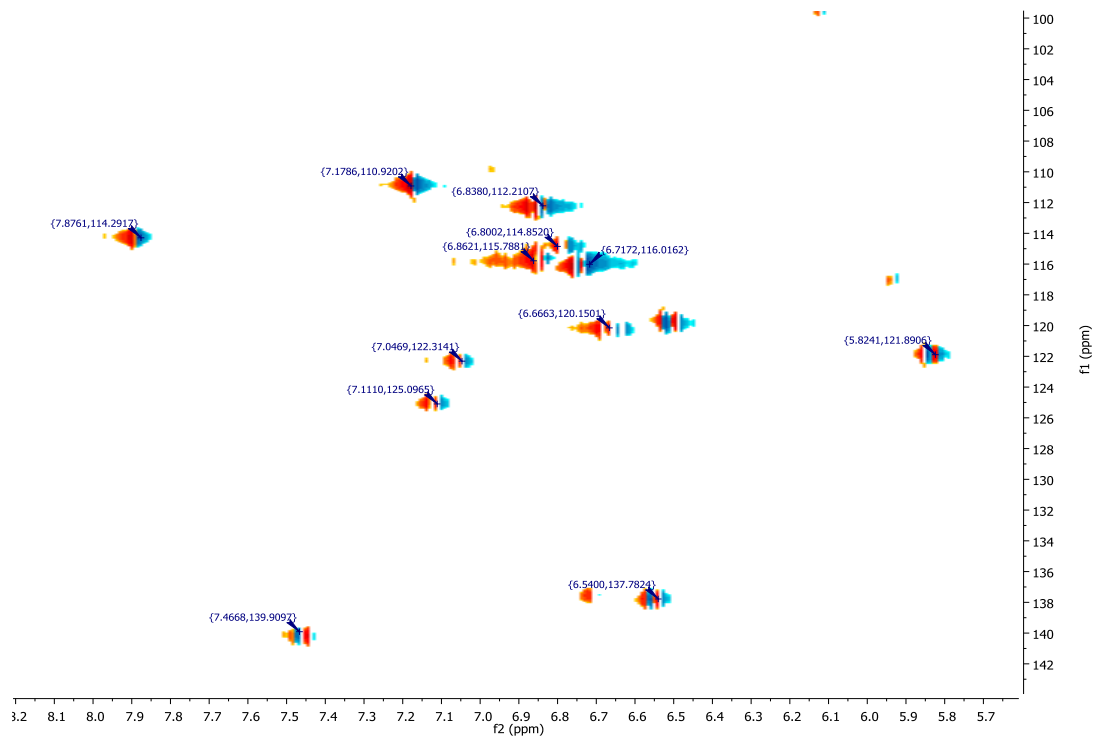


Figura 28. Expansão do mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-2

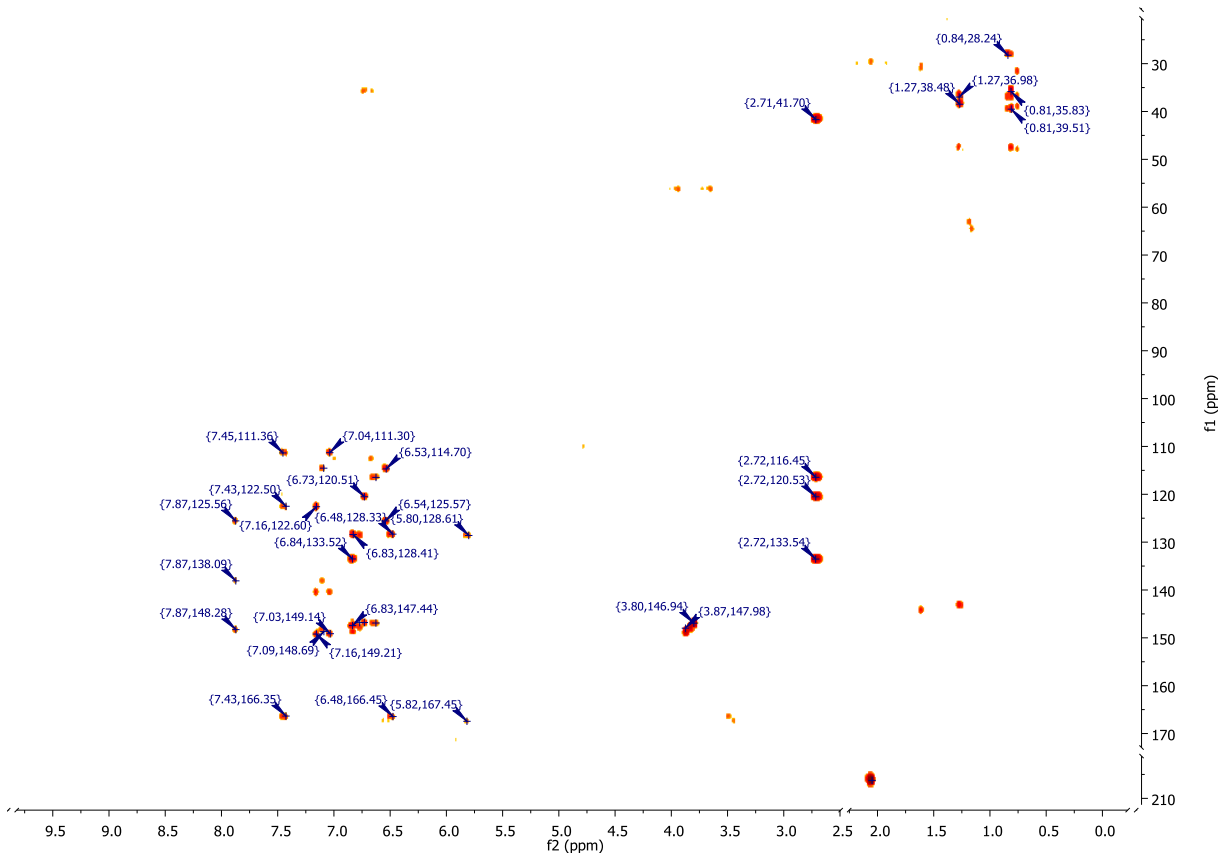


Figura 29. Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-2

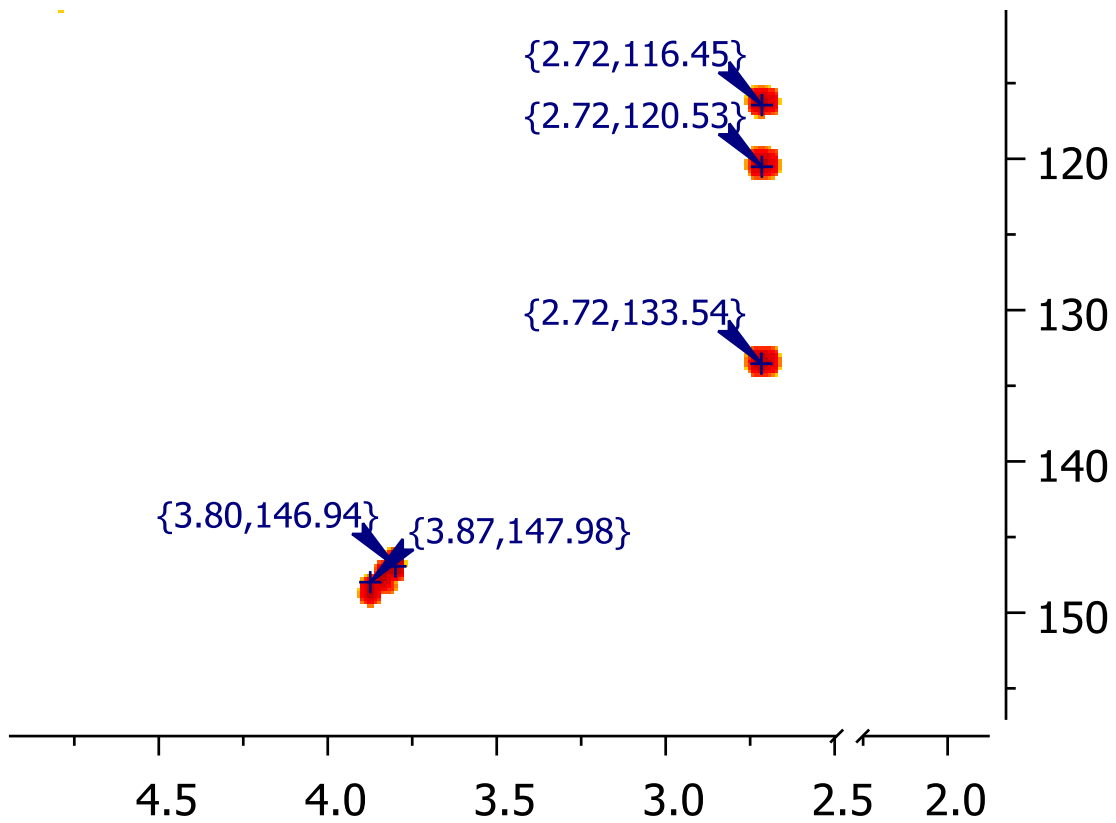


Figura 30. Expansão do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-2

5.3.3 Identificação de Ti-3

O composto codificado como Ti-3 apresentou-se como um sólido amarelo, amorfo, solúvel em acetona.

No espectro de RMN de ^1H (δ , Acetona- d_6 , 500 MHz) (figura 32), foi possível visualizar os sinais δ_{H} 5,82 (d, $J=12,9$ Hz, 1H) e δ_{H} 6,53 (d, $J=12,9$ Hz, 1H) (figura 31), sugestivos de hidrogênios vinílicos, com estereoquímica *cis* (PAVIA et al., 2012). Foram observados os sinais em δ_{H} 7,87 (m, 1H), δ_{H} 6,82, (d, $J=7,9$ Hz, 1H) e δ_{H} 7,09 (dd, $J= 2,0$ e $8,0$ Hz, 1H), característicos de anel aromático com 3 substituições, foram observadas também sinais em δ_{H} 6,63 (dd, $J=2,1$ e $8,1$ Hz, 1H), δ_{H} 6,71 (d, $J= 2,1$ Hz, 1H) e 6,82 (d, $J=7,9$ Hz, 1H) (figura 33), sugestivos de um segundo anel aromático trissubstituído (figura 33-35).

No espectro de ^{13}C (δ , Acetona- d_6 , 125 MHz), pela técnica BB (figura 36), foram visualizados 21 sinais, sendo 7 deles para carbonos não hidrogenados (δ 128,3;133,4;148,5;149,0;146,8;147,3;166,3), 8 sinais para carbonos metínicos (δ 116,33;116,0;120,4;138,0;122,1;114,5;116,4;125,4), 2 sinais para carbonos metilênicos (δ 35,9;41,5) e 4 sinais para carbonos metílicos (δ 56,1; 56,2; 56,3; 56;3).

O espectro do mapa de contorno HMQC (^1H e ^{13}C), observou-se as correlações entre δ_{H} 6,53/ δ_{C} 137,9, δ_{H} 5,82/ δ_{C} 121,89, δ_{H} 6,71/ δ_{C} 116,3 e δ_{H} 7,87/ δ_{C} 114,5 (figura 37), sugestivos para as posições 7, 8, 2' e 2.

No mapa de contorno a longa distância (^1H e ^{13}C), técnica HMBC (figura 38), foram visualizadas as correlações δ_{H} 7,87/ δ_{C} 125,6; 137,9; 148,3 e δ_{H} 6,71/ δ_{C} 120,5;146,8 confirmando 7,87 e 6,71 para as posições 2 e 2' respectivamente. As correlações em δ_{H} 6,82/ δ_{C} 147,4;133,4;128,3, indicam δ_{H} 6,82 para as posições 5 e 5' respectivamente, a correlação de δ_{H} 6,63 com δ_{C} 116,4;146,9 e δ_{H} 7,09/ δ_{C} 148,5;114,5 confirmam a posição δ_{H} 6,63 e δ_{H} 7,09 para as posições 6 e 6'. As correlações de δ_{H} 6,53/ δ_{C} 114,5; 120,5 e δ_{H} 5,82/128,3;166,35 indicam que δ_{H} 6,53 e 5,82 para as posições 7 e 8 respectivamente.

A interpretação dos espectros de IV e RMN de ^1H e ^{13}C , por técnicas uni e bidimensionais permitiram identificar Ti-3 como sendo *N-cis-feruloyl 4-O-metildopamina* (figura 31) (tabela 10), isolada pela primeira vez no gênero *Tacinga* e na espécie *Tacinga inamoena*. Sendo assim na fração da coluna 7, foram identificados a configuração *cis* e *trans* da *N-feruloyl 4-O-metildopamina*.

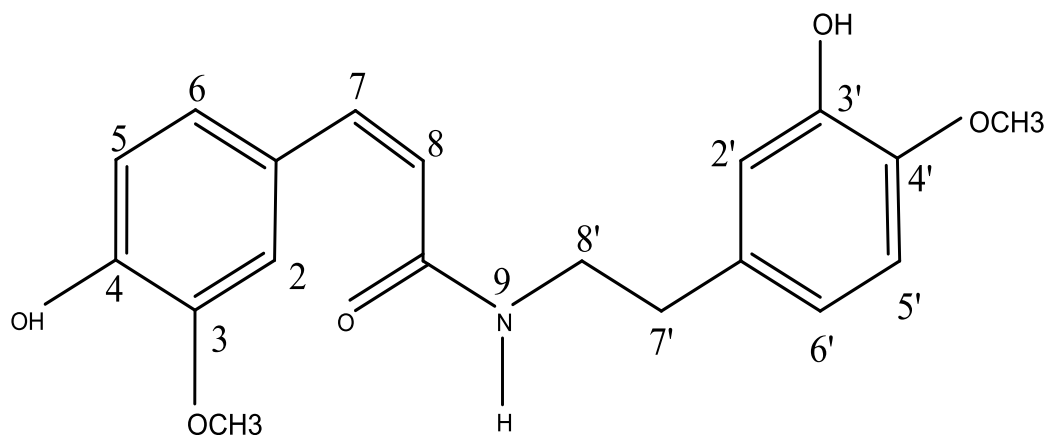


Figura 31. *N-cis-feruloyl 4-O-metildopamina*

Tabela 10. Atribuições de sinais para a *N-cis-feruloyl 4-O-metildopamina*

<i>N-cis-feruloyl 4-O-metildopamina</i>		
	δ_c	δ_H
1	128,3	-
2	114,5	7,87 (m, 1H)
3	149,0	-
4	147,35	-
5	116,4	6,82 (d, $J=7,9$ Hz, 1H)
6	125,4	7,09 (dd, $J=2$ e 8,5 Hz)
7	138,0	6,53 (d, $J=12,9$ Hz, 1H)
8	122,1	5,82 (d, $J=12,9$ Hz, 1H)
9	166,3	-
1'	133,4	-
2'	116,3	6,71 (d, $J=2,1$ Hz, 1H)
3'	146,8	-
4'	147,3	-
5'	116,0	6,83 (d, $J=7,9$ Hz, 1H)
6'	120,4	6,63 (dd, $J=2,1$ e 8,1 Hz, 1H)
7'	35,9	2,72 (t, $J=7,3$ Hz, 2H)
8'	41,5	3,49 (m, 2H)
OCH3	56,1/56,2/56,3/56,3	3,79; 3,80; 3,83; 3,87 (s)

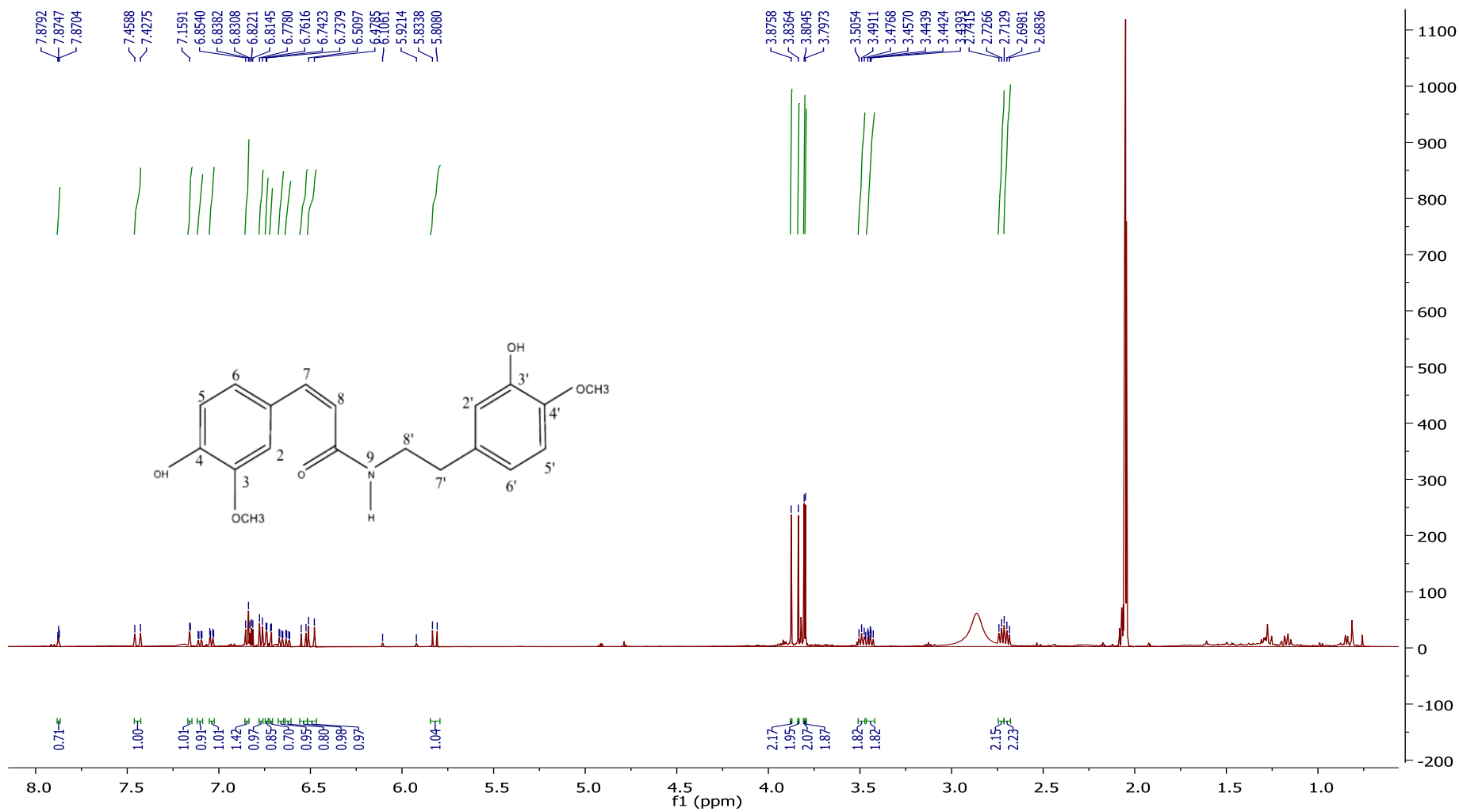


Figura 32. Espectro de RMN de ¹H (acetona-d₆, 500 MHz) de Ti-3

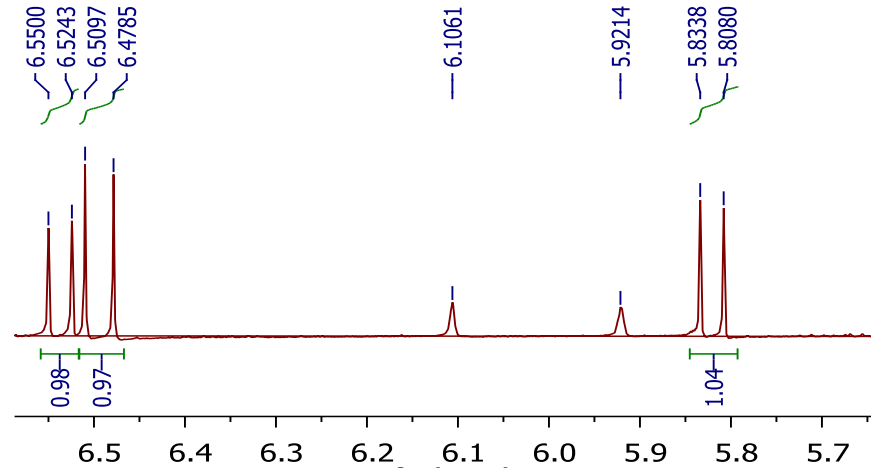


Figura 33. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-3 na região de 5,8 a 6,5 ppm

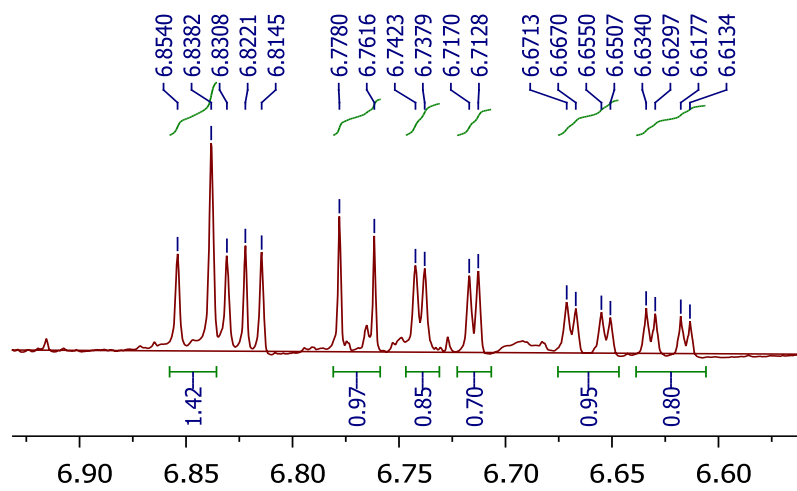


Figura 34. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-3 na região de 6,6 a 6,8 ppm

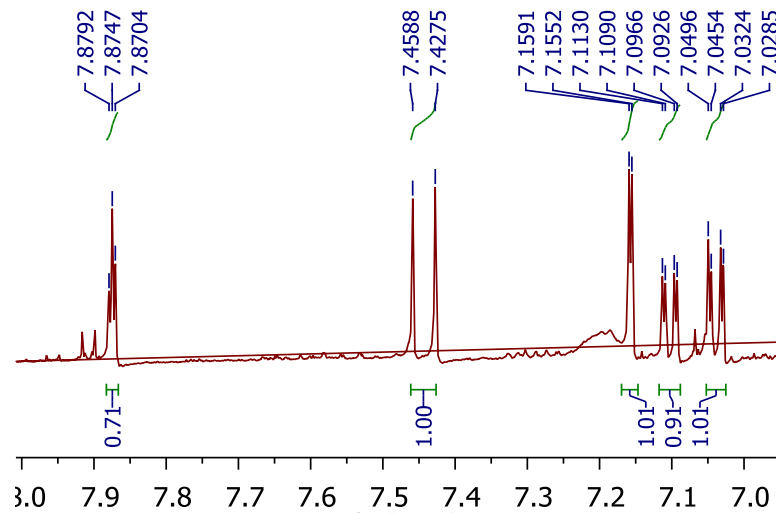


Figura 35. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-3 na região de 7,0 a 7,9 ppm

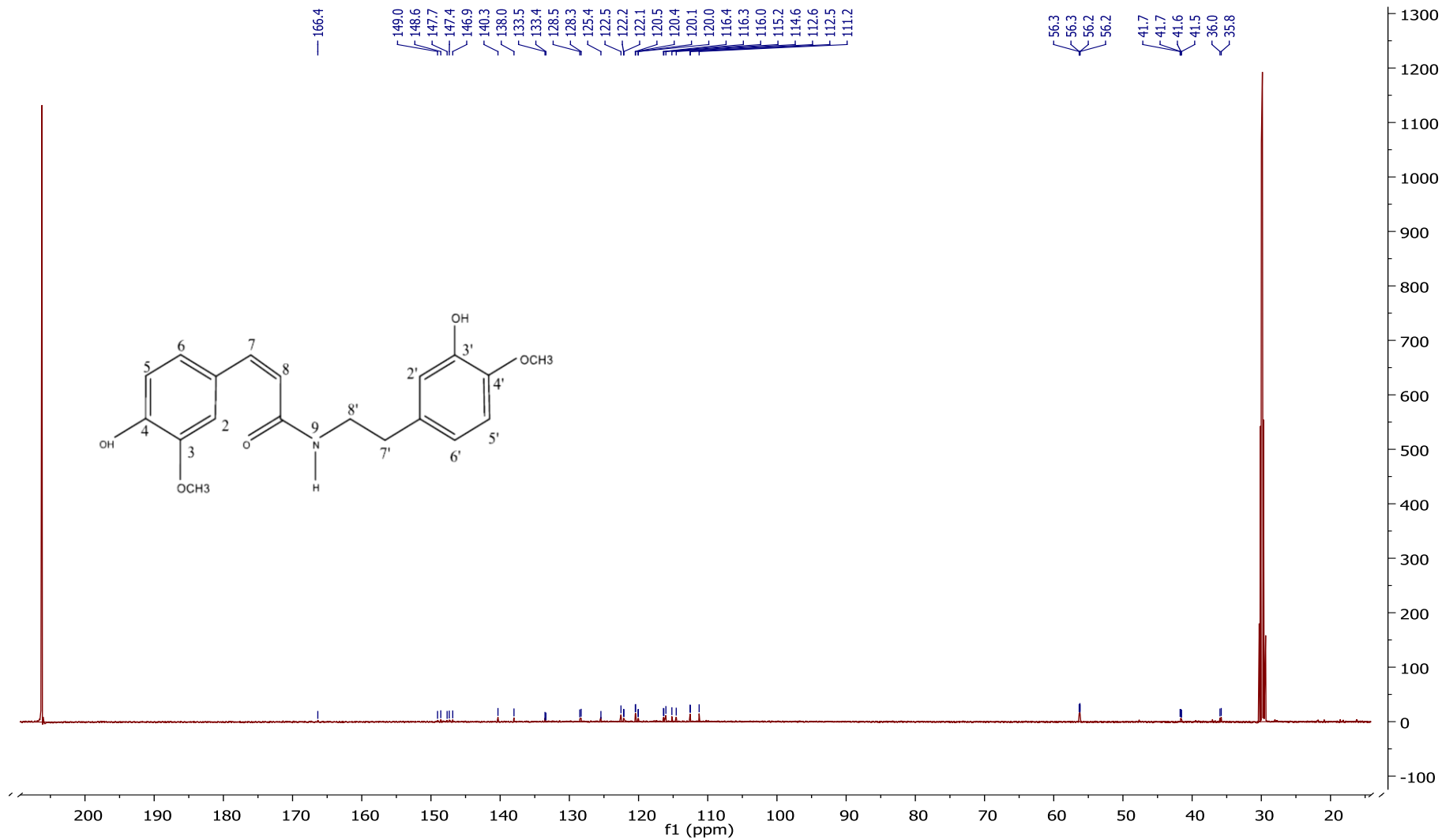


Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-3

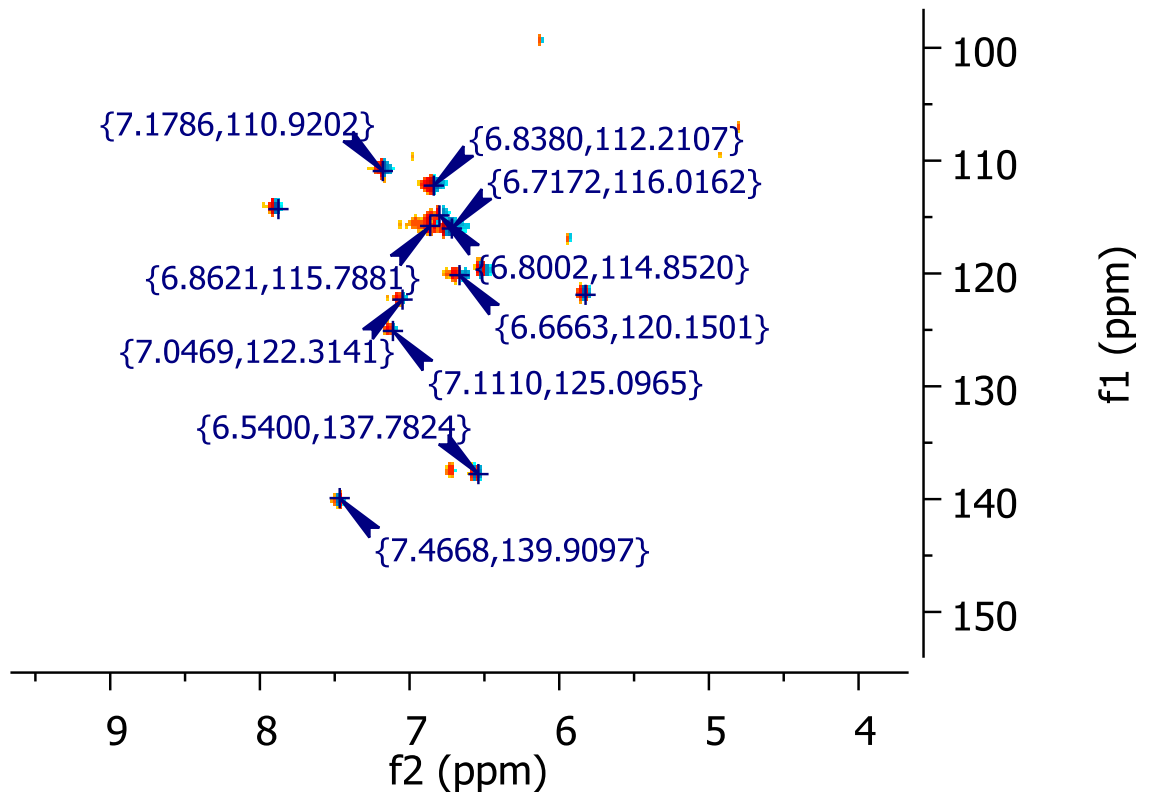


Figura 37. Expansão do mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-3

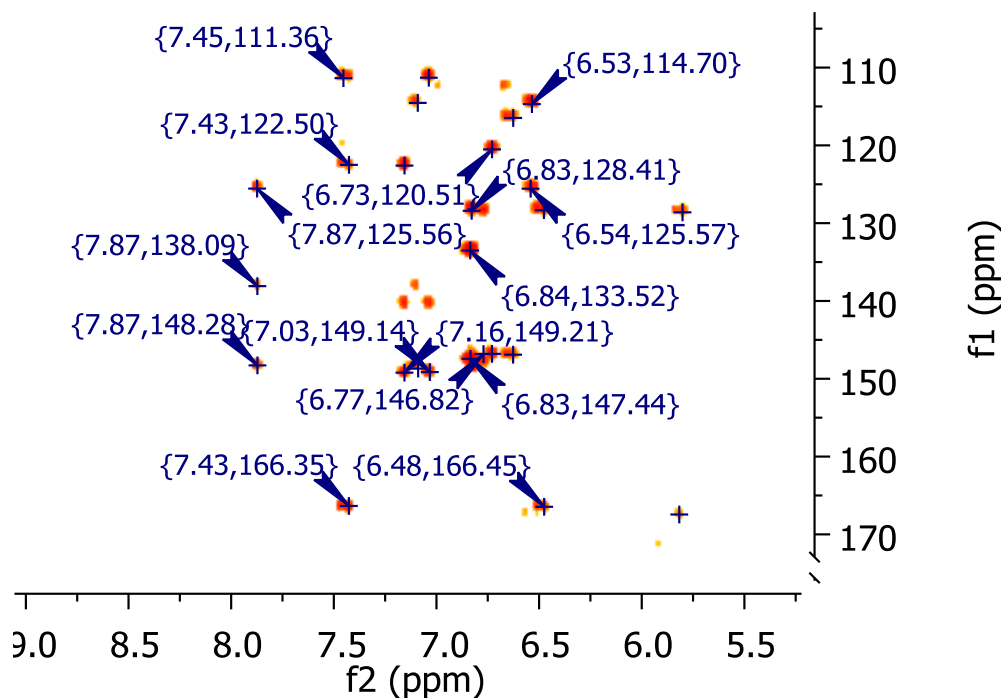


Figura 38. Expansão do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-3

5.3.4 Identificação de Ti-4

O composto codificado como Ti-4 apresentou-se como um sólido amarelo, solúvel em acetona.

No espectro de RMN de ^1H (δ , acetona- d_6 , 500 MHz) (figura 40), visualizou-se um multiplete em δ_H 2,74 (m,2H) e δ_H 3,48 (m,2H) (figura 41), um sinal em δ_H 3,86 (s,3H), característico de grupo metila. Foram observados dois sinais, o primeiro em δ_H 6,51 (d, $J=15,6$ Hz, 1H) e o segundo δ_H 7,46 (d, $J=15,6$ Hz, 1H) (figura 38), característicos de hidrogênios vinílicos na configuração *trans* (PAVIA et al., 2012). Os sinais em δ_H 7,14 (d, $J=1,8$ Hz, 1H), δ_H 6,83 (d, $J=8,1$ Hz, 1H) e δ_H 7,03 (dd, $J=1,9$ e 8,1 Hz, 1H), característicos de anel trissubstituído. Os sinais em δ_H 7,05 (d, $J=8,3$ Hz, 1H), e δ_H 6,76 (d, $J=8,4$ Hz, 1H) (figura 42), sugestivos de anel aromático disubstituído.

No espectro de ^{13}C (δ , acetona- d_6 , 125 MHz), pela técnica APT (figura 43), foram visualizados 18 sinais, sendo 7 deles de carbonos não hidrogenados (δ 128,2;116,0;131,0;148,5;149,1;156,6;166,5), 9 sinais para carbono metínicos (δ 111,2; 116,0 (C3-C5);116,1;119,9;122,5;130,5 (C2-C5);140,4), 2 sinais para carbonos metilênicos (δ 2,74;3,48) e 1 sinais para carbonos metílicos (δ 56,2).

No mapa de contorno HMQC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) (figura 44) foi possível visualizar as correlações entre δ_H 3,86/ δ_C 56,2, sugestivo de posição referente a grupo metila, a correlação em δ_H 7,14/ δ_C 111,2 e δ_H 7,03/ δ_C 122,5 são sugestivos das posições 2 e 6, os sinais δ_H 7,46/ δ_C 140,2, δ_H 6,51/ δ_C 119,9, são sugestivos das posições 7 e 8. Os acoplamentos observados em δ_H 6,76/ δ_C 116,0 e δ_H 7,05/ δ_C 130,5 correlaciona-se as posições 2' e 3'. As correlações observadas δ_H 2,74/ δ_C 35,5 e δ_H 3,48/ δ_C 41,7, referem-se, respectivamente as posições 7' e 8' (figura 45).

No espectro do mapa de contorno a longa distância HMBC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) (figura 46), foram observadas as correlações δ_H 3,86/ δ_C 148,5, confirmando δ_H 3,86 para o grupamento metila na posição 3, a correlação δ_H 3,48/ δ_C 35,5;131,0 e 166,5 confirma δ_H 3,48 para a posição 8', As correlações entre δ_H 2,75/ δ_C 41,9;130,5, δ_H 6,50/ δ_C 128,2; 140,5; 166,5, δ_H 6,83/ δ_C 128,2;148,5, δ_H 6,75/ δ_C 130,5;116,07;156,6 confirmando os hidrogênios δ_H 2,75, δ_H 6,53, δ_H 6,83 e δ_H 6,75, para as posições 7', 8, 5 e 3' respectivamente. As correlações δ_H 7,46/ δ_C 111,2; 122,5, δ_H 7,14/ δ_C 122,5;140,4;149,1 confirmando δ_H 7,46 e δ_H 7,14 para as posições 7 e 2 (figura 47).

A interpretação dos espectros RMN de ^1H e ^{13}C , por técnicas uni e bidimensionais (tabela 11) em comparação com os dados da literatura (CUTILLO et

al., 2003; FORINO et al., 2016) permitiram identificar Ti-4 como sendo *N-trans-feruloyl* tiramina (figura 39), esta já foi isolada na família Cactaceae no *Pilosocereus gounellei* (MACIEL et al., 2016), mas foi isolado pela primeira vez no gênero *Tacinga* e na espécie *Tacinga inamoena*.

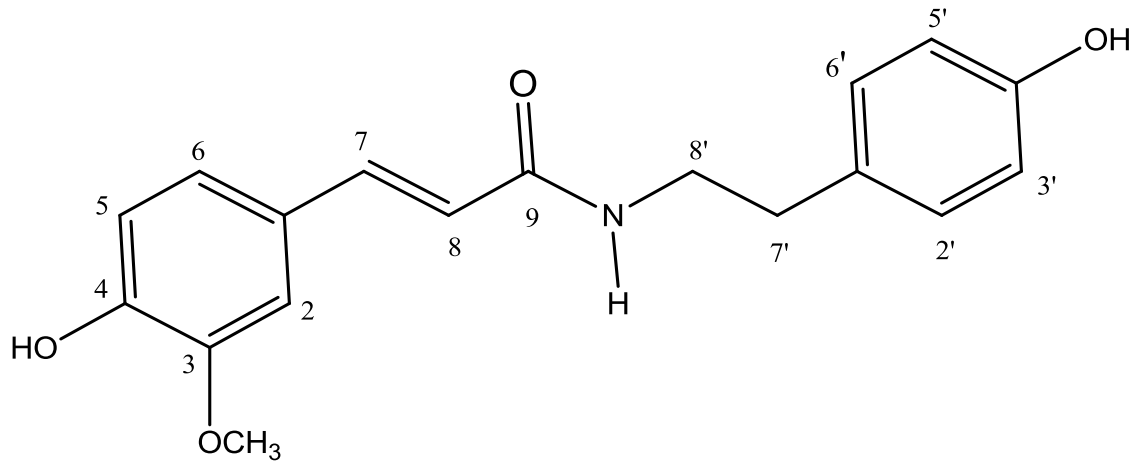


Figura 39. *N-trans-feruloyl* tiramina

Tabela 11. Dados comparativos com a literatura dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto Ti-4

<i>N-trans-feruloyl tiramina</i>			Cutillo et al. 2003		
	δ_c	δ_H		δ_c	δ_H
1	128,2	-	1	127.0	-
2	111,2	7,14 (d, $J=1,8$ Hz, 1H)	2	110.3	7.08 (d, $J=8.2$ Hz, 1 H)
3	148,5	-	3	147.9	-
4	149,1	-	4	148.5	-
5	116,1	6,83 (d, $J=8,1$ Hz, 1H)	5	115.3	6.83 (d, $J=1.5$ Hz, 1 H),
6	122,5	7,03 (dd, $J=1,9$ e $8,1$ Hz, 1H)	6	122.0	7.01 (dd, $J=8.2,$ 1.5 Hz, 1 H)
7	140,4	7,46 (d, $J=15,6$ Hz, 1H)	7	140.9	7.50 (d, $J=15.7$ Hz, 1H)
8	119,9	6,51 (d, $J=15,6$ Hz, 1H)	8	117.6	6.48 (d, $J=15.7$ Hz, 1H)
9	166, 5	-	9	167.9	-
1'	131,0	-	1'	130.0	-
2'	130,5	7,05 (d, $J=8,3$ Hz, 1H)	2'	129.5	7.06 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H)
3'	116,0	6,76 (d, $J=8,4$ Hz, 1H)	3'	115.1	6.77 (d, $J=8.4$ Hz, 1H)
4'	156,6	-	4'	155.5	-
5'	116,0	6,76 (d, $J=8,4$ Hz, 1H)	5'	115.1	
6'	130,0	7,05 (d, $J=8,3$ Hz, 1H)	6'	129.5	
7'	35,7	2,74 (m, 2H)	7'	34.5	2.78 (t, $J=7.5$ Hz, 2H)
8'	41,8	3,48 (m, 2H)	8'	41.3	3.51 (t, $J=7.5$ Hz, 2H)
OCH3	56,2	3,86 (s, 3H)	OCH3	55.1	3.82 (s, 3H)

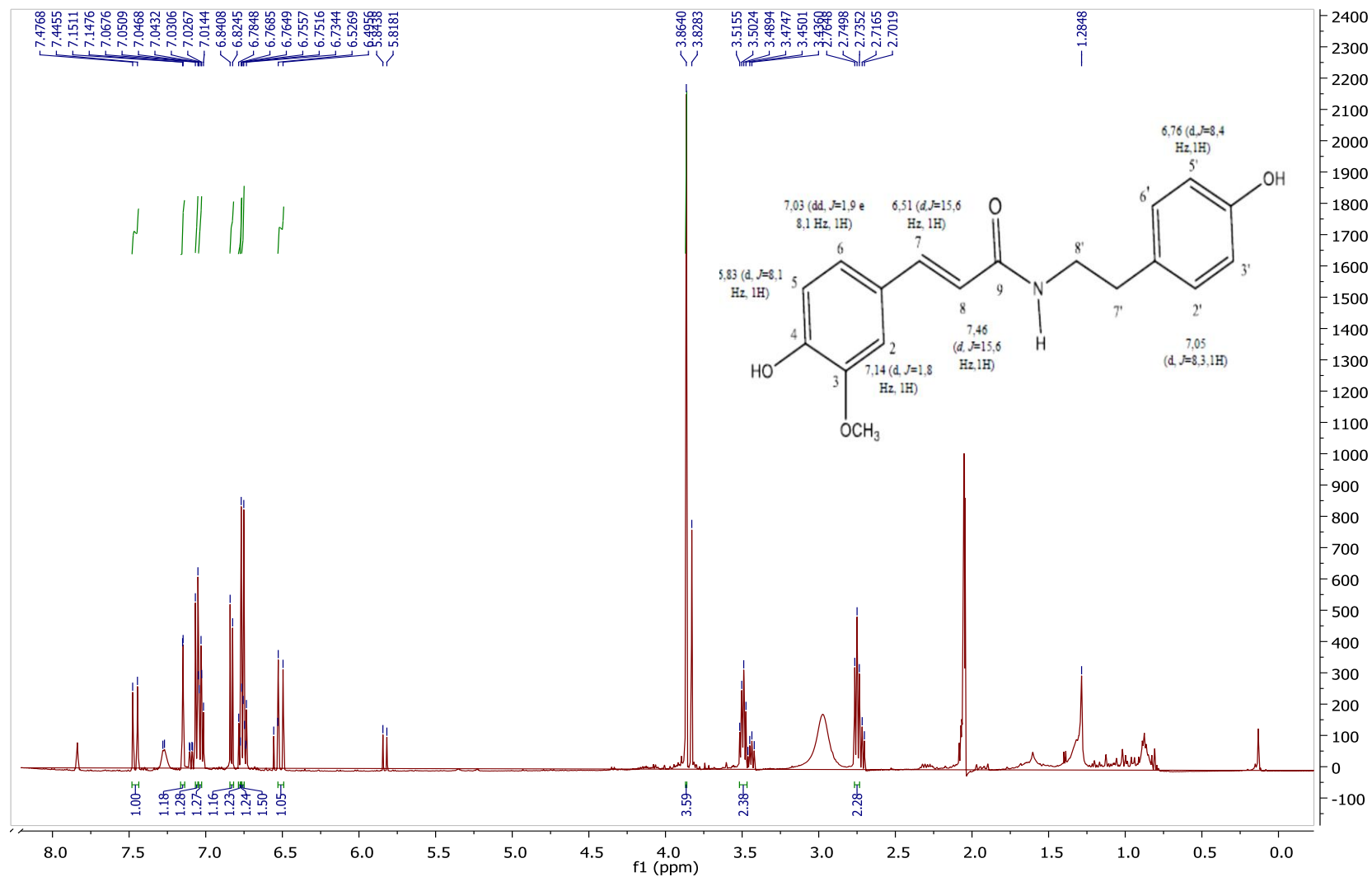


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-4

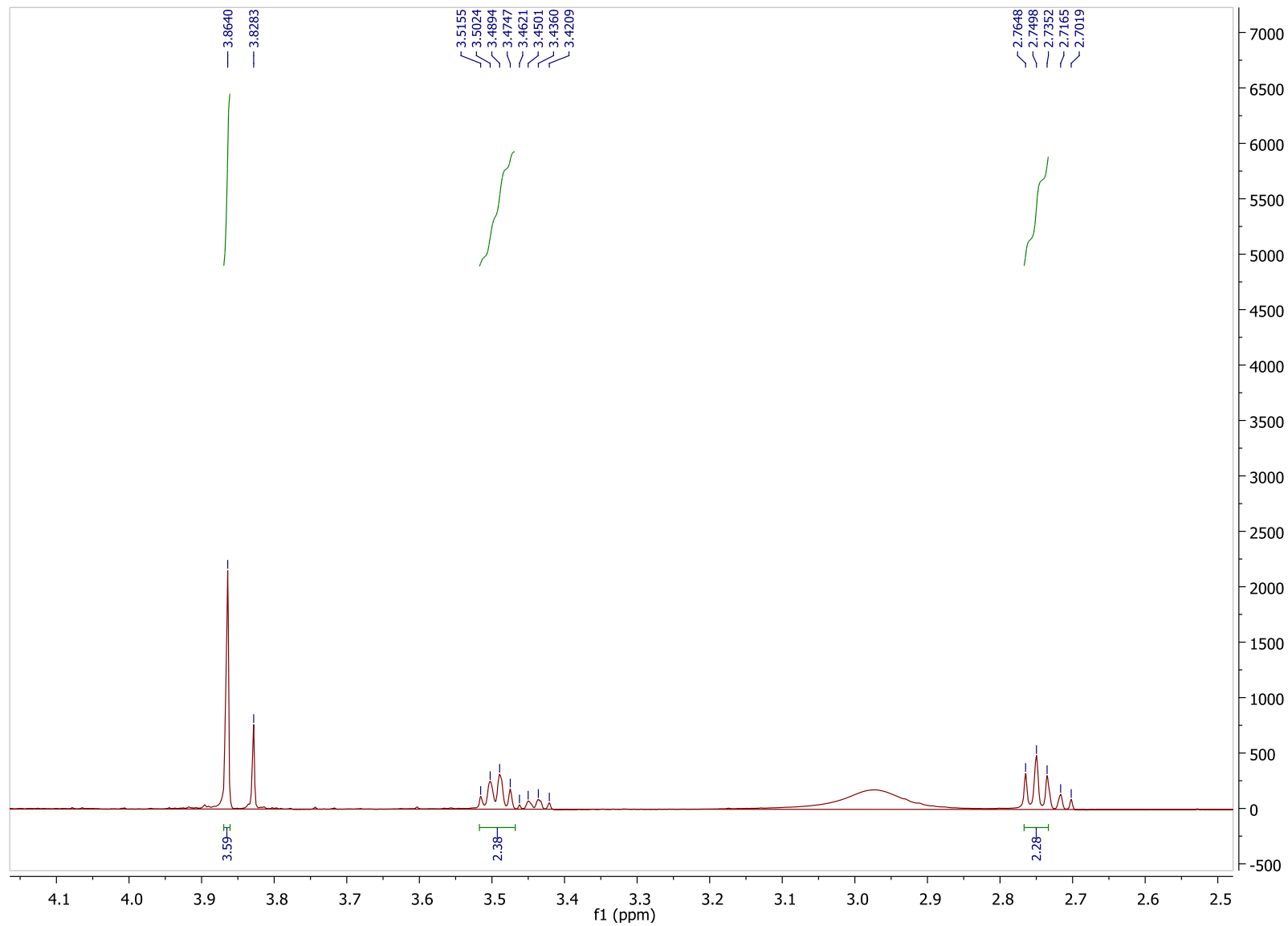


Figura 41. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-4 na região de 2,7 a 3,9 ppm

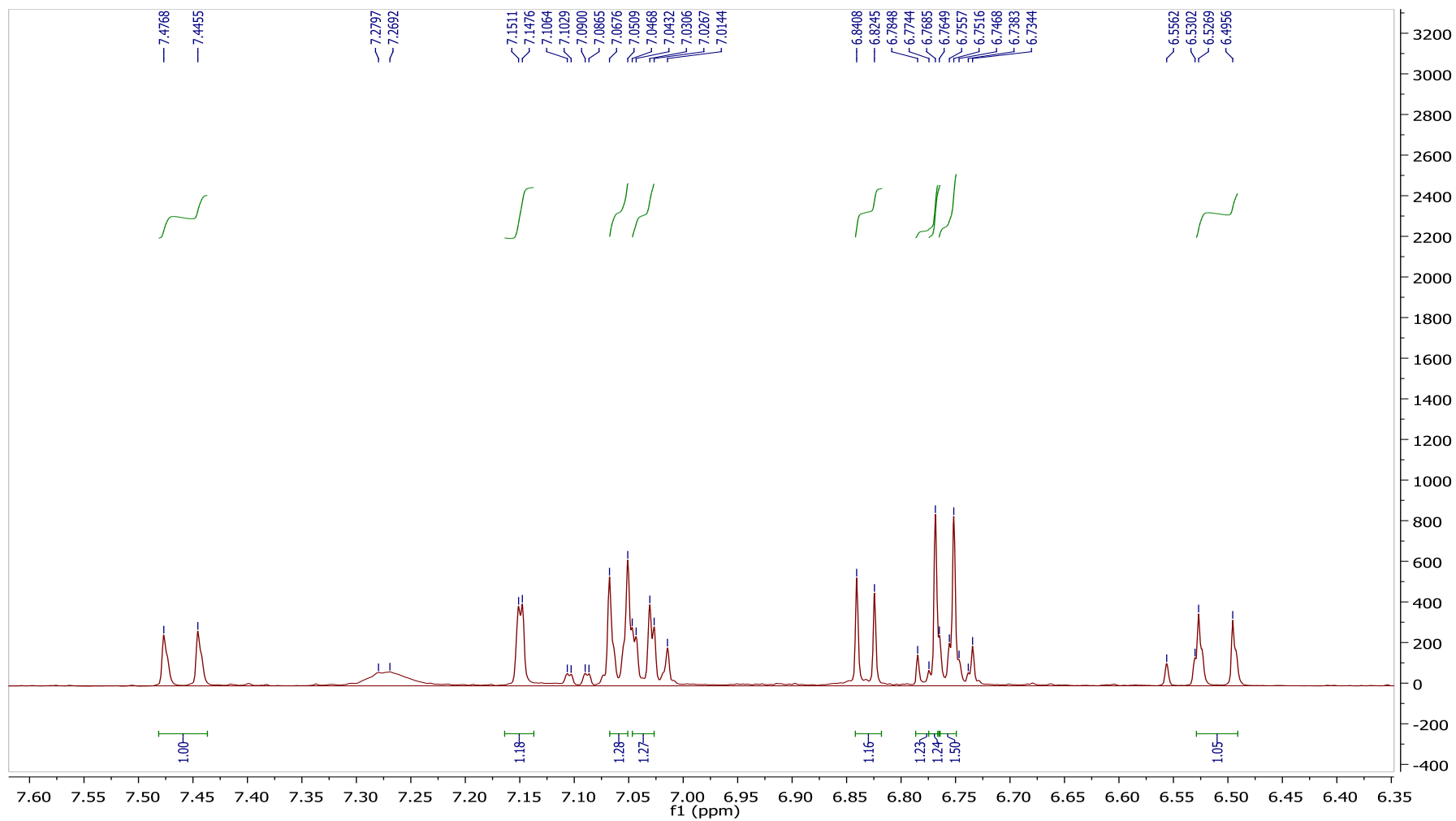


Figura 42. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-4 na região de 6,4 a 7,5 ppm

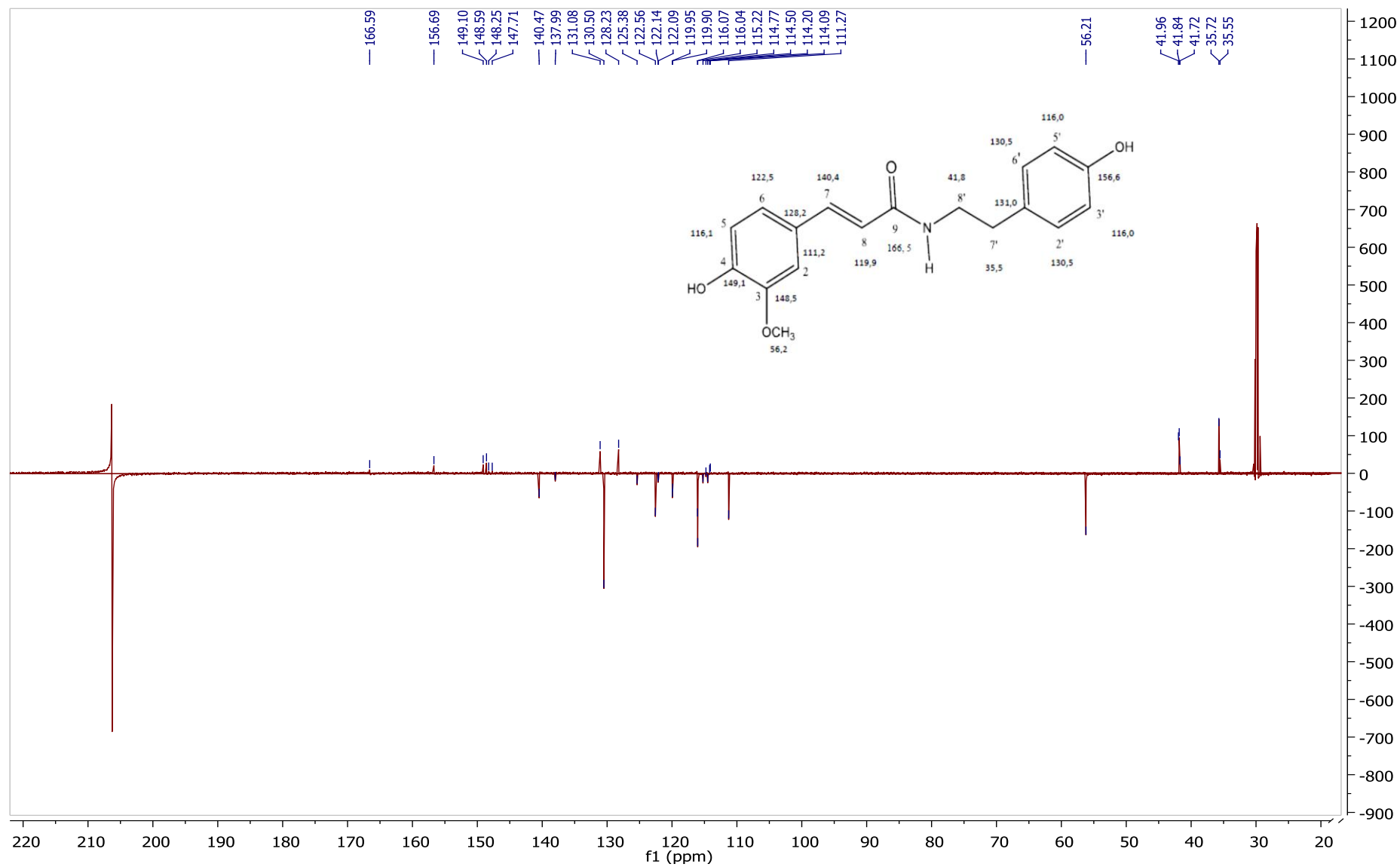


Figura 43. Espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-4

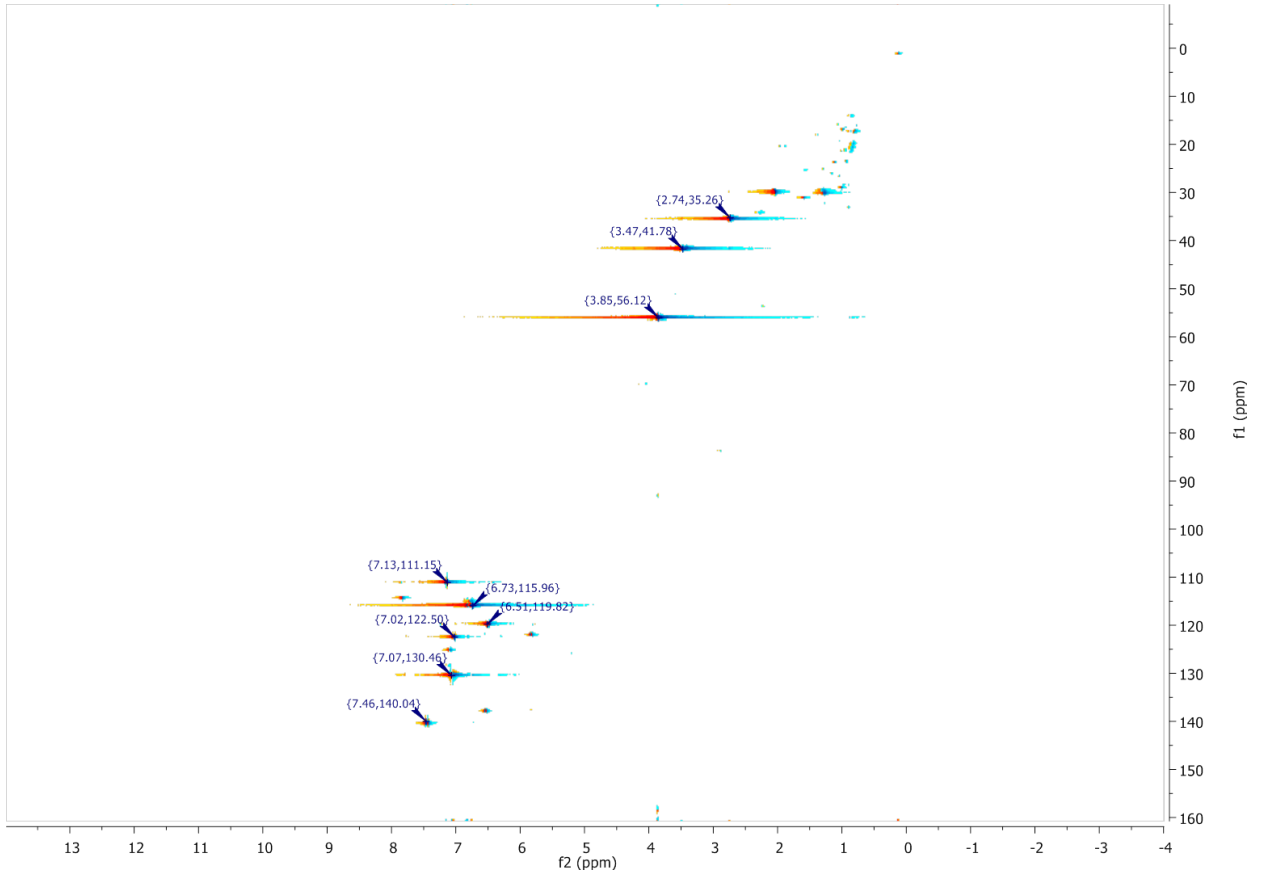


Figura 44. Mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-4

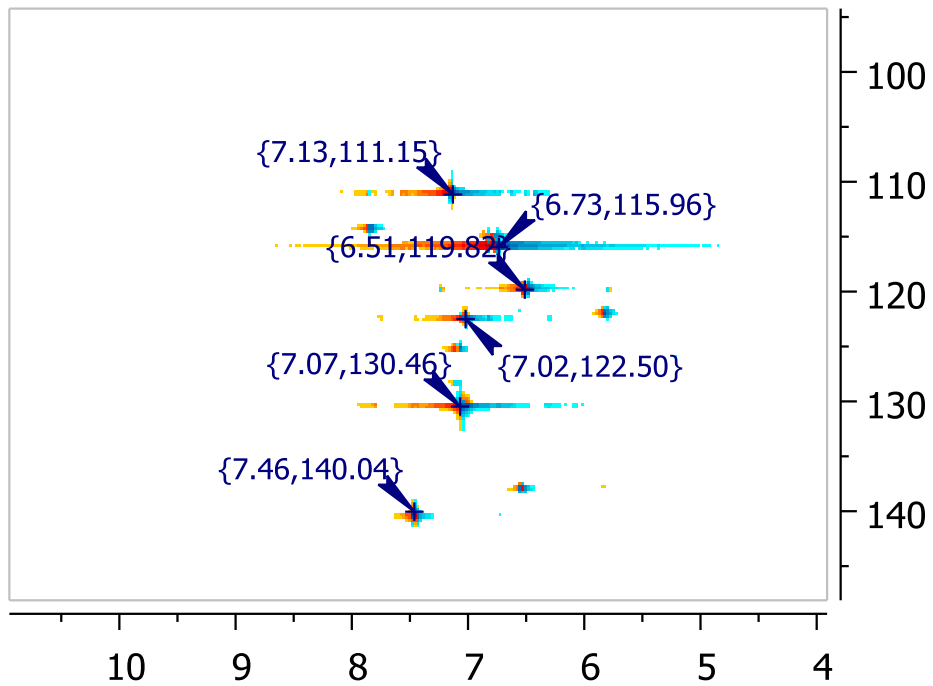


Figura 45. Expansão do mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-4

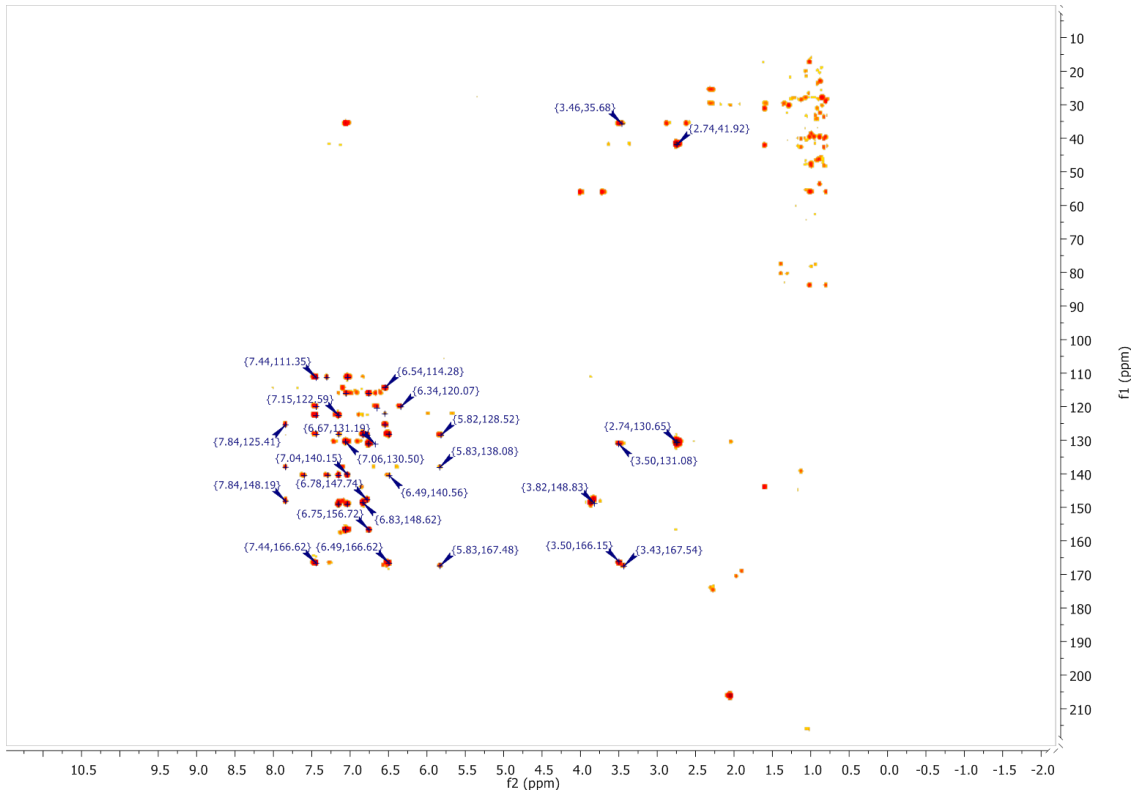


Figura 46. Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-4

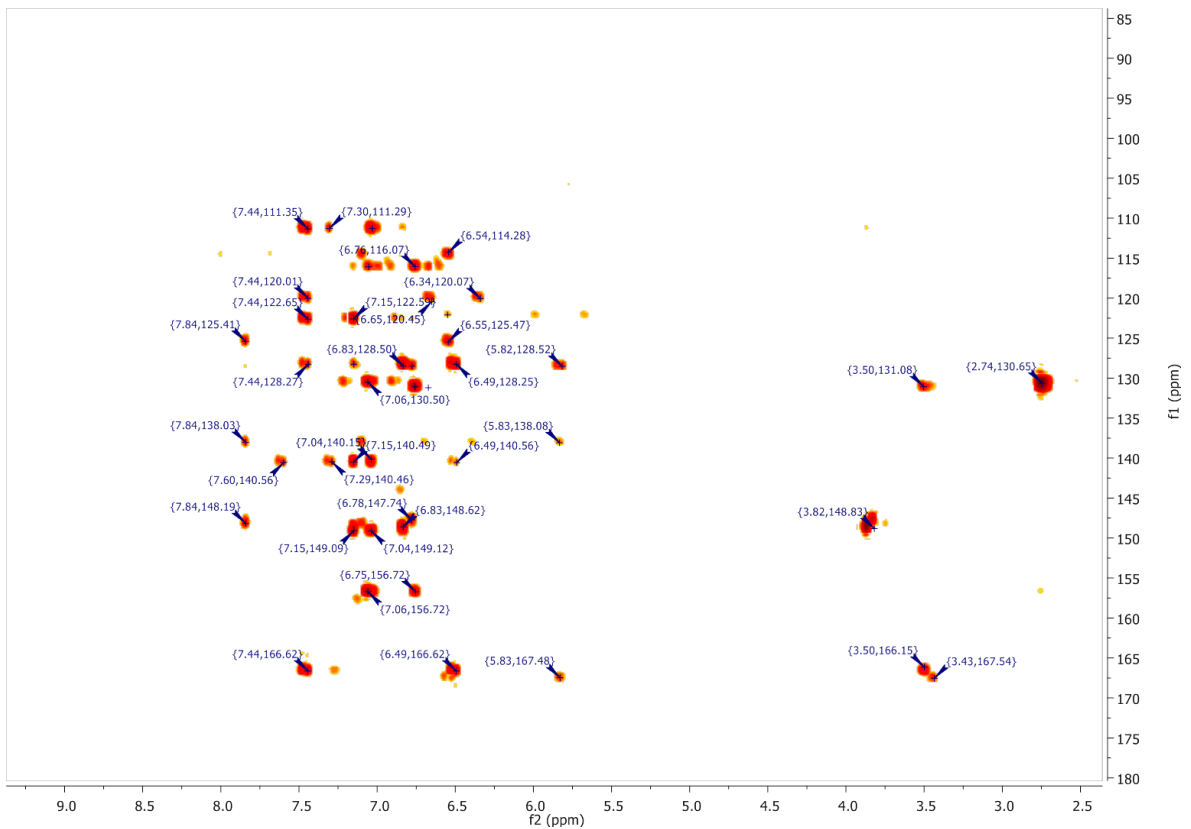


Figura 47. Expansão do mapa de contorno HMQC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-4

5.3.4 Identificação de Ti-5

O composto codificado como Ti-5 apresentou-se como um sólido amarelo, solúvel em acetona.

No espectro de RMN de ^1H (δ , acetona- d_6 , 500 MHz) (figura 49), visualizou-se um multiplete em δ_H 2,74 (m,2H) e δ_H 3,48 (m,2H) (figura 39), um sinal em δ_H 3,86 (s,3H) (figura 50), característico de grupo metila. Foram observados dois sinais, o primeiro em δ_H 6,54 (d, $J=12,9$ Hz, 1H) e o segundo em δ_H 5,83 (d, $J=12,9$ Hz, 1H), característicos de hidrogênios vinílicos na configuração *trans* (PAVIA et al., 2012). Os sinais em δ_H 7,83 (d, $J=2,0$ Hz, 1H), δ_H 6,78 (d, $J=8,1$ Hz, 1H) e δ_H 7,09 (dd, $J=1,7$ e $8,1$ Hz, 1H), característicos de anel trissubstituído. Os sinais em δ_H 7,05 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), e δ_H 6,75 (d, $J=8,4$ Hz, 1H) (figura 51), sugestivos de anel aromático disubstituído.

No espectro de ^{13}C (δ , acetona- d_6 , 125 MHz), pela técnica APT (figura 52), foram visualizados 18 sinais, sendo 6 deles de carbonos não hidrogenados (δ 128,2;147,7;148,2;169,8;131,0 e 156,6), 9 sinais para carbono metínicos (δ 114,5;115,2;125,3;122,0;130,5 (C2-C6);116,0 (C3-C5); 137,9), 2 sinais para carbonos metilênicos (δ 2,74;3,48) e 1 sinais para carbonos metílicos (δ 56,2).

No espectro do mapa de contorno a longa distância HMBC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) (figura 53), foram observadas as correlações δ_H 5,83/ δ_C 167,5;128,5 e 138,0 e δ_H 6,54/ δ_C 114,2;125,4 e 122,0, confirmam δ_H 5,83 e 6,54 para a posição 8 e 7, a correlação δ_H 6,78/ δ_C 128,2;147,7 confirma δ_H 6,78 para a posição 5, As correlações entre δ_H 7,09/ δ_C 114,5; 138,0; 148,2 e δ_H 7,83 / δ_C 125,4;138,0 e 148,2 confirmam os hidrogênios δ_H 7,09 e δ_H 7,84, para as posições 6 e 2 respectivamente (figura 54 - 55).

A interpretação dos espectros RMN de ^1H e ^{13}C , por técnicas uni e bidimensionais (tabela 12) em comparação com os dados da literatura (FORINO et al., 2016; YAHAGI et al., 2010) permitiram identificar Ti-5 como sendo *N-cis-feruloyl* tiramina (figura 48), isolada pela primeira vez no gênero *Tacinga* e na espécie *Tacinga inamoena*.

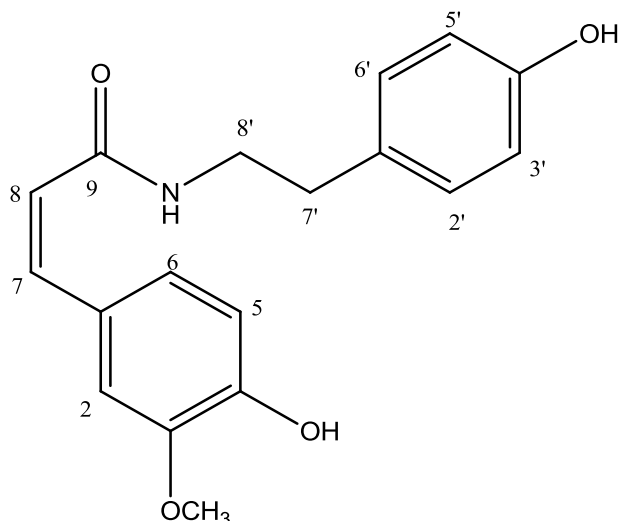


Figura 48. *N-cis*-feruloyl tiramina

Tabela 12. Dados comparativos com a literatura dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto Ti-5

<i>N-trans</i> -feruloyl tiramina			Forino et al. 2016		
	δ_c	δ_H		δ_c	δ_H
1	128,2	-	1	128,1	-
2	114,5	7,83 (d, $J=2,0$ Hz, 1H)	2	113,0	7.35
3	147,7	-	3	148,7	-
4	148,2	-	4	148.5	-
5	115,2	6,78 (d, $J=8,1$ Hz, 1H)	5	120.2	-
6	125,3	7,09 (dd, $J=1,7$ e $8,1$ Hz, 1H)	6	124,5	6,74
7	137,9	6,54 (d, $J=12,9$ Hz, 1H)	7	138.5	6,59 (d, $J=12.7$ Hz)
8	122,0	5,83 (d, $J=12,9$ Hz, 1H)	8	113.7	5.79 (d, $J=12.7$ Hz)
9	169, 8	-	9	170.4	-
1'	131,0	-	1'	131,4	-
2'	130,5	7,05 (d, $J=8,3$ Hz, 1H)	2'	130.8	7.00
3'	116,0	6,75 (d, $J=8,4$ Hz, 1H)	3'	116,3	6.68
4'	156,6	-	4'	156.8	-
5'	116,0	6,75 (d, $J=8,4$ Hz, 1H)	5'	116.3	6,68
6'	130,0	7,05 (d, $J=8,3$ Hz, 1H)	6'	130.8	7,00
7'	35,7	2,74 (m, 2H)	7'	35.5	2.69
8'	41,9	3,48 (m, 2H)	8'	42.2	3.36
OCH ₃	56,2	3,86 (s, 3H)	OCH ₃	53.7	3.85

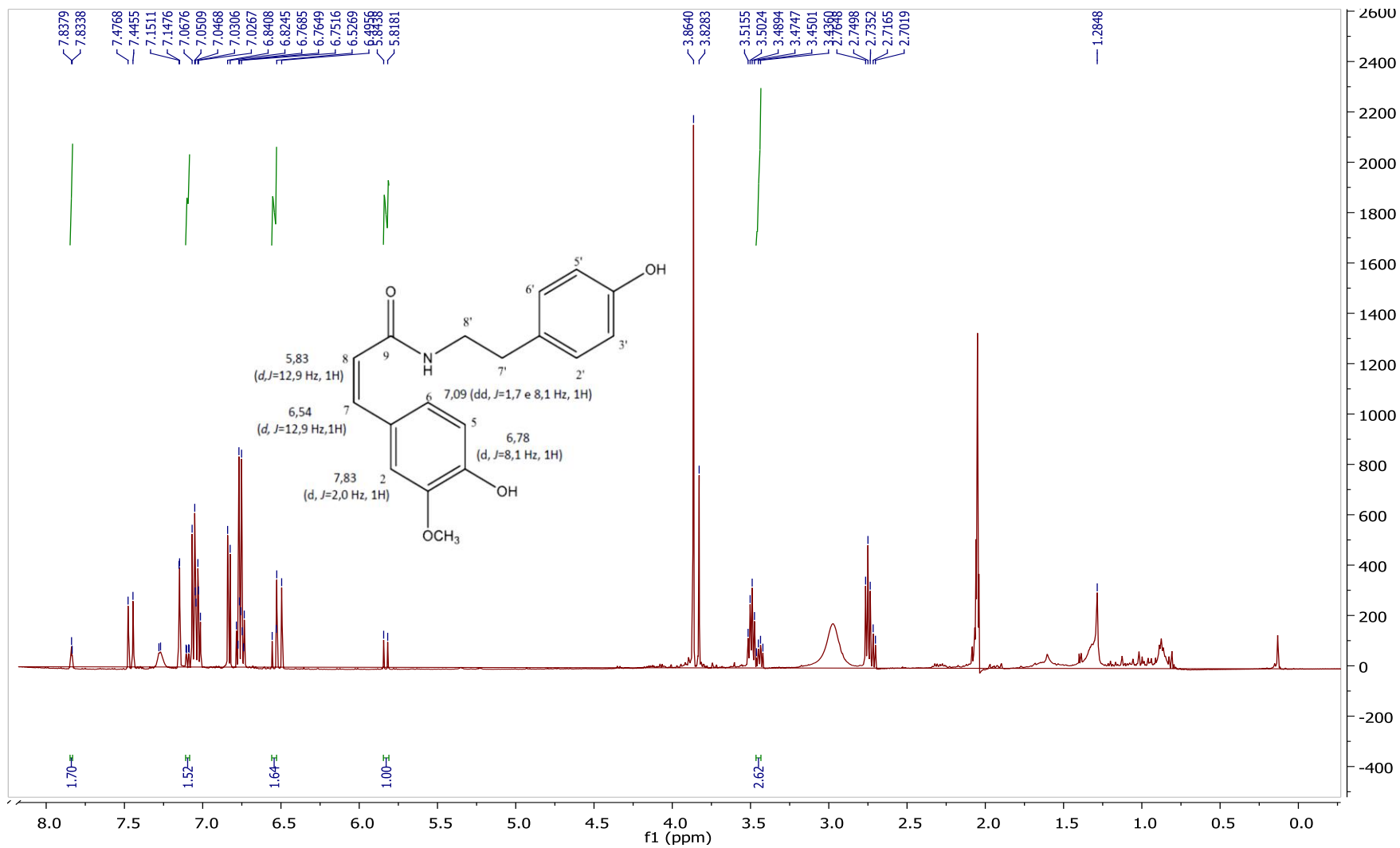


Figura 49. Espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-5

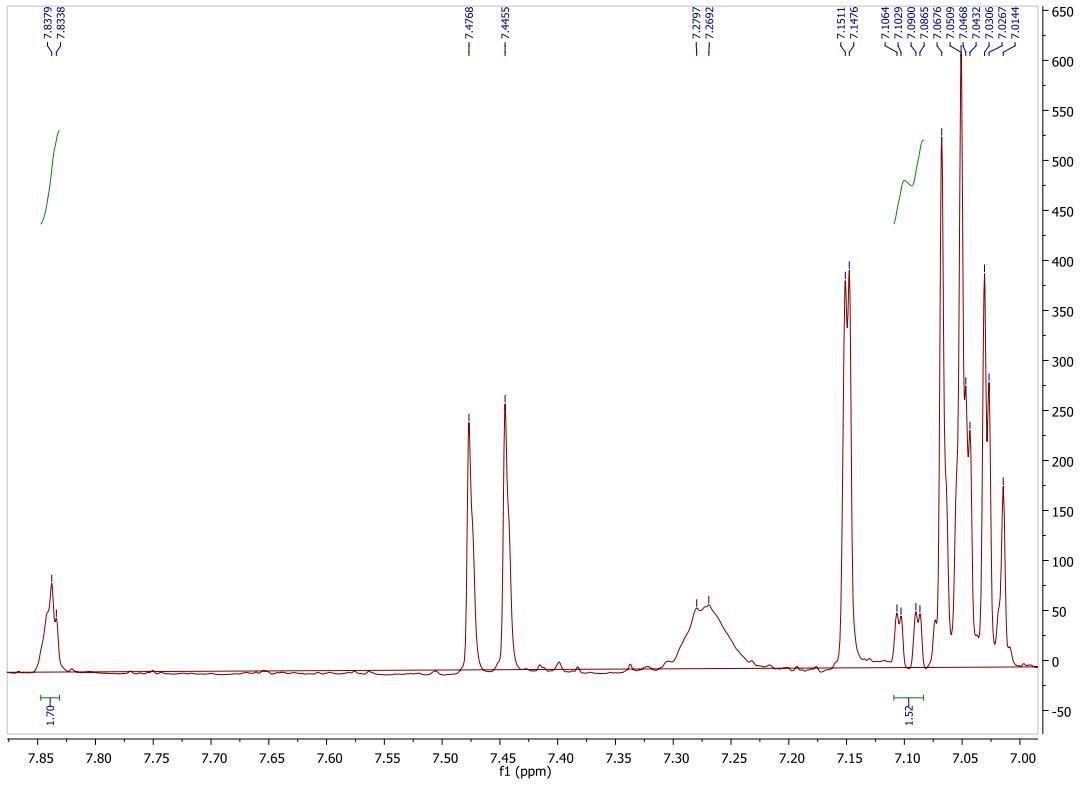


Figura 50. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-5

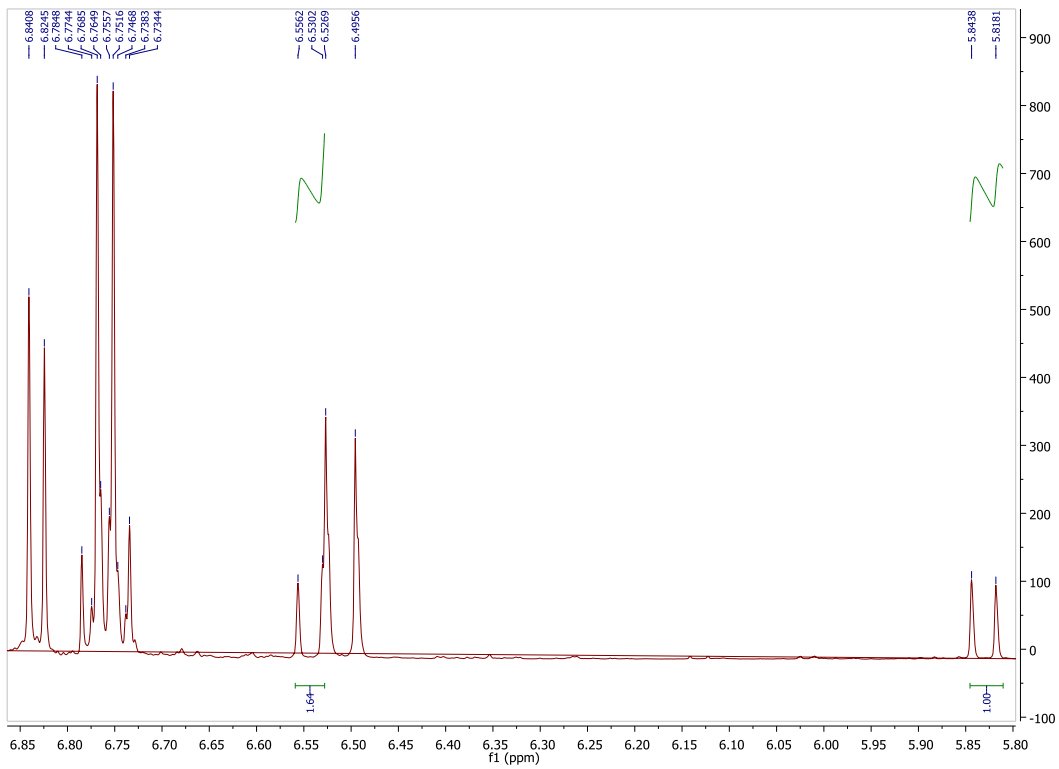


Figura 51. Expansão do espectro de RMN de ^1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de Ti-5

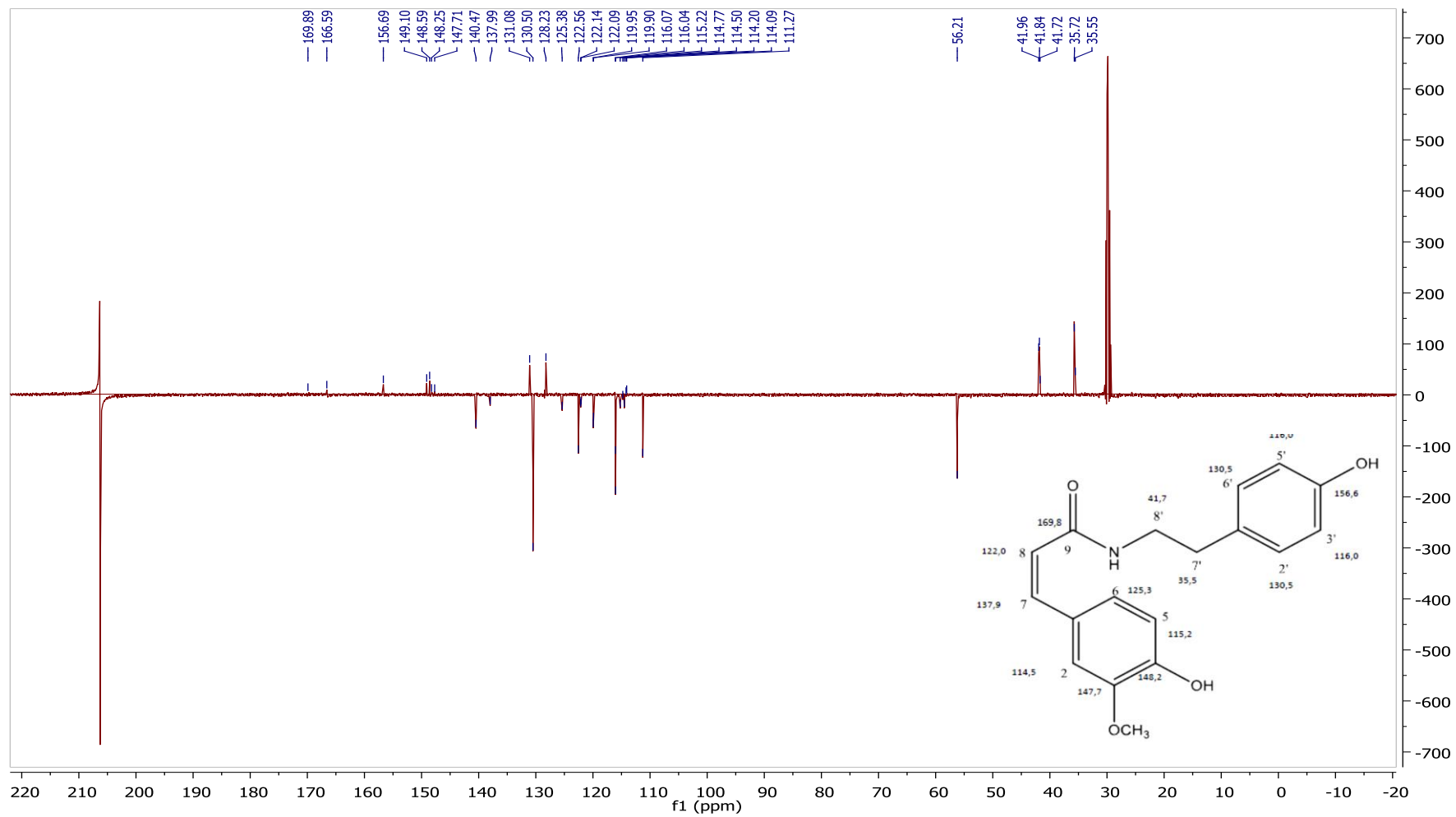


Figura 52. Espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de Ti-5

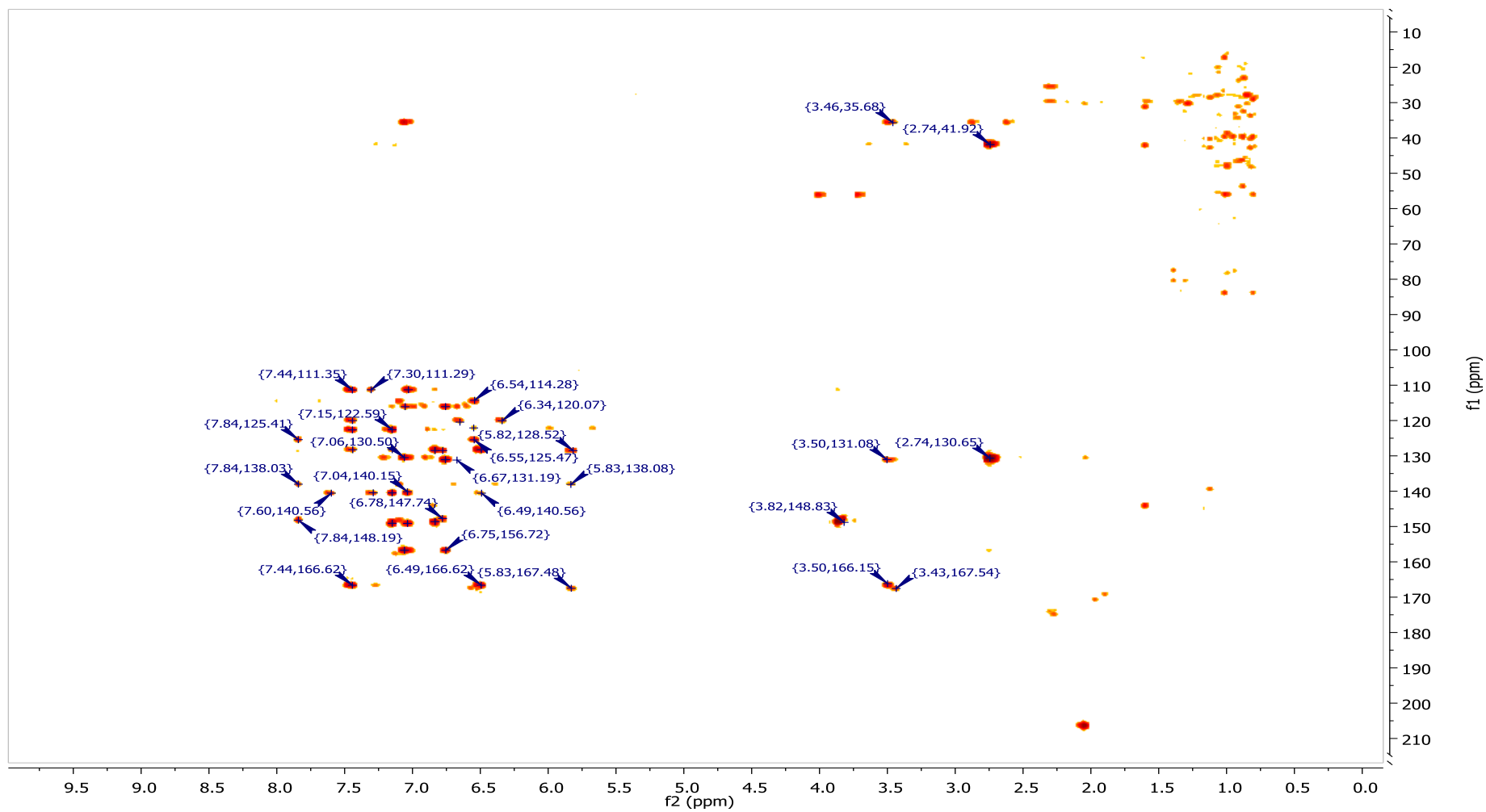
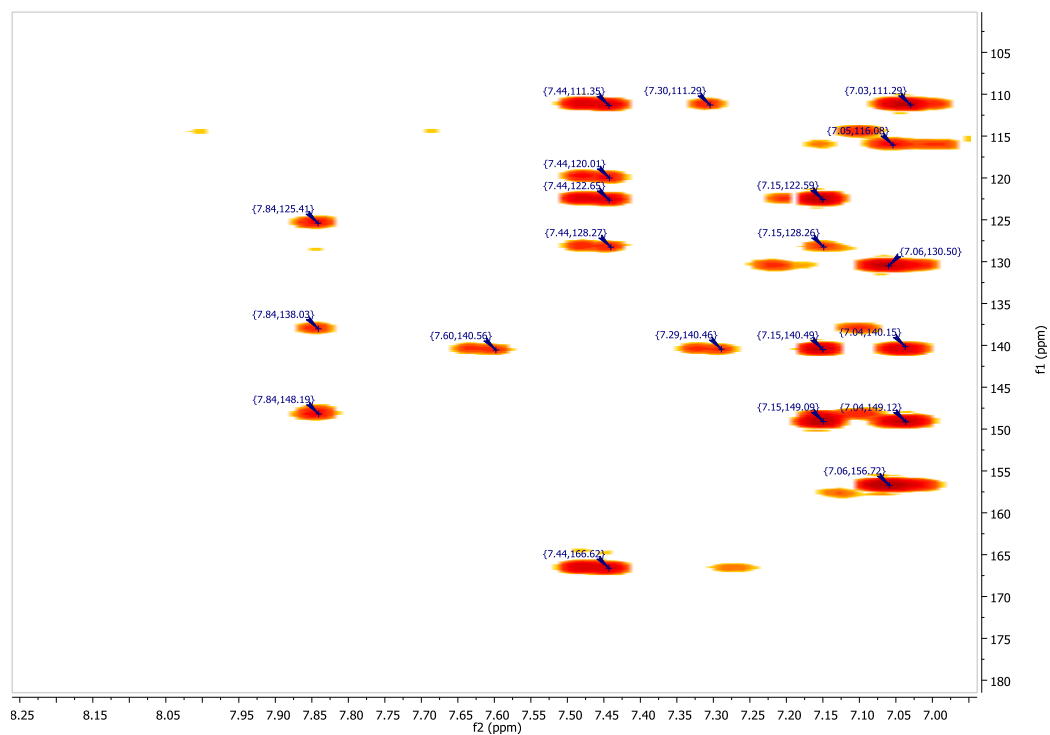


Figura 53. Mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-5



54. Expansão do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-5

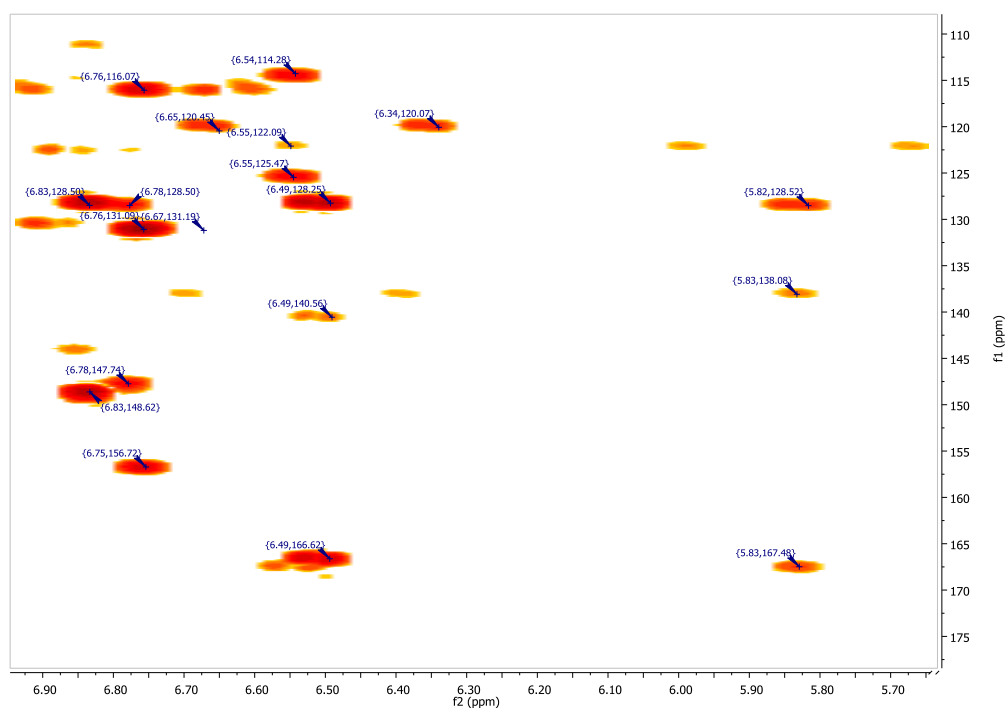


Figura 55. Expansão do mapa de contorno HMBC - $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ do composto Ti-5

5.4 Atividade antimicrobiana

A CIM é definida como a menor concentração dos produtos capaz de inibir o crescimento dos microrganismos. Segundo Freire et al. (2015) são considerados os mais fortes inibidores os extratos com CIM até $\leq 100 \mu\text{g/mL}$, fortes inibidores de $101 \mu\text{g/mL}$ a $500 \mu\text{g/mL}$, inibidores moderados aqueles entre $501 \mu\text{g/mL}$ e $1000 \mu\text{g/mL}$ e inibidores fracos os que apresentam CIM acima entre $1001 \mu\text{g/mL}$ a $2000 \mu\text{g/mL}$.

Os valores de CIM obtidos nos ensaios microbiológicos frente a cepas bacterianas estão descritos na tabela 13. A Facet demonstrou forte atividade frente à cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ($125 \mu\text{g/mL}$). Frente às cepas multiresistentes a Facet demonstrou ser promissora, apresentando forte atividade contra *E. coli*. 5A ($500 \mu\text{g/mL}$), e moderada atividade frente à cepa multiresistente de *S. aureus* 109 ($1000 \mu\text{g/mL}$). A Fdic demonstrou forte atividade frente às cepas de *E. coli*. 5A ($500 \mu\text{g/mL}$) e *E. coli*.5I ($500 \mu\text{g/mL}$). A Fbut apresentou forte atividade frente à *Escherichia coli* 5A ($500 \mu\text{g/mL}$).

A Facet, Fbut e Fdic demonstraram maior atividade antimicrobiana frente aos microrganismos testados. Estudos posteriores poderão ser direcionados para isolar os compostos antimicrobianos ativos da *T. inamoena* a partir destas frações.

Não houve atividade dos EHAs frente as bactérias testadas, assim como nenhum produto obtido a partir de *T. inamoena* (EEB, EHAs, Fhex, Facet, Fdic e Fbut) apresentaram atividade frente às cândidas ATCC testadas (*Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* e *Candida albicans*) (tabela 14), as substâncias isoladas não foram testadas frente às Cândidas devido a pouca quantidade obtida destes compostos.

T. inamoena demonstrou importante atividade antimicrobiana, pode-se correlacionar esta atividade ao uso popular da espécie, visto que esta é usada para afecções na uretra (CASTRO; CAVALCANTE, 2011) e infecções são comumente associadas a problemas na uretra. Sendo a *E. coli* a bactéria que frequentemente ocasiona infecções urinárias (RORIZ-FILHO et al., 2010), a *T. inamoena* por demonstrar ação contra cepas de *E. coli* multiresistentes, pode ser fonte de compostos com importante atividade frente a este agente infeccioso.

Daferera (2003) aponta que uso de extratos vegetais proporciona dificuldades para adaptabilidade microbiana e, conseqüentemente menor probabilidade de geração de linhagens resistentes, devido ao grande número de compostos

presentes no extrato vegetal, sendo assim dificultando mecanismo de resistência frente a todas substâncias.

Os compostos secundários presente nas fases particionadas, possivelmente são os principais responsáveis pela ação antibacteriana. *T. inamoena* na quantificação de seus metabólitos secundário demonstrou a presença de compostos fenólicos e flavonoides, e esteroide no isolamento de compostos da espécie, sendo estes reconhecidamente agentes antimicrobianos. Taleb-Contini et al. (2003) testaram esteroides e flavonoides e estes demonstraram atividade antimicrobiana, principalmente frente a bactérias Gram positivas. Davet (2009) propôs que, por as cactáceas serem ricas em esteroides, estas substâncias podem estar relacionadas em parte com a atividade antimicrobiana desta família.

Compostos fenólicos podem agir nos microrganismos através de inibição enzimática por compostos oxidados, possivelmente através de interações não específicas com as proteínas (MASON; WASSERMAN, 1987; FABRI; COSTA, 2012), enquanto, os flavonoides podem se complexar com proteínas extracelulares capazes de alterar a parede celular ou destruir a membrana plasmática (CUSHNIE; LAMB, 2005; TSUCHIYA et al., 1996).

A CIM do extrato etanólico de raízes de *P. gounellei* segundo Oliveira (2011), demonstrou atividade contra *S. aureus* padrão (128 µg/mg), *Micrococcus luteus* (64 µg/mg), *Mycobacterium smegmatis* (32 µg/mg), *Enterococcus faecalis* (>128 µg/mg). Davet et al. (2009) verificou que o extrato bruto do lenho de *Cereus jamacaru*, apresentou fraca atividade frente a *S. aureus* (88,95 mg/mL), *P. aeruginosa* (44,47 mg/ml) e *E. coli* (88,95 mg/ml) e *K. pneumoniae* (88,95 mg/ml).

No trabalho de Souza et al. (2014), o extrato bruto do cladódio de *Opuntia ficus indica* (L.) Mill não apresentou atividade frente às cepas testadas de *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Candida albicans*, fato que se repetiu na pesquisa de Turra (2007) com as folhas de *Pereskia aculeata* Mill. O extrato dos cladódios de *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck mostrou ação fraca contra *S. aureus* (2 500 µg/mL), *K. pneumoniae* (5 000 µg/mL), *E. coli* (10 000 µg/mL), *C. glabrata* (2 500 µg/mL) e *C. albicans* (625 µg/mL) (NECCHI et al., 2012).

Tabela 13. CIM do EEB, EHAs, fases particionadas e β -sitosterol-3-O-glicosídeo frente às cepas testadas

MICRORGANISMOS	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)										
	PRODUTOS TESTADOS										
	EEB	EHA 9:1 (V:V)	EHA 7:3 (V:V)	EHA 1:1 (V:V)	EHA 3:7 (V:V)	EHA 1:3 (V:V)	Fhex	Fdic	Facet	Fbut	β sitosterol 3- O- glicosídeo
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	-	-	125	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 109	-	-	-	-	-	-	-	-	1000	-	-
<i>Escherichia coli</i> 5I	-	-	-	-	-	-	-	500	500	500	-
<i>Escherichia coli</i> 5A	-	-	-	-	-	-	-	500	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: Extrato Etanólico Bruto (EEB), Extrato Hidroalcoólico (EHA), Fase Hexânica (Fhex), Fase Diclorometano (Fdic), Fase Acetato de Etila (Facet), Fase Butanólica (Fbut), (-) não houve inibição do crescimento

Tabela 14. CIM do EEB, EHAs, fases particionadas frente as cepas testadas de Cândidas

MICROORGANISMOS	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)									
	PRODUTOS TESTADOS						Fhex	Fdic	Facet	Fbut
	EEB	EHA 9:1 (V:V)	EHA 7:3 (V:V)	EHA 1:1 (V:V)	EHA 3:7 (V:V)	EHA 1:3 (V:V)				
<i>Candida glabata</i> ATCC 10451	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida krusei</i> ATCC 14243	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 13803	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 76645	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: Extrato Etanólico Bruto (EEB), Extrato Hidroalcoólico (EHA), Fase Hexânica (Fhex), Fase Diclorometano (Fdic), Fase Acetato de Etila (Facet), Fase Butanólica (Fbut), (-) não houve inibição do crescimento

5.5 Atividade moduladora

O EEB e as partições de *Tacinga inamoena* demonstraram importante atividade moduladora, apresentando interferência significativa na atividade dos antimicrobianos das seguintes classes testadas; quinolonas (norfloxacino e ciprofloxacino), aminoglicosídeos (gentamicina e neomicina) e cefalosporinas (ceftriaxona e cefazolina) com redução das CIMs e reforço da atividade antimicrobiana.

Nos casos que não houve inibição do crescimento bacteriano por nenhum dos produtos nas concentrações testadas, a concentração inibitória (CIM/8) das substâncias testes foram 125 µg/mL.

A combinação de antimicrobiano, EEB e partições apresentou uma maior taxa de inibição frente a *E. coli* 5A (figura 56). Nos aminoglicosídeos testados, somente a neomicina sofreu uma redução significativa da CIM (7,19 µg/mL), perante o EEB e fases particionadas (0,48 µg/mL). Frente as Cefalosporinas, a cefazolina (31,25 µg/mL), teve a ação antimicrobiana potencializada quando associada à Fhex (19,68 µg/mL), Fdic (7,81 µg/mL) e Fbut (0,48 µg/mL). Enquanto que nas quinolonas somente o norfloxacino (9,83 µg/mL) demonstrou modulação quando associado ao EEB (0,48 µg/mL), Fhex (0,48 µg/mL), Fdic (0,6 µg/mL) e Fbut (3,09 µg/mL).

Os testes realizados com a *Pseudomonas aeruginosa* 2 (figura 57), demonstrou que frente aos aminoglicosídeos, a gentamicina (62,5 µg/mL), teve ação pronunciada principalmente frente à Fhex (14,62 µg/mL), apresentando reforço da atividade também com a Fdic (19,69 µg/mL) e Facet (31,94 µg/mL). A Fhex foi a única a demonstrar diminuição da CIM frente à neomicina. Observando-se assim que a fração hexânica apresentou efeito significativo frente os aminoglicosídeos.

Nas cefalosporinas, o EEB (31,25 µg/mL), Fdic (19,69 µg/mL) e Fbut (31,25 µg/mL) potencializaram a ação da Ceftriaxona. Nas quinolonas, somente a Fhex (314,98 µg/mL) apresentou modulação da atividade frente ao ciprofloxacino (1000 µg/mL) (figura 57).

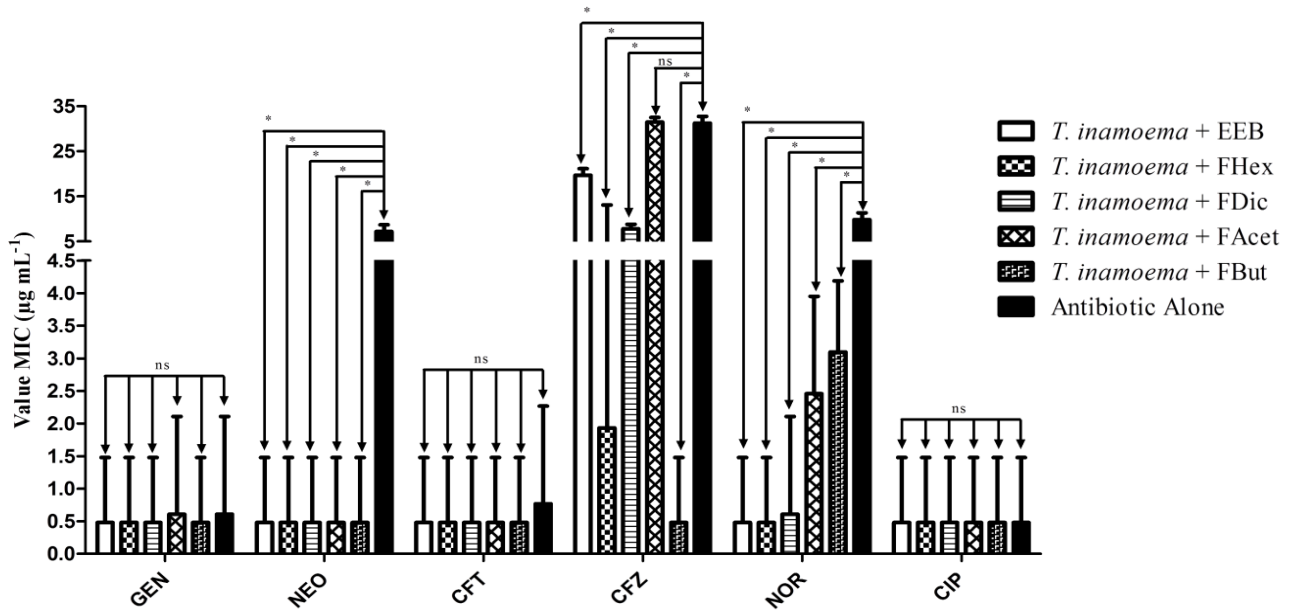


Figura 56. Atividade moduladora do extrato etanólico de *T. inamoena* e fases particionadas frente à cepa de *E coli* 5A multiresistente. ni – não inibiu o crescimento bacteriano a 1000 µg mL⁻¹; *** - diferença estatisticamente significativa (P < 0,001); ns – diferença estatística não significativa (P > 0,05). NOR – Norfloxacino; CIP – Ciprofloxacino; NEO – Neomicina; GEN – Gentamicina; CFZ – Cefazolina; CFT - Ceftriaxona

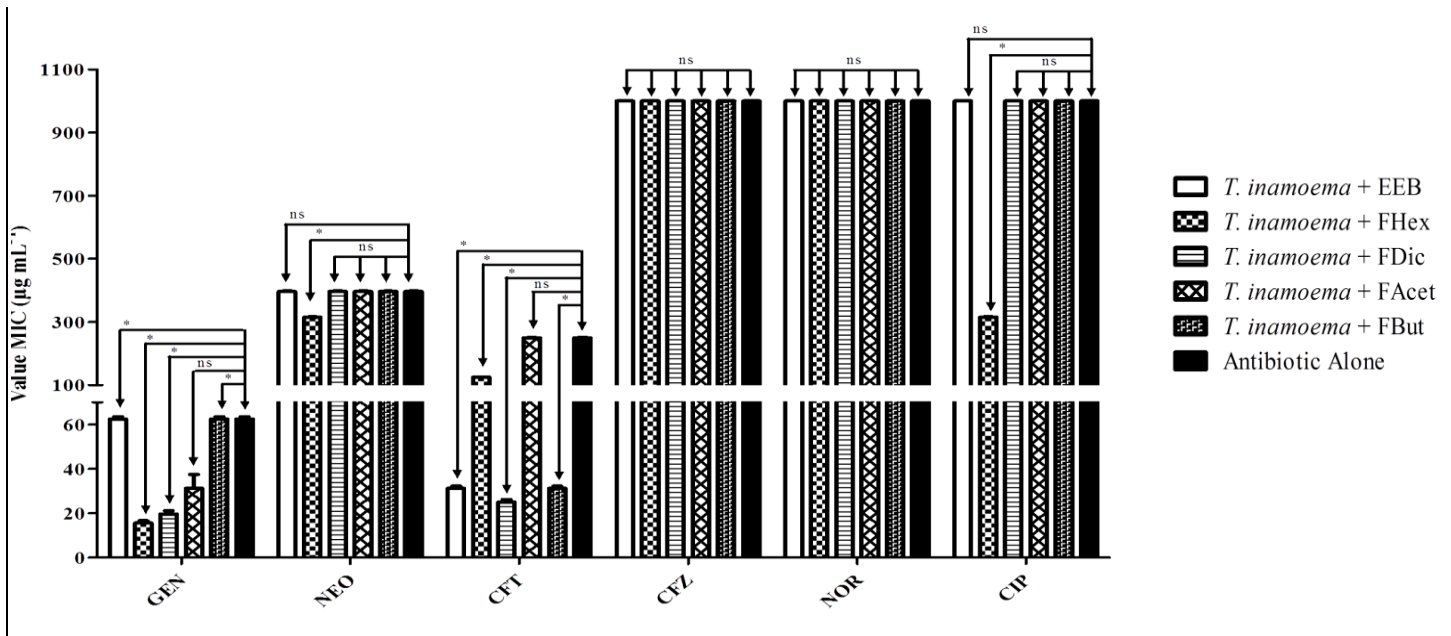


Figura 57. Atividade moduladora do extrato etanólico de *T. inamoena* e fases particionadas frente à cepa de *P. aeruginosa* 2 multiresistente. ni – não inibiu o crescimento bacteriano a 1000 µg mL⁻¹; *** - diferença estatisticamente significativa (P < 0,001); ns – diferença estatística não significativa (P > 0,05). NOR – Norfloxacino; CIP – Ciprofloxacino; NEO – Neomicina; GEN – Gentamicina; CFZ – Cefazolina; CFT - Ceftriaxona

Frente às cepas de *S. Aureus* 109 (figura 58) observou-se que a associação com os aminoglicosídeos não apresentou redução da CIM, porém observou-se uma relação de antagonismo com a gentamicina (157,49 µg/mL), com a Fdic (198,42 µg/mL), Facet (250 µg/mL) e Fbut (198,42 µg/mL), apresentando uma diminuição da atividade antimicrobiana.

Com as cefalosporinas ocorreu a redução mais significativa da CIM perante *S. Aureus* 109, a ceftriaxona (1000 µg/mL) teve potencialização da sua atividade antimicrobiana com redução da CIM para 500 µg/mL, frente ao EEB, Fdic e Facet.

Nas quinolonas, o norfloxacino (99,21 µg/mL) apresentou relação de reforço do efeito antimicrobiano frente ao EEB (78,74 µg/mL).

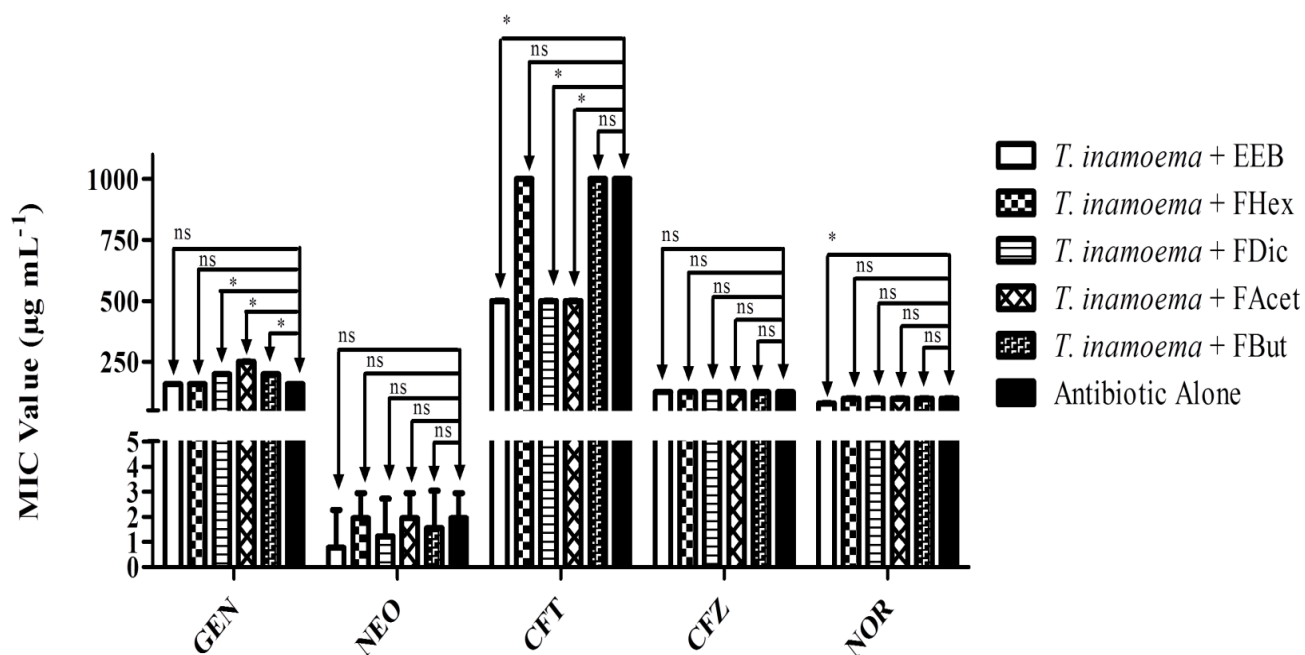


Figura 58. Atividade moduladora do extrato etanólico de *T. inamoena* e fases particionadas frente a cepa de *S.aureus* 109 multiresistente. ni – não inibiu o crescimento bacteriano a 1000 µg mL⁻¹; *** - diferença estatisticamente significativa (P < 0,001); ns – diferença estatística não significativa (P > 0,05). NOR – Norfloxacino; CIP – Ciprofloxacino; NEO – Neomicina; GEN – Gentamicina; CFZ – Cefazolina; CFT - Ceftriaxona

A potencialização antimicrobiana observada pode ser devido à constituição de metabolitos secundários presentes no extrato e nas frações como, por exemplo, os flavonoides, alcaloides e compostos fenólicos, visto que estes geralmente são sintetizados por plantas em resposta a infecções microbianas (DIXON et al., 1983).

Estes compostos estão presentes no extrato como indicado pelo *screening* e quantificação de metabólitos secundários.

Diversos estudos apontam que o mecanismo de modulação da atividade antimicrobiana pode estar ligados a diferentes tipos de ação pelos produtos vegetais, como a desestabilização da permeabilidade da membrana exterior dos microorganismos (CHUSRI et al., 2014), inibição da bomba de efluxo (COSTA et al., 2008), modificações do sítio ativo do fármaco (HEGDE et al., 2004), ou evitando a inativação do antibiótico através de degradação ou modificação enzimática (WRIGHT, 2005).

P. aeruginosa é um patógeno clinicamente importante que apresenta comumente como mecanismo de resistência, a baixa permeabilidade da membrana exterior e a expressão constitutiva de bombas de efluxo (PEREIRA, 2013). A Fhex demonstrou um importante incremento da atividade antimicrobiana com todas as classes de antimicrobianos testados frente *P. aeruginosa*, reforçando a atividade da GEN (4 vezes), NEO (1,2 vezes), CFX (2 vezes) e CIP (3 vezes). Esta ação pode se dar devido ao caráter hidrofóbico da Fhex que pode aumentar a interação com a membrana plasmática devido ao seu caráter lipofílico, tornando-a permeável a antibióticos. Matias (2010) verificou que os extratos hexânicos de *Croton camprestis* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC., proporcionaram maior potencialização aos antibióticos em comparação aos extratos polares nos testes de modulação da atividade antibacteriana, resultado consoante as pesquisas de Souza et al. (2014) e Tintino et al. (2013).

Perante o *S. aureus* 109 ocorreu uma relação de diminuição da ação antimicrobiana com a associação da gentamicina e as fases particionadas (Fdic, Facet e Fbut). Este fato pode representar que a mistura de compostos presentes nas frações possuem quantidades elevadas de metabólitos, os quais podem diminuir o efeito das substâncias ativas, através da quelação dos constituintes do antimicrobiano ou a ligação destes compostos em locais específicos responsáveis pela sua ação. Dessa forma, o efeito do fármaco será reduzido caracterizando a resposta como antagônica (BEHLING et al., 2004; SOUZA et al., 2014; WAGNER; ULRICH MERZENICH, 2009).

A ação de extratos vegetais como agente potencializador da ação antimicrobiana frente a antimicrobianos comercialmente difundidos, foi fundamentada em diversos estudos (CHAVES et al., 2015, 2016; ALENCAR et al.,

2015; PEREIRA et al., 2015; ALVES, 2014; LEITE et al., 2014; SOUZA et al., 2014; MORAIS-BRAGA et al., 2013; TINTINO et al., 2013; COUTINHO et al., 2009). Diante deste cenário sugere-se que o extrato bruto e as fases particionadas de *T. inamoena*, poderiam ser usados como uma fonte de produtos naturais com atividade modificadora de resistência a drogas antimicrobianas, estabelecendo uma alternativa frente à problemática da resistência bacteriana a drogas, atuando como adjuvante terapêutico.

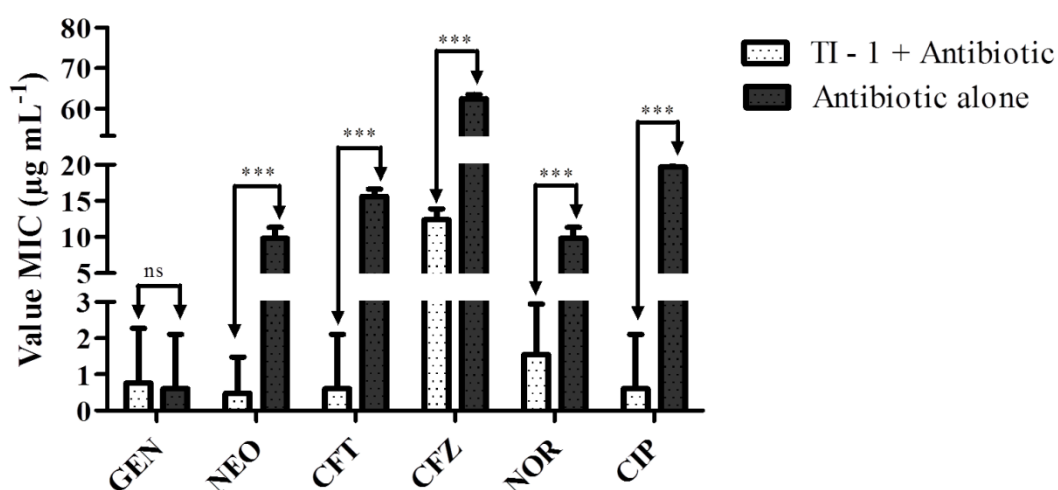


Figura 59. Atividade moduladora do β -sitosterol-3-O-glicosídeo frente a sobre cepa de *E.coli* 5A multirresistente. ni – não inibiu o crescimento bacteriano a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$; *** - diferença estatisticamente significativa ($P < 0,001$); ns – diferença estatística não significativa ($P > 0,05$). NOR – Norfloxacino; CIP – Ciprofloxacino; NEO – Neomicina; GEN – Gentamicina; CFZ – Cefazolina; CFT - Ceftriaxona

O β -sitosterol-3-O-glicosídeo demonstrou uma importante potencialização com todas as classes de antimicrobianos testados frente a *E. coli* 5A (figura 59), só não houve influência significativa quando associado à gentamicina. A neomicina apresentou redução da CIM de 9,83 $\mu\text{g/mL}$, para 0,48 $\mu\text{g/mL}$.

Frente as cefalosporinas, a cefazolina obteve uma diminuição da CIM na razão de 62,5 $\mu\text{g/mL}$ para 12,3 $\mu\text{g/mL}$ e a ceftriaxona de 15,6 $\mu\text{g/mL}$ para 0,6 $\mu\text{g/mL}$.

Nas quinolonas, o ciprofloxacino teve redução de 19,68 µg/mL para 0,6 µg/mL, e o norfloxacino apresentou uma redução da CIM na ordem de 9,83 µg/mL para 1,54 µg/mL.

Subramaniam et al. (2014), verificaram a ação moduladora do β -sitosterol-D-glicopiranosídeo frente a alguns antimicrobianos tanto para bactérias Gram positivas como Gram negativas (*E. coli*, *Vibrio cholera*, *K. pneumonia*, e *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Proteus Mirabilis*) tendo este também uma ação pronunciada em todas as classes de antimicrobianos testados, especialmente com ciprofloxacino frente ao *S. aureus*, cuja combinação com o β -Sitosterol-O-glicosídeo resultou na CIM de 6 µg/mL. Na pesquisa de Tahany et al. (2010), o β -sitosterol-3-O-glicosídeo apresentou sinergismo frente a *P. aeruginosa*, na combinação com Ampicilina. Esta ação antimicrobiana e potencializadora desta molécula, pode se dar devido ao caráter polar desta molécula que proporciona melhores efeitos diante dos microorganismos (MUGUMBATE; OVERINGTON, 2015). Zhu et al. (2013) apontaram que grupos polares demonstram interações enzimáticas importantes que podem vir a interferir na biossíntese da parede celular. O β -sitosterol-3-O-glicosídeo também apresentou ações antibacteriana no trabalho de Chattopadhyay et al. (2001).

5.6 Atividade citotóxica frente a eritrócitos

T.inamoena apresentou ações biológicas significativas, contudo ensaios toxicológicos devem complementar esta atividade. A citotoxicidade frente a eritrócitos, um teste *in vitro* utilizado na triagem toxicológica de produtos naturais representa um teste capaz de predispor resultados confiáveis, caso algum produto gere ações tóxicas ao organismo. Este teste age também como indicador de bioatividade e de triagem inicial para a seleção das amostras com potencial citotóxico (BEDNARCZUK et al., 2010; ARANHA, 2014).

As figuras de 60 a 64 apresentam o potencial hemolisante que o EEB e as fases particionadas demonstraram.

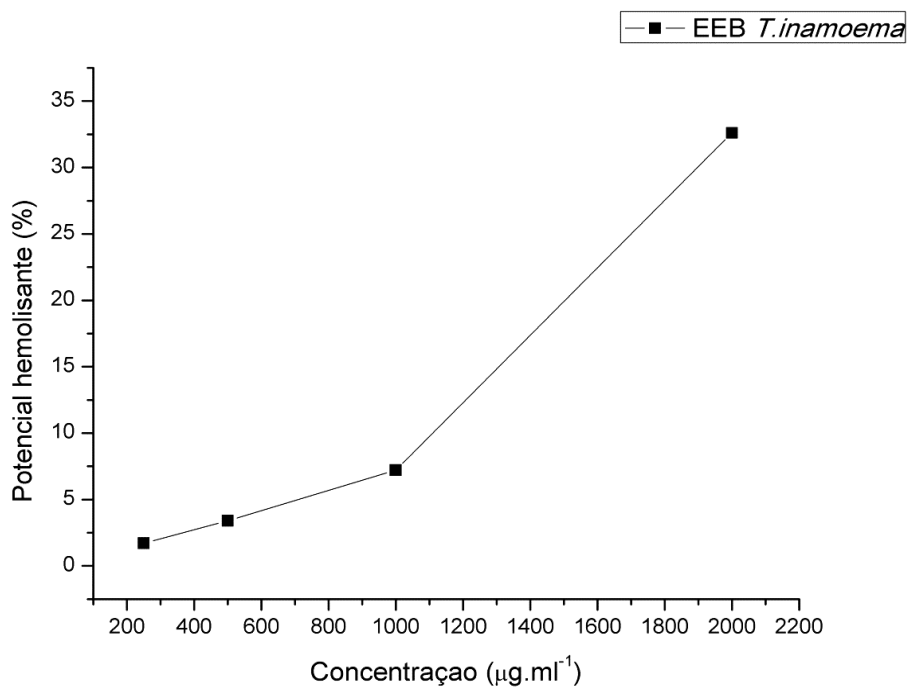


Figura 60. Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com EEB de *Tacinga inamoena*

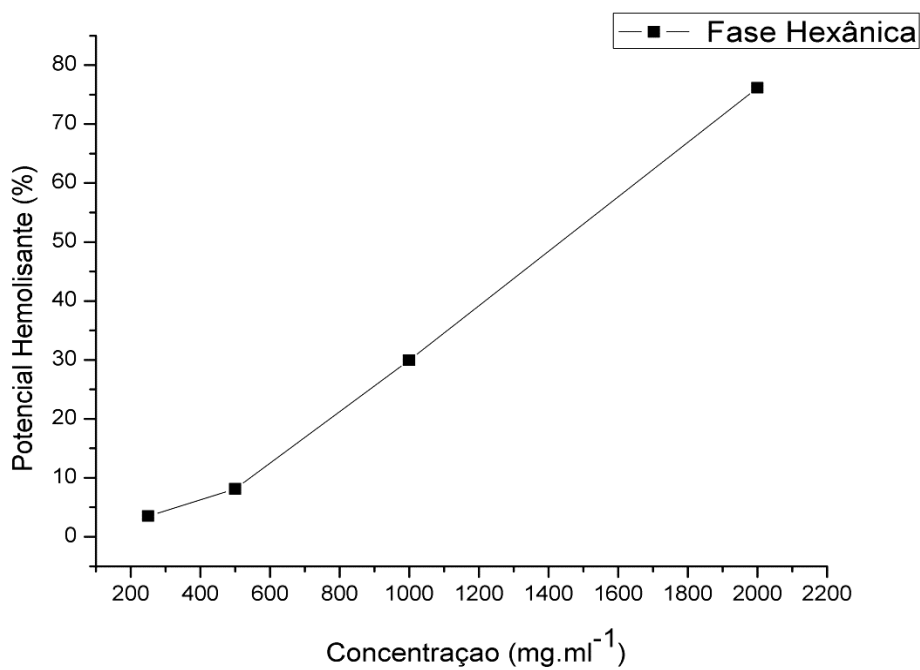


Figura 61. Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com a fração hexânica

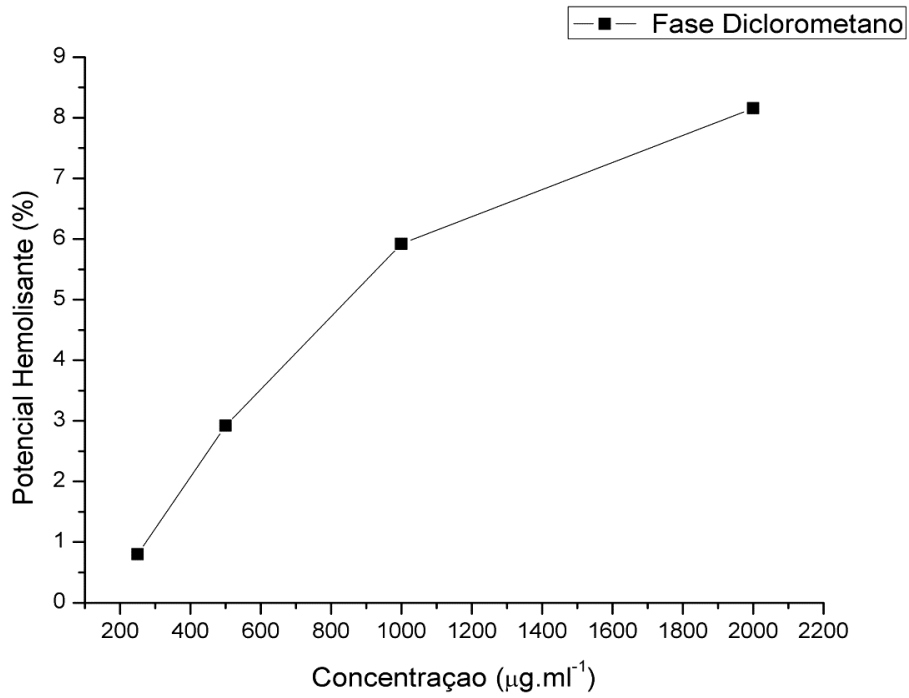


Figura 62. Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com a fase diclorometano

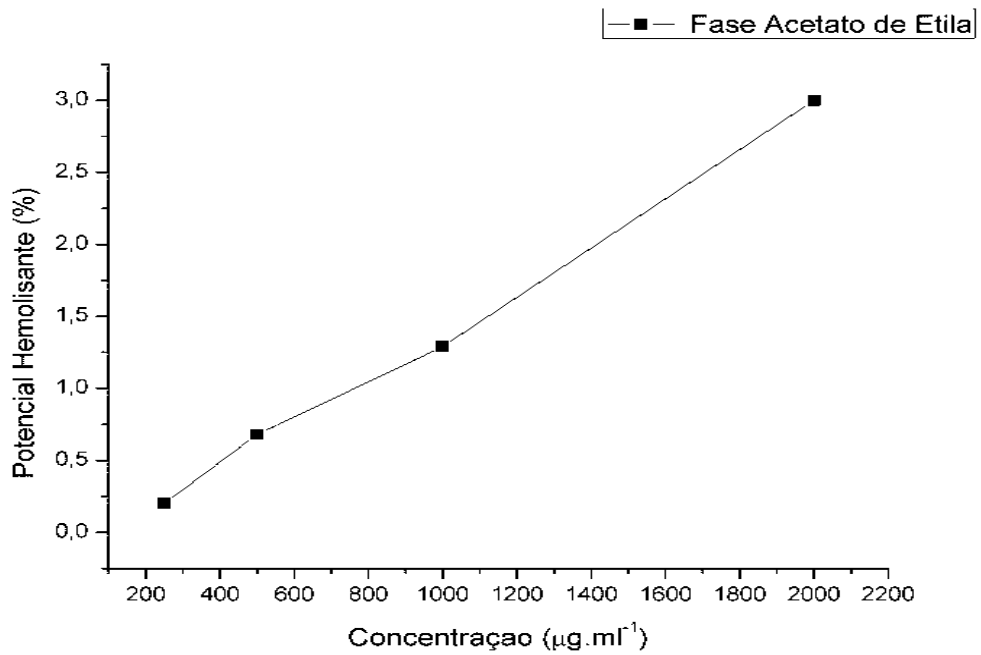


Figura 63. Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com a fase acetato de etila.

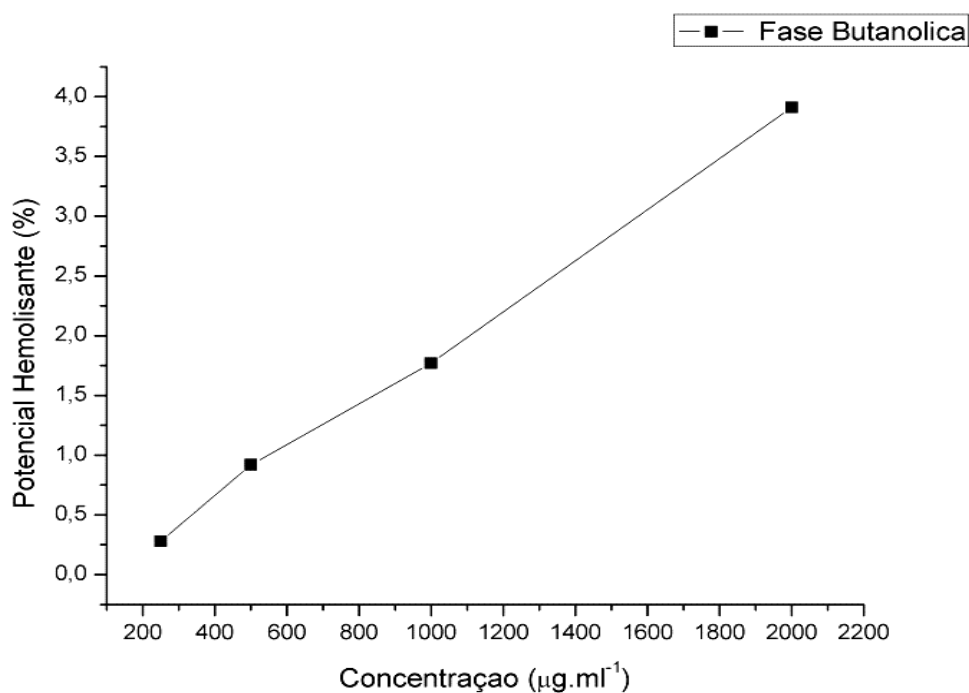


Figura 64. Percentual de hemólise em eritrócitos humanos após tratamento com a fase butanólica.

A fração hexânica demonstrou uma ação hemolisante importante na concentração de 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (76%), este resultado estima o dano eritrocitário que poderia ocorrer no organismo caso fosse ingerido. A hemoglobina livre no plasma é prejudicial à saúde, causando sérios danos em órgãos vitais tais como fígado, rins e coração (CARVALHO et al., 2007). A fração hexânica da casca de *Dalbergia brasiliensis*, apresentou hemólise nas concentrações 0,5 μL e 1,0 μL no trabalho de DALARMI (2012). Nas concentrações que apresentaram ação moduladora (125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) a fração hexânica apresentou baixa atividade hemolisante (250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ - 2,6%).

Espitia-Baena et al. (2014), afirmam que porcentagens de hemólise abaixo de 10%, indicam segurança da solução teste no modelo experimental. Nas concentrações a partir de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, a Fdic (2,9%), Facet (0,68%) e Fbut (0,61%) demonstraram baixa toxicidade, sugerindo que os compostos presentes nestas fases não possuem expressiva atividade hemolítica, sendo assim não causam danos tão pronunciados às membranas (PAULA et al., 2014). Este fato é importante porque estas concentrações relacionam-se às atividades antimicrobianas e moduladoras encontradas na *T. inamoena*.

5.7 Atividade antioxidante

A capacidade do extrato EEB no sequestro do radical livre estável de DPPH em várias concentrações mostrou se efetiva como indicado pela figura 53.

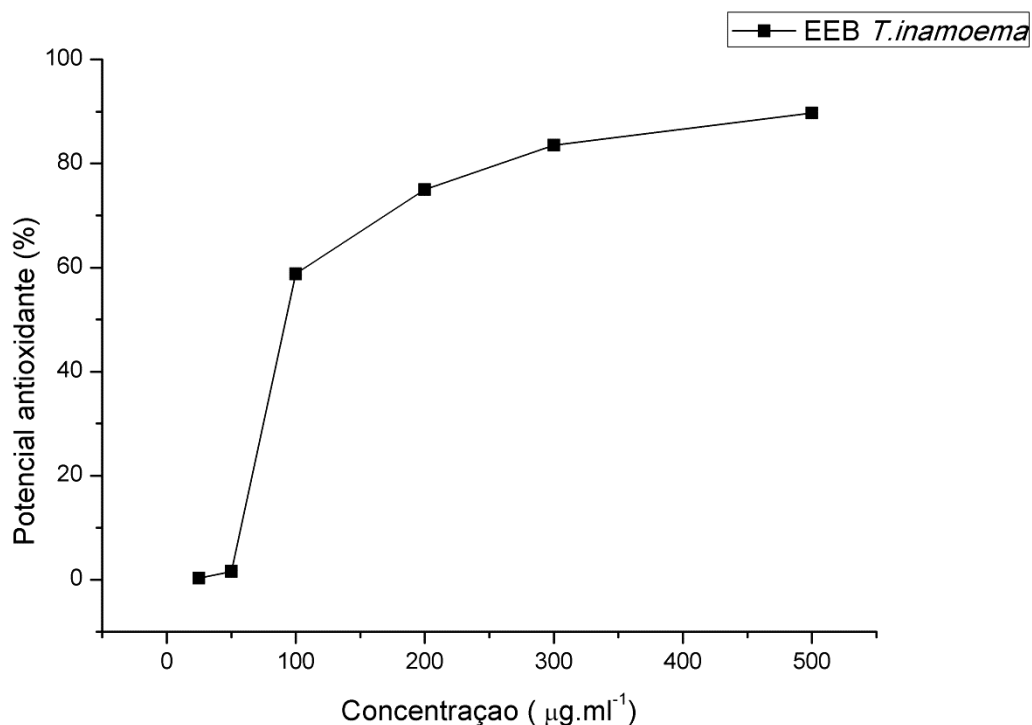


Figura 65. Atividade antioxidante do EEB de *T. inamoena* através da redução do DPPH.

Constatou-se que a amostra na concentração de 500 µg/mL obteve 89,7% de atividade antioxidante. O EEB da *T. inamoena* sofreu pequenas variações no seu potencial antioxidante entre as concentrações 500 µg/mL e 100 µg/mL. Porém na concentração de 50 µg/mL, a atividade decaiu drasticamente sendo a partir desta, a atividade antioxidante praticamente inexistente.

O IC₅₀, obtido para o EEB (348,66 µg/mL), demonstra a concentração efetiva para obter 50% de atividade antioxidante do EEB frente ao radical DPPH, este valor classifica o EEB com fraca atividade antioxidante, pois quanto maior o IC₅₀, menor a atividade antioxidante, devido à relação inversa de IC₅₀ (1/ IC₅₀) (NEGRI et al., 2009).

As raízes de *Cereus jamacaru* apresentaram uma baixa capacidade de sequestro do DPPH no trabalho de Santana et al. (2015), com IC₅₀ de 994,43 µg/mL

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

Geralmente esta atividade tem sido correlacionada com a presença de compostos fenólicos, como flavonoides, classe presente na amostra analisada. De acordo com Ross e Kasum (2002), a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos é determinada pela sua estrutura, em especial com a facilidade com que um átomo de hidrogênio a partir de uma hidroxila do anel aromático pode ser doado para um radical livre. Nesse sentido, a atividade sequestrante de radicais livres pelos flavonoides relaciona-se com sua estrutura, e os flavonoides que se apresentam hidroxilados, principalmente na posição 3-OH, 5-OH, 7-OH, 4'-OH e 3'-OH, são os que exibem maior atividade antioxidante (ROSS; KASUM, 2002).

O potencial antioxidante também está relacionado com a polaridade, natureza e posição dos grupos constituintes na estrutura dos compostos fenólicos (Fabri, 2008). Brand-Williams et al. (1995), indicam que para a maioria das substâncias testadas como antioxidante, o mecanismo parece ser muito mais complexo, necessitando de um estudo posterior mais aprofundado.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo fitoquímico das raízes de *T. inamoena* resultou no isolamento do β -Sitosterol-3-O-glicosídeo (fitoesteroide) e amidas dos ácidos hidroxicinâmicos, *N-trans*-feruloyl 4-O-metildopamina, *N-cis*-feruloyl 4-O-metildopamina, *N-trans*-feruloyl tiramina e *N-cis*-feruloyl tiramina. Sendo as amidas encontradas inéditas tanto na espécie como no gênero *Tacinga*.

A *T. inamoena* apresentou atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram positivas, Gram negativas e multirresistentes, sendo assim uma espécie de interesse para estudo e desenvolvimento de agentes antimicrobianos.

O EEB e fases particionadas, apresentaram atividades hemolíticas distintas que predizem sua baixa relação com citotoxicidade frente a células humanas.

A atividade antioxidante demonstrada indica que as raízes de *T. inamoena* não apresentam um poder antiradicalar.

A *T. inamoena* demonstrou ser uma espécie promissora, onde mais estudos químicos, farmacológicos e toxicológicos devem ser feitos a fim de fomentar o conhecimento acerca desta.

REFERENCIAS

ADESINA, S.K.; REISCH, J. Amides from *zanthoxylum rubescens*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 3, p. 839-842, 1989.

AGRA, M.F.; NURIT, K.; BASÍLIO, I.J.L.D.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Braz. J. Pharmacog.** v.18, n. 3, p. 472-508. 2008.

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L.H.C. Use of plant resources the caatinga: the case of the Wasteland state of Pernambuco (Northeastern Brazil). **Interciencia**, v.27, n.7, p. 336-346, 2002.

ALBUQUERQUE, U.P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Rev Bras Farmacogn.** p.678-689, 2006.

ALBUQUERQUE, U. P.; OLIVEIRA, R.F. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.** p. 156–170, 2007.

ALBUQUERQUE, U.P.; MONTEIRO, J.M.; RAMOS, M.A; AMOKIDNEYS, E.L.C.. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **J. Ethnopharmacol**, v.110,. p. 76–91. 2007a.

ALBUQUERQUE, U.P.; MEDEIROS, P.M.; ALMEIDA, A.L.S. MONTEIRO, J.M.; LINS NETO, E.M.F. et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **J. Ethnopharmacol**, v. 114, p. 325–354, 2007b.

ALBUQUERQUE, U.P. A etnobotânica no nordeste brasileiro. In: CAVALCANTI, T.B. & WALTER, B.M.T. Tópicos Atuais em Botânica: Palestras Convidadas do 51º Congresso Nacional de Botânica. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Sociedade Botânica do Brasil, 2000.

ALENCAR, L.C.B.; CHAVES, T.P.; SANTOS, J.S.S.; NÓBREGA, F.N.; ARAÚJO, R.M.; SANTOS, V.L.; FELISMINO, D.C.; MEDEIROS, A.C.D. Efeito modulador do extrato de plantas medicinais do gênero *Spondias* sobre a resistência de cepas de *Staphylococcus aureus* à Eritromicina. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v.36, n.1, p.111-116, 2015.

ALIMI, H. et al. Antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* root extract in rats. **Phytomedicine**, v.17, n.14, p.1120-1126, 2010.

ALMEIDA, C.F.C.B.R.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P.; MAIA, M.B.S. Medicinal plants popularly used in the Xingó region - a semi-arid location in northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 2, n.15, p. 1-7, 2006.

ALMEIDA, C.F.C.B.R.; RAMOS, M.A.; SILVA, R.R.V.; MELO, J.G.; MEDEIROS, M.F.T. et al. Intracultural Variation in the Knowledge of Medicinal Plants in an Urban-Rural Community in the Atlantic Forest from Northeastern Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.15, 2012.

ALMEIDA, C.F.C.B.R.; RAMOS, M.A.; AMOKIDNEYS, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P.A. Comparison of knowledge about medicinal plants for three rural communities in the semi-arid region of northeast of Brazil. **J. Ethnopharmacol.**v. 127, p. 674–684. 2010.

ALVES, .C.; DAVID, J.M. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Quim. Nova**, v. 33, n. 10, 2010.

ALVES, E.F.; SANTOS, B.S.; MATIAS, E.F.F. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória da fração hexânica do extrato hexânico de *Cordia verbenacea* DC. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 2, n. 5, 2014.

AMARAL, F.M.M.; COUTINHO, D.F.; RIBEIRO, M.N.S.; OLIVEIRA, M.A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luiz. **Rev Bras Farmacogn.** v.13(supl.1), p. 27-30. 2003.

ANDRADE, C.T.S.; MARQUES, J.G.W.; ZAPPI, D.C.. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.3, p.36-42, 2006.

ANVISA. **Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos**. Brasília, 2003.

APARÍCIO. R.M.; GARCIA-CELMA, M.J; VINARDELL, M.P.; MITJANS, M. *in vitro* studies of the hemolytic activity of microemulsions in human erythrocytes. **J. Pharm Biomed. Anal.**, v.39,p.1063-1067, 2005.

ARANHA, E,S,P. Avaliação do potencial anticâncer *in vitro* de óleos essenciais de plantas do gênero *Eugenia*, 82f. Dissertação (mestrado), Universidade Federal do Amazonas, 2014.

ARAÚJO, A. A. S.; MERCURI, L. P.; SEIXAS, S. R. S.; STORPIRTIS, S.; MATOS. J. R. Determinação dos Teores de Umidade e Cinzas de Amostras Comerciais de Guaraná Utilizando Métodos Convencionais e Análise Térmica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, p. 270-277, 2006.

ARRAIS, L.G.;LYRA, H.F.S.; BATISTA, D.C.A.; COUTINHO, F.N.; SARAIVA, A.M.; PEREIRA, R.C.A.; PISCIOTTANO, M.N.C.; XAVIER, H.S.; MELO, S.J. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill. (Zabelê). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.2. p. 316-322. 2014.

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

BACKES, M. et al. Rubemamine and Rubescenamine, Two Naturally Occurring NCinnamoyl Phenethylamines with Umami Taste Modulating Properties. **J. Agric. Food Chem**, 2015.

BAILLY, F.; COTELLE, P. Anti-HIV activities of natural antioxidant caffeic acid derivatives: toward an antiviral supplementation diet. **Curr. Med. Chem.**, v. 12, p. 1811- 1818, 2005.

BARBOSA, W. L. R. **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais**. Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém, 2001.

BARNI, S.T.; CECHINEL FILHO, V.; COUTO, A.G. Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria prima farmacêutica. **Rev Bras Farmacogn.** v.19, n.4, p.865-870, 2009.

BARTHLOTT, W.; HUNT, D. R. Cactaceae. In. KUBITZKI, K.; ROHWER, J. G.; BITTRICH, V. [eds.], The families and genera of vascular plants. **Springer Verlag**, Berlin, Germany, v. 2, p.161–197.1993.

BEDNARCZUK, V. ; VERDAM, M.C.S ; MIGUEL, M.D ; MIGUEL, O.G. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.11, n.2. 2010.

BEHLING, E.B.; SENDÃO, M.C.; FRANCESCATO, H.D.C.; ANTUNES, L.M.G.; BIANCHI, M.L.P. Flavonoid quercetin: general aspects and biological actions. **Alim Nutr.** v.15, n.3, p. 285-92, 2004.

BEZERRA, D.A.C.; RODRIGUES, F.F.G.; COSTA, J.G.M.; PEREIRA, A.V.; SOUSA, E.O.; RODRIGUES, O.G. Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret E *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, n. 1, p. 99-106. 2011.

BOZI, S.; FERUGLIO, L.; DAROS, T.; SPALLUTO, G.; GREGORETTI, B.; TERDOSLAVICH, M.; DECORTI, G.; PASSMONTI, S.; MORO, S.; PRATO, M. Hemolytic effects of water-soluble fullerene derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.47, p. 6711-6715, 2004.

BRAGA, T.V.; OLIVEIRA, T.T.;PINTO, J.T.; DORES, R.G.R.; NAGEM, T.J. Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. verticillata e avaliação do processo de secagem em estufa com ventilação forçada. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.** v, 28, n.3, p.:287-90. 2007.

BRANDÃO, R.; LARA, F.S.; PAGLIOSA, L.B.; SOARES, F.A.; ROCHA, J.B.T.; NOGUEIRA, C.W.; FARINA, M. Hemolytic effects of sodium selenite and mercuric chloride in human blood. **Drug and Chemical Toxicology**, v.28, p. 397-407. 2005.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL. Portaria MS/GM nº 533. (2012). Ministério da Saúde, Elenco de medicamentos e insumos da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), Brasília, DF. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm./2012/prt0533_28_03_2012.html> Acesso em: 14 de maio de 2016.

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

CARTAXO, S.L.; SOUZA, M.M.A.; ALBUQUERQUE, U.P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v.131, p. 326-342, 2010.

CARVALHO, et al. Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. v.29, n. 2. p.149-152, 2007.

CASTRO, S.A; CALVACANTE, A. Flores da Caaatinga. Instituto Nacional do Semiário -INSA. 2011.

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

CHAVES, M.A.F. Ação antioxidante das vitaminas C e E no processo oxidativo em eritrócitos de indivíduos portadores de hemoglobina S. Dissertação (Pos-Graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, 2007.

CHAVES, T.P.; BARBOSA, A.S.; NUNES, L.E.; DA SILVA, K.M.A.; SIMÕES, M.O.; SANTOS, R.L.; CATÃO, R.M.R.; SANTOS, V.L.; MEDEIROS, A.C.D. Evaluation of the potential modulator of bacterial resistance, acute toxicity and chemical composition of *Schinopsis brasiliensis* Engl. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.33, n. 9, p. 843-849, 2015.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Approved Standard**. 9th. ed. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

CORREIA LIMA, R.C.; CAVALCANTE, A.M.B.; MARIN, A. D.P. Desertificação e Mudanças Climáticas no Semiárido Brasileiro. Instituto Nacional do Semiárido – INSA. 2011.

CHATTOPADHYAY, A., K. D.; MAITI, A., A.P.; KUNDU, A. M.S.; CHAKRABORTY, A.R.; BHADRA, B.S.C.; MANDAL, C. A.B. Mandal d Antimicrobial activity of *Alstonia macrophylla*: a folklore of bay islands. **Journal of Ethnopharmacology** v.77, p.49–55, 2001.

CHEN, C.; TANG, H.; SUTCLIFFE, L. H.; BELTON, P. S.; **J. Agric. Food Chem.** v.48, 2000.

CHUSRI, S.; NA-PHATTHALUNG, P.; SIRIYONG.; PAOSEN, S.; VORAVUTHIKUNCHAI, S.P. *Holarrhena antidysenterica* as a resistance modifying

agent against *Acinetobacter baumannii*: Its effects on bacterial outer membrane permeability and efflux pumps. **Microbiological Research**, v. 169, p. 417–424, 2014.

COSTA, V. C. O.; TAVARES, J.F.; AGRA, M. F. et al. Composição química e modulação da resistência bacteriana a drogas do óleo essencial das folhas de *Rollinia leptopetala* R. E. Fries. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n.2, p. 245-248, 2008.

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

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; LIMA, E.O.; SILVA, F.V.S.;SIQUEIRA, J.R. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, p. 328 - 330. 2008.

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.; LIMA, E.O.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P. Potentiating effect of *Mentha arvensis* and chlorpromazine in the resistance to aminoglycosides of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *In vivo*. v.23, n.2, p. 287-9, 2009a.

COUTINHO HDM, COSTA JGM, FALCÃO-SILVA VS, SIQUEIRA- JÚNIOR JP, LIMA EO. Fruits to potentiate the antibiotic activity: the effect of *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum* L. agains MRSA. **Acta Aliment**. v. 4, n.1, p. 67-72, 2012.

COUTO, R.O.; VALGAS, A.B.; BARA, M.T.F.; PAULA, J.R. Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* dc. (Myrtaceae). **Rev Eletr Farm**. v.6, n.3, p.59-69, 2009.

CRUZ, R. G. **Atividade antioxidante de extratos vegetais: estudo das condições de extração e aplicação em sistema lipídico**. 98 pgs. Dissertação. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2014.

CUSHNIE, T.P.T.; LAMB, A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. **Int. J. Antimicrob. Ag.** v. 26, n.5, p. 343-356, 2005.

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

DALARMI, L. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades biológicas da Dalbergia brasiliensis**, Vogel. 2012. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

DAVET, A. **Estudo fitoquímico e biológico do cacto – Cereus jamacaru de candolle, cactaceae**. 121 pgs. Dissertação. Universidade Federal do Paraná. 2005.

DAVET, A. et al. Atividade antibacteriana de *Cereus jamacaru* DC, Cactaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.19, n.2B,p. 561-564, 2009.

DÉBORA B. S. **Estudo fitoquímico das folhas de Psychotria viridis (rubiaceae) e avaliação da atividade biológica de extratos e constituintes**. Universidade federal de minas gerais. Departamento de química. 2015.

DÉGASPARI, C.H.; WASZCYNKYJ, N. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos, **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DIXON R, DEY P, LAMB C. Phytoalexins: Enzymology and molecular biology. **Adv Enzymol.** v. 55, p.61–69, 1983.

DZUBAK, P. et al. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. **Nat. Prod.Rep.** v.23, p. 394-411, 2006.

EISELE, K.; LANG, P.A.; KEMPE, D.S.; KLARL, B.A.; NIEMOLLER, O.; WIEDER, T.; HUBER, S.M.; DURANTON, C.; LANG, F. Stimulation of erythrocyte phosphatidylserine exposure by mercury ions. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 2006, 210, 116-122.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia. **Cienc. Cult.** v.55, n.3, p. 35-36. 2003..

ESPITIA-BAENA, J.E.;ROBLEDO-RESTREPO, S.M.; CUADRADO-CANO, B.S.; ROSARIO, H.D.; GÓMEZ-ESTRADAI, H.A. Perfil fitoquímico, actividad anti-Leishmania, hemolítica y toxicológica de *Cordia dentata* Poir. Y *Heliotropium indicum* L. **Rev Cubana Plant Med.** Ciudad de la Habana, v.19, n.3, 2014.

FABRI, R.L.; COSTA, J.A.B.M. Perfil farmacognóstico e avaliação das atividades citotóxica e antibacteriana de *Bromelia antiacantha* Bertol. **Rev Eletr Farm.** v.9, n.2, p.37-48, 2012.

FACCHINI, P.J.; HAGEL, J.; ZULAK, K.G. Hydroxycinnamic acid amide metabolism: physiology and biochemistry, **Can. J. Bot.**, v. 80, p. 577-589, 2002.

FARIA, G. E.; BARROS, N. F.; NOVAIS, R. F.; SILVA, I. R.; NEVES, J. C. L. Carbono orgânico total e frações da matéria orgânica do solo em diferentes distâncias do tronco de eucalipto. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 26, n. 80, p. 265-277, 2008.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

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

FERRO, D. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 502p.

FICO, G.; BRACA, A.; TOMMASI, N.; TOMÈ, F.; MORELLI, I. Flavonoids from *Aconitum napellus* subsp.*Neomontanum*. **Phytochemistry**, v. 57, p. 543-546. 2001.

FONTANIELLA, B.; MATEOS, J.L.; VICENTE, C.; LEGAZ, M.E. Improvement of the analysis of dansylated derivatives of polyamines and their conjugates by highperformance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 919, p. 283-288, 2001.

FORINO, M.; TARTAGLIONE, L.; DELL'AVERSANO, C.; CIMINIELLO, P. NMR-based identification of the phenolic profile of fruits of *Lycium barbarum* (goji berries). Isolation and structural determination of a novel N-feruloyl tyramine dimer as the most abundant antioxidant polyphenol of goji berries. **Food Chemistry**, v.194, p. 1254–1259, 2016.

FORZZA, R.C. et al. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2012. Disponível em:< <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

FREIRES, I. A. et al. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents against Cariogenic Bacteria: A Systematic Review. **Molecules**, v. 20, p.7329-7358, 2015.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R.A.C.; SILVA, M.F.P. et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v.18, n.4.p. 627-641, 2008.

GALATI, E. M.; PERGOLIZZI, N.; MICELI, M.T.; MONFORTE, M.M. Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. Cladodes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 229-233, 2002.

GARIGLIO, M.A.; SAMPAIO, E.V.S. B.; CESTARO, L.A.; KAGEYAMA, P.Y. **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da caatinga**. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010.

GASPAR, A.; GARRIDO, E.M.; ESTEVS, M.; QUEZADA, E.; MILHAZES, N.; GARRIDO, J.; BORGES, F. New insights into the antioxidant activity of

hydroxycinnamic acids: synthesis and physicochemical characterization of novel halogenated derivatives. **Eur. J. Med. Chem.** v.44, p. 2092-2099, 2009.

GAZZANEO, L.R.S.; LUCENA, R.F.P.; ALBUQUERQUE, U.P. Knowledge and use of medicinal plants by Topical use specialists in an region of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil). **J Ethnobiol Ethnomed.** v.1, n. 9, 2005.

GIBBONS,S. Anti-staphylococcal plant natural products. **Natural Product Reports**, Londres. v. 21, n.2, p. 263-777,2004.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v.30, n. 2, p. 374-381. 2007.

GLOBBO-NETO, L; SANTOS, M. D; ALBARELLA, L. et. al. Glycosides, caffeoylquinic acids and flavonoids from the polar extract of leaves from *Lychnophora ericoides* Mart (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology.** v. 46, p. 473-475. 2008.

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

GOTTLIEB, O.R. Micromolecular evolution, systematics and ecology, an essay into a novel botanical discipline. **Springer-Verlag**, Heidelberg. 1982.

GUIMARÃES, A. C.; SIANI, A. C. Triterpenos das folhas de *Protium strumosum*. **Revista Fitos**, v.3, n.01, 2007.

GUPTA, E.; PURWAR, S.; SUNDARAM, S.; RAI, G. Nutricional e valores terapêuticos de *Stevia rebaudiana*: Uma revisão. **J Med Res Plant.** v.46,n. 7, p. 3343-3353, 2013.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular aspects of medicine**, Londres, v. 27, p. 91-93..2006.

HEGDE, V.R.; PU, H.; PATEL, M.; BLACK, T.; SORIANO, A.; ZHAO, W.; GULLO V.P.; CHAN, T.M. Two new bacterial DNA primase inhibitors from the plant *Polygonum cuspidatum*. **Bioorg Med Chem Lett**. v. 14, n. 9, p. 2275–7, 2004.

HOLLIS, H.; SCHEINVAR, L. **El Interesante mundo de las cactáceas**. México: Fondo de Cultura Econômica, 1995. 235p.

HORIO, T.; YOSHIDA, K.; KIKUKI, H.; KAWABATA, J.; MIZUTANI, J. A phenolic amide from roots of *Chenopodium album*. **Phytochemistry**, v. 33, p. 807–808, 1993.

KIESLING, R. Cactaceas de la Argentina Promisorias Agronomicamente. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**, E.U.A., v.4, n.1, p.11-14. 2001.

KRISTENSEN, B.K.; BURHENNE, K.; RASMUSSEN, S.K. Peroxidases and the metabolism of hydroxycinnamic acid amides in Poaceae. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, p. 127-140, 2004.

KROON, P.A.; WILLIAMSON, G. Hydroxycinnamates em plantas e alimentos: Atual e perspectivas futuras. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n.3, p. 355-361, 1999.

LAGOS V.V.; Pereira, R.N.; Bertol. C.D. Propriedades micromeríticas e análise físico-química de matérias-primas de alopurinol. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*, 2012;33(3):385-393

LALL, N. et al. Antifungal activity of naphthoquinones and triterpenes isolated from the root bark of *Euclea natalensis*, *South African Journal of Botany*, Pretoria, v.72, n.4, p.579-83, jan. 2006.

LEITE, L.H.; TINTINO, S.R.; FIGUEREDO, F.G. et al. Composição química e estudo da atividade antibacteriana de *Bowdichia virgilioides* Kunth (Sucupira) – Fabaceae – Papilionoidae. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 13, n.5, p. 477-487, 2014.

LEO, M.; ABREU, M.B.; PAWLOWSKA, A.M.; CIONI, P.L.; BRACA, A. Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC–PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses. **Phytochem Lett.** v.3, p. 48–52. 2010.

LIMA, J.L.S. **Plantas forrageiras das caatingas – Usos e potencialidades.** Petrolina, EMBRAPA-CPATSA, PNE, RBGKEW, 1996. 37p.

LI, J.; LEE, T.M.; RABA, R.; AMUNDSON, R.G.; LAST, R.L. Arabidopsis mutants are hypersensitive to UV-B radiation. **Plant Cell** 5, p. 171-179, 1993.

LOTTENBERG, A. M. P. et al. Eficiência dos Ésteres de Fitoesteróis Alimentares na Redução dos Lípides Plasmáticos em Hipercolesterolêmicos Moderados. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v.79, n.2, p. 139-142, 2002.

LUCENA, R, F, P.; SOARES, T.C.; VASCONCELOS NETO, C.F.A.; CARVALHO, T.K.N.; LUCENA, C.M. et al. Use of plant resources the caatinga in a rural community in Curimataú Paraíba (Northeast of Brazil). **Polibotânica**, v.4, p. 217-238. 2012.

LUCENA, C.M.; LUCENA, R..F.P.; COSTA, G. M. et al., Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, , v.9, n.62, 2013.

LUCENA, C.M.; CARVALHO, T. K.N; RIBEIRO, J. E.S; QUIRINO, J.G.M. Conhecimento botânico tradicional sobre cactáceas no semiárido do Brasil. **Gaia Scientia**, v.9, n. 2, p. 77-90, 2015.

KAVAMURA, V. N. **Bactérias associadas às cactáceas da Caatinga: promoção de crescimento de plantas sob- estresse hídrico**. 244p. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura . Piracicaba, 2012.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATAN A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v.29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

KUTCHAN, T.M. Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. **Plant Physiology**, v.125, p. 58-60. 2001.

MACEDO, V.; BARROS, A. R.; SCIENZA, L. C.; ZATTERA, A. J. **Síntese e caracterização morfológica de compósitos expandidos de poliuretano com a adição de pó de madeira**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 12., 2013, Florianópolis. Anais. CBPol, 2013.

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

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA-JUNIOR, V. F.; ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG, N. F. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quím. Nova**, v. 25, n.3, p. 429-438, 2002.

MACIEL, J. S.; CHAVES, O. S.; BRITO FILHO, S. G.; TELES, Y. C. F.; FERNANDES, M. G. New Alcamide and Anti-oxidant Activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). **Molecules**, v. 21, n. 11, 2016.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Vannilin-HCL method for condensed tannins: effect of organic solvents used for extraction of tannins. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 19, n. 4, p. 613-621, 1993.

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

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

MARTINELLI, G.; MORAES, M.A. 2013. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://cncflora.jbrj.gov.br>> Acesso em: 17 de jun. 2016.

MARTINS, C, A. **Avaliação da Atividade Antioxidante *in vitro* e *in vivo* do Guaraná (*Paullinia cupana*) em pó**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo. 2010.

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

MASON, T.L.; WASSERMAN, B.P. Inactivation of red beet beta glucan synthase by native and oxidized phenolic compounds. **Phytochemistry**, v. 26, n.8, p. 2197-2202, 1987.

MAUSETH, J.D. Comparative anatomy of tribes Cereae e Browningieae (Cactaceae). **Bradleya**, v. 14, p. 66-81, 1996.

MAZID, M.; KHAN, T. A.; MOHAMMAD F. Role os secondary metabolites in defense mechanisms os plants. **Biology and Medicine**, v.3, n.2, p. 232-249, 2011.

MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOULMA, O. G. Determination of the Total Phenolic, Flavonoid and Proline Contents in Burkina Fasan Honey, as well as their Radical Scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, p. 571-577, 2005.

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

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

MMA/IBAMA. **Monitoramento do Bioma Caatinga 2008-2009** - Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite – Acordo de cooperação técnica MMA/Ibama. Brasília, p. 46, 2011.

MODAK, B.; TORRES, R.; URZÚA, A. Seasonal variation of the Flavonoids Pinocembrin and 3-o-methylgalangin, in the surfasse componente mixture (resinous exudates and waxy coating) of *Heliotropium stenophyllum*. **J. Chill Chem Soc**, v. 56, n 1, 2011.

MORAIS-BRAGA, M. F. B. et al. Atividade antibacteriana, antifúngica e moduladora da atividade antimicrobiana de frações obtidas de *Lygodium venustum* SW. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 12, n. 1, 2013.

MOSCA, V.P.; LOIOLA, M.I.B. Uso popular de plantas medicinais no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. **Rev Caatinga**. v. 22, n.4, p. 225-34, 2009.

MOUSSA-AYOUB, T. E., EL-SAMAHY, S. K., KROH, L. W., & ROHN, S. Identification and quantification of flavonol aglycons in cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruit using a commercial pectinase and cellulase preparation. **Food Chemistry**, v.124, p. 527–533, 2011.

MUGUMBATE, G.; OVERINGTON, J. P. The relationship between target-class and the physicochemical properties of antibacterial drugs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 24, n.16, 2015.

NASEER,F.; REHMAN, S.A.A.; AHMAD, T.; PERVEEN, N.; KARIM,, M.; FAROOQI, Z.R.; ASHRAF, M.Z. Antioxidant Potential of Leaves of *Opuntia monacantha* Ethanol

Extract and Various Fractions: An *in vitro* Study. **Global J. Pharmacol.**, v. 9, n. 2, p. 144-149, 2015.

NCCLS. **National Committee For Clinical Laboratory Standards. Reference for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: approved standard.** document M27-A2. Second edition. NCCLS, V. 22, n.15, p.1-29, 2002.

NECCHI, R. M. M. et al. *In vitro* antimicrobial activity, total polyphenols and flavonoids contents of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae). **Research in Pharmacy**, v. 2, n. 3, p. 01-07, 2012.

NEGRI, M.L.; POSSAMAI, J.C.; NAKASHIMA. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2B, p. 553-556, 2009.

NETO, M.B. **Origem da estabilização de eritrócitos por sorbitol.** Dissertacao (Pós Graduação em Genética e Bioquímica). Universidade Federal de Uberlândia, 2006.

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

OLIVEIRA, V.B.; ZUCHETTO, M.; OLIVEIRA, C.F.; PAULA, C.S.; DUARTE, A.F.S; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por CLAE-DAD de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p. 230-239, 2016.

OLIVEIRA, L. J. **Bioensaios de *Pilsocereus gounellei* (Weber) Byles & Rowley (Parâmetros fitoquímicos, toxicológicos, microbiológicos, hematológicos e bioquímicos).** Dissertação (mestrado) – UFPE, 2011.

OLIVEIRA, L.M.B.; BEVILAQUA, C.M.L., MORAIS, S.M.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; MACEDO, I.T.F. Plantas taniníferas e o controle de

nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1967-1974, 2011.

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

PARK, E.H.; KAHNG, J.H.; LEE, S.H.; SHIN, K.H. An antiinflammatory principles from cactus. **Fitoterapia**, v. 72, p. 288–290, 2001.

PAULA, C.S.; CANTELI, V.C.D.; VERDAM, M.C.S.; KALEGARI, M.; CAMPOS, R.; HIROTA, B.C.K.; MIGUEL, O.G.M.; MIGUEL, M.D. Atividade antioxidante e toxicidade preliminar do extrato e frações obtidas das folhas e cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. **Rev. bras. plantas med.** v.16, n.2, 2014.

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

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

PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES, M.C.; MUÑOZ, J.D.; CRUAÑES, J. FERRARO, G, GUTKIND G, MARTINO, V. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **J Ethnopharmacol**, v. 77: p. 37-40, 2001.

PEREIRA, D. C. Sistemas de efluxo MeAB-OprM e MeXY e produção de carbapenemases em *Pseudomonas aeruginosa*: Efeito na resistência aos

carbapenêmicos. 57 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.

PEREIRA, N. L. F.; AQUINO, P. E. A.; SILVA, M. R.; NASCIMENTO, E. M. et al. Efeito antibacteriano e anti-inflamatório tópico do extrato metanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 2, p. 73-159, 2015.

PIRES, M.V.; ABREU, P.P.; SOARES, C.S.; SOUZA, B.; MARIANO, D.; SILVA, D.C.; ROCHA, E.A. Etnobotânica de terreiros de candomblé nos municípios de Ilhéus e Itabuna, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v.7, n.1, p.3-8, 2009.

POTTERAT, O. Antioxidants and free radical scavengers of natural origin. **Current Organic Chemistry**, v.1, p.415, 1997.

PROENÇA DA CUNHA, A., PEREIRA DA SILVA, A., & Rodrigues Roque, O. **Plantas e Produtos Vegetais Em Fitoterapia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.

QUIRINO, T. R; RPDRIGUES, G.S; IRIAS, L. J. M. **Ambiente, sustentabilidade e pesquisa: tendência da agricultura brasileira até 2010**. Jaguaraiúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. 21 p.

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

RAGASA, C.Y.; CORNELIO, K.B. Triterpenes from *Euphorbia hirta* and their cytotoxicity. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 11, n.5, p. 528–533, 2013.

RAIMUNDO FILHO, B. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente, **Química nova**, v. 33, n.1, p. 229-239, 2010.

RIBEIRO D.A.; MACÊDO, D.G.; OLIVEIRA, L.G.S.; SARAIVA, M.E.; OLIVEIRA, S.F.; SOUZA, M.M.A.; MENEZES, I.R.A. Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Rev. bras. plantas med.**, v.16, n.4, 2014.

ROBINSON, T. **The Organic Constituents of Higher Plants**. 6^a ed. Massachusetts: Cordus Press., p. 151-153, 1991.

RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais do domínio cerrado na região do Alto Rio Grande, Minas Gerais. **Ciencia Agrotecnica**, v. 25, p. 102-123, 2001.

ROGERO, S.O.; LUGAO, A.B.; IKEDA, T.I.; CRUZ, A.S. Teste *in vitro* de citotoxicidade: Estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**. v. 6, p. 317-320, 2003.

ROQUE, A. A. & LOIOLA, M,B. Potencial de uso dos recursos vegetais em uma comunidade Rural no semiárido potiguar. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 26, n. 4, p. 88 – 98, 2013.

ROSS, J.A.; KASUM.C.M. Dietary Flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. Ann. **Rev. Nutr.** v.22, p.19-34, 2002.

RUFINO, M.S.M, et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Comunicado Técnico Embrapa, v.127, p. 1-4, 2007.

SALEEM, M.; KIM, H.J.; HAN, C.K.; JIN, C.; LEE, Y.S. Secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. **Phytochemistry**, v. 67, n.13, p.1390–1394, 2006.

SALES, M.S.L; MARTINS, L. V; SOUZA, I; MEIRELES DE DEUS, M. S; PERON, A. P; *Cereus jamacaru* de candolle (cactaceae), o mandacaru do nordeste brasileiro. Publ. UEPG Ci. **Biol. Saúde**, Ponta Grossa, v.20, n.2, p. 135-142, 2014.

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

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

SANTOS, M.L.; LIMA, O.J.; NASSAR, E.J.; CIUFFI, K.J.; CALEFI, P. Estudo das condições de estocagem do bagaço de cana-de-açúcar por análise térmica. **Quím. Nova**. v.34, n.3, 2011.

SANTOS, D.B. **Avaliação dos efeitos de compostos orgânicos de selênio e de telúrio. sobre a integridade estrutural e funcional de células sanguíneas humanas**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica). Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

SANTOS, L. A.; REIS, V. M.; A Formação do Nódulo em Leguminosas. Seropédica-RJ: **Embrapa Agrobiologia**, n. 251, p. 14, 2008.

SHAHIDI, F.; CHANDRASEKARA, A. Hydroxycinnamates e suas *in vitro* e *in vivo* atividade antioxidante *in vivo*. **Fitoquímica Avaliações**. v. 9, n.1, p. 147-170. 2010.

SHARAPIN, N. Fundamentos de Tecnologia de Produtos Fitoterápicos. CYTED, Colombia, 248p. 2000.

SILVA, V. C. et al. Constituintes fenólicos e terpenóides isolados das raízes de *Andira fraxinifolia* (Fabaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1184-1186, 2006.

SILVA, L.R.; ALVES, R.E.; Caracterização físico-química de frutos de mandacaru. **Rev. Acad., Cienc. Agrar. Ambient.**, Curitiba, v.7, n.2, p.199-205, 2009.

SILVA, V.A. Diversidade de uso das cactáceas no nordeste do Brasil: Uma revisão. **Gaia scientia**, v. 9, n.2, p.137-154, 2015.

SILVA, R.; VENDRUSCOLO, S.L.; TORALLES, R.P. Avaliação da capacidade antioxidante em frutas produzidas na região Sul do RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 3/4, p. 398-400, 2011.

SHARAPIN, N.; ROCHA, L.M.; CARVALHO, E.S.; LÚCIO, E.M.R.A.; SANTOS, E.V.M.; ALMEIDA, J.M.L. **Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos**. Santafé de Bogotá: Programa Iberoamericano de Ciências e Tecnologia para o Desenvolvimento, 2000.

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

SOARES, D.B.S. **Estudo fitoquímico das folhas de *Psychotria viridis* (rubiaceae) e avaliação da atividade biológica de extratos e constituintes**. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2015.

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

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

SOUZA, D, O. et al. Atividade antibacteriana e moduladora de *Cecropia pachystachya* Trécul sobre a ação de aminoglicosídeos **Rev Cubana Plant Med**, v.19, n.3, 2014.

SUBRAMANIAM, S.; KEERTHIRAJA, M.; SIVASUBRAMANIAN, A. Synergistic antibacterial action of β -sitosterol-*D*-glucopyranoside isolated from *Desmostachya bipinnata* leaves with antibiotics against common human pathogens, **Rev Bras Farmacogn**, v. 24, p. 44-50, 2014.

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

YAMAMOTO. T. et al. New Feruloyl Tyramine Glycosides from *Stephania hispidula* Chem. **Pharm. Bull**. v.58, n. 3, p. 415-417, 2010.

TALEB-CONTINI, S. H.; SALVADOR, M. J.; WATANABE, E.; ITO, I. Y.; OLIVEIRA, D. C. R. Antimicrobial activity of flavonoids and steroids isolated from two *Chromolaena* species. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 39, n. 4, 2003.

TAHANY, M.A.A.R.; HEGAZY, A.; SAYED, A.M.; KABIEL, H.; EL-ALFY, T.; EL-KOMY, S. Study on combined antimicrobial activity of some biologically active constituents from wild *Moringa peregrina* Forssk. **J. Yeast Fungal Res**. v. 1, p. 015-024, 2010.

TAYLOR, N.; ZAPPI, D. Distribuição das espécies de Cactaceae na Caatinga. In: SAMPAIO, E. V. S. B.; GIULIETTI, A. M.; VIRGÍNIO, J.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L. (Ed.). Vegetação e flora da Caatinga. Recife: Associação de Plantas do Nordeste, 2002. p. 123-125.

TAYLOR, N.; ZAPPI, D. **Cacti of Eastern Brazil**. Kew: Royal Botanic Gardens, 2004.

TEIXEIRA, T.; GASPAR, A.; GARRIDO, M.E.; GARRIDO, J.; BORGES, B. Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. **BioMed Research International**, 2013.

TINTINO, S. R. et al. Atividade moduladora de extratos etanólico e hexânico de raiz de *Costus cf. arabicus* sobre drogas antimicrobianas. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 2, 2013.

TSUCHIYA, H.; SATO, M.; MIYAZAKI, T.; FUJIWARA, S.; TANIGAKI, S.; OHYAMA, M.; TANAKA, T.; JINUMA, M. Comparative study on the antibacterial Activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 50, p. 27–34, 1996.

VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a era do teste DL50. **Revista Eletronica de Farmacia**, v.3, p. 93-98, 2006.

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

VALENTE, L.; SILVA, G.; ANTUNES, A. P.; SANTOS, F. A. L.; SIANI, A. C.; TAPPIN, M. R. R.; SANTOS, R.; SOARES, R. O. A.; FERREIRA, E.; GIBALDI, D.; MAZZEI, J. L.; SHEINVAR, L. A. Evidência de alcalóides feniletilamínicos e bioatividade de três espécies de Cactáceas brasileiras. Anais do XV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Águas de Lindóia – SP, p. 122, 1998.

VÁSQUEZ, S.P.F.; MENDONÇA, M.S.; NODA, S.N. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 44, n.4, p. 457 – 472, 2014.

VILLASEÑOR, I.M.; ANGELADA, J.; CANLAS, A.P.; ECHEGOYEN, D. Bioactivity studies on beta-sitosterol and its glucoside. **Phytother Res**, v. 16, p. 417-421, 2002.

VOIGT, R.; BORNSCHEIN, M. **Tratado de tecnologia farmacêutica**. 3ª. ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 1982.

WESOLOWSKI, M.; ROJEK, B. Thermogravimetric detection of incompatibilities between atenolol and excipients using multivariate techniques. **Journal of Chromatography**, v. 144, p. 270-274, 1997.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.; MACHADO, M. 2008. **Cactaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000070>>. Acesso em 23 de jun. de 2016.

ZAPPI, D.; SASAKI.; MILLIKEN, S.; IVA, J.; HENICKA, G.S.; BIGGS N.; FRISBY, S. Plantas vasculares da região do Parque Estadual Cristalino, norte de Mato Grosso, Brasil. **Acta amazônica**, v. 41, n.1, p. 29-38, 2011.

WAGNER, H.G.; ULRICH-MERZENICH. Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. **Phytomedicine**, v. 16, p. 2–3, 2009.

WESOLOWSKI, M.; SUCHACZ, B.; KONIECZYNSKI, P. The Application of Artificial Neural Networks for the Selection of Key Thermoanalytical Parameters in Medicinal Plants Analysis. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 6, p. 811-820, 2003.

WRIGHT, G.D. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. **Adv Drug Deliv Rev**. v. 57, n.10, p.1451–1470, 2005.

World Health Organization (WHO). **The world medicines situation traditional medicines: global situation, issues and challenges**. Geneva, 12p. 2011.

YAMOTO, M.; AKI, H. Drug binding to human erythrocytes in the process of ionic drug-induced hemolysis. Flo microcalorimetric approaches. **Biochem. Pharmacol.** v.41, p.133-138, 1991.