



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
BIOATIVOS

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Pilosocereus*
pachycladus F. RITTER (CACTACEAE)**

SEVERINO GONÇALVES DE BRITO FILHO

JOÃO PESSOA – PB
2015

SEVERINO GONÇALVES DE BRITO FILHO

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Pilosocereus
pachycladus* F. RITTER (CACTACEAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da Universidade
Federal da Paraíba, como requisito para a obtenção do
título de Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos
Bioativos.

Área de concentração: Farmacoquímica

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza

**JOÃO PESSOA – PB
2015**

B862e Brito Filho, Severino Gonçalves de.
Estudo fitoquímico e atividade antimicrobiana de
Pilosocereus pachycladus F. RITTER (Cactaceae) / Severino
Gonçalves de Brito Filho.- João Pessoa, 2015.
150f. : il.
Orientadora: Maria de Fátima Vanderlei de Souza
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS
1. Produtos naturais. 2. Farmacoquímica. 3. Cactaceae.
4. *Pilosocereus pachycladus*. 5. Estudo fitoquímico.
6. Atividade antimicrobiana.

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)

SEVERINO GONÇALVES DE BRITO FILHO

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER (CACTACEAE)

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Bárbara Viviana de Oliveira Santos
PhD em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS - UFPB
Examinador Interno/UFPB

Prof^o. Dr^o. Alberício Pereira de Andrade
PhD em Agronomia/ Universidade de Córdoba - Espanha
Examinador Externo/UFPB

Prof^o. Dr^o. Fabio Correia Sampaio
PhD em Cariologia/Universidade de Oslo - Noruega
Examinador Externo/UFPB

Prof^o. Dr^o. Josean Fachine Tavares
PhD em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS - UFPB
Examinador Interno/UFPB

Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza/UFPB
PhD em Química Orgânica/USP
(Orientadora)

À MINHA MÃE EURÍDECE, coluna firme da minha edificação intelectual desde o Jardim da Infância, companheira, confidente, conselheira e acima de tudo mãe.

AO MEU PAI SEVERINO, por ter me ensinado o caminho da humildade e da simplicidade, a sua ausência física me entristece e incomoda, mas a sua presença espiritual é certa, é firme, é sólida nesse momento de alegria.

A MINHA MADRINHA NADIR, figura sempre presente tanto nos momentos sombrios quanto nos momentos alegres da minha vida. Apoiadora, torcedora, um ombro amigo, um ombro materno no qual pude me ancorar e me erguer. Sei que sem ela minha caminhada teria sido muito mais difícil.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Eurídece e à minha madrinha Nadir, pelo amor, carinho, paciência, conselho, auxílio, apoio e incentivo que vêm me proporcionando em todos os momentos da minha vida.

A todos os meus familiares que, mesmo ausentes ou distantes, desejaram o meu êxito.

À Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza, pela disponibilidade com que aceitou me orientar, pelos ensinamentos valiosos transmitidos, pela confiança em mim depositada, pela compreensão, paciência, incentivo e amizade nesta caminhada acadêmica, pelo apoio e compreensão quase que maternal com que lida com sua equipe. Um modelo de profissional, de mãe, de mulher e de ser humano.

Aos Professores da Pós-graduação, cujos preciosos ensinamentos profissionais e para a vida não serão esquecidos.

À banca examinadora pela disponibilidade em contribuir com este trabalho.

A todos os funcionários do Centro de Biotecnologia pelos diversos serviços prestados, especialmente Alexandro, Glória, Raimundo Nonato, Sócrates Golzio, Tânia Alves e Vicente Carlos pela amizade e por não medirem esforços em proporcionar o bom andamento de nossos trabalhos.

A todos que fizeram e fazem parte da equipe da Prof^a. Fátima Vanderlei pelo acolhimento e enriquecedora convivência científica e de amizade: Milen Maria, Jéssica, Otemberg, Raphael, Tiago, Yanna e *in memoriam* Marianne.

A todos os meus amigos que, mesmo na distância, acompanharam minha trajetória e sabem o quanto significam para mim.

A todos os alunos da turma do doutorado 2011.

Aos demais colegas pelo companheirismo e agradável convívio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A todos os cidadãos brasileiros que, mediante o pagamento dos seus impostos, financiaram o desenvolvimento desta pesquisa.

Enfim, ***aos que me amam*** o agradecimento pelas vibrações e energias positivas emanadas de sentimentos sinceros e verdadeiros.

E ***aqueles que não me gostam*** agradeço ao estímulo proporcionado para que eu superasse as minhas dificuldades e para que vissem a minha vitória e a minha glória.

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.

Isaac Newton

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE ESQUEMAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	23
2 OBJETIVOS.....	27
2.1 Objetivo geral.....	27
2.2 Objetivos específicos.....	27
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	29
3.1 Aspectos etnobotânicos e Etnofarmacológicos de Cactaceas.....	29
3.2 Aspectos quimiotaxonômicos da família Cactaceae.....	36
3.3 Considerações sobre o gênero <i>Pilosocereus</i>	40
3.4. Considerações sobre a espécie <i>Pilosocereus pachycladus</i> F. RITTER.....	40
3.5 A crescente ameaça da resistência antimicrobiana.....	42
3.6 Microrganismos de interesse.....	42
3.7 Mecanismo de resistência bacteriana – Bomba de Efluxo.....	45
4. EXPERIMENTAL.....	47
4.1 Procedimentos cromatográficos e definição do grau de pureza.....	47
4.2 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	47
4.2.1 Infravermelho.....	48
4.2.2 Ressonância Magnética Nuclear Espectrometria de Massas.....	48
4.3 . Estudo da atividade antibacteriana e antifúngica.....	48
4.3.1 Local de Trabalho.....	48
4.3.2 Produtos Testados.....	48
4.3.3 Antimicrobianos Sintéticos.....	49
4.3.4 Microrganismos.....	49
4.3.5 Meios de Cultura.....	49

4.3.6 Determinação da Concentração Inibitória Mínima-CIM.....	49
4.4 Atividade Moduladora da Resistência Bacteriana.....	50
4.4.1 Local de Trabalho.....	50
4.4.2 Antibióticos e preparação das soluções das fases do caule e do fruto e do 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído.....	51
4.4.3 Teste de suscetibilidade à drogas.....	51
4.5 Coleta do material botânico.....	51
4.6 Processamento do material botânico.....	51
4.7 Obtenção e particionamento dos extratos etanólicos brutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER	52
4.8 Processamento cromatográfico dos extratos etanólicos brutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	52
4.8.1.a Processamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER	52
4.8.1.b Processamento cromatográfico da fase diclorometano do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER	53
4.8.2 Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano do extrato etanólico bruto dos frutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER	54
4.8.2.1 Fracionamento cromatográfico da fração CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1) da fase diclorometano do extrato etanólico bruto dos frutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER	54
4.8.3 Processamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto das Flores de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
5.1 Substâncias isoladas de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	67
5.2. Caracterização estrutural das substâncias isoladas de <i>Pilosocereus. pachycladus</i>	68
5.2.1 Caracterização estrutural da substância Pp-1	68
5.2.2 Caracterização estrutural da substância Pp-2	71
5.2.3 Caracterização estrutural da substância Pp-3	76
5.2.4 Caracterização estrutural da substância Pp-4	83
5.2.5 Caracterização estrutural da substância Pp-5	91
5.2.6 Caracterização estrutural da substância Pp-7	95
5.2.7 Caracterização estrutural da substância Pp-10	99

5.2.8 Caracterização estrutural da substância Pp-11	104
5.2.9 Caracterização estrutural da substância Pp-9	108
5.2.10 Caracterização estrutural da substância Pp-6	117
5.2.11 Caracterização estrutural da substancia Pp-8	122
5.3 Atividade antimicrobiana.....	131
5.3.2 Resultados.....	132
5.4 Atividade moduladora da resistência bacteriana.....	133
5.4.1 Resultados e Discussão.....	133
8. CONCLUSÕES.....	136
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	138

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt: Acetato de etila

APT: Attached Proton Test

BB: Broadband

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CHCl₃: Clorofórmio

CH₂Cl₂: Diclorometano

CDCl₃: Clorofórmio deuterado

CD₃OD: Metanol deuterado

C₅D₅N: Piridina deuterada

C₂D₆SO: Dimetilsulfóxido deuterado

COSY: Correlation Spectroscopy

d: Dubleto

dd: Duplo dubleto

ddd: Duplo duplo dubleto

dl: Dubleto largo

dq: Duplo quarteto

dt: Duplo tripleto

EEB: Extrato Etanólico Bruto

EtOH: Etanol

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation

Hz: Hertz

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

m: Meta

m: Multiplete

MeOH: Metanol

Mo: Modelo da Literatura

MHz: Megahertz

nm: Nanômetro

p.: Página

ppt: precipitado

q: Quarteto

R_f: Fator de Retenção

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

s: Singleto

ssb: sobrenadante

t: Tripleto

tl: Tripleto largo

UV: Ultravioleta

δ: Deslocamento químico em ppm

V: absorção em cm⁻¹.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição geográfica da família <i>Cactaceae</i>	29
Figura 2 – Espécie <i>Cereus jamcaru</i>	32
Figura 3 – Espécie <i>Pereskia grandifolia</i>	33
Figura 4 – Espécie <i>Opuntia ficus-indica</i>	34
Figura 5 – Espécie <i>Pilosocereus pachycladus</i> F. RITTER.....	41
Figura 6 – Espécie <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Figura 7 – Espécie <i>Staphylococcus epidermidis</i>	43
Figura 8 – Espécie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
Figura 9 – Espécie <i>Candida albicans</i>	44
Figura 10 – Bomba de efluxo.....	45
Figura 11 – Substâncias isoladas de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	67
Figura 12 – Espectro de IV (KBr, cm ⁻¹) de Pp-1	69
Figura 13 – Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) de Pp-1	70
Figura 14 – Espectro de RMN ¹³ C APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de Pp-1	70
Figura 15 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹³ C APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de Pp-1	71
Figura 16 – Espectro de IV (KBr, cm ⁻¹) de Pp-2	73
Figura 17 – Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) de Pp-2	73
Figura 18 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) de Pp-2	74
Figura 19 – Espectro de RMN ¹³ C APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de Pp-2	74
Figura 20 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹³ C APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de Pp-2	75
Figura 21 – Espectro de Massas em baixa resolução de Pp-2	75
Figura 22 – Espectro de IV (KBr, cm ⁻¹) de Pp-3	78
Figura 23 – Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) de Pp-3	79
Figura 24 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) de Pp-3	79
Figura 25 – Expansão 2 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) de Pp-3	80
Figura 26 – Expansão 3 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) de Pp-3	80
Figura 27 – Expansão 4 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) de Pp-3	81
Figura 28 – Expansão 5 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 200 MHz) de Pp-3	81
Figura 29 – Espectro de RMN ¹³ C APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de Pp-3	82
Figura 30 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹³ C APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de Pp-3	82
Figura 31 – Expansão 2 do espectro de RMN ¹³ C APT (δ, CDCl ₃ , 50 MHz) de Pp-3	83

Figura 32 – Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de Pp-4	87
Figura 33 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-4	87
Figura 34 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-4	88
Figura 35 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-4	88
Figura 36 – Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-4	89
Figura 37 – Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Pp-4	89
Figura 38 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Pp-4	90
Figura 39 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Pp-4	90
Figura 40 – Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de Pp-5	92
Figura 41 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-5	93
Figura 42 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-5	93
Figura 43 – Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Pp-5	94
Figura 44 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Pp-5	94
Figura 45 – Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de Pp-7	97
Figura 46 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de Pp-7	97
Figura 47 – Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de Pp-7	98
Figura 48 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de Pp-7	98
Figura 49 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de Pp-7	99
Figura 50 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-10	102
Figura 51 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-10	102
Figura 52 – Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Pp-10	103
Figura 53 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Pp-10	103
Figura 54 – Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de Pp-11	106
Figura 55 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de Pp-11	106
Figura 56 – Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de Pp-11	107
Figura 57 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de Pp-11	107
Figura 58 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de Pp-11	108
Figura 59 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pp-9	112
Figura 60 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pp-9	112
Figura 61 – Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pp-9	113
Figura 62 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pp-9	113

Figura 63 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pp-9	114
Figura 64 – Expansão 3 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de Pp-9	114
Figura 65 – Espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pp-9	115
Figura 66 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pp-9	115
Figura 67 – Espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pp-9	116
Figura 68 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Pp-9	116
Figura 69 – Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de Pp-6	119
Figura 70 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-6	119
Figura 71 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-6	120
Figura 72 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Pp-6	120
Figura 73 – Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Pp-6	121
Figura 74 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Pp-6	121
Figura 75 – Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de Pp-8a e Pp-8b	125
Figura 76 – Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	125
Figura 77 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	126
Figura 78 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	126
Figura 79 – Espectro de RMN ^{13}C BB (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 125 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	127
Figura 80 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C BB (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 125 MHz) de Pp-8a e Pp-8b ..	127
Figura 81 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C BB (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 125 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	128
Figura 82 – Espectro de RMN ^1H x ^1H COSY (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	128
Figura 83 – Espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMQC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	129
Figura 84 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMQC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	129
Figura 85 – Espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMBC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	130
Figura 86 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMBC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	130
Figura 87 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMBC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de Pp-8a e Pp-8b	131

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	60
Quadro 2 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração 31/59 da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	60
Quadro 3 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração 1/33 da coluna da sub-fração 31/59 da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	61
Quadro 4 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração 81/113 da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	61
Quadro 5 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração 114/124 da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	62
Quadro 6 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração 60/80 da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	62
Quadro 7 – Fracionamento cromatográfico da fração CH ₂ Cl ₂ da fase diclorometano do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	63
Quadro 8 – Fracionamento cromatográfico da fração CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1) da fase diclorometano do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER...	63
Quadro 9 – Fracionamento cromatográfico da fração CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1) da fase diclorometano do extrato etanólico bruto dos frutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.	64
Quadro 10 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração 6/12 da fração CH ₂ Cl ₂ : MeOH (9:1) da fase diclorometano do extrato etanólico bruto dos frutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	64
Quadro 11 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração 1/2 da sub-fração 6/12 da fração CH ₂ Cl ₂ : MeOH (9:1) da fase diclorometano do extrato etanólico bruto dos frutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	64
Quadro 12 – Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto das Flores de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	65
Quadro 13 – Fracionamento cromatográfico do SSB da sub-fração 36/42 da fase hexânica do extrato etanólico bruto das Flores de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	65

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Obtenção e Partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	56
Esquema 2 – Obtenção e Partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto dos frutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	57
Esquema 3 – Obtenção e Partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto das flores de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	57
Esquema 4 – Processamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	58
Esquema 5 – Processamento cromatográfico da fase CH ₂ Cl ₂ do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	58
Esquema 6 – Processamento cromatográfico da fase CH ₂ Cl ₂ do extrato etanólico bruto dos frutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	59
Esquema 7 – Processamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto das flores de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F RITTER.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Cactaceae e suas atividades biológicas e/ou farmacológicas relatadas na literatura.....	38
Tabela 2 – Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Pp-1 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) com o modelo Mo-1 (PAVIA et al., 2010).....	69
Tabela 3 – Dados comparativos de RMN ^{13}C e RMN ^1H da substância Pp-2 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz) com modelo Mo-2 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz), (BANG et al., 2002).....	72
Tabela 4 – Dados comparativos de RMN ^1H e RMN ^{13}C de Pp-3 e Pp-4 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) com o modelo Mo-3 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz; TOMAZ et al., 2008).....	85
Tabela 5 – Dados comparativos de RMN ^{13}C do radical fitila de Pp-3 e Pp-4 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com o modelo Mo-4 (δ , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).....	86
Tabela 6 – Dados comparativos de RMN ^{13}C das substâncias Pp-5 e Pp-7 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com modelos Mo-5 (KONGDUANG, et al., 2008) e Mo-6 (KOJIMA, et al., 1990).....	96
Tabela 7 – Dados comparativos de RMN ^{13}C das substâncias Pp-5 e Pp-10 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com modelos Mo-5 e Mo-7 (KONGDUANG, et al., 2008).....	101
Tabela 8 – Dados comparativos de Pp-7 e da substância Pp-11 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 e 50 MHz) com os modelos Mo-8 e Mo-9 (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz), (KOJIMA et al., 1990).....	105
Tabela 9 – Dados comparativos de RMN ^{13}C das substâncias Pp-9 (δ , CDCl_3 , 125 MHz) com a substância Pp-5	110
Tabela 10 – Dados comparativos de HMQC e HMBC de Pp-9 (δ , CDCl_3 , 125 MHz).....	111
Tabela 11 – Dados comparativos de RMN ^{13}C e RMN ^1H da substância Pp-6 (δ , CDCl_3 , 50 e 200 MHz) com modelo o Mo-9 (δ , CDCl_3 , 360 e 90 MHz), (KIM. et al., 2003).....	118
Tabela 12 – Dados de RMN ^{13}C e RMN ^1H da substância Pp-8a (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 125 e 500 MHz). 124	
Tabela 13 – Dados de RMN ^{13}C e RMN ^1H (HSQC e HMBC) da substância Pp-8b (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 e 125 MHz).....	124
Tabela 14 – Triagem das cepas bacterianas e fúngicas frente às fases dos extratos etanólico bruto dos frutos e do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F. RITTER.....	132
Tabela 15 – Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) do teste em cepas para antibióticos na ausência e na presença das fases do extrato etanólico bruto do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F. RITTER.....	134
Tabela 16 – Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) do teste em cepas para antibióticos na ausência e na presença das fases do extrato etanólico bruto dos Frutos de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F. RITTER.....	134

Tabela 17 – Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) de teste em cepas para antibióticos na ausência e na presença de 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído (Siringaldeído)	134
---	-----

RESUMO

BRITO FILHO, Severino G. de. **ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER (CACTACEAE)**. 2015. Tese de doutorado. Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB. João Pessoa.

O gênero *Pilosocereus* pertencente à família Cactaceae se destaca por possuir o maior número de espécies, com 35 exemplares distribuídos desde o México até o Paraguai, sendo o Brasil o país com o maior número de espécies distribuídas em diferentes ambientes, incluindo caatingas, restingas e campos rupestres. A espécie *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER, conhecido como "Facheiro", é utilizada pela medicina popular contra inflamação prostática. O estudo fitoquímico pioneiro desta espécie levou ao isolamento e identificação de doze substâncias sendo elas: um álcool (*decanol*), dois ácidos graxos (*ácido palmítico* e **Pp-8b**), duas substâncias porfirínicas (*feofitina a* e *feofitina a hidroxilada*), cinco esteroides (*β -sitosterol*, *stigmasterol*, *ergosterol*, *β -sitosterol glicosilado*, *stigmasterol glicosilado*), um aldeído fenólico (*Siringaldeído*) e um ácido fenólico (*ácido p-hidroxifenilacético*); duas substâncias são inéditas na família Cactaceae e nove inéditas no gênero *Pilosocereus*. Uma avaliação microbiológica da espécie *P. pachycladus* frente a cepas de bactérias e fungos não revelou atividade antimicrobiana direta porém um estudo complementar frente a inibição da bomba de efluxo revelou que esta espécie poderá atuar como uma fonte de produtos naturais que modulam a resistência bacteriana a múltiplas drogas e a substância identificada como Siringaldeído (**Pp-6**) atuou como molécula promissora para potencializar a atividade antibiótica frente à bomba de efluxo.

PALAVRAS-CHAVE: Cactaceae, *Pilosocereus pachycladus*, Estudo fitoquímico, Atividade antimicrobiana, Bomba de efluxo.

ABSTRACT

BRITO FILHO, Severino G. de. **PHYTOCHEMICAL STUDY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY FROM *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER (CACTACEAE)**. 2015. Thesis. Graduate Bioactive Natural Products and Synthetic, UFPB. João Pessoa.

The Genus *Pilosocereus* belonging to the Cactaceae family stands out for having the highest number of species, being 35 species distributed from Mexico to Paraguay, being Brazil the country with the greatest number of species distributed among different environments, including caatingas, salt marshes and rocky fields. The species *Pilosocereus pachycladus* F.RITTER, popularly known as "Facheiro" is used in folk medicine against prostate inflammation. The pioneer phytochemical study of this specie led to the isolation and identification of twelve substances which are: an alcohol (*decanol*), two fatty acids (*palmitic acid* and **Pp-8b**), two porphyrinic substances (*Phaeophytin a* and *Phaeophytin a hydroxylated*), five steroids (β -sitosterol, *stigmasterol*, *ergosterol*, *glycosylated β -sitosterol* and *glycosylated stigmasterol*), a phenolic aldehyde (*syringaldehyde*) and a phenolic acid (*p-hydroxyphenylacetic acid*); two substances are unprecedented in Cactaceae family and nine new in *Pilosocereus* genre. An microbiological assessment of specie *Pilosocereus pachycladus* against strains of bacteria and fungi showed no antimicrobial activity directly but a complementary study for inhibition of efflux pump found that this specie may act as a source of natural products that modulate multidrug resistance in bacteria and substance identified as syringaldehyde (**Pp-6**) can served as a promising molecule to enhance the antibiotic activity against the efflux pump.

KEYWORDS: Cactaceae, *Pilosocereus pachycladus*, phytochemical study, antimicrobial activity, Efflux Pump.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O uso de espécies vegetais, com fins de tratamento e cura de doenças e sintomas, remonta ao início da civilização, desde o momento em que o homem despertou para a consciência da importância dos recursos naturais para seu próprio benefício (STASI, 1995). Ao longo do processo evolutivo, o homem aprendeu a selecionar plantas para a sua alimentação e alívio dos seus males e doenças. Como resultado desse processo muitos povos passaram a dominar o conhecimento do uso de plantas e ervas medicinais (FERREIRA et al., 2010). Nesse contexto, desde os primórdios das civilizações, as plantas têm sido utilizadas pelo homem, como fonte de alimento e de tratamento de doenças, devido à sua abundância na natureza e facilidade de obtenção. O emprego das plantas no controle de diversas doenças e pragas talvez seja tão antigo quanto o próprio aparecimento da humanidade (BALESTRIN, 2006).

Nas referências históricas sobre plantas medicinais, podemos verificar que existe relatos de seu uso em praticamente todas as antigas civilizações. A primeira referência escrita sobre o uso de plantas como remédios é encontrada na obra chinesa Pen Ts'ao, de Shen Nung, que remonta a 2800 a.C (TOMAZZONI et al., 2006).

Relatos demonstram que, desde 2300 a.C., os egípcios, assírios e hebreus cultivavam diversas ervas e traziam de suas expedições tantas outras, e com estas plantas criavam classes de medicamentos. No Papiro Ebers, que data de cerca de 1500 a.C., foram mencionadas cerca de 700 drogas diferentes, incluindo extratos de plantas, metais como chumbo e cobre, e venenos de animais de várias procedências. Na antiga Grécia, as plantas e o seu valor terapêutico ou tóxico eram muito conhecidos, onde Hipócrates (460-377 a.C.), denominado o “Pai da Medicina”, em sua obra Corpus Hipocratium relatou que para cada enfermidade existia um remédio vegetal e um tratamento adequado (ALMEIDA, 1993; MARTINS, 2000).

Grande parte dos medicamentos encontrados no mercado é derivada direta ou indiretamente de vegetais, microorganismos, organismos marinhos, e também dos vertebrados e invertebrados terrestres. Dentre os medicamentos disponibilizados no mercado entre 1981 e 2002, observa-se que 28 % possuem princípios ativos isolados de produtos naturais ou semi-sintéticos, ao passo que 24 % são sintéticos com grupos farmacofóricos baseados em estruturas de produtos naturais. Portanto, mais da metade dos novos medicamentos lançados no referido período são derivados de produtos naturais, o que mostra a importância dessa fonte nos estudos de desenvolvimento de novos medicamentos (BRANDÃO et al., 2010).

O Brasil com sua flora diversificada apresenta uma vegetação com diferentes características e possui cerca de 100.000 espécies vegetais catalogadas, todavia somente 8 % foram estudadas quanto a sua química, e estima-se que apenas 1.100 espécies tenham sido avaliadas quanto às suas propriedades terapêuticas e/ou tóxicas (VARANDA, 2006). Apesar de cerca de 25 % dos oito bilhões de faturamento da indústria farmacêutica nacional serem originados de medicamentos derivados de plantas, o país gasta em torno de três bilhões de dólares por ano na importação de matérias-primas para produzir medicamentos. O panorama mostra que 84 % dos fármacos consumidos no Brasil são importados e que 78 a 80 % da sua produção são desenvolvidos por empresas multinacionais, índice que justifica a busca de novos agentes terapêuticos com estruturas ativas ou com atividades complementares às drogas já existentes (MIGUEL & MIGUEL, 1999).

O avanço ocorrido na área científica permitiu o desenvolvimento de fitoterápicos confiáveis e seguros, embora ainda faltem estudos científicos que comprovem a utilização segura e eficaz de várias plantas (VIEIRA et al., 2010). Os principais passos para a utilização de um composto bioativo a partir de recursos vegetais são: a extração, a triagem farmacológica, o isolamento e caracterização de compostos bioativos, a avaliação toxicológica e a avaliação clínica, sendo esta essencial para garantir a eficácia de um composto bioativo, podendo fornecer também, sua farmacocinética, biodisponibilidade, segurança e interações medicamentosas (SASIDHARAN et al., 2011).

Desde a origem dos antibióticos na década de 1950, o número de agentes antimicrobianos derivados de plantas tem sido insuficiente. A utilização de extratos vegetais, bem como outras formas alternativas de tratamento médico, vem demonstrando grande popularidade desde a década de 1990. As razões para esse renascimento incluem diminuição de novas substâncias antimicrobianas sintéticas, além de muitas serem potencialmente tóxicas e apresentarem efeitos colaterais no paciente (MAREGESI et al., 2008; SILVA Jr. et al., 2009).

Os microrganismos têm a capacidade de adaptar-se a pressões ambientais através de uma variedade de mecanismos eficazes, e sua resposta à pressão dos antibióticos não é uma exceção. Uma consequência inevitável do uso de agentes antimicrobianos é a seleção de microrganismos resistentes. A prescrição excessiva e o uso inapropriado de antibióticos propiciaram um aumento significativo na prevalência de patógenos resistentes a múltiplos fármacos, levando alguns estudiosos a especular que estamos próximos do fim da era antibiótica. Lamentavelmente, à medida que cresceram as necessidades de fármacos nesses últimos anos, o desenvolvimento de novas drogas diminuiu (KATZUNG, 2007).

Foi seguindo essa inspiração que desde 1978, o extinto Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e o atual Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais Sintéticos Bioativos realiza estudos químicos e farmacológicos de espécies da flora brasileira visando o conhecimento científico das mesmas. Vislumbrando contribuir com esta área, alicerçamos nosso trabalho no estudo fitoquímico com atividade antimicrobiana de uma espécie da família Cactaceae: *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER, visto que se trata de uma pesquisa pioneira no que tange a relatos químicos e/ou farmacológicos referentes a esta espécie.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho consiste em contribuir para o conhecimento quimiotaxonômico e microbiológico da família *Cactaceae*.

2.2 Objetivos Específicos

:

- Definir o perfil fitoquímico da espécie *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER e
- Realizar a avaliação da atividade antimicrobiana de uma planta típica da região do semi-árido.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aspectos Etnobotânicos e Etnofarmacológicos de Cactáceas

A família *Cactaceae*, dicotiledôneas, é composta por cerca de 108 gêneros e 1306 espécies, (ROCHA & AGRA, 2002). Suas plantas são suculentas, com ampla distribuição em regiões áridas e semiáridas do mundo (Figura 1. p. 29) (SAWAYA & KHAN, 1982; BARBERA, 2001; GREGORY et al., 1993; REBMAN & PINKAVA, 2001). São espécies geralmente xerofíticas, áfilas, apresentam caules e ramos suculentos, espinhosos, com flores solitárias e vistosas. (ROCHA & AGRA, 2002).

As cactáceas apresentam particularidades ecofisiológicas muito especiais, com ampla variação anatômica e capacidade fisiológica de conservar água, garantindo a sua adaptação a ambientes quentes ou áridos. O seu caule é modificado, expandido em estruturas suculentas verdes, denominadas cladódios, onde se localizam as clorofilas. Suas folhas são transformadas em espinhos, enquanto as raízes são finas e dispostas horizontalmente na camada superficial do solo, formando uma verdadeira esponja com até 30-40 cm de profundidade e se estendendo por alguns metros em torno do tronco; em geral, as raízes compõem apenas uma pequena percentagem da fitomassa total das plantas (NOBEL, 1988).



Figura 1: Distribuição geográfica da família *Cactaceae*.

Disponível em: <http://www.mobot.org/mobot/research/apweb>. Acessado em: 09/06/2014.

Os frutos das espécies da família Cactaceae são brancos, amarelos ou rosáceos e podem ser deiscentes ou indeiscentes, do tipo baga ou cápsula carnosa, e no seu interior existe uma polpa gelatinosa onde estão contidas até três mil sementes de cor escura. As sementes, na grande maioria, são amarelas, vermelhas, castanhas, pretas ou aparentando esbranquiçadas, raramente globosa ou pubescente, reniforme, piriformes, obovoide, lenticular, ou semicirculares com 0,4-12 mm de diâmetro, tegumento brilhante ou fosco, raramente com apêndices (BARBOSA & ANDRADE, 2011).

Suas flores surgem das auréolas e geralmente são andróginas, regulares ou irregulares, solitárias ou agrupadas em inflorescências. São vistosas formadas por inúmeros segmentos, sendo os mais externos são verdes e calicinos e os mais internos coloridos e petaloides, soldados em maior ou menor extensão na base. O androceu é constituído por diversos estames com filetes liliformes as vezes fasciculados, inseridos na parte interna do receptáculo e com anteras biloculares, globosas e muito pequenas. O gineceu é constituído por ovário ínfero, unilocular, formado por vários carpelos, pluriovulado, que se apresentam dispostos em placentação parietal (BARBOSA & ANDRADE, 2011).

O Brasil é considerado o terceiro maior centro de diversidade desta família (ABUD *et al.*, 2010), possuindo 37 gêneros e cerca de 233 espécies, dos quais 14 gêneros e 144 espécies são endêmicas. Estas espécies estão distribuídas por todo o território brasileiro (ZAPPI *et al.*, 2010). Na Caatinga brasileira foram registradas 58 espécies sendo 42 delas endêmicas (QUEIROZ *et al.*, 2006). Dentre as espécies que ocorrem no semiárido brasileiro, destacam-se as comumente denominadas de mandacaru (*Cereus jamacaru* P.DC.), facheiro (*Pilosocereus pachycladus* Ritter), xique-xique (*Pilosocereus gounellei* K. Schum) e coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis* Britton & Rose), e dependendo da região são detectadas variações morfológicas e de porte (AGRA, 1996; TAYLOR & ZAPPI, 2004).

Na sua utilização como forrageiras, as cactáceas atuam como suplemento de fontes de alimentos para rebanhos de bovinos, caprinos e ovinos. Na caatinga está ocorrendo dizimação dessas cactáceas, com riscos à extinção em alguns locais, uma vez que não está havendo plantios dessas espécies (CAVALCANTI, 2007).

As cactáceas são vegetais amplamente utilizados na medicina tradicional por curandeiros e tribos indígenas no México, como: analgésicos, antibióticos, diuréticos; para tratar problemas intestinais, tosse, afecções cardíacas e nervosas; curar alguns tipos de úlceras e para tentar o controle de diabetes e colesterol (ANDRADE *et al.*, 2006).

Andrade e colaboradores (2006), em pesquisa realizada no interior da Bahia, constatou a grande importância de espécies desta família para as populações locais e

identificaram seis espécies utilizadas para tratar problemas de saúde: *Cereus jamacaru* DC (mandacaru-de-boi), *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller (palma-de-gado), *Pilosocereus gounellei* (Weber) Byles & Rowley (xique-xique), *Opuntia palmadora* Britton & Rose (palmatória), *Harrisia adscendens* (Guerke) Britton & Rose (rabo-de-raposa) e *Melocactus zehntneri* (Britton & Rose) (cabeça-de-frade).

Ensaaios farmacológicos realizados por Tourinho (2000) confirmaram ser o mandacaru eficaz para tratar problemas nos rins e a forma de utilização é o chá da entrecasca da planta (ANDRADE et al., 2006).

Para Andrade et al. (2006), é estranho o fato da Farmacopeia Brasileira (1988) não incluir cactáceas nos fitoterápicos. Por outro lado, encontra-se à venda em farmácias comuns, dois fitoterápicos, o Elixir Sanativo e a Tintura de Cactus. O Elixir, segundo o laboratório que o fabrica (Laperli) é composto pelo mandacaru (*Cereus hildmannianus*), o angico (*Piptadenia colubrina* Benth), a aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi) e o camapu (*Physalis angulata* L.)”. O produto é recomendado para o tratamento tópico de ferimentos, em geral, cortes, contusões, herpes labial e picadas de insetos; gargarejos, contra afecções bucais; banhos de assento para higiene íntima e hemorroidas. Na bula, consta que os resultados medicinais obtidos são atribuídos às propriedades farmacológicas dos extratos vegetais que compõem a formulação, informando-se que os extratos do *Cereus hildmannianus* (sic.), apresentariam propriedades deterativas, úteis à assepsia das regiões lesadas. O segundo medicamento fitoterápico, fabricado pelo laboratório Klein, teria em sua composição o *Cereus brasiliensis*, sem associação com outras plantas. Na bula, consta que a Tintura de Cactus é utilizada tradicionalmente para o tratamento de diversas cardiopatias e de acordo com a Portaria nº 6, de 31/01/95 do SVS/MS ela encontra-se em estudo para avaliação científica das indicações terapêuticas e da toxicidade.

Um estudo realizado por Vattaa et al. (2011) utilizou três grupos de ovelhas infectadas com 4000 larvas de *Haemonchus contortus* e 6000 de *Trichostrongylus colubriformis* e tratou-as com *Cereus jamacaru* DC fresco, sendo que: um grupo recebeu dose única de 32,3g/ovelha, outro dose dupla de 64,6g/ovelha e o terceiro foi considerado grupo controle. Ao logo dos 49 dias de experimento pôde ser observado que a dose dupla foi eficaz, reduzindo entre 18-65% do número de ovos.



Figura 2: Disponível em:

http://community.fortunecity.ws/greenfield/swallowtail/785/cereus_jamacaru.jpg. Acesado em: 14/12/2014.

Davet e colaboradores (2009) testaram a atividade antimicrobiana (CIM) do extrato bruto do lenho e do córtex de *C. jamacaru* frente a colônias de oito microorganismos patogênicos e verificaram que o extrato do córtex apresentou atividade antimicrobiana mais pronunciada que o extrato do lenho contra os microorganismos *Streptococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

No México, as cactáceas são amplamente utilizadas na medicina tradicional por curandeiros e tribos

indígenas, com diversos fins: analgésicos, antibióticos, anti-inflamatório e diuréticos. Outras atividades atribuídas às espécies da família Cactaceae são para tratar problemas intestinais, tosse, afecções cardíacas e nervosas; curar alguns tipos de úlceras e também para o controle de diabetes e colesterol. (BARBERA et al., 1999).

O extrato aquoso e metanólico das folhas de *Pereskia bleo* apresentaram atividades anti-proliferativa e mutagênica contra células de câncer mamário de ratos (4TI) e, fibroblastos normais de ratos (NIH/3T3). Um screening realizado com a fração acetato de etila mostrou uma alta atividade citotóxica contra células de carcinoma humano (TAN et al., 2005; ER et al., 2007; MALEK et al., 2008). O extrato acetato de etila das folhas de *Pereskia bleo* apresentou a maior quantidade de componentes fenólicos e também mostrou a maior atividade antioxidante pelo método do β -caroteno. Todavia quando adotado o método do DPPH, a fração hexânica foi a que mostrou um resultado significativo (SIM et al., 2010). Estudos mostram que *P. Bleo* pode ser usada como fonte de antioxidantes naturais, como complemento alimentício e também em indústrias farmacêuticas (HASSANBAGLOU et al., 2012).

As fases Acetato de Etila e Clorofórmica de *Pereskia bleo* mostrou que elas possuem atividade anti-nociceptiva moderada e o estudo realizado com a vitexina, isolada da fase acetato de etila, revelou que esta substância não atua como antinociceptiva nos modelos testados (ABDUL-WAHAB et al., 2012).

As folhas e frutos de *Pereskia grandifolia* Haw são comestíveis e utilizados na culinária, principalmente na região do semi-árido brasileiro (TURRA et al., 2007; KAZAMA et al., 2012).

KAZAMA et al., 2012 observou que o extrato etanólico bruto de *Pereskia grandifolia* aumentou significativamente a taxa de excreção de água pelos rins, enquanto a excreção de K^+ e Cl^- foi reduzida significativamente no tratamento agudo e prolongado. A administração oral de 30 mg/kg reduziu significativamente os níveis séricos de vasopressina e a pressão arterial média em ratos normotensos. Todos os outros parâmetros avaliados não foram afetados por qualquer tipo de tratamento. Os resultados mostraram que o seu extrato etanólico bruto pode apresentar a(s) substância(s) responsável(eis) pela atividade diurética sem apresentar sinais de toxicidade, e este efeito pode envolver uma redução da liberação de arginina-vasopressina.

Com o objetivo de avaliar o potencial terapêutico de *Pereskia grandifolia* foram realizados vários estudos. Estes estudos preliminares do seu extrato alcoólico mostraram que ela possui em modelos animais uma significativa ação analgésica, um possível efeito ansiolítico e um efeito hipnótico sedativo (TURRA et al., 2007).

Um estudo realizado com as folhas da espécie *Pereskia grandifolia* Haworth, foi avaliada quanto às suas propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana. As propriedades antioxidantes foram avaliadas pelo método de inibição do radical livre 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH•). Os extratos

testados apresentaram propriedades antioxidantes entre 10 e 30% de inibição, todavia não foi observada atividade antibacteriana frente às cepas testadas (TURRA et al., 2007).

Na medicina popular da Sicília os cladódios da espécie *Opuntia ficus indica* Mill (L.). são utilizados para o tratamento da úlcera gástrica e um estudo realizado com o extrato dos cladódios liofilizados desta espécie administrado em ratos mostrou seu efeito protetor contra úlcera induzida por etanol. Os autores observam que a mucilagem desta planta pode estar envolvida no efeito observado (GALATI et al., 2007).



Figura 3: Disponível em: http://es.wikipedia.org/wiki/Pereskia_grandifolia#mediaviewer/File:Pereskia_bleo_BIKakteenT137.jpg. Acessado em: 14/12/2014.



Figura 4: Disponível em: <http://www.ebay.com/itm/Make-Your-Own-Free-Nopalea-Natural-Juice-Opuntia-ficus-indica-Nopal-Seeds-x10-/200824263576>. Acessado em: 14/12/2014.

Trombetta e colaboradores (2006) descreveram que dois extratos liofilizados dos polissacarídeos obtidos dos cladódeos de *O. ficus-indica* quando aplicados em ratos com feridas de espessura considerável, desenvolveram um grande poder de cicatrização. Além do que, estudos recentes sugerem que esta mucilagem desenvolve um efeito citoprotetor da mucosa gástrica contra úlceras induzidas por etanol em ratos (GALATI et al., 2007; VÁZQUEZ-RAMÍREZ et al., 2006).

Um estudo realizado por KIM e colaboradores (2010) com o extrato n-butanólico de *Opuntia ficus-indica* melhorou a memória de longo prazo de ratos e que este efeito é mediado pela via de sinalização ERK-CREB-BDNF, observando-se também um aumento na taxa de sobrevivência dos neurónios imaturos. Esta espécie também atuou como antioxidante, anti-tumoral e anti-inflamatória.

Kuti (2004) mostrou que os frutos de quatro espécies de *Opuntia* (*O. ficus-indica*, *O. lindheimeri*, *O. streptacantha* e *O. stricta*) desempenham atividade antioxidante, destacando-se a variedade *O. lindheimeri* que possui uma maior concentração de flavonoides, possibilitando, portanto sugerir que a atividade antioxidante dos frutos da espécie *O. lindheimeri* pode ser atribuída a presença desta classe de substâncias.

As pesquisas desenvolvidas com o extrato aquoso da palma frente a células cancerígenas de ovário mostraram que este extrato induz a apoptose nesse tipo de células através da produção de H_2O_2 que ativam várias vias celulares (FEUGANG et al., 2010).

O extrato alcoólico das flores de *Opuntia dillenii* revelam uma atividade antiinflamatória potente na dose de 200 mg/kg (0,94 g material seco) no teste do edema de pata de cobaias e, mostrou um efeito inibitório potente (48,9%), quando comparado com a indometacina. A atividade analgésica deste extrato também se mostrou significativa, quando comparado com a novalgina. Estes dados corroboram com estudos anteriores que estabeleceram que o extrato aquoso do fruto desta planta possuía propriedade analgésica central (AHMED et al., 2005).

Indígenas usam várias espécies de *Echinopsis* para fins diagnóstico e terapêuticos, essa utilização é, evidentemente, baseada nas suas propriedades psicoativas, devido ao seu teor de mescalina (OGUNBODEDE et al., 2010)

Estudos com o caule de *Opuntia monacantha* detectaram uma atividade antitumoral moderada. Esta espécie tem revelado uma resistência seletiva para cochonilha *Diapris echinocacti* e, aparentemente, possui algum mecanismo de defesa quando atacada pela larva do *Cactoblastis cactorum*. Estudos realizados na China mostraram que seus polissacarídeos possuem efeito antidiabético (VALENTE et al., 2010).

TANAKA et al., 2010 relataram que Arabinolactanos isolados de *Cereus peruvianus* inibiram lesões gástricas em ratos, indicando assim, que os polissacarídeos e o extrato bruto desta planta possuem efeito gastroprotetor, podendo ser utilizado na fitoterapia.

Vinte triterpenos das classes lupano, oleanano e pachanano, isolados de cactus foram testados como antinociceptivo pelo método de indução por ácido acético. A turberogenina foi o único composto da série lupano, que apresentou atividade antinoceptiva (67.6%). As substâncias pertencentes à série dos oleananos, que apresentaram esta atividade, foram alamosenogenina, gummosogenina, bridgesigenina B e C e, 3b-hidroxi-11a,12a-epoxioleanan-28,13b-olideo (KINOSHITA et al., 1998).

Estudos realizados para verificar a composição química e os componentes estruturais do caule de *Epiphyllum hookeri* mostraram que este apresenta uma umidade de 85,63 $\pm$ 0,12g/100g de massa fresca e em comparação com outras espécies da família Cactaceae, se obtiveram valores (em g/100g matéria seca) similares de proteína, extrato etéreo, fósforo e digestibilidade in vitro da matéria seca; menores em conteúdo de cinzas, cálcio, potássio, pectina e açúcares redutores, enquanto que foram maiores os conteúdos de ferro, de energia e de fibras estruturais. Estes resultados indicam que o caule desta planta pode ser considerado como fonte potencial de suplementos alimentares em dietas. (PEREIRA et al., 2008).

Um estudo realizado por Necchi (2011) para avaliar a atividade antiinflamatória de *Nopalea cochenilifera* demonstrou que quando comparado o efeito do extrato desta espécie com o efeito da nimesulida, o extrato apresentou uma significativa atividade anti-inflamatória. Com os mesmos animais foram realizados exames séricos que mostraram a ausência de toxicidade renal e aparecimento de toxicidade hepática.

Estudos de toxicidade realizados com as espécies *Lepismium lorentzianum*, *Lepismium lumbricoides*, *Rhipsalis floccosa* e *Pfeiffera ianthothele* não apresentaram nenhum sinal de mutagenicidade nas concentrações testadas (até 50 ug/placa). Mas, foi observado efeito

mutagênico significativo para *L. lumbricoides*, e um efeito fraco para *P. ianthothele* e *R. floccosa* (ZAMPINI et al., 2011).

3.2 Aspectos quimiotaxonômicos da família Cactaceae

A quimiotaxonomia da família *Cactaceae* destaca-se por apresentar algumas classes de constituintes químicos, como: terpenoides, flavonoides, saponinas e alcaloides.

Bruhn & Sanchez-Mejorada (1917) realizaram o primeiro estudo quimiotaxonômico de cactáceas quando foram isolados da espécie *Echinocereu merkeri* e isolou várias fenetilaminas, entre elas a N,N-dimetil-3,4-dimetoxifenetilamina, além do alcaloide esteroidal salsolina. Dos gêneros *Coryphantha* e *Ariocarpus* foram isoladas a N-Metil- e N,N-dimetil-3,4-dimetoxifenetilamina.

Em 1967, um estudo realizado com o cacto *Lophocereus schotti*, levou ao isolamento e identificação dos alcaloides Pilocereina e Lophocereina (KIRCHER et al., 1967)

Uma triagem realizada, utilizando-se o reagente de Mayer e cromatografia gasosa, com 16 espécies de cactos mostrou que 12 destas possuem alcaloides. As espécies (*Lemaireocereus prunosis*, *Trichoceus pachanoi* e *Echinocactus polycephalus*) não apresentaram pico predominante. Da espécie *Carnegiea gigantea* foi extraída a carnegina, utilizada como padrão. Desta espécie foi isolado e identificado o isômero do alcaloide pelotina. Há relatos da presença do alcaloide cactina em *Selenicereus grandiflorus*. A espécie *Coryphantha macromeris* se caracterizou por possuir a maior quantidade de alcaloides e dela foi isolada macromerina, substância encontrada na espécie *C. runyonii* (BROWN et al., 1968).

Em um estudo realizado com 34 espécies da família *Cactaceae* foi possível identificar a existência de betacianinas e, também foi verificado que todas as espécies estudadas possuem betanina, muitas das espécies possuem filocactina. Todavia observou-se que elas apresentam uma ocorrência limitada de Betanidina e novas betacianinas. (PIATTELLI & IMPERATO, 1969).

Um estudo com folhas e espinhos de 22 espécies de cactáceas mostrou a presença de várias substâncias da classe dos flavonoides sendo eles distribuídos nos grupos das flavonas, flavononas, flavonois e flavononois (BURRET et al., 1982)

O estudo fitoquímico de *Trichocereus pachanoi* levou ao isolamento em 1993 do novo triterpeno Pachanol A, com esqueleto do tipo pachanano. (TAKIZAWA et al., 1993).

Os componentes químicos de *Opuntia spp.* são parcialmente conhecidos como: mucilagem, pectinas, vitaminas e polifenóis (PEÑA-VALDIVIA et al., 2012). Estudos

realizados com diversas plantações de *Opuntia ficus-indica* mostraram a presença de várias substâncias como Vitamina C, betalaina, betaxantinas, betacianinas, biotóis como a: glutatona, cisteína, acetilcisteína, taurina e flavonoides como a isoramnetina-3-rutinosídeo (KUTI, 2004; TESORIERE et al., 2005).

Estudo realizado para verificar a composição química de pele, polpa e sementes dos frutos de *Opuntia ficus-indica* mostrou uma elevada quantidade de água na polpa e pele. A quantidade de glicose e frutose, na polpa, foram maiores do que na pele, enquanto sacarose foi mais baixa na polpa do que na pele. A semente não contém qualquer traço de açúcares. O teor de potássio foi muito alto nas três partes do fruto em comparação com outros minerais. A palma possui um fruto notável e seu consumo é incentivado (SALIM et al., 2009).

Uma revisão sobre espécies de *Opuntia* mostra que no caule da espécie *Opuntia ficus-indica* são encontrados os ácidos oxálico, málico, cítrico, malônico, succínico, tartárico, fórbico, piscídico, eucomico, além de, n-butileucomato, metileucomato, alanina, arginina, asparagina, ácido asparagínico, ácido glutâmico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, triosina, Triptofano, valina. Na mucilagem desta planta encontra-se arabinose, xilose, galactose, ácido galacturônico e, ramnose. Em *O. vulgaris*, são encontrados o oleato de metila (ω -9) e linoleato de metila (ω -6), α -amirina, 3- β -acetil-taraxerol, friedelina, e lupenona. No parênquima do caule, das espécies *O. basilaris*, *O. leucotricha*, *O. lindheimeri*, e *O. quimillo*, possuem quercetina, camferol, isoramnetina e, metil-3-quercetina (STINTZING & CARLE, 2005).

A tabela 1, pág. 38, relata inúmeros constituintes químicos isolados de espécies da família Cactaceae e suas respectivas atividades biológicas e/ou farmacológicas.

Tabela 1: Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Cactaceae e suas atividades biológicas e/ou farmacológicas relatadas na literatura.

Constituinte químico	Fonte	Referência	Atividade Farmacológica
β -Sistosterol e α -Amirina.	<i>Opuntia ficus-indica</i>	PARK et al., 2001.	Anti-inflamatória.
Flavonoides e extrato alcoólico das Flores.	<i>Opuntia dillenii</i> (Ker-Gawl) Haw	AHMED et al., 2005	Atividade anti-inflamatória e analgésica.
Extrato alcoólico das folhas e suas fases.	<i>Pereskia bleo</i> (Kunth) DC	ABDUL-WAHAB et al., 2012..	Atividade Anti-nociceptiva.
Extrato metanólico do fruto	<i>Opuntia ficus-indica</i> .	SIRIWARDHANA, N & JEON, Y. J., 2004.	Atividade antioxidante e inibidora da peroxidação lipídica.
Canferol, isorramnetina, quercetina	<i>Opuntia sp.</i>	KUIT J. O., 2004.	Atividade antioxidante
Extrato de Cactos	Cactáceas	SKINNER, G & ROBERT, B., 1993.	Atividade antiviral.
Extrato Aquoso e extrato incorporado em hidrogel.	<i>Opuntia streptacantha</i>	AHMAD et al., 1996 & BIGGS, J. M., 2000.	Atividade antiviral.
Extrato etanólico a 95% do córtex e do lenho.	<i>Cereus jamacaru</i> DC	DAVET et al., 2009.	Atividade antimicrobiana.

Continuação da Tabela 1: Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Cactaceae e suas atividades biológicas e/ou farmacológicas relatadas na literatura.

Constituinte químico	Fonte	Referência	Atividade Farmacológica
Extrato metanólico, fitol, β -sistosterol, 2,4-ditert-butilfenol, Vitamina E	<i>Pereskia bleo</i>	MALEK et al., 2008.	Atividade Citotóxica.
Polifenóis Totais e Flavonoides	<i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm-Dyck	NECCHI et al., 2012.	Atividade antimicrobiana.
Frutos	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L) Mill	GREGORIO et al., 2010.	Atividade da lipoxigenase..
Compostos Fenólicos e Sucos dos Frutos	<i>Opuntia spp</i> .	SANTOSCOY et al., 2009..	Capacidade antioxidante e citotoxicidade em Células cancerígenas <i>in vitro</i>
Fases aquosa, metanólica acetato de etila e hexânica.	<i>Pereskia bleo</i> (Kunth) DC.	SIM et al., 2010.	Atividade antioxidante
Extratos Brutos	<i>Opuntia ficus-indica</i>	TORRES et al., 2011.	Propriedades antioxidantes.

3.3 Considerações sobre o gênero *Pilosocereus*

O gênero *Pilosocereus* Byles & Rowley pertence à subfamília *Cactoideae*, tribo *Cereeae*, com 35 espécies que habitam do México ao Paraguai, estando a maior diversidade de espécies localizadas no Brasil, onde eles ocorrem em uma série de ambientes diferentes, incluindo a caatinga, restinga, e campos rupestres. Este gênero se diferencia dos outros da família principalmente pelas características do fruto, que é globoso-achatado, deiscente por fissuras irregulares e com polpa funicular. As flores dos cactos das suas espécies são grandes, de cor clara, perfumadas e em forma de funil. Elas se abrem a noite quando são polinizadas pelos morcegos e permanecem abertas por menos de 24 horas. Os ramos são relativamente curtos, colunares e retos, o porte do cacto varia de arbóreo a arbustivo, existindo espécies anãs com 30 cm altura (MARTINS, 2007; TAYLOR & ZAPPI, 2004).

As cactáceas dos gêneros *Melocactus* (coroa-de-frade) e *Pilosocereus* (facheiro), além das *Opuntias* e a *Pereskia aculeata* (ora-pro-nobis) estão sendo utilizadas em alguns países da América Latina, como alternativa alimentar para o consumo humano. No Brasil esta prática encontra-se pouco difundida, limitado apenas aos consumidores da gastronomia exótica ou algumas vezes pela população de baixa renda (CAVALCANTI & RESENDE, 2007).

Agra et al. (2008) citam a utilização das raízes de *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) e *Pilosocereus pachycladus* (facheiro) contra inflamações prostáticas, enquanto o *Pilosocereus tuberculatus*, de nome popular caxacubri, seria utilizado contra infecções renais, a partir da decocção do caule. Faltam estudos científicos que comprovem estas propriedades medicinais.

Em estudo realizado com *Pilosocereus chrysacanthus* foi possível identificar o alcaloide N-metil-3,4-dimetoxifenetilamina como seu principal constituinte. (BRUHN & SANCHEZ-MEJORADA, 1917).

3.4. Considerações sobre a espécie *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Conhecido popularmente como facheiro, o *Pilosocereus pachycladus* ocorre em todo o semi-árido nordestino. É uma planta perene, arbustiva, robusta, de tronco ereto com galhos laterais, porém pouco ramificada, de coloração verde escura, com espinhos agudos e flores grandes, alvas e isoladas (Figura 5. p. 41) (ABUD et al., 2010). Os seus frutos apresentam coloração verde durante a sua maturação e após atingir a maturidade fisiológica apresentam

coloração lilás. São do tipo baga, polispérmicos, deiscentes, carnosos, com pericarpo espesso e succulento (ABUD et al., 2010). As sementes desta espécie são estenospérmicas, exalbuminosas, com formato ligeiramente obovado-obliqua, a testa é rugosa e apresenta coloração preta. O embrião é facilmente observado quando a semente esta hidratada, apresenta coloração branca e ocupa quase todo o espaço da semente, é cilíndrico e grande. O seu tecido de reserva é cotiledonar, de coloração branca, e consistência firme. Os cotilédones são plano-convexos e estreitos (ABUD et al., 2010).

Este trabalho com *P. pachycladus* se caracteriza como pioneiro tanto no que tange ao seu estudo fitoquímico, quanto a sua atividade biológica.



Figura 5: *Pilosocereus pachycladus* F. Ritter

Disponível em: http://www.cnip.org.br/banco_img/Facheiro/pilosocereuspachycladus2.jpg

Acessado em: 13/10/2014

3.5 A crescente ameaça da resistência antimicrobiana

As infecções têm sido uma das principais causas de doença ao longo da história da humanidade. Com a introdução dos antibióticos, este problema tendeu a desaparecer. No entanto, os mecanismos de defesa desenvolvidos pelos microrganismos têm contrariado os avanços alcançados no tratamento de infecções (GOODMAN & GILMAN'S, 2008; KATZUNG, 2007; TENOVER, 2006).

A ameaça à saúde pública devido ao crescimento da resistência antimicrobiana é impulsionada tanto pelo uso adequado como inadequado de medicamentos anti-infecciosos utilizados na saúde humana e animal bem como na produção de alimentos e, ainda, com medidas inapropriadas para controlar a disseminação de infecções. Reconhecendo esta crise de saúde pública, vários países, agências internacionais e outras organizações em todo o mundo tomaram medidas para combatê-la através de estratégias aplicadas nos setores relevantes (OMS, 2012).

São necessárias estratégias e tecnologias inovadoras que variem desde a área científica até os aspectos financeiros e reguladores, para aliviar a escassez de novos antibióticos e outros produtos destinados a limitar a resistência antimicrobiana. Buscam-se várias abordagens inovadoras, porém é necessário muito mais. A inovação floresce em um ambiente propício. Oportunidades de inovação em áreas que abrangem todo o universo da investigação científica, são exploradas e o desenvolvimento de novos produtos é a base de inúmeras pesquisas no mundo e a grande preocupação dos cientistas. (OMS, 2012)

A prospecção de substâncias em extratos naturais de plantas ou a utilização dos mesmos em testes farmacológicos visando à atividade antimicrobiana pode desempenhar um importante papel, na descoberta e no aumento do leque de substâncias com atividade frente a microrganismos resistentes a atual terapia antibiótica.

3.6 Microrganismos de interesse

Nos ensaios para avaliação da atividade biológica dos extratos de *P. pachycladus* foram utilizadas cepas das bactérias de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus. Epidermidis* e *Pseudomonas aeruginosa*; e das espécies fúngicas: *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*.

Os estafilococos são cocos Gram-positivos, catalase positivos, que tendem a formar agrupamentos semelhantes a cachos de uva. Os estafilococos são amplamente distribuídos na

natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosas de mamíferos e aves. Atualmente o gênero *Staphylococcus* é composto por cerca de 27 espécies, sendo que algumas são frequentemente associadas a uma ampla variedade de infecções de caráter oportunista em seres humanos e animais. Entre elas, se destacam, em patologia humana, as espécies: *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; MURRAY et al., 2014).

O *Staphylococcus aureus* é o agente mais comum de infecções piogênicas. Estas infecções podem se localizar na pele ou em regiões mais profundas. Quando na pele, recebem



Figura 6: Disponível em:

<http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=11181>.
Acessado em: 14/12/2014.

diferentes designações, tais como foliculite, furunculose, carbúnculo e impetigo, de acordo com a localização e outras características (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; MURRAY et al., 2014).

O número de portadores nasais do germe varia de 30% a 50%, sendo mais elevado entre pessoas que trabalham em hospitais. A infecção estafilocócica pode ser causada por bactérias do mesmo indivíduo, de outros doentes ou de portadores sadios. A transmissão ocorre por contato direto ou indireto. As infecções estafilocócicas, geralmente superficiais e

discretas, na maioria dos indivíduos normais, podem ser graves em recém-nascidos, pacientes cirúrgicos e em portadores de doenças debilitantes como câncer e diabetes. Esta é uma das razões pelas quais as infecções estafilocócicas severas são as mais frequentes entre as infecções adquiridas em hospitais. As amostras de *Staphylococcus aureus*, portadoras de resistência múltipla, são mais comuns no ambiente hospitalar (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; MURRAY et al., 2014).

O *Staphylococcus epidermidis*, é uma espécie de bactéria caracterizada por ser coagulase negativa e catalase positiva. É uma bactéria gram-positiva arranjada em cachos e tétrades. É comensal da pele e

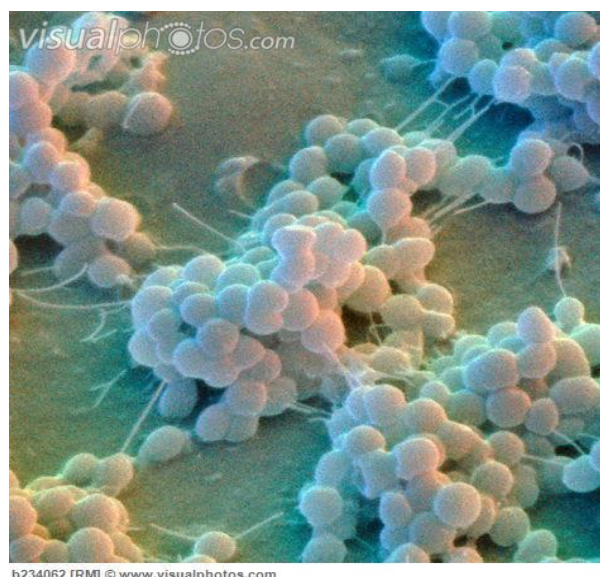


Figura 7: Disponível em:

http://www.visualphotos.com/image/1x6040549/colour_sem_of_staphylococcus_epidermidis_bacteria. Acessado em: 14/12/2014.

mucosas, responsável principalmente por infecções hospitalares, através de cateteres, sondas (material de plástico) bem como próteses devida sua capacidade de formar biofilmes. Os biofilmes dificultam a chegada de drogas antimicrobianas e até mesmo de células fagocíticas ao foco de infecção. A espécie não produz toxinas e uma vez que faz parte da microbiota endógena humana, as infecções causadas por esta espécie são geralmente oportunistas e de origem hospitalar (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; MURRAY et al., 2014).

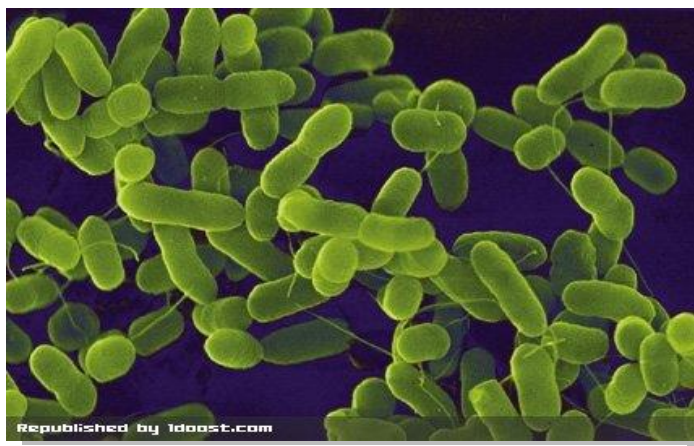


Figura 8: Disponível em: <http://www.1doost.com/posts.htm>. Acessado em: 14/12/2014.

A *Pseudomonas aeruginosa* é um germe tipicamente oportunista, que pode causar várias doenças. As infecções localizadas, em consequência de processos cirúrgicos ou queimaduras podem resultar em bacteremias severas. Infecções urinárias, associadas ao uso de cateteres são mais frequentes. Em alguns pacientes a bactéria provoca pneumonia mortal. Pneumonias graves podem também ocorrer em pacientes que

usam respiradores contaminados. A *P. aeruginosa* pode causar ceratites em consequência de cirurgias oculares. Embora raramente, pode causar meningite após punções lombares e endocardites após cirurgias cardíacas (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; MURRAY et al., 2014).

Em pacientes hospitalizados a taxa de portadores de *P. aeruginosa* pode ser bastante elevada e a frequência das infecções pela causadas por este microorganismo vem aumentando progressivamente. Atualmente esta bactéria é responsável por aproximadamente 15% dos casos de bacteremia causadas por germes Gram-negativos e a mortalidade causadas por ela chega a ser de 50%. Nos hospitais, as vias de transmissão de *P. aeruginosa* são representadas por desinfetantes, respiradores, alimentos, água etc., sendo a bactéria introduzida no hospital tanto através de pessoas, como de frutas e vegetais (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; MURRAY et al., 2014).

Leveduras do gênero *Candida* em especial *Candida albicans*, podem determinar lesões na pele, unhas e mucosas de indivíduos que



Figura 9: Disponível em: http://www.doctorfungus.org/aboutdrf/legal_pop.php?url=http%3A//www.doctorfungus.org/thefungi/candida_spp.php. Acessado em: 14/12/2014.

apresentam fatores predisponentes intrínsecos ou extrínsecos ao hospedeiro. As lesões por *Candida albicans* são mais frequentes nas unhas e nos espaços interdigitais das mãos e dobra submamária. Na pele as lesões são úmidas, esbranquiçadas ou avermelhadas, de bordos descamativos. A unha apresenta-se sem brilho, espessada, endurecida, com coloração muitas vezes escura. A lesão, que se estende frequentemente ao redor do leito ungueal (paroníquia), é comum. Lesões esbranquiçadas aderentes às mucosas, com base vermelha úmida após a sua remoção, podem ser verificadas (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; MURRAY et al., 2014).

As micoses causadas pelas espécies *Candida sp.* são de distribuição universal, às vezes consideradas micoses ocupacionais, outras vezes, o que é mais frequente, micoses oportunistas. Indivíduos imunodeprimidos apresentam geralmente infecção por *Candida albicans* e outras espécies, como *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*. A fonte de infecção em grande parte dos casos é endógena. Ocorre em todas as idades, em ambos os sexos (TRABULSI & ALTERTHUM, 2008; MURRAY et al., 2014).

3.7 Mecanismo de resistência bacteriana – Bomba de Efluxo

As Bombas de efluxo (Fig. 10, p. 45) são proteínas integrais de membrana de bactérias responsáveis por muito da resistência bacteriana, uma vez que promovem a extrusão de antibióticos a partir da célula (PIDDOCK, 2006). Os agentes que modulam a resistência são compostos que potenciam a atividade de um antibiótico contra cepas resistentes, e alguns destes agentes podem atuar como um inibidor de bombas de efluxo (IBE). As plantas fornecem uma rica fonte de IBEs e vários compostos têm sido identificados como inibidores potentes (GIBBONS, 2004).

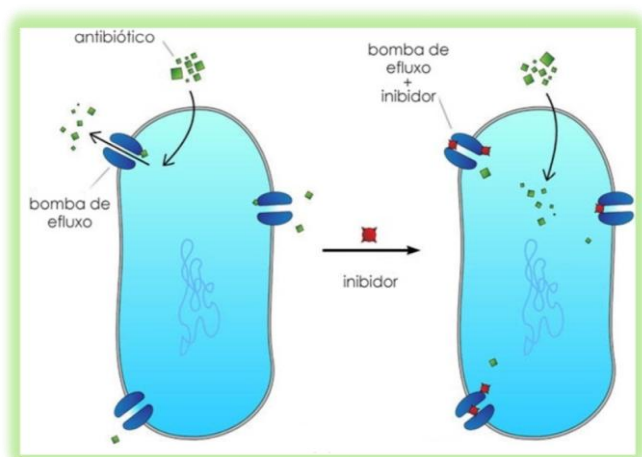


Figura 10: Bomba de efluxo e inibição de seu efeito.

Disponível em:

http://www.biomedicinapadiao.com.br/2011_11_01_archive.html.

Neste tipo de resistência ocorre um efluxo, isto é, o transporte ativo dos antibióticos do meio intracelular para o meio extracelular. Este mecanismo afeta todas as classes de antibióticos, no entanto apresenta maior eficácia na presença de macrolídios, tetraciclina e fluoroquinolonas, pois estes inibem a biossíntese de proteínas e de DNA (DZIDIC, et al., 2008).

4. EXPERIMENTAL

4.1 Procedimentos cromatográficos e definição do grau de pureza

Os adsorventes gel de sílica 60 (Merck) 7734 (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), sílica flesh (partículas com 0,04-0,063mm, 230-400 mesh) e Sephadex LH-20 (Merck) foram utilizados para a cromatografia em coluna, e em coluna sob média pressão tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Como fase móvel, nos processos cromatográficos, foram utilizados solventes comerciais destilados no setor de destilação do centro de biotecnologia.

A Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi empregada para a análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna e para a análise da pureza dos constituintes isolados. As placas cromatográficas utilizadas para CCDA foram preparadas com uma suspensão gel de sílica PF₂₅₄ (Art. 7749 Merck) em água, seguindo técnica descrita por Matos (1997), sendo a espessura da camada de sílica igual a 0,3 mm.

O fracionamento cromatográfico a média pressão foi realizado em aparelho BUCHI (Switzerland) Pump Manager C – 615 utilizando-se como adsorvente Sílica flesh, e como sistemas de solventes: hexano, acetato de etila e metanol.

O aparelho de HPLC utilizado para análise e isolamento dos constituintes químicos foi um Shimadzu® com detector de arranjo de diodos com comprimento de onda variável.

As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm como também impregnação das placas em cubas de vidro, saturadas por vapores de iodo. O monitoramento das substâncias através do fator de retenção (R_f) na CCDA foi o método adotado para reunir as frações coletadas durante a cromatografia em coluna.

Para definir o grau de pureza das substâncias isoladas, fez-se o uso de CCDA utilizando-se vários sistemas de solventes.

4.2 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de *Pilosocereus pachycladus* F RITTER.

A caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de *Pilosocereus pachycladus* foi realizada pela análise dos espectros obtidos através dos métodos espectroscópicos no Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

(RMN ^1H) e Carbono-13 (RMN ^{13}C), utilizando técnicas uni e bidimensionais (HSQC, HMBC, COSY e NOESY), espectrometria de massas, além de comparações com modelos da literatura.

4.2.1 Infravermelho

Os dados espectrais na região do infravermelho foram obtidos em aparelho Perkin-Elmer, FT-IR-1750 do Centro de Biotecnologia-UFPB, utilizando-se de 1 a 3 mg da amostra em pastilhas de KBr. As absorções foram registradas em cm^{-1} .

4.2.2 Ressonância Magnética Nuclear e Espectrometria de Massas

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear foram obtidos nos espectrômetros Mercury-Varian a 200 e 500 MHz da Central Analítica - NUCAL -UFPB, otimizados para técnicas uni e bidimensionais, utilizando-se quantidades variáveis de amostras. Os solventes empregados para solubilizar as amostras foram Acetona deuterada ($\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$) Clorofórmio deuterado (CDCl_3), Dimetilsulfóxido deuterado ($\text{C}_2\text{D}_6\text{OS}$) e Piridina deuterada ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) registrados a partir dos seus picos característicos em RMN de ^1H e RMN ^{13}C em relação ao TMS. Os espectros de massa foram obtidos na mesma central analítica utilizando Espectrômetro de Massas de Baixa Resolução – modelo $^{\text{®}}$ microTOF da marca $^{\text{®}}$ Bruker.

4.3 . Estudo da atividade antibacteriana e antifúngica

4.3.1 Local de Trabalho

Instituto de Química do Centro de Ciências Exatas e da Natureza e Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas/Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal da Paraíba. Abril de 2014.

4.3.2 Produtos Testados

Os produtos utilizados nos ensaios biológicos foram as fases hexânica, diclorometânica, acetato de etila, n- butanólica e hidroalcoolica do caule e do fruto de *Pilosocereus pachycladus* F.RITTER (cactaceae). Os mesmos foram testados na concentração

1024 até 32 µg/mL e solubilizado em dimetilsulfóxido- DMSO (**SIGMA-ALDRICH®**), numa proporção de até 10 %, para não interferir sobre os microrganismos.

4.3.3 Antimicrobianos Sintéticos

Para o controle de atividade antifúngica, foi usado nistatina na concentração de 100 UI /mL; e da atividade antibacteriana foi usado cloranfenicol a 100 µg/mL (**SIGMA-ALDRICH®**).

4.3.4 Microrganismos

Nos ensaios para avaliação da atividade biológica dos produtos, foram incluídas cepas de bactérias: *Staphylococcus aureus* ATCC- 6538, *S. aureus* M-117, *S. epidermidis* 12228, *Pseudomonas aeruginosa* P 12 e *P. aeruginosa* LM 13; e das espécies fúngicas: *Candida albicans* ATCC-76645, *C. albicans* LM-108, *C. albicans* LM-106, *Candida tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-14, *Candida krusei* LM-13, *C. krusei* LM-08.

As cepas foram adquiridas no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, Laboratório de Micologia e de Microbiologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba e mantidas em meios de cultura apropriados, Agar Sabouraud Dextrose- ASD para leveduras; e Agar Nutriente- AN para bactérias (DIFCO LABORATORIES/France/USA) e conservadas a 4 °C e a 35 °C.

A suspensão dos microrganismos foi preparada conforme o tubo 0.5 da Escala McFarland, ajustada através de leitura espectrofotométrica (Leitz-Photometer 340-800), para 90% T (530 nm), correspondendo, aproximadamente, a 10⁶ UFC/mL (NCCLS 2000; HADACECK; GREEGER, 2000; NCCLS, 2000; CLEELAND; SQUIRES, 1991).

4.3.5 Meios de Cultura

Os ensaios de atividade antifúngica foram realizados em meio líquido RPMI 1640 (ACUMEDIA/India); e Caldo Nutriente- CN para bactérias (DIFCO LABORATORIES/France/USA). Os meios foram preparados e usados conforme as instruções do fabricante.

4.3.6 Determinação da Concentração Inibitória Mínima-CIM

A determinação da triagem dos produtos testados foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microdiluição contendo cavidades com fundo em forma de “U”. Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio líquido RPMI (leveduras) ou CN (bactérias) duplamente concentrado). Posteriormente, 100 µL dos produtos na concentração de 1024 µg/mL foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de diluição seriada à razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 até 32 µg/mL. Por fim, foram adicionados 10 µL do inóculo dos microrganismos nas cavidades, onde cada linha da placa referiu-se, especificamente, a uma cepa.

O controle de crescimento do microrganismo no meio de cultura foi feito utilizando-se cloranfenicol (100 µg/mL) para bactérias e o antifúngico nistatina (100UI) para leveduras. As placas foram seladas e incubadas a 35°C por 24 – 72 horas. A triagem da CIM foi definida como a concentração (1024 µg/mL) capaz de inibir visualmente o crescimento microbiano quando comparado com o crescimento controle. No ensaio biológico com as bactérias, após 24 h de incubação, foi adicionado 20 µL de solução do corante de resazurina a 0,01 % (INLAB), reconhecido como um indicador colorimétrico de óxido-redução (MANN; MARKAN, 1998). O crescimento microbiano foi considerado quando observou-se uma mudança de coloração do corante de azul para vermelho; a permanência da coloração azul, significava a ausência de crescimento microbiano (CLEELAND; SQUIRES, 1991; ELOFF, 1998; SOUZA et al., 2007).

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou não, conforme os seguintes critérios: (+) = crescimento do microorganismo e (-) = inibição do crescimento do microorganismo e a CIM foi determinada pelo poço com cor azul e com menor concentração do extrato ou substância (MITCHER et al., 1972; ALLIGIANAIS et al., 2001; HOLETZ et al., 2002; HOUGHTON et al., 2007).

4.4 Atividade Moduladora da Resistência Bacteriana

4.4.1 Local de Trabalho

A avaliação da atividade moduladora da resistência bacteriana foi realizada no Laboratório de Genética de Microrganismos do Departamento de Biologia Molecular da UFPB. Os ensaios foram executados pela aluna de Mestrado Isis Caroline da Silva Cirino, orientanda do Professor José Siqueira Júnior em Maio de 2014.

4.4.2 Antibióticos e preparação das soluções das fases do caule e do fruto e do 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído.

As substâncias norfloxacin, eritromicina, tetraciclina e brometo de etídio foram obtidos a partir dos respectivos fabricantes e estoques. As soluções dos antibióticos foram preparados de acordo a CLSI diretrizes (2005). A soluções estoque das fases do caule e do fruto de *Pilosocereus pachycladus* e do 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído (Siringaldeído) (**Pp-6**) foram preparadas com DMSO e a sua maior concentração remanescente depois diluição em caldo (4%) não causou inibição do crescimento bacteriano.

4.4.3 Teste de suscetibilidade à drogas

As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) dos antibióticos e das fases dos extratos etanólico bruto do caule e dos frutos de *Pilosocereus pachycladus* e do Siringaldeído foram determinados em BHI através de ensaio em micro diluição usando uma suspensão de cerca 10^5 ufc/mL com a concentração da droga de 256-0,5 µg/mL (diluições seriadas duplas). A CIM foi definida como a menor concentração em que não houve crescimento. Para a avaliação do das fases do caule e do fruto de *Pilosocereus pachycladus* e do 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído como modulador de resistência a antibiótico, as CIM dos antibióticos foram determinadas na presença do composto em uma concentração sub-inibitória.

4.5 Coleta do material botânico

O material botânico (flores, frutos e caule) de *Pilosocereus pachycladus*, foi coletado no município de Boa Vista - PB, em novembro de 2010. Sua identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix (DF/CCA/UFPB) sendo uma exsicata depositada no Herbário Prof. Jaime Coelho de Moraes do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA/UFPB) sob o código 19.544.

4.6 Processamento do material botânico

O material botânico fresco do Caule, fruto e flores de *P. pachycladus* foram desidratados isoladamente em estufa com ar circulante à temperatura média de 40°C durante 72 horas, e triturados em moinho mecânico, fornecendo 4.934,61g, 2.884,72g e 1.022,31 g dos seus pós respectivamente (Esquema 1, 2 e 3 pág. 56 e 57)

4.7 Obtenção e particionamento dos extratos etanólicos brutos de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

O pó do caule (4.934,61g) foi submetido à maceração durante 72 horas a temperatura ambiente, utilizando-se como líquido extrator etanol a 95 % por várias vezes obtendo-se a solução extrativa, que após filtrada e concentrada em evaporador rotativo, forneceu 205,58 g do extrato etanólico bruto (EEB). Este foi solubilizado em EtOH:H₂O (7:3) obtendo-se portanto a solução hidroalcoólica, que foi submetida à cromatografia líquido-líquido com hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e n-butanol. As soluções obtidas foram concentradas, separadamente, em evaporador rotativo sob pressão reduzida, resultando em 33,18 g da fase hexânica; 16,70 g da fase diclorometano; 6, 11 g da fase acetato de etila, 29,34 g da fase n-butanólica, além da fase hidroalcoólica (90, 201g) (Esquema 1, Pagina 56).

O pó do fruto (2.884,72g) foi submetido ao mesmo processo realizado com o caule, resultando em 87,13g da fase hexânica; 20,14g da fase diclorometânica; 4,69 g da fase acetato de etila; 41,83g da fase n-butanólica e 16,76g da fase hidroalcoólica (Esquema 2, Pagina 57).

O pó das flores (1.022,31g) foi submetido ao mesmo processo adotado para o caule, e com fruto, resultando em 50,0 g da fase hexânica; 33 g da fase diclorometânica; 0,5702 g da fase acetato etílica, 5,0 g da fase n-butanólica e 90 g da fase hidroalcoólica (Esquema 3, Pagina 57).

4.8 Processamento cromatográfico dos extratos etanólicos brutos de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

4.8.1.a Processamento cromatográfico da fase hexânica do extrato bruto do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Uma porção da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de *P. pachycladus* (10,5 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando-se sílica gel como adsorvente e como eluentes os solventes: hexano, diclorometano e metanol, sozinhos ou em misturas binárias, com gradiente crescente de polaridade. Desta coluna foram coletadas frações de 75 ml cada, concentradas em evaporador rotativo, analisadas por CCDA e reunidas de acordo com suas semelhanças (Esquema 4, pág. 58) (Quadro 1, pág. 60).

A sub-fração de **31/59**, (0,7883 g) foi submetida a cromatografia em coluna adotando os mesmos procedimentos anteriores, obtendo-se 100 frações de 25 mL de cada, que foram

analisadas por CCDA. A sub-fração **1/33** (0.151 g), proveniente da coluna anterior foi submetido a uma outra cromatografia de coluna usando gel de sílica 60 (Merck) como adsorvente) e como eluentes hexano, CH₂Cl₂ e MeOH puro ou em misturas binárias. Nesta coluna, foram recolhidas 22 frações de 10 mL cada concentrada no evaporador rotativo, e analisadas por CCDA. A fração reunida 12/22 (0,0391 g), caracteriza-se como um sólido amorfo branco codifica como a **Pp-1** (Esquema 4, pág. 58) (Quadros 2 e 3, págs. 60 e 61).

A fração **81/113** (0,7213) da coluna da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de *P. pachycladus* foi submetida à cromatografia em coluna utilizando como adsorvente de sílica gel 60 tendo como eluentes hexano, CH₂Cl₂ e MeOH puros ou em misturas binárias com um gradiente crescente de polaridade. Nesta coluna, foram recolhidas 73 frações de 25 mL; concentradas em vácuo, analisadas em CCDA e agrupadas de acordo com os seus fatores de retenção. A fração **4/14** (0,3954 g) forneceu um precipitado amorfo branco que foi codificado como **Pp-2** (Esquema 4, pág 58) (Quadro 4, pág. 61).

A fração **114/124** (0,9000 g) quando submetida a um processo de cromatografia em coluna utilizando sílica gel flash como adsorvente e como eluentes hexano, AcOEt e MeOH, puro e em misturas binárias, resultou em 73 subfrações de 25 mL cada, as quais foram reunidas após análise por CCDA. A subfração **22/24** (0,0203 g) que mostrou-se pura após análise em CCDA em vários sistemas de solventes, resultou na substância codificada como **Pp-3** (Esquema 4, pág. 58) (Quadro 5, pág. 62). A sub-fração **41/46** (0,0494 g) que mostrou-se pura após análise em CCDA em vários sistemas de solventes, resultou na **Pp-4** (Esquema 4, pág 58) (Quadro 5, pág. 62).

A fração **60/80** (1,2811 g) da coluna da fase hexânica do EEB do caule de *P. pachycladus* foi submetida a cromatografia em coluna utilizando como adsorvente sílica gel 60 tendo como eluentes hexano, CH₂Cl₂ e MeOH puros ou em misturas binárias em um gradiente crescente de polaridade. Nesta coluna, foram recolhidas 52 frações de 20 mL; as mesmas foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas em CCDA e agrupadas de acordo com os seus fatores de retenção. A sub-fração **16/08** (0,6865 g) forneceu um sólido formado por cristais brancos que foi codificado como **Pp-5** (Esquema 4, pág. 58) (Quadro 6, pág. 62).

4.8.1.b Processamento cromatográfico da fase diclorometano do extrato bruto do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Uma alíquota da fase diclorometano do EEB do caule (10,07g) foi submetida a uma filtração em coluna de sílica gel 60 (Merck) 7734 (70-230 mesh), sendo coletadas as frações: Hexano / CH₂Cl₂ (7:3), CH₂Cl₂, CH₂Cl₂ / MeOH (9:1), CH₂Cl₂ / MeOH (8:2), CH₂Cl₂ / MeOH (7:3) e CH₂Cl₂ / MeOH (1:1). As frações foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se, respectivamente: 0,019 g – hexano / CH₂Cl₂ (7:3); 0,162 g - CH₂Cl₂; 8g - CH₂Cl₂ / MeOH (9:1); 2.2398g - CH₂Cl₂ / MeOH (8:2); 0.2448g - CH₂Cl₂ / MeOH (7:3) e 0.4004g - CH₂Cl₂ / MeOH (1:1) (Esquema 5, pág 58) (Quadro 7, pág 63).

A fração CH₂Cl₂ (0,162 g), obtida através de filtração da fase diclorometano do EEB do caule foi submetido a uma CLMP (cromatografia líquida de média pressão). Como fase estacionária foi utilizada sílica flesh e hexano, CH₂Cl₂ e metanol como fase móvel (puros ou em misturas binárias). Deste processo cromatográfico obteve-se 50 frações de 15 mL cada, que foram concentradas num evaporador e analisadas por CCDA. A sub-fração **14/18** (0,0127g), resultou em cristais amarelos codificados como **Pp-6** (Esquema 5, pág 58) (Quadro 7, pág 63).

A fração de CH₂Cl₂/MeOH (9:1) (7,9139g) foi submetida a uma cromatografia em coluna, utilizando sílica gel 60 como fase estacionária e hexano, CH₂Cl₂ e metanol como fase móvel (puros ou em misturas binárias) levando a obtenção de 103 fracções de 20 mL cada, que foram concentradas num evaporador rotativo e analisadas por CCDA. As sub-fração **79** (0,032 g) resultou em um sólido branco amorfo codificado como **Pp- 7** (Esquema 5, pág 58) (Quadro 8, pág 63).

4.8.2 Fracionamento cromatográfico da fase CH₂Cl₂ do EEB dos frutos de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.

A fase de diclorometano da EEB do fruto (10,04 g) foi submetida a filtração a vácuo em funil de Buchner, utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60 (Merck) 7734 (70-230 mesh). Como eluentes foram utilizados hexano, hexano / CH₂Cl₂ (9:1, 7:3; 1:1), CH₂Cl₂ e CH₂Cl₂ / MeOH (9 :1; 8:2; 7:3; 1:1). As frações foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida.

4.8.2.1 Fracionamento cromatográfico da fração CH₂Cl₂: MeOH (9:1) da fase CH₂Cl₂ do EEB dos frutos de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

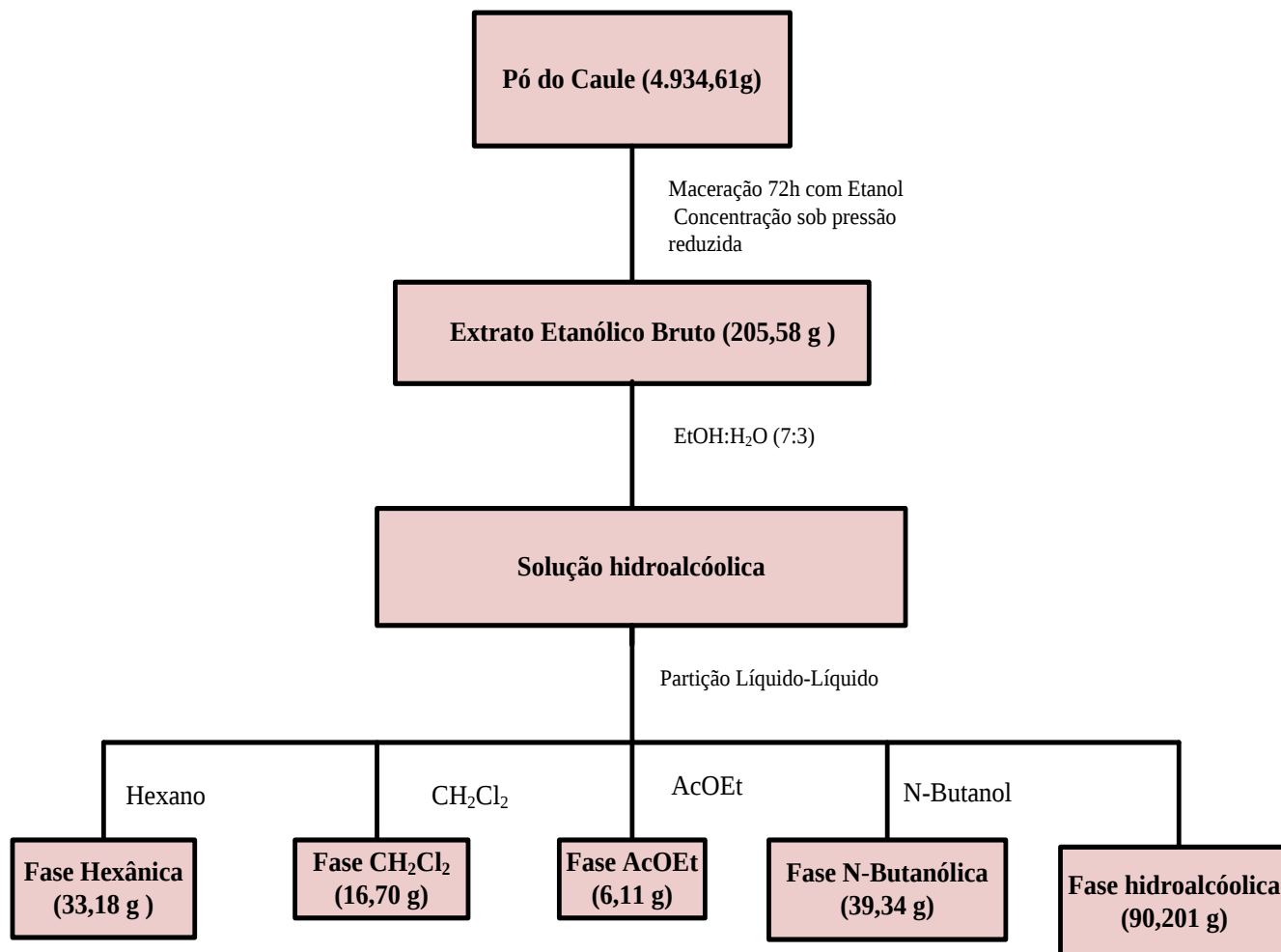
A fração de CH₂Cl₂/MeOH (9:1) (3,4 g) obtida do processo anterior foi submetida a cromatografia em coluna utilizando como adsorvente de sílica gel 60 e como eluentes os solventes hexano, CH₂Cl₂ e MeOH puros ou em misturas binários com gradiente crescente de polaridade. Nesta coluna, foram recolhidas 22 frações de 20 mL que foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas em CCDA e reunidas de acordo com as suas semelhanças. A sub-fração de **6/12** (0,9501g) foi submetido a cromatografia em coluna, seguindo a mesma metodologia descrita acima, para originar 33 frações. A sub-fração **1/2** obtida da coluna anterior (0,1246g) foi submetido a cromatografia em coluna e tendo hexano, AcOEt e MeOH como eluentes (puros ou em misturas binárias). A fração **12** (0,0121g) obtida deste último procedimento cromatográfico resultou em um precipitado de cristais brancos transparentes, codificado como **Pp-8** (Esquema 6, pág. 59) (Quadro 9, 10, 11 pág. 64).

4.8.3 Processamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto das flores de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

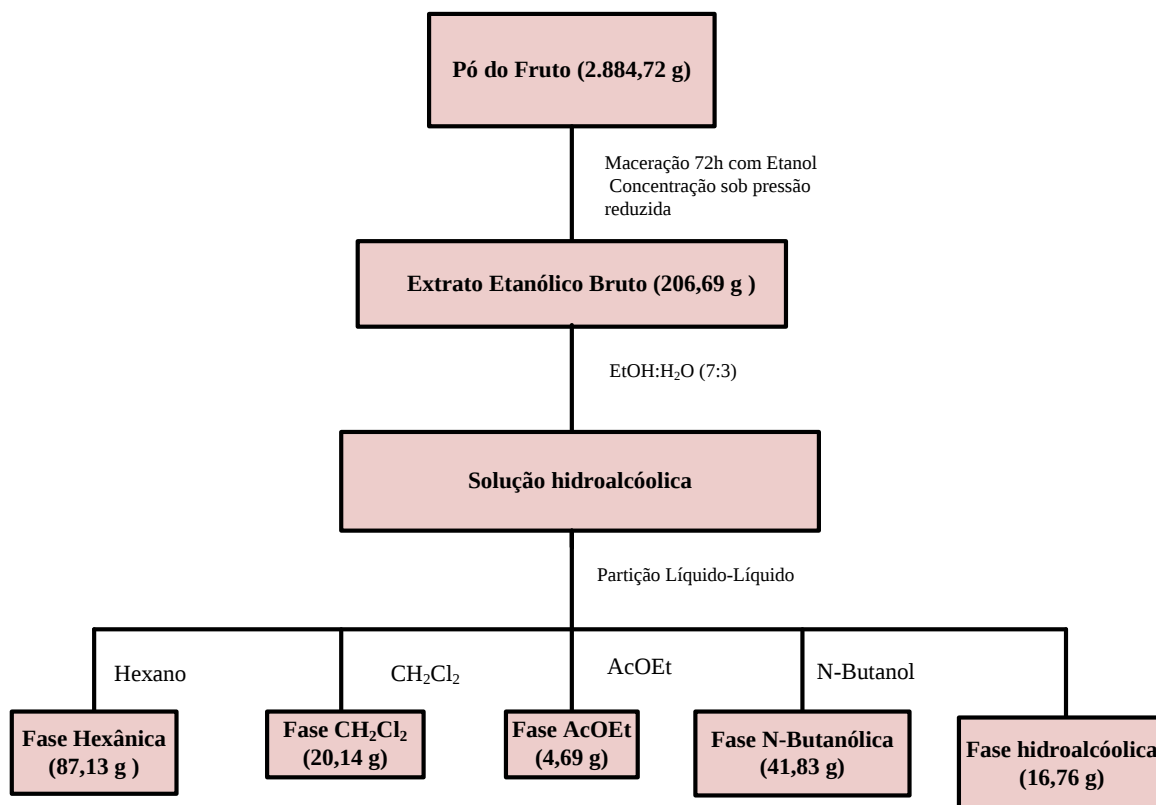
Uma alíquota da fase de hexânica das flores (10 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna utilizando como adsorvente de sílica gel 60 e como eluentes hexano, CH₂Cl₂ e MeOH (puros ou em misturas binárias) em um gradiente crescente de polaridade. Nesta coluna, foram recolhidas 82 frações de 20 mL. Estas frações foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas em CCDA e agrupadas de acordo com os seus fatores de retenção. A sub-fração de **36/42** forneceu um precipitado e um sobrenadante. O precipitado apresentou-se como de cristais brancos transparentes, (0,018 g) e resultou na substância codificada como **Pp-9** (Esquema 7, pág. 59) (Quadro 12, pág. 65).

O sobrenadante da fração **36/42** (1,3g) quando submetido a um processo de cromatografia em coluna utilizando a sílica gel flash como adsorvente e como eluentes o hexano e AcOEt, puro ou em misturas binárias, resultando em 57 sub-frações de 25 mL cada, as quais foram reunidas após análise por CCDA. A sub-fração **01/07** (0,092 g) mostrou-se pura após análise em CCDA, sendo codificada como **Pp-10** (Esquema 7, pág. 59) (Quadro 13, pág. 65).

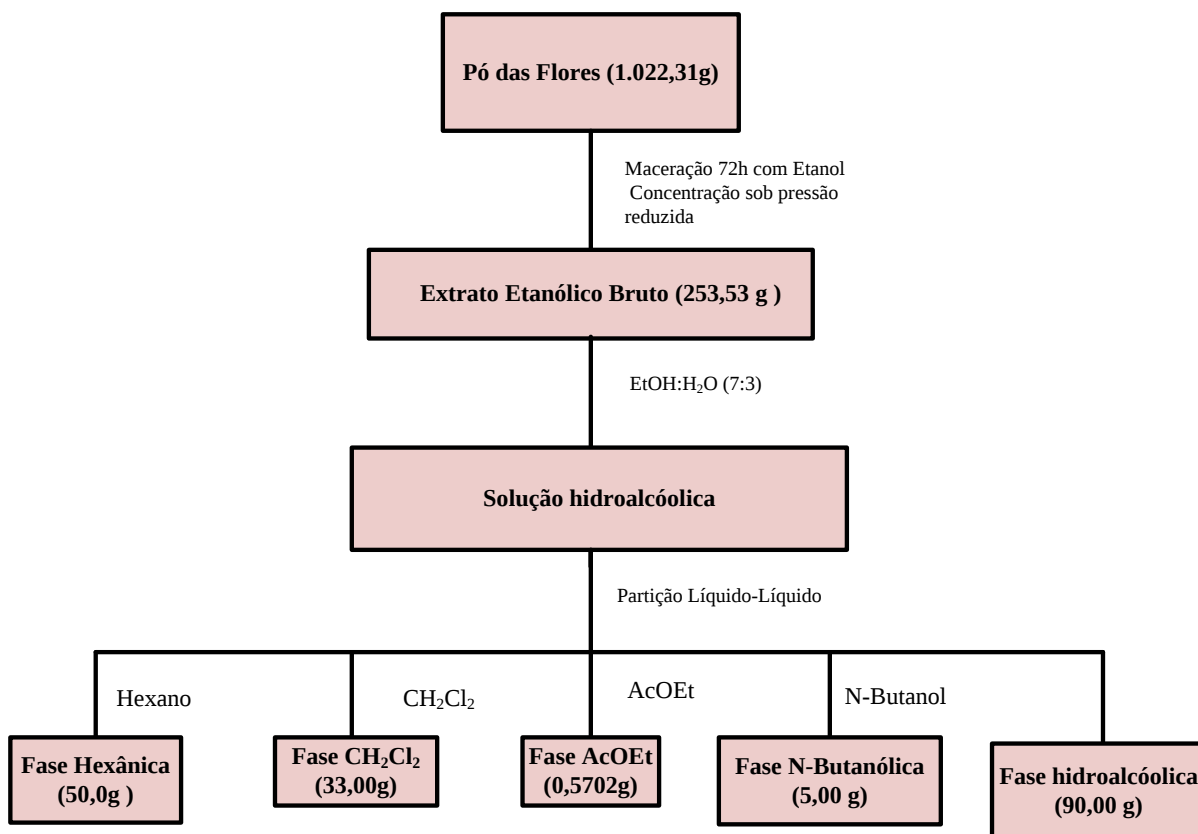
A fração **56/60** forneceu 0,1596 g de um precipitado na forma de um pó branco solúvel em clorofórmio, que após análise por CCDA em vários sistemas de solvente e revelação com vapores de iodo, mostrou-se pura, sendo codificada como **Pp-11** (Esquema 7, pág. 59) (Quadro 12, pág. 65).



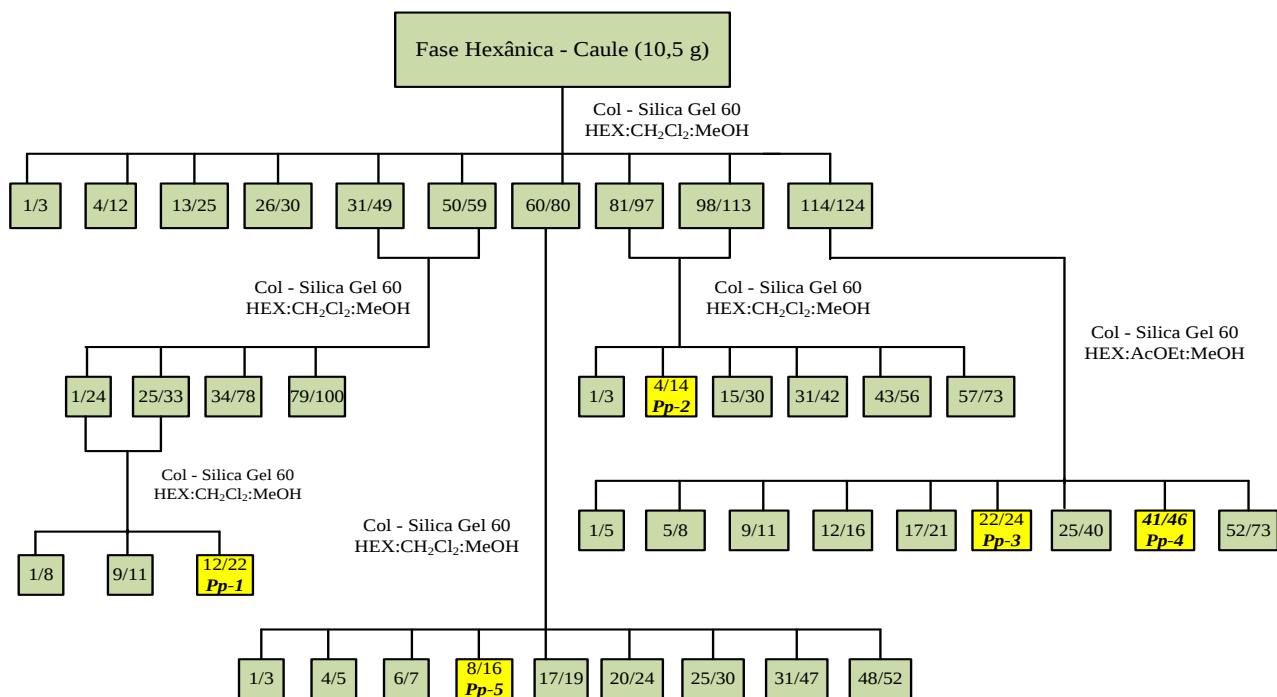
Esquema 1: Obtenção e Partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.



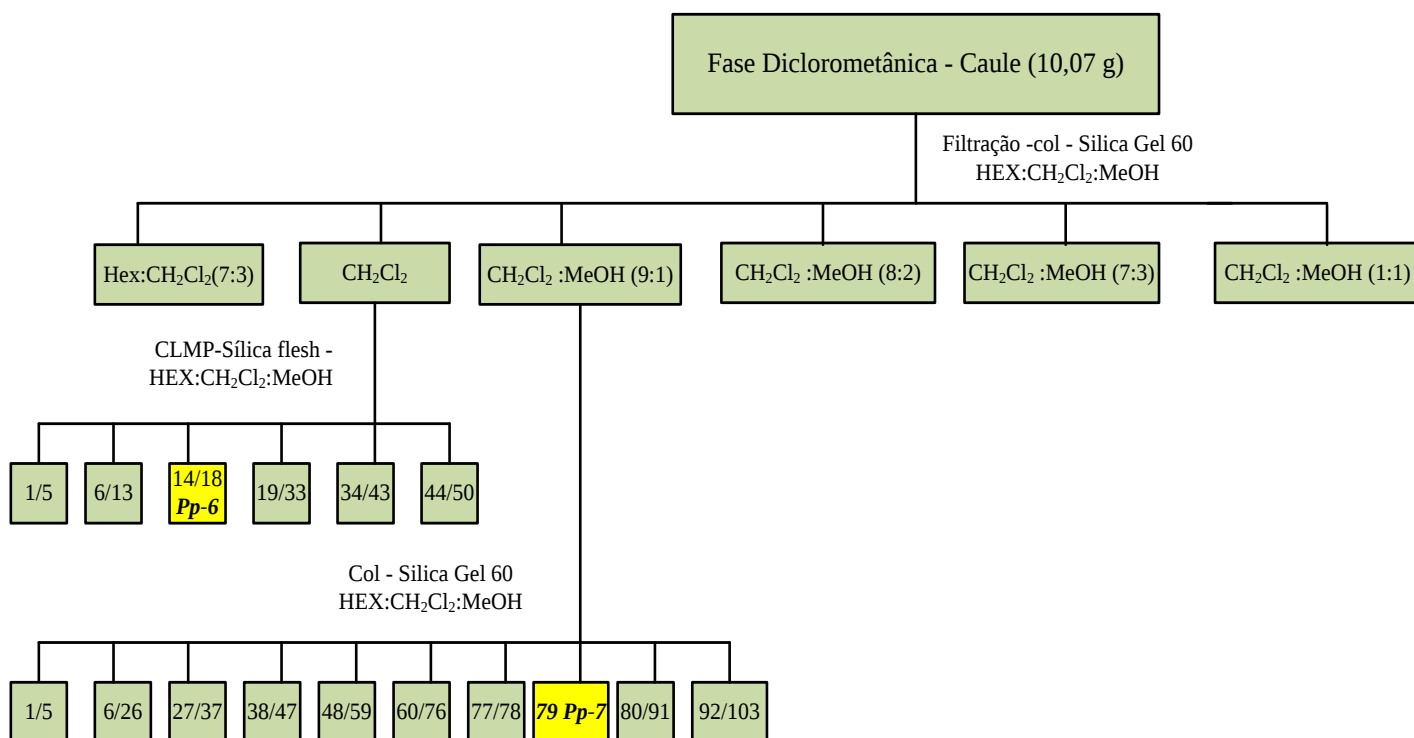
Esquema 2: Obtenção e Partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto do fruto de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.



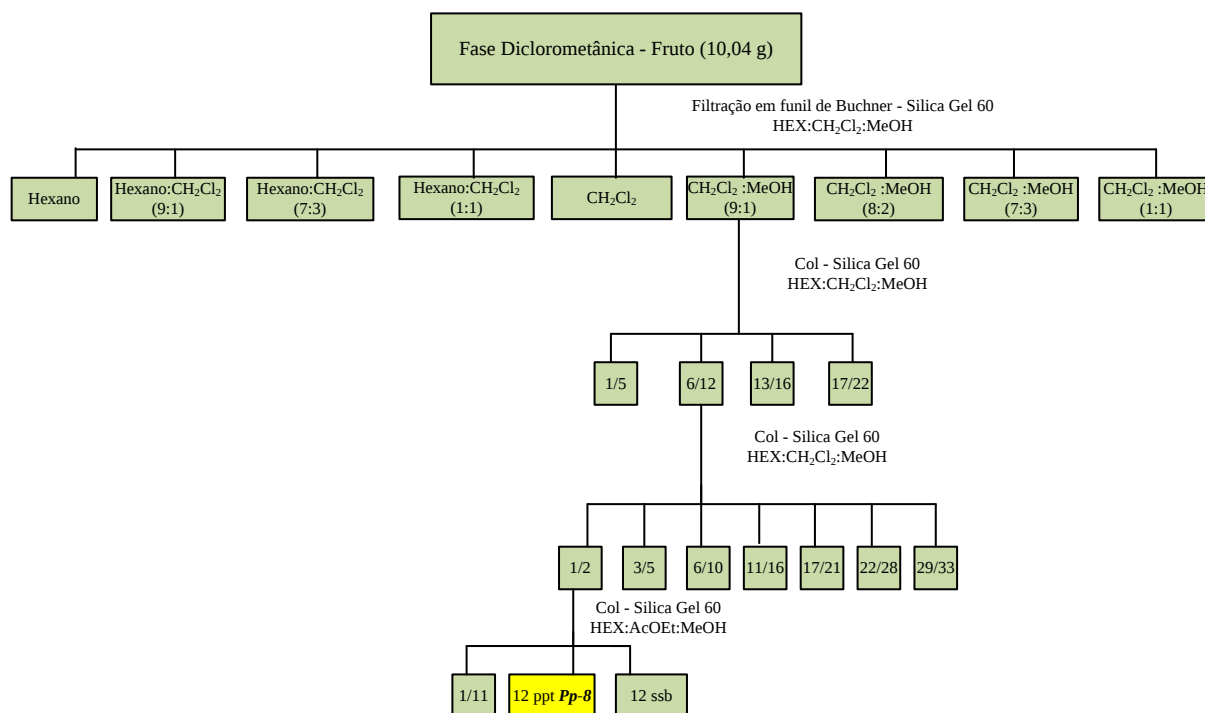
Esquema 3: Obtenção e Partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto das flores de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.



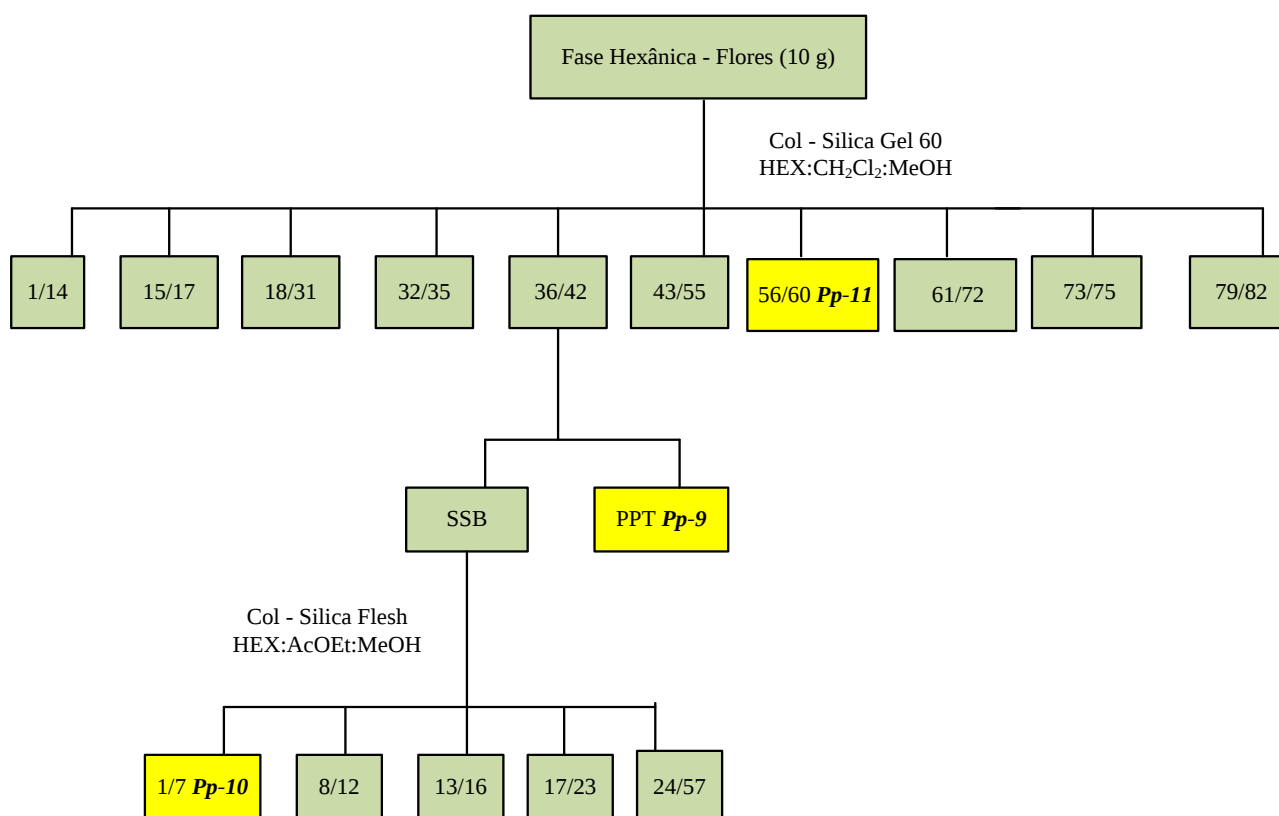
Esquema 4: Processamento cromatográfico da fase hexânica do EEB do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.



Esquema 5: Processamento cromatográfico da fase CH₂Cl₂ do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER



Esquema 6: Processamento cromatográfico da fase CH₂Cl₂ do fruto de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.



Esquema 7: Processamento cromatográfico da fase Hexânica das flores de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.

Quadro 1: Fracionamento cromatográfico da fase Hexânica do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	01-06	1/3 (0,27667g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (9:1)	7-10	04/12 (0,047 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (8:2)	11-18	13/25 (0,4034 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (7:3)	19-30	26/30 (0,0857 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (6:4)	31-34	<u>31/49 (0,4086 g)</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (1:1)	35-40	<u>50/59 (0,3797 g)</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (4:6)	41-53	60/80 (1,2811 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (3:7)	54-62	81/97 (0,5023 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (2:8)	63-79	98/113 (0,219 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (1:9)	80-91	114-124 (1,066 g)
CH ₂ Cl ₂	92-98	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (99:1)	99-105	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (98:2)	106-113	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (95:5)	114-120	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1)	121-124	

Quadro 2: Fracionamento cromatográfico da sub-fração **31/59** da fase Hexânica do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	01-04	<u>1/24 (0,023 g)</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (95:5)	05-25	<u>25/33 (0,1288 g)</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (9:1)	26-40	34/54 (0,2947 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (8:2)	59-93	55/70 (0,0891 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (7:3)	94-100	71/78 (0,0266 g)
		79/100 (0,0935 g)

Quadro 3: Fracionamento cromatográfico da sub-fração **1/33** da coluna da sub-fração **31/59** da fase Hexânica do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (98:2)	01-03	1/8 (0,0072 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (97:3)	04-06	9/11 (0,0281 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (95:5)	07-10	<u>12/22 (0,0391g) Pp-1</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (9:1)	11-16	
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (8:2)	17-19	
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (7:3)	20-22	

Quadro 4: Fracionamento cromatográfico da sub-fração **81/113** da fase Hexânica do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (7:3)	01-18	01/03 (0,019 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (6:4)	19-27	<u>04/14 (0,3954 g) Pp-2</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (1:1)	28-31	15/30 (0,0924 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (4:6)	32-33	31/42 (0,0394 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (3:7)	34-38	43/56 (0,0862 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (2:8)	39-42	57/73 (0,0852 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (1:9)	43-47	
CH ₂ Cl ₂	48-51	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (99:1)	52-55	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (98:2)	56-59	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (95:5)	60-63	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1)	64-68	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (8:2)	69-71	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (7:3)	72-73	

Quadro 5: Fracionamento cromatográfico da sub-fração 114/124 da fase Hexânica do caule de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F. RITTER		
Hexano : AcOEt (95:5)	01-09	1/5 (0,1721 g)
Hexano : AcOEt (85:15)	10-34	06/08 (0,0361 g)
Hexano : AcOEt (8:2)	35-45	09/11 (0,0337 g)
Hexano : AcOEt (7:3)	46-55	12/16 (0,0781 g)
Hexano : AcOEt (6:4)	56-57	17/21 (0,0374 g)
Hexano : AcOEt (1:1)	58-59	<u>22/24 (0,0203 g) Pp-3</u>
Hexano: AcOEt (1:1)	60-61	25/26 (0,0094 g)
Hexano: AcOEt (3:7)	62-63	27/29 (0,011 g)
AcOEt	64-65	30/35 (0,033 g)
AcOEt : MeOH (95:5)	66-67	36/40 (0,0621 g)
AcOEt : MeOH (9:1)	68-69	<u>41/46 (0,0494 g) Pp-4</u>
AcOEt : MeOH (8:2)	70-71	47/51 (0,0323 g)
AcOEt : MeOH (7:3)	72-73	52/73 (0,230 g)

Quadro 6: Fracionamento cromatográfico da sub-fração **60/80** da fase Hexânica do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (8:2)	1-5	1/3 (0,0171 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (7:3)	6-17	4/5 (0,0089 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (6:4)	18-23	06/07 (0,0285 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (1:1)	24-28	<u>08/16 (0,6865 g) Pp-5</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (4:6)	29-31	17/19 (0,0516 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (3:7)	32-34	20/24 (0,1035 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (2:8)	35-36	25/30 (0,1966 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (1:9)	37-39	31/47 (0,0605 g)
CH ₂ Cl ₂	40-44	48/52 (0,0415 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (95:5)	45-48	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1)	49-50	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (8:2)	51-52	

Quadro 7: Fracionamento cromatográfico da fração CH₂Cl₂ da fase Diclorometânica do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (4:6)	1-7	01/05 (0,0442 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (3:7)	8-15	06/13 (0,0033 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (2:8)	16-23	<u>14/18 (0,0127 g) Pp-6</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (1:9)	24-31	19/33 (0,0009 g)
CH ₂ Cl ₂	32-46	34/43 (0,003 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (99:1)	47-50	44/50 (0,027 g)

Quadro 8: Fracionamento cromatográfico da fração CH₂Cl₂:MeOH (9:1) da fase Diclorometânica do caule de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
CH ₂ Cl ₂	1-31	01/05 (0,1677 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (99:1)	32-45	06/26 (0,0356 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (98:2)	46-64	27/37 (0,0387 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (95:5)	65-74	38/47 (0,0202 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1)	75-91	48/59 (0,2937 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (8:2)	92-97	60/78 (1,605 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (7:3)	98-100	<u>79 (0,032 g) Pp-7</u>
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (6:4)	101-103	80/103 (2,0321 g)

Quadro 9: Fracionamento cromatográfico da fração CH₂Cl₂:MeOH (9:1) da fase Diclorometânica do fruto de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (95:5)	1-5	1/5 (0,4447 g)
Quadro 10: Fracionamento cromatográfico da sub-fração 6/12 da fração CH ₂ Cl ₂ : MeOH (9:1) da fase Diclorometânica do fruto de <i>Pilosocereus pachycladus</i> F. RITTER	6-10	6/12 (0,9501 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1)		
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (8:2)	11-19	13/16 (0,3655 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (7:3)	20-22	17/22 (0,0503 g)

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (6:4)	1-6	<u>1/2 (0,1246 g)</u>
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (1:1)	7-12	3/10 (0,808 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (4:6)	13-15	11/16 (0,064 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (3:7)	16-21	17/28 (0,1545 g)
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (2:8)	22-33	29/33 (0,0646 g)

Quadro 11: Fracionamento cromatográfico da sub-fração 1/2 da sub-fração 6/12 da fração CH₂Cl₂: MeOH (9:1) da fase Diclorometânica do fruto de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt (8:2)	1-20	1/11 (0,0787 g)
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt (7:3)	21-28	<u>12 ppt (0,025 g) Pp-8</u>
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt (6:4)	29-37	12 ssb (0,0091 g)
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt (1:1)	38-45	13/53 (0,0532 g)
CH ₂ Cl ₂ : AcOEt (4:6)	46-53	

Quadro 12: Fracionamento cromatográfico da fase Hexânica das Flores de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	01-04	1/14 (0,147 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (95:5)	06-10	15/17 (0,5789 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (9:1)	11-17	18/31 (0,3699 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (8:2)	18-22	32/35 (0,6321 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (7:3)	23-28	<u>36/42 ppt-Pp-9 (0,018 g)</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (6:4)	29-35	43/55 (0,223 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (1:1)	36-42	<u>56/60 (0,1596 g) Pp-11</u>
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (4:6)	43-45	61/72 (0,635 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (3:7)	46-51	73/75 (0,8798 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (2:8)	52-55	79/82(0,2023 g)
Hexano : CH ₂ Cl ₂ (1:9)	56-60	
CH ₂ Cl ₂	61-69	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (98:2)	70-75	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (95:5)	76-78	
CH ₂ Cl ₂ :MeOH (9:1)	79-82	

Quadro 13: Fracionamento cromatográfico do SSB da sub-fração 36/42 da fase Hexânica das Flores de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano : AcOEt (7:3)	1-7	<u>1/7 (0,092 g) Pp-10</u>
Hexano : AcOEt (6:4)	8-15	(0,125 g)
Hexano: AcOEt (1:1)	16-25	(0,231 g)
Hexano: AcOEt (4:6)	26-36	(0,0256 g)
Hexano: AcOEt (3:7)	37-45	(0,542 g)
Hexano: AcOEt (2:8)	46-51	(0,145 g)
AcOEt	52-57	(0,036 g)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Substâncias isoladas de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.

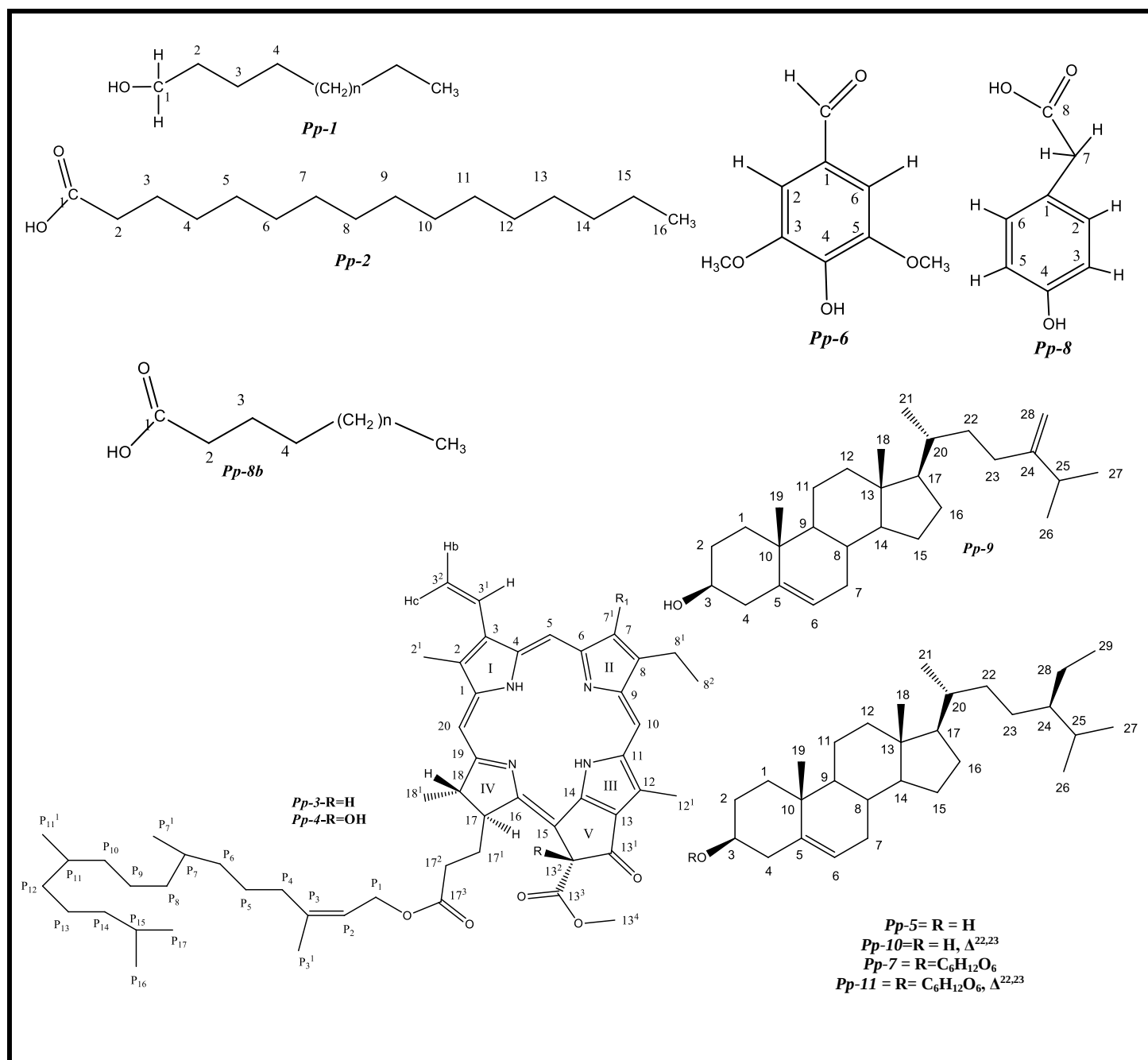


Figura 11: Substâncias isoladas de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER.

estudo fitoquímico dos Extratos Etanólicos Brutos (EEBs) do caule, do fruto e das flores de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER e o estudo das suas respectivas fases e fracionamentos levaram ao isolamento de doze substâncias (Figura 11, p. 68) codificadas com as letras iniciais do gênero e espécie (**Pp**) estudada, seguida da numeração de 1 a 11 de acordo com a ordem em que foram isoladas. Do EEB do caule obteve-se 7 substâncias, do EEB do fruto foram obtidas duas substâncias e do EEB das flores foram isoladas e identificadas três substâncias.

5.2. Caracterização estrutural das substâncias isoladas de *P. pachycladus*

5.2.1 Caracterização estrutural da substância **Pp-1**

O espectro de IV da substância **Pp-1** (Figura 12, p. 69) mostrou absorções em 2.948 e 2.868 cm^{-1} e 3.401 cm^{-1} atribuídos a ν C-H e ν O-H respectivamente.

O espectro de RMN¹H de **Pp-1** (Fig. 13, pag. 70) mostrou sinais para hidrogênios ligados a C-sp³. Um tripleto em δ_{H} 3,63 (t, $J=6,56$ Hz) propôs a existência de hidrogênio oximetilênico que acopla com hidrogênios de um grupo CH₂, fortalecendo a proposta do espectro no IV da existência de uma OH em sua molécula. A existência de uma metila terminal na estrutura foi sugerida pela presença de um tripleto em δ_{H} 0,87. Absorções entre δ_{H} 1,24 e 1,69 revela a presença de grupos metilênicos. As integrações para os hidrogênios de carbonos sp³ levam a propor que **Pp-1** possui oito grupos CH₂. Estas absorções quando acrescidas de duas referentes a um grupo metila e uma condizente com CH₂OH, permitiram propor que **Pp-1** se refere ao decanol.

Os espectros de RMN ¹³C, APT, (Figs. 14 e 15, pags. 70 e 71) mostrou absorções para dez átomos de carbono, sendo oito metilênicos entre δ_{C} 22 e δ_{C} 32, um carbono oximetilênico δ_{C} 63,09 e um metílico δ_{C} 14,13. A compilação dos dados espectrais de IV, RMN ¹H, RMN ¹³C e dados da literatura (PAVIA et al., 2010) (Tab.2, pag. 69) permitiram propor que **Pp-1** (Fig. Pág. 68) tratava-se do álcool alifático decanol, isolado pela primeira vez na família Cactaceae.

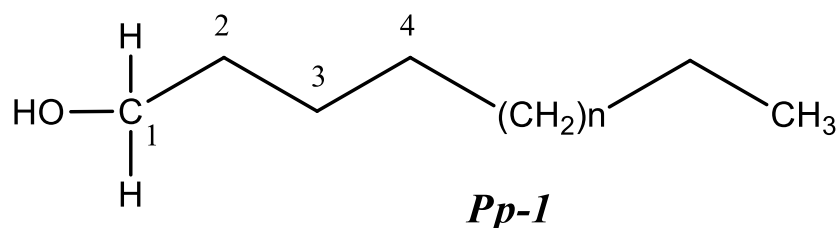


Tabela 2: Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Pp-1** (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) com o modelo **Mo-1** (PAVIA et al., 2010).

Mo-1		Pp-1	
CH₂	δ C	δ C	δ H
1	61,9	63,09	3,63 (t) $J=6,56 - 2\text{H}$
2	32,8	32,77	
3	25,8	25,72	
4	32,8	29,34	
5	22,8	29,42	
—	—	29,61	1,24-1,69 (m)
—	—	29,70	
—	—	31,92	
—	—	22,69	
CH₃	14,2	14,13	0,87 (t) $J=6,26 - 3\text{H}$

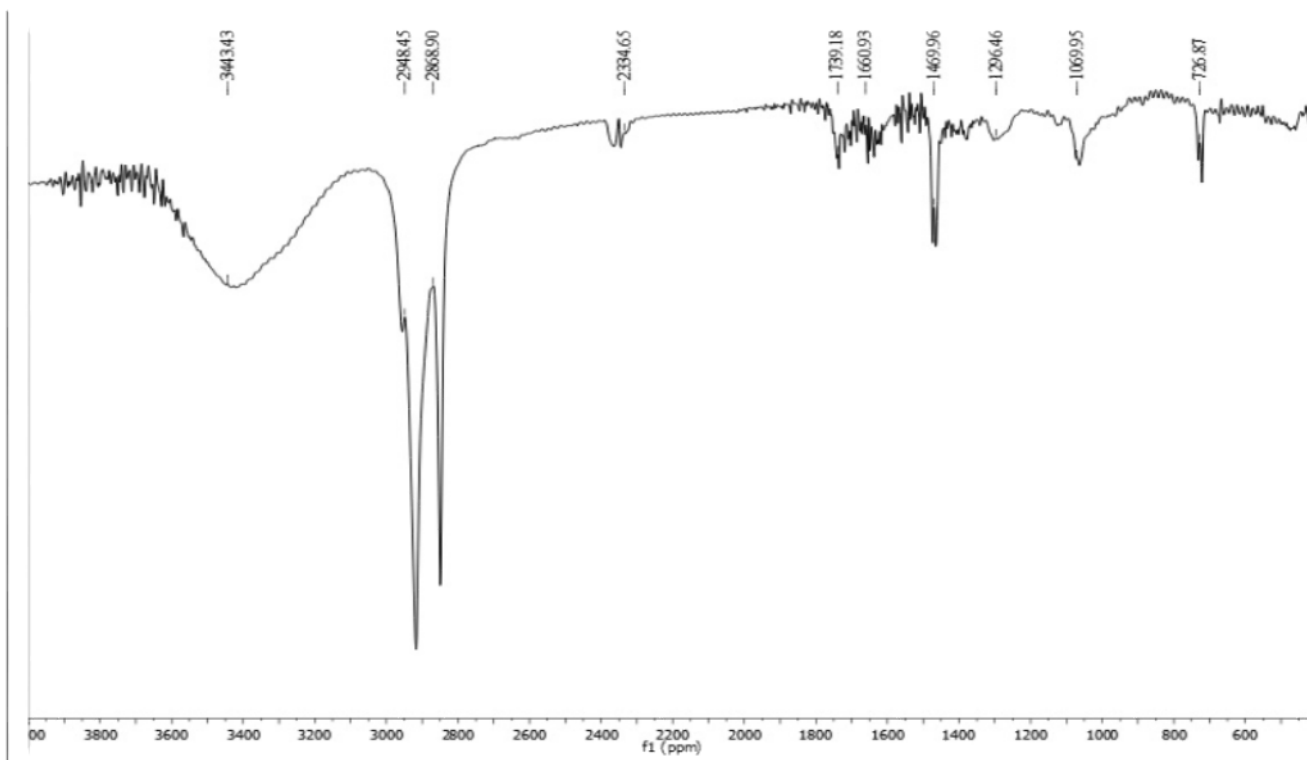


Figura 12: Espectro de IV (KBr , cm^{-1}) de **Pp-1**.

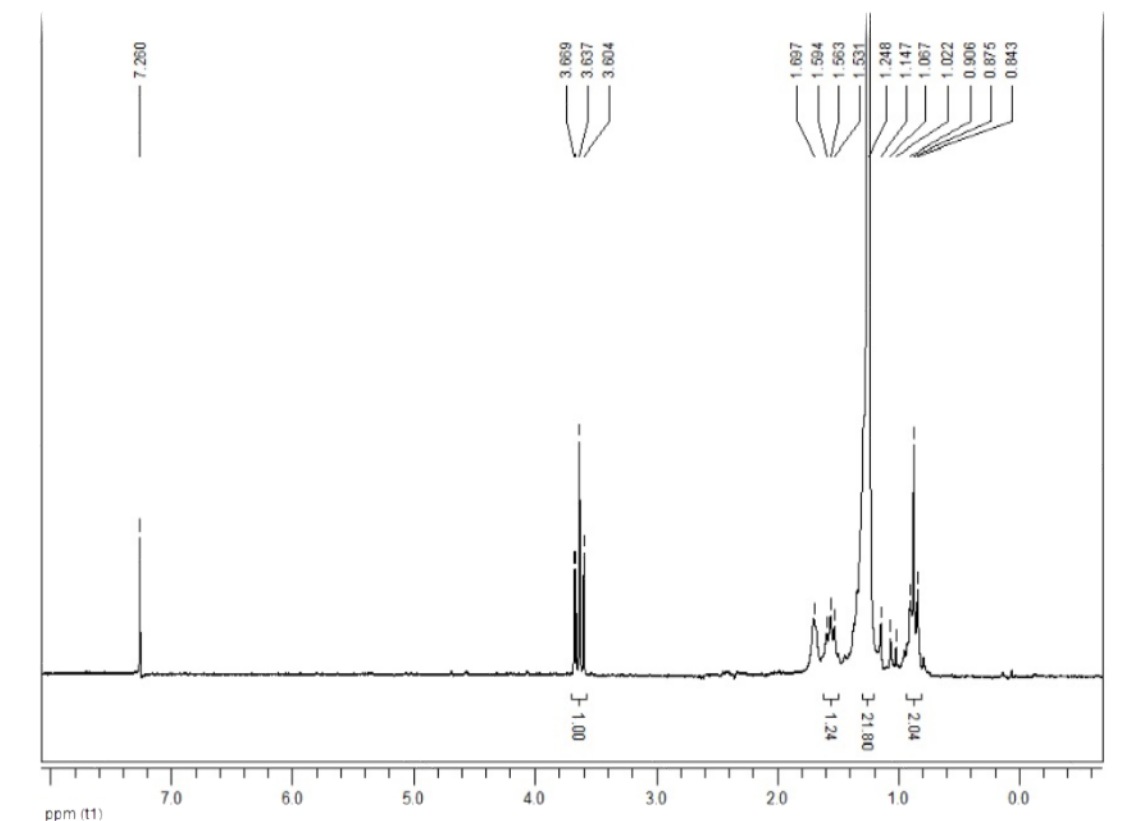


Figura 13: Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 200 MHz) de **Pp-1**

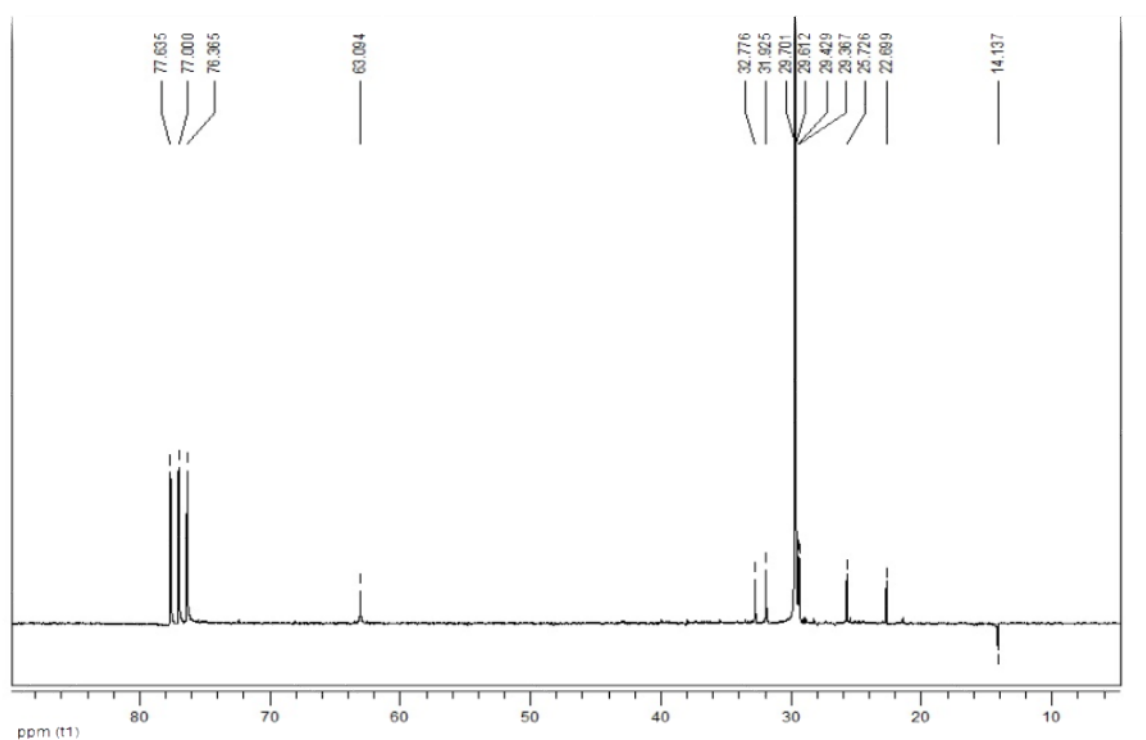


Figura 14: Espectro de RMN ¹³C APT (δ, CDCl₃, 50 MHz) de **Pp-1**

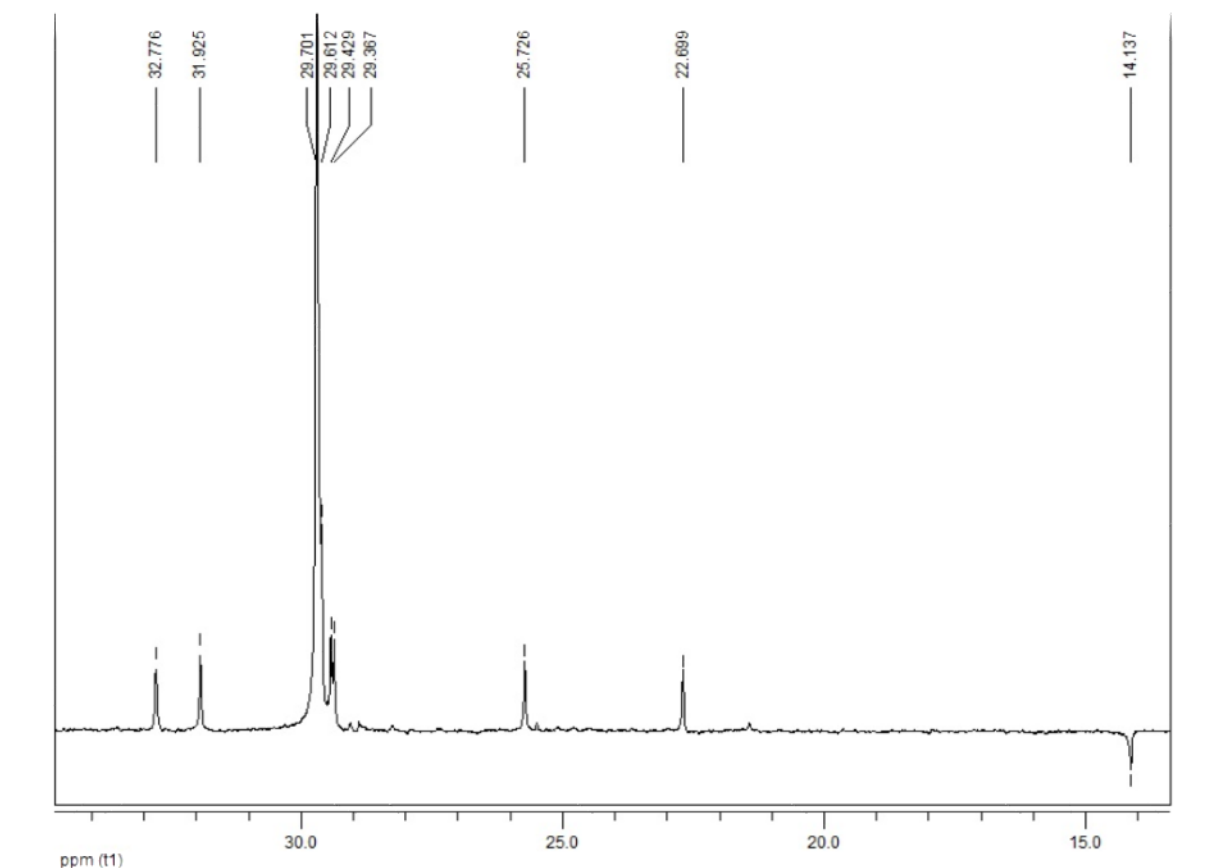


Figura 15: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-1**.

5.2.2 Caracterização estrutural da substância **Pp-2**

A substância **Pp-2** de aspecto sólido ceroso levantou a hipótese de que poderia tratar-se de um ácido graxo. O espectro de IV (KBr) (Fig. 16, pag. 73) mostrou-se como o espectro da substância **Pp-1** ao exibir absorções para C-H de carbono sp^3 . Absorções entre 1.448 cm^{-1} , 1.421 cm^{-1} e 1.305 cm^{-1} sugerem que a molécula possui grupo C-H sp^2 . Neste espectro ainda pôde ser observado uma adsorção em 1.704 cm^{-1} que permitiu propor a existência de uma carbonila de ácido, uma vez que ainda foram observadas absorções na região de 1.440 cm^{-1} – 1.395 cm^{-1} e 1.320 cm^{-1} – 1.210 cm^{-1} indicativas de $\nu\text{ C-O}$ e $\nu\text{ O-H}$ de ácidos carbonílicos respectivamente. A primeira banda de intensidade moderada ocorre na mesma frequência da vibração de deformação angular de CH_2 α carbonila (PAVIA et al., 2010).

O espectro de RMN ^1H da substância **Pp-2** (Fig 17, p. 73) mostrou-se semelhante a Fig. 13, p. 70) da substância **Pp-1**, todavia a ausência do sinal em $\delta_{\text{H}}3,63$ em **Pp-2** esclarece que esta molécula não possui grupo oximetilênico. Integrações para 31 hidrogênios de

carbono sp^3 (Fig. 18, pag. 74) entre δ_H 2,34 e 0,87 (Tabela 3, pag. 72) juntamente com a banda de grupo hidroxila de ácido proposto pelo IV, permitiram sugerir que **Pp-2** tratar-se-ia do ácido palmítico.

O espectro de RMN ^{13}C de **Pp-2** (Fig. 19, pag. 74) e sua expansão (Fig. 20. Pág. 75) fortaleceram a proposta de que **Pp-2** tratava-se do ácido palmítico ao exibir absorções para carbonila de ácido em δ_C 180,29, um grupo metila terminal (t) em δ_C 14,13 e 14 grupos metilênicos (Tabela 3, pag. 72).

O espectro de massas de baixa resolução de **Pp-2** (Fig. 21. Pág. 75) adotando o método de ionização por eletrospray (ESI) exibiu o pico do íon molecular em M^+ 255, permitindo definir para esta substância uma fórmula molecular $C_{16}H_{32}O_2$ e ratificar a proposta de que **Pp-2** (Fig. Pág. 72) trata-se do ácido palmítico, isolado pela primeira vez na família Cactaceae.

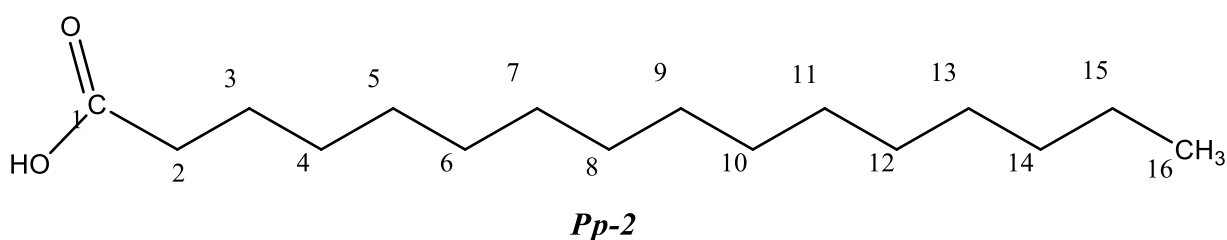


Tabela 3: Dados comparativos de RMN ^{13}C e RMN 1H da substância **Pp-2** (δ , $CDCl_3$, 200 e 50 MHz) com modelo **Mo-2** (δ , $CDCl_3$, 400 e 100 MHz), (BANG et al., 2002).

Mo-2			Pp-2		
C	δC	δH	C	δC	δH
1	179,39	—	1	180,29	—
2	33,98	2,34 (t) $J=7,4$	2	34,07	2,34 (t) $J=7,46 - 2H$
3	24,59	1,62 (m)	3	24,65	
4	29,35		4	31,92	
5	28,96		5	29,69	
6	28,88		6	29,43	
7	28,88	1,25-1,40 (m)	7	29,36	
	—		8	29,24	1,25 (sl) – 24H
	—		9	29,05	
	—		10	29,05	
	—		11	29,59	
8	27,64		12	29,69	
10	125,88		13	29,69	
11	127,78		14	29,69	
17	20,61	2,08 (dq)	15	22,69	1,59 (q) – 2H
18	14,50	0,96 (t) $J=7,6$	16	14,13	0,87 (t) $J=6,44$ 3H

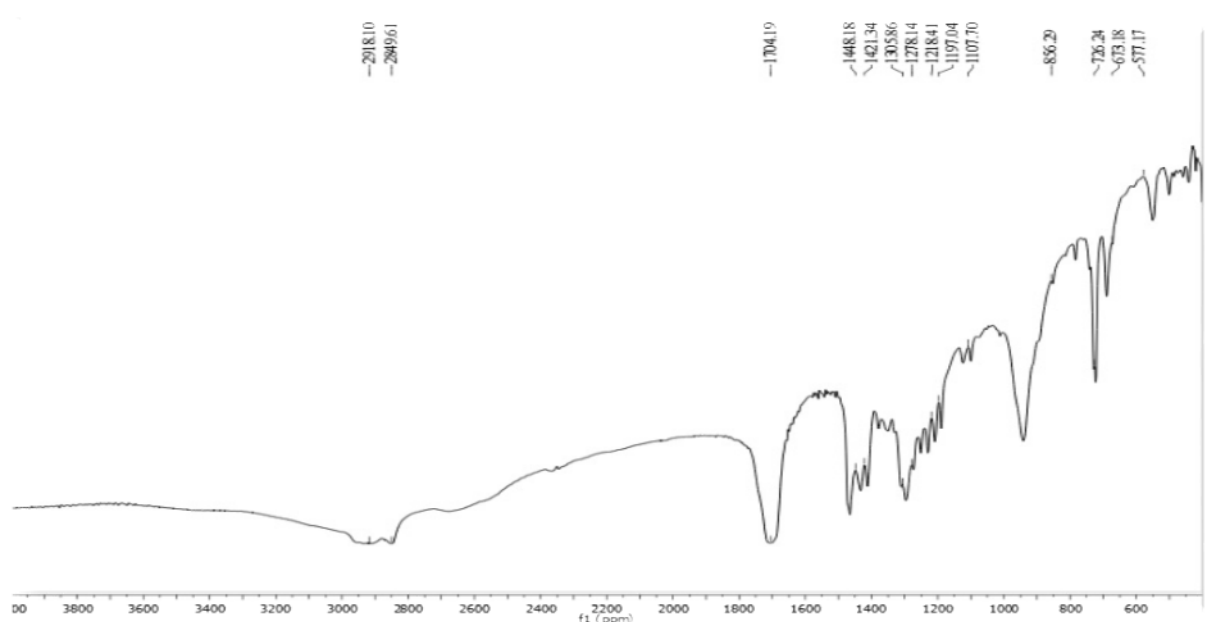


Figura 16: Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de **Pp-2**.

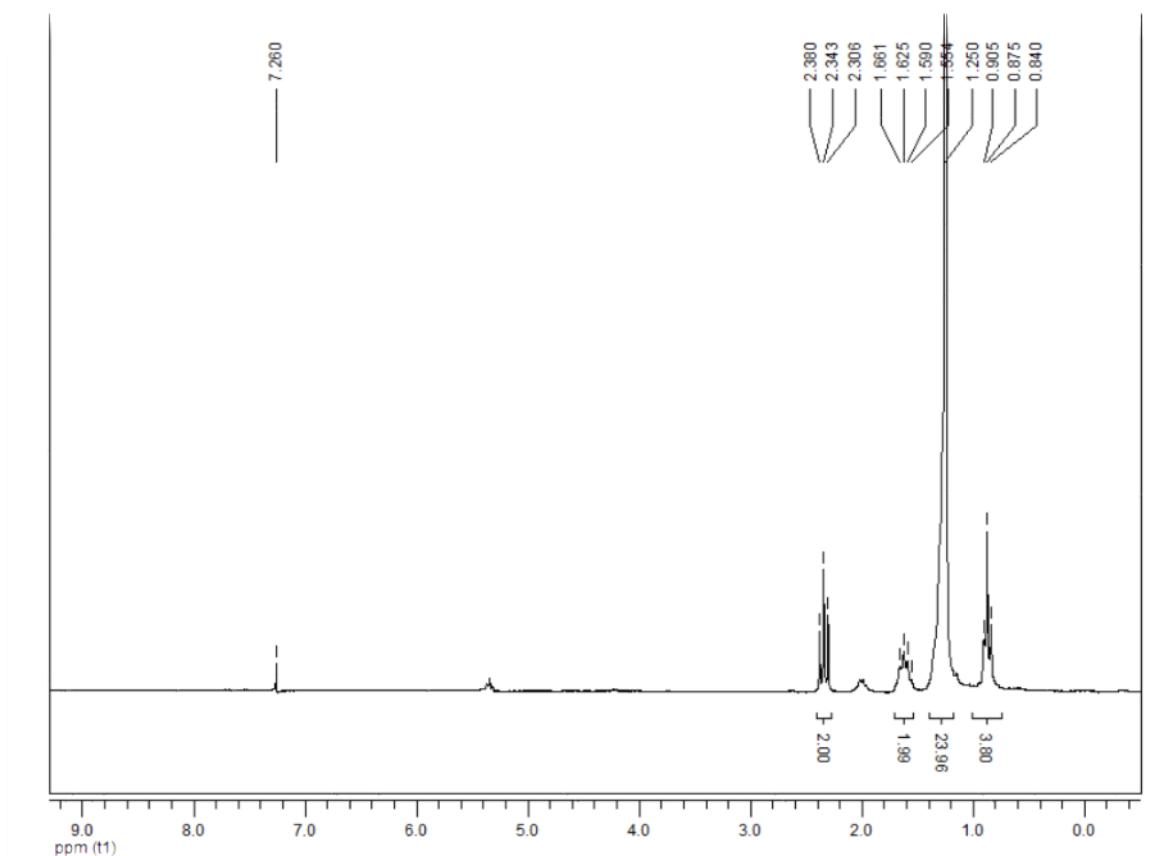


Figura 17: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-2**

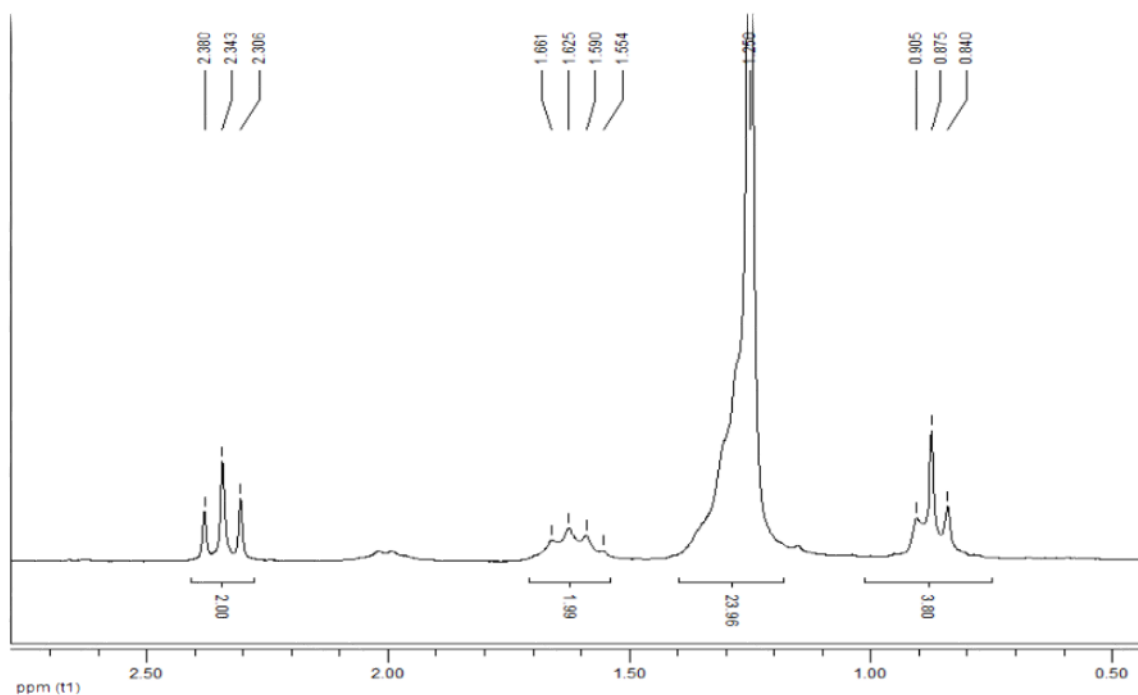


Figura 18: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-2**.

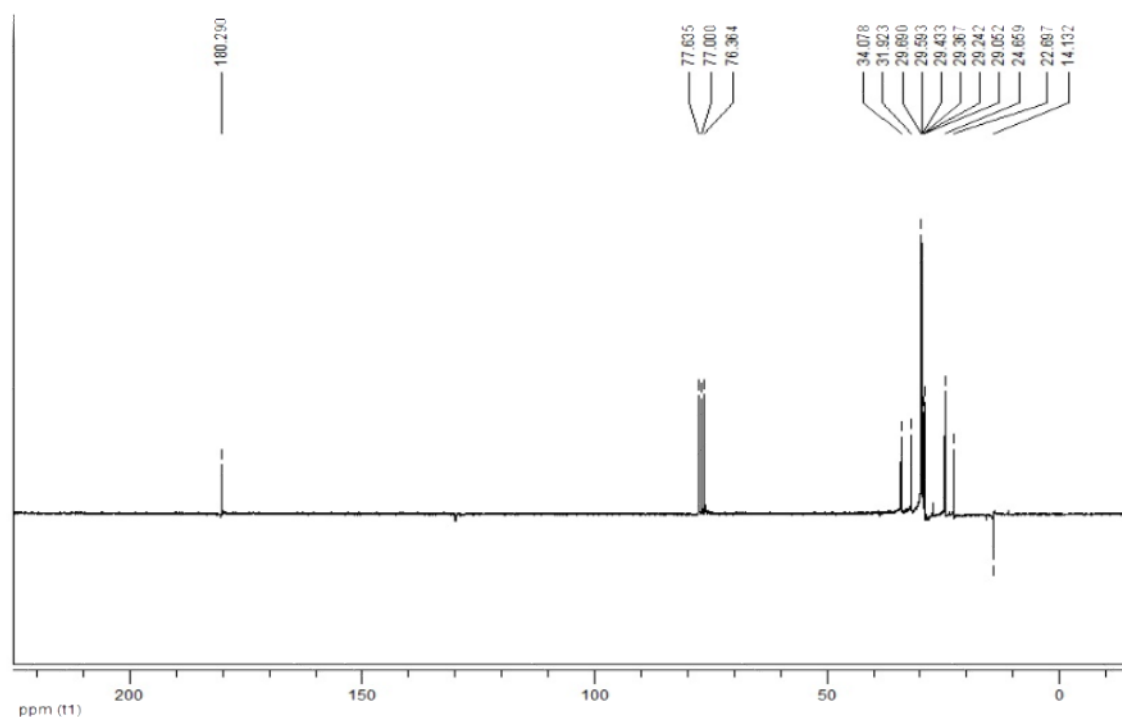


Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-2**.

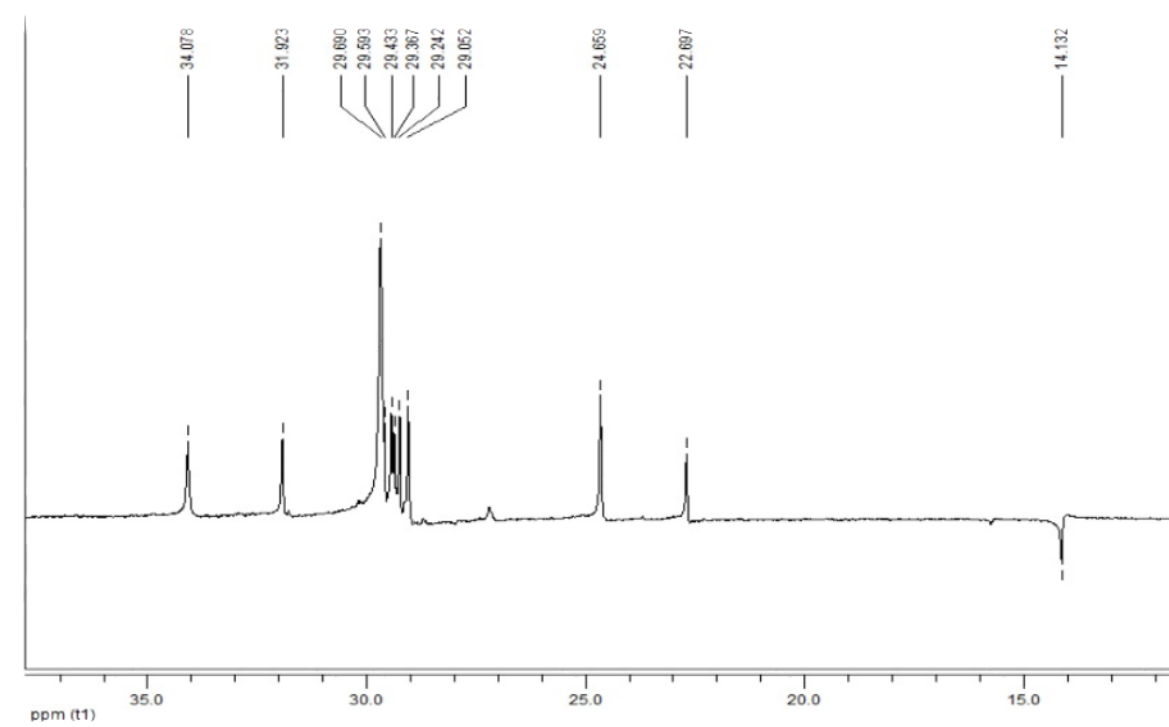


Figura 20: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-2**.

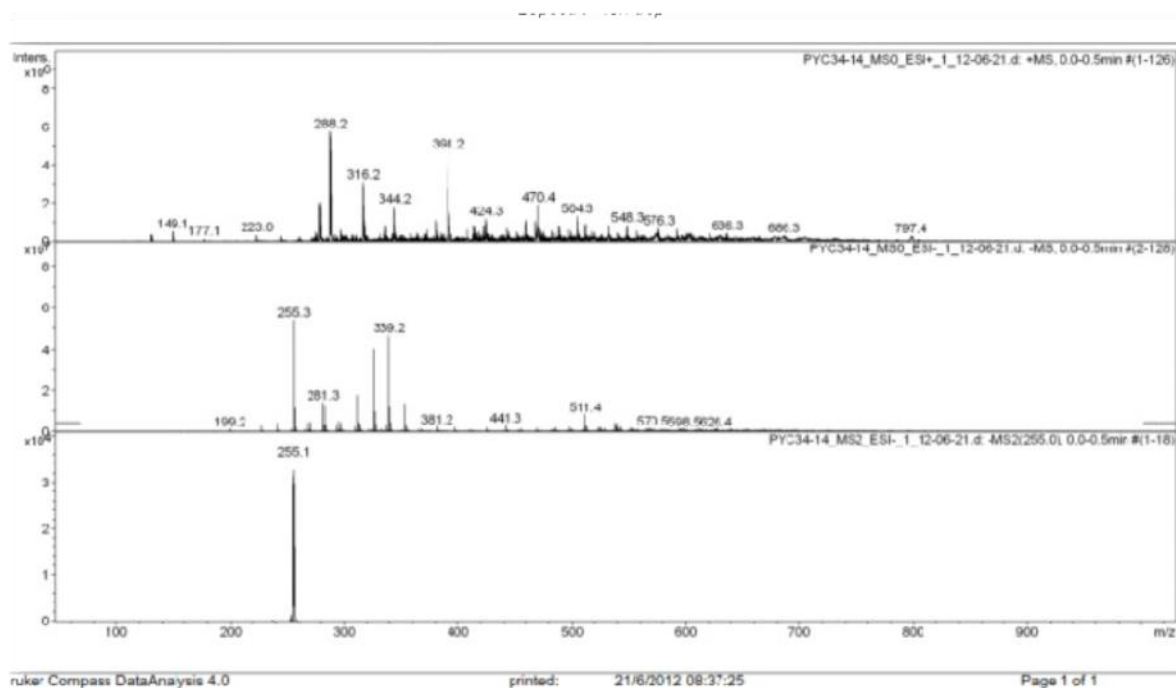


Figura 21: Espectro de Massas em baixa resolução de **Pp-2**.

5.2.3 Caracterização estrutural da substância **Pp-3**.

A substância codificada como **Pp-3** (Esquema 4, p. 58) apresentou-se como um sólido amorfo verde escuro. O espectro de IV (Fig. 22, p. 78) desta substância mostrou uma banda em 3.435 cm^{-1} que permitiu propor se tratar de deformação axial de N-H de amins. Absorções entre 3.050 e $2.964 - 2.860\text{ cm}^{-1}$ revelam que a molécula possui C-H de C-sp² e C-sp³ respectivamente, a presença de carbonila de éster e cetonas são sugeridas pelas bandas em 1735 e 1701 cm^{-1} . Uma outra banda, observada em 1377 cm^{-1} , fortaleceu a sugestão da presença de grupo amino, por tratar-se de deformação axial de ligação C-N. Esta observação, aliada à presença de uma banda em 1618 cm^{-1} , condizente com a absorção de ligação dupla em sistemas conjugados, levaram a sugerir que a molécula em análise contém núcleo porfirínico (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

O espectro de RMN ¹H (Fig. 23, p. 79) de **Pp-3** e suas expansões (Figs. 24 a 28, p. 79 a 81) exibiram absorções que corroboram a sugestão que **Pp-3** trata-se de uma substância com núcleo porfirínico. Esta sugestão foi fortalecida pelos sinais para quatro metilas de anéis pirrólicos em 3,82 (CH₃-12¹); 3,40 (CH₃-2¹); 3,21 (CH₃-7¹) e 1,81 (CH₃-18¹) sendo os três primeiros referentes às metilas dos anéis III, I e II, sendo o quarto sinal condizente com a metila do anel IV do núcleo porfirínico (Tabela 4, p. 85). O sinal em δ 3,21 atribuído ao CH₃-7¹ permitiu propor que **Pp-3** trata-se da **feofitina a**, uma vez que a feofitina b possui em C-7¹ um grupo aldeído (SCHWIKKARD et al., 1998; BRITO FILHO et al., 2014).

Ainda analisando o espectro de RMN ¹H (Fig. 23, p. 79) e suas expansões (Figs. 24 a 28, p. 79 a 81) se fortalece a proposta do núcleo porfirínico ao observar sinais para hidrogênios vinílicos *Ha* - 3¹ em δ_H 7,98 (dd, $J=17,78\text{ Hz}$ e $11,51\text{ Hz}$) que acopla *trans* com *Hc* - 3² em δ_H 6,28 (dd, $J=17,78\text{ Hz}$) e *cis* com *Hb* - 3² em δ_H 6,17 (dd, $J=11,51\text{ Hz}$ e $1,0\text{ Hz}$). Este por sua vez acopla geminado com *Hc* - 3² ($J=1,0\text{ Hz}$) (Tabela 6, p. 104). Foram ainda observados sinais para três hidrogênios olefínicos em δ_H 9,38, δ_H 9,53 e δ_H 8,58 condizentes com os hidrogênios H-5, H-10 e H-20 respectivamente, do núcleo porfirínico das feofitinas (MATSUO et al., 1996; DUAN et al., 2002 e SILVA et al. 2006). Um singlete largo em δ_H 3,88 (H-13⁴) (Fig. 26, p. 80) com integração para três hidrogênios, caracteriza o grupo metoxila, fortalecendo a sugestão dada pelo IV (Fig. 22, p. 78) da presença deste grupo em **Pp-3** na posição C-13⁴. Um tripleto em δ_H 1,69 (Fig. 27, p. 81) com $J=7,55\text{ Hz}$ condiz com hidrogênios do grupo CH₃, da posição C-8², (Tabela 4, p. 85). A figura 25 (p.80), nos mostra

um singlete em δ_H 6,27 condizente com o hidrogênio da posição 13², indicando que o referido núcleo porfirínico seria hidrogenado naquela posição.

As figuras 27 e 28, p. 81 sugerem que a substância em análise possui em sua estrutura o grupo fitil éster em C-17³. Esta sugestão baseou-se na existência de um envelope referente a sinais para hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos entre δ_H 0,8 e 2,9 δ_H (**Mo-3**) (TOMAZ et al., 2008). A localização do grupo fitil éster no C-17³ de **Pp-3** fundamentou-se também quando comparados os dados desta molécula com o 17³ – etoxifeoforbídeo (SILVA et al., 2006), que não possui o referido grupo (Tabela 5, p. 86).

A compilação dos dados de IV e RMN¹H, em consonância com os dados da literatura (Tabela 4, p. 85) levaram a sugerir que **Pp-3** possui o núcleo porfirínico e um grupo fitila (Tabela 5, p. 86) podendo tratar-se da **feofitina a** (Fig. p. 78).

A análise dos espectros de RMN ¹³C-APT (Figuras 29 a 31, p. 82 a 83, Tabelas 4 e 5, p. 85 e 86) revelou picos para 55 átomos de carbono, onde pôde-se definir 19 não hidrogenados, 11 metínicos, entre os quais um vinílico em δ_C 129,04 (C-3¹), 14 metilênicos, com destaque também para um carbono vinílico em δ_C 122,98 (C-3²) e 11 metílicos com um sinal em δ_C 52,86, típico de CH₃ de metoxila de éster, que fortalece as sugestões do IV e RMN¹H para a existência desse grupo em **Pp-3** (Tabela 4, p. 85).

A sugestão feita, baseando-se nos dados de RMN¹H, que **Pp-3** pode tratar-se da **feofitina a** foi fortalecida pelo espectro de RMN ¹³C-APT (Figuras 29 a 31, p. 82 e p. 83) que mostrou um envelope de sinais com 17 absorções referentes aos carbonos metínicos, metilênicos e metílicos do radical fitila. Outros dados que fortaleceram a presença do referido radical em **Pp-3** foram três sinais: um em δ_C 61,46 atribuído ao carbono oximetilênico (CH₂-P₁) e dois referentes aos carbonos olefínicos (CH-P₂) em δ_C 117,79 e (CH-P₃) em δ_C 142,19 (Tabela 5, p. 86).

Os demais assinalamentos de carbonos no que diz respeito a cadeia lateral de fitol foram determinados com base em comparação com dados da literatura (MELOS et al, 2007; Tabela 5, p. 86), permitindo identificar a substância **Pp-3** como sendo a **Feofitina a** (Fig. p. 78) descrita pela primeira vez na família Cactaceae.

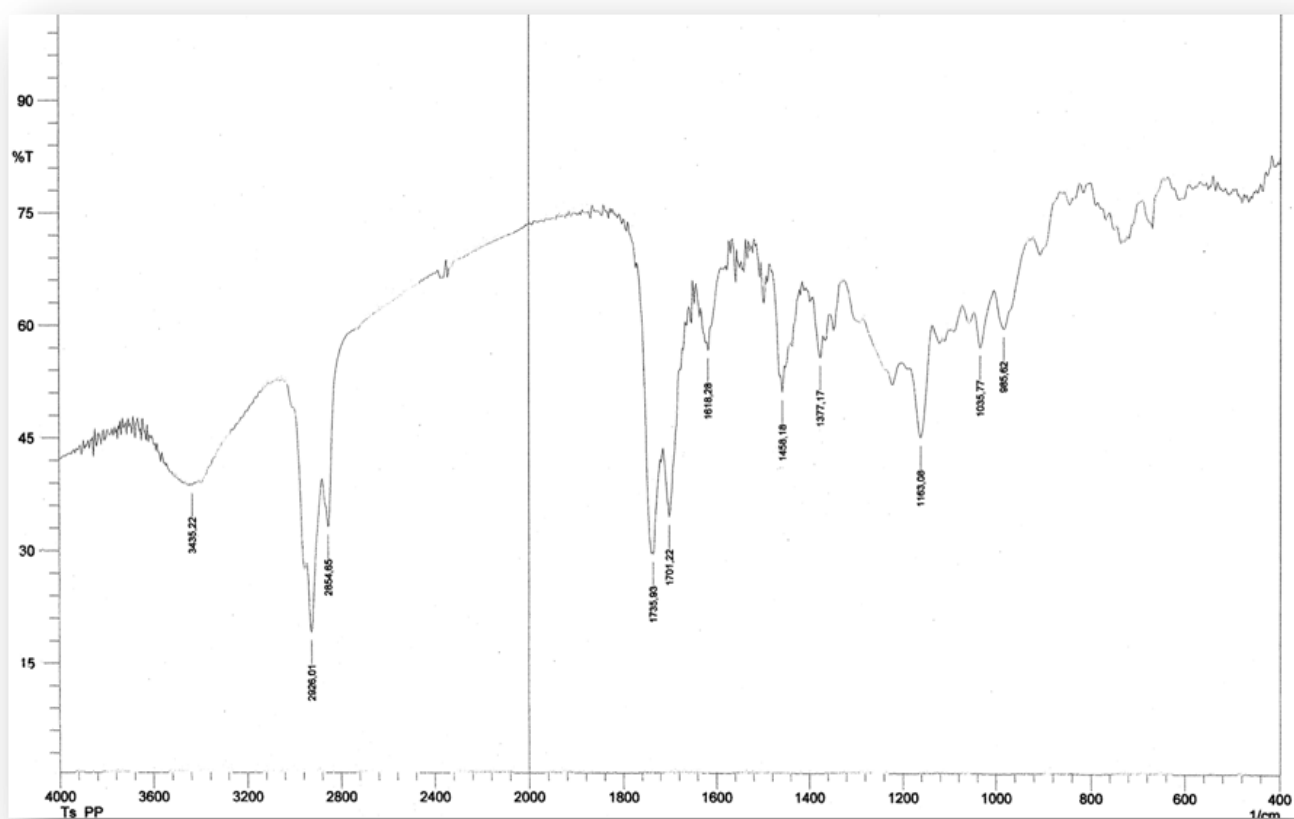
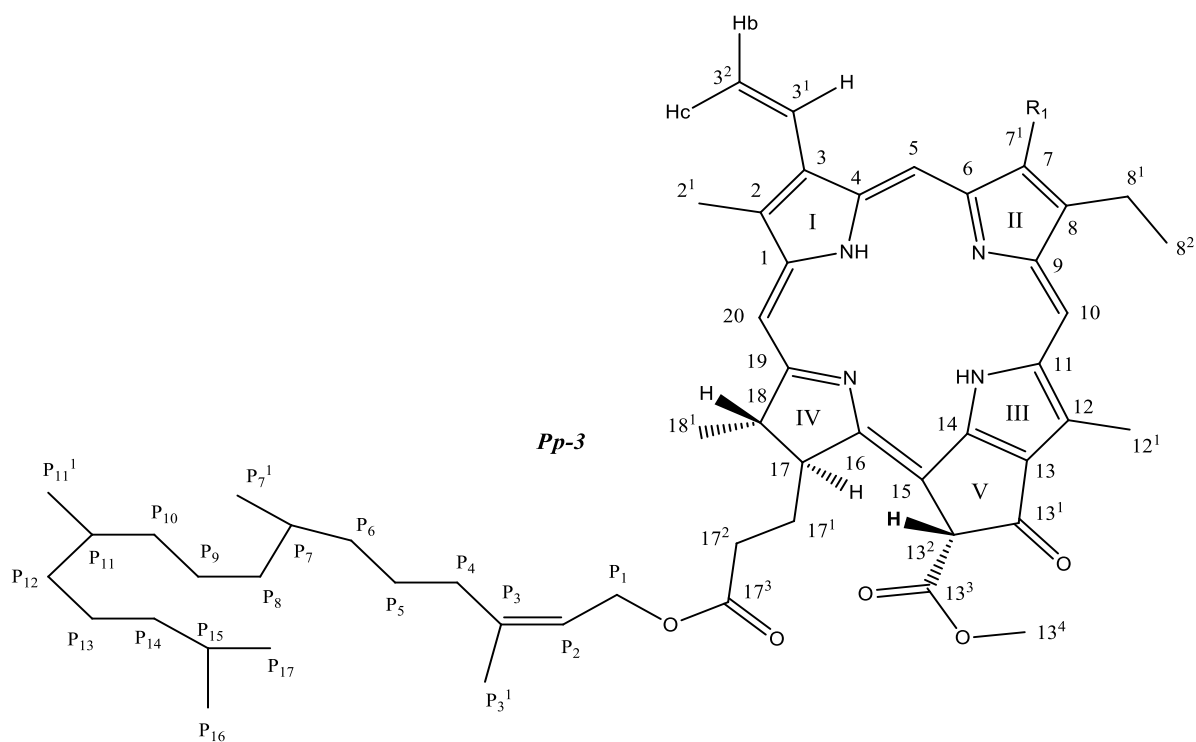


Figura 22: Espectro de IV (KBr, cm⁻¹) de ***Pp-3***.

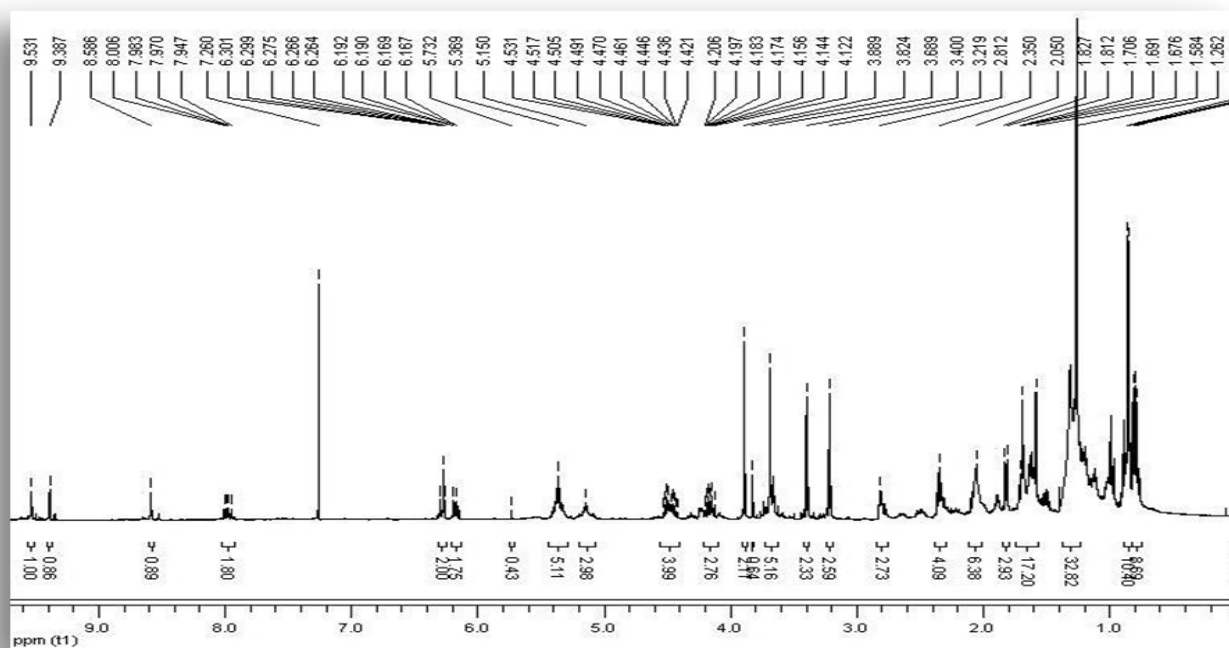


Figura 23: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-3**

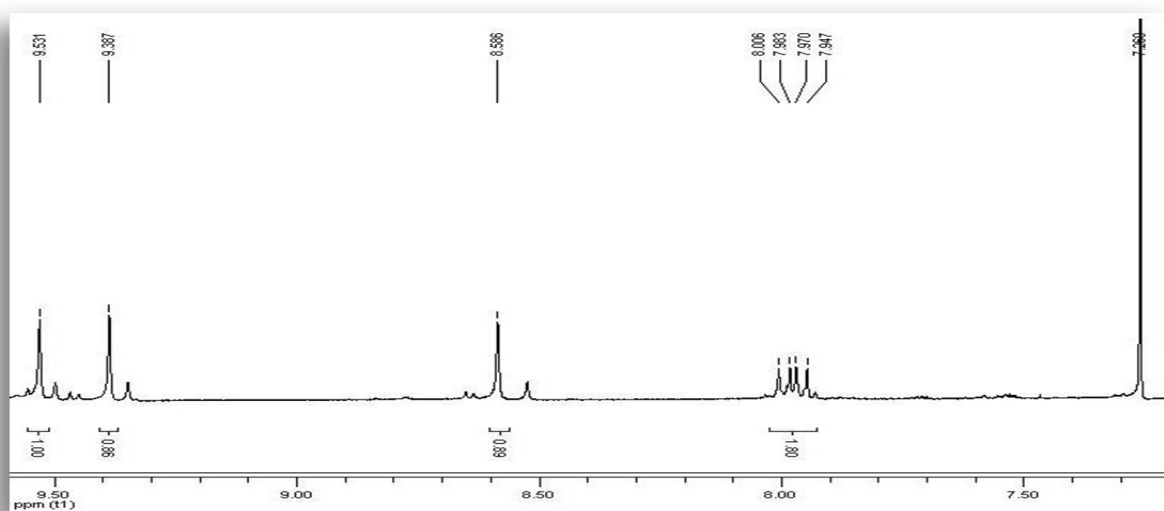


Figura 24: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-3**.

Chemical shift markers (ppm): 4.531, 4.517, 4.505, 4.491, 4.470, 4.461, 4.446, 4.436, 4.421, 4.206, 4.197, 4.183, 4.174, 4.156, 4.144, 4.122, 3.889, 3.824, 3.689, 3.400, 3.219.

Integration values: 3.99, 2.76, 2.11, 0.64, 5.16, 2.33, 2.59.

Figura 26: Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-3**.

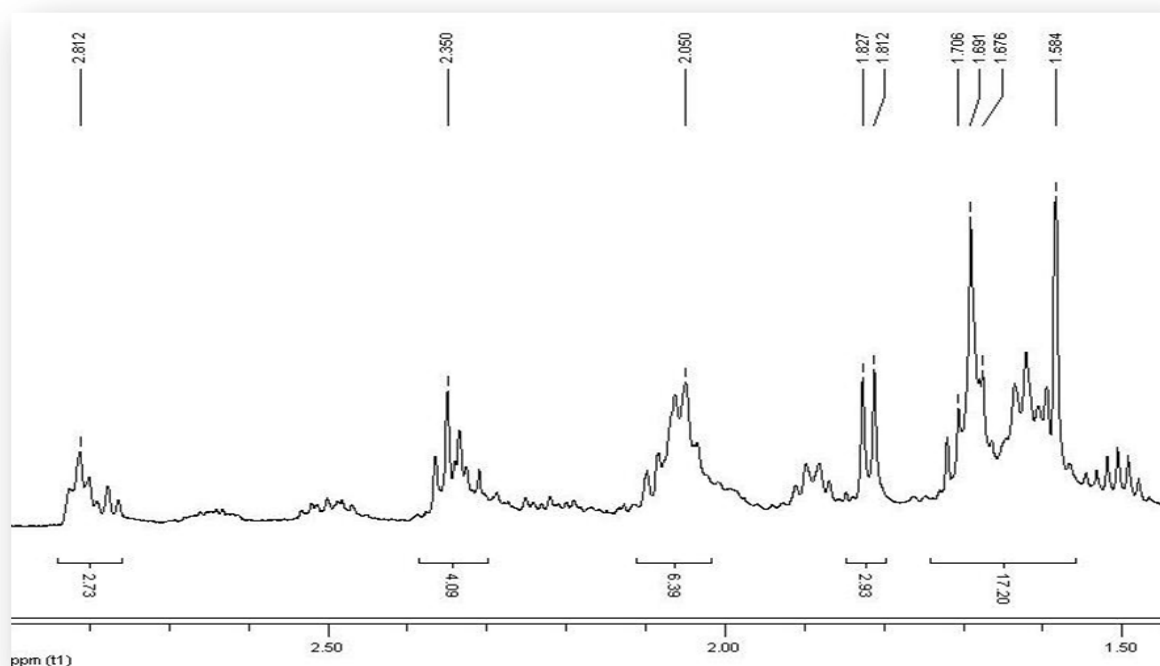


Figura 27: Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-3**

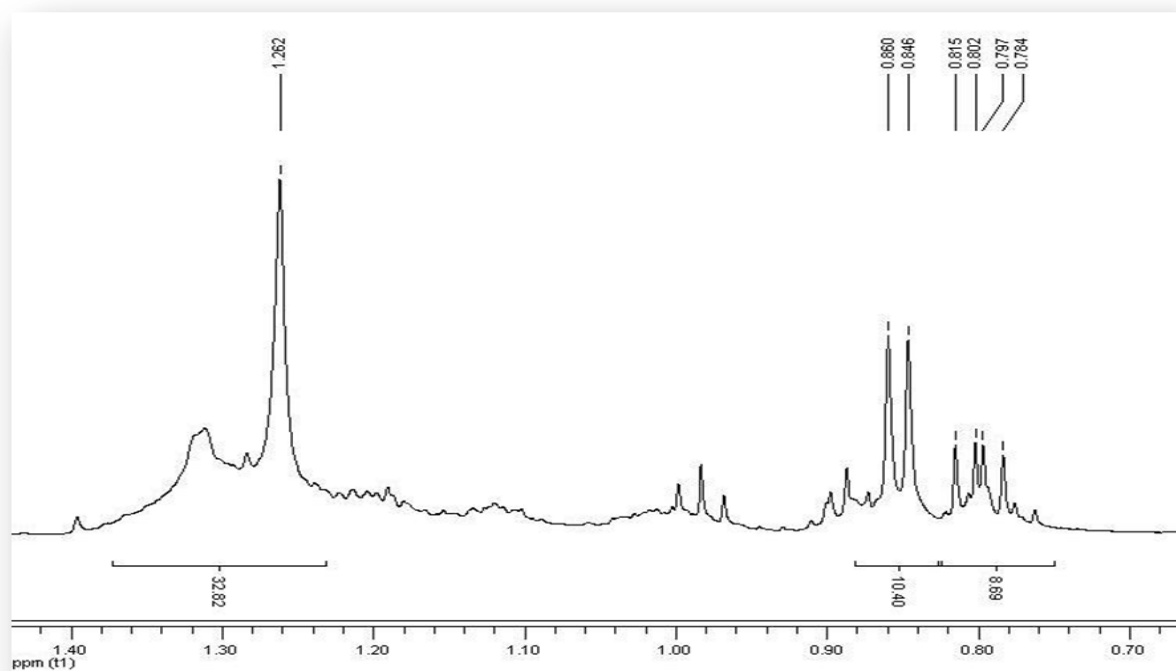


Figura 28: Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-3**

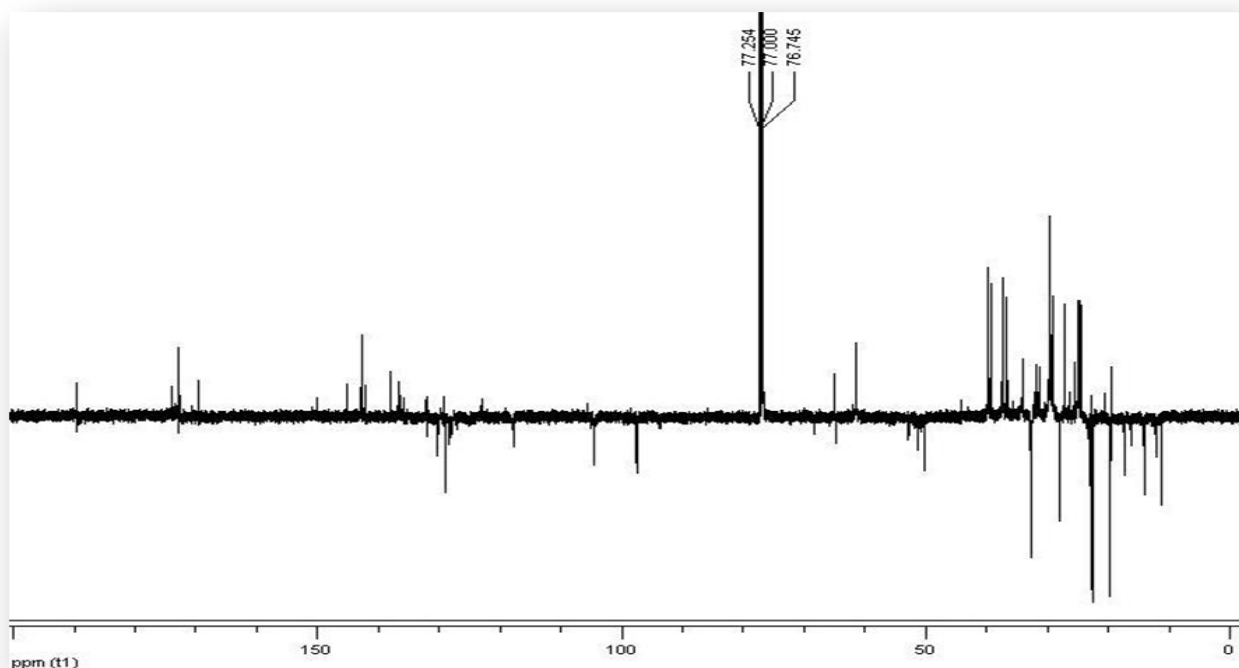


Figura 29: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-3**.

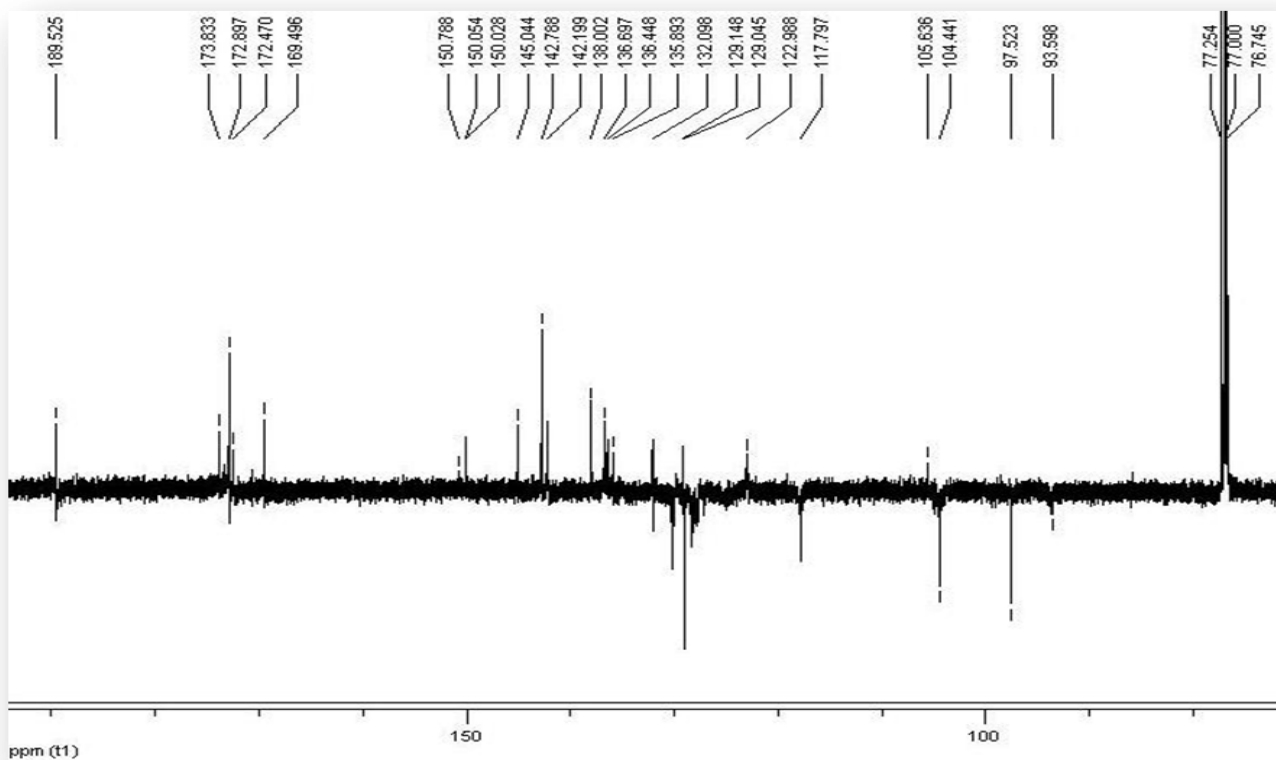


Figura 30: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-3**.

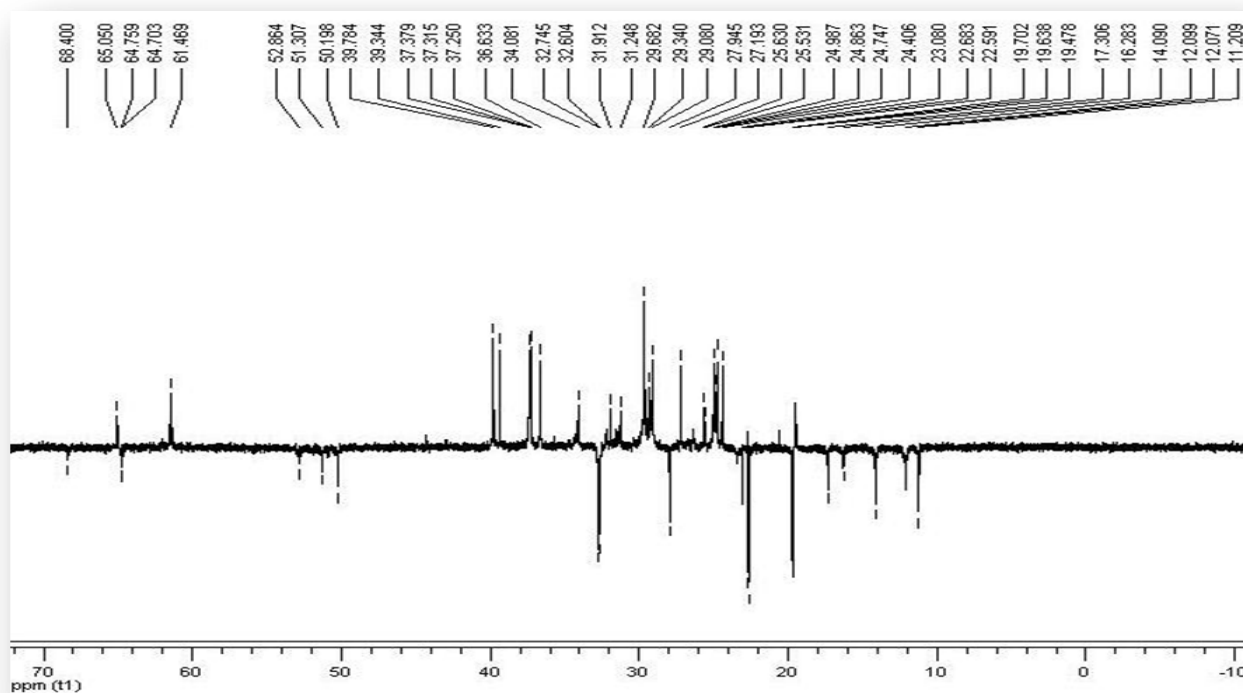


Figura 31: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-3**.

5.2.4 Caracterização estrutural da substância **Pp-4**.

A substância codificada como **Pp-4**, mostrou um espectro no infravermelho (Fig. 32, p. 87) semelhante ao espectro de IV da substância **Pp-3** (Fig. 22, p. 78). Esta semelhança possibilitou sugerir que a substância em análise poderia tratar-se da **feofitina a**. Todavia uma banda forte em 3435 cm^{-1} com feição diferente daquela em **Pp-3** (Fig. 22, p. 78) com característica ν N-H e/ou OH, juntamente com as outras bandas de absorção, levantou a hipótese de que **Pp-4** poderia tratar-se de uma substância porfirínica com hidroxila em sua molécula (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

Os espectros de RMN ^1H (Figs. 33 a 36, p. 87 a 89, Tabela 4, p. 85) de **Pp-4** fortaleceram a hipótese levantada pelo espectro de IV (Fig. 32, p. 87), de que **Pp-4** poderia tratar-se de uma feofitina **a** ao exibir sinais para as metilas ligadas a C sp^2 , próximos a N, $\text{CH}_3\text{-}7^1$ (δ_{C} 3,17); $\text{CH}_3\text{-}2^1$ (δ_{C} 3,40) e $\text{CH}_3\text{-}12^1$ (δ_{C} 3,62) (Fig. 46, p. 100) condizentes com as metilas do núcleo porfirínico da **feofitina a**, além de sinais referentes a um grupo de hidrogênios vinílicos em δ_{H} 7,96 (dd-J=17,79 Hz e 11,54 Hz), δ_{H} 6,26 (Trans) (dd-J=17,87

Hz e 1,5 Hz), δ_H 6,16 (Cis) (dd, $J=11,54$ Hz e 1,5 Hz) (Figs. 35 e 36, pgs. 98 e 99) (Tabela. 4, p. 85).

Corroborando a proposta dada pelo IV e RMN 1H de que **Pp-4** trata-se da **feofitina a**, a interpretação da fig. 36, p.89 mostrou sinais para seis grupos metila entre δ_H 0,84 e δ_H 1,70, sendo cinco destes referentes a metilas do grupo fitol que se une ao núcleo porfirínico da referida feofitina através do C-17³ (Tabela. 5, p. 86).

Numa análise comparativa entre a figura 25, p. 80 de **Pp-3** e a figura 35 p. 88, de **Pp-4** pôde-se observar nesta a ausência de um singlete em δ 6,27 atribuído ao H-13² da estrutura de **Pp-3**. Este fato em consonância com a sugestão levantada pelo IV (Fig. 32, p. 87) de que **Pp-4** possuía grupo hidroxila em sua molécula, além de comparações com a literatura (JERZ et al., 2007) (Tabela 4, p.85) permitiram propor que a substância em análise tratava-se da **13²-hidroxi-(13²-S) -feofitina a** (Fig. p.103).

A análise dos espectros de RMN ^{13}C de **Pp-4** utilizando a técnica APT (Figuras 37 a 39, p.89 e 90, Tabelas 4 e 5, p. 85 e 86) revelou picos para 55 átomos de carbono, condizentes com a estrutura da **feofitina a**, no entanto um sinal em δ_C 88,96 (Fig. 38, pág. 90) caracteriza um carbono não hydrogenado e oxigenado, permitindo propor que o C-13² da substância em análise difere do C-13² de **Pp-3** e possui um grupo hidroxila. (Tabelas 4 e 5, p. 85 e 86).

A compilação dos dados de IV, RMN 1H e RMN ^{13}C de **Pp-4** e comparações com modelos da literatura (JERZ et al., 2007) (Tabelas 4 e 5, p. 85 e 86) permitiram defender a proposta de que **Pp-4** trata-se da **13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina a**, substância isolada pela primeira vez na espécie *P. pachycladus*.

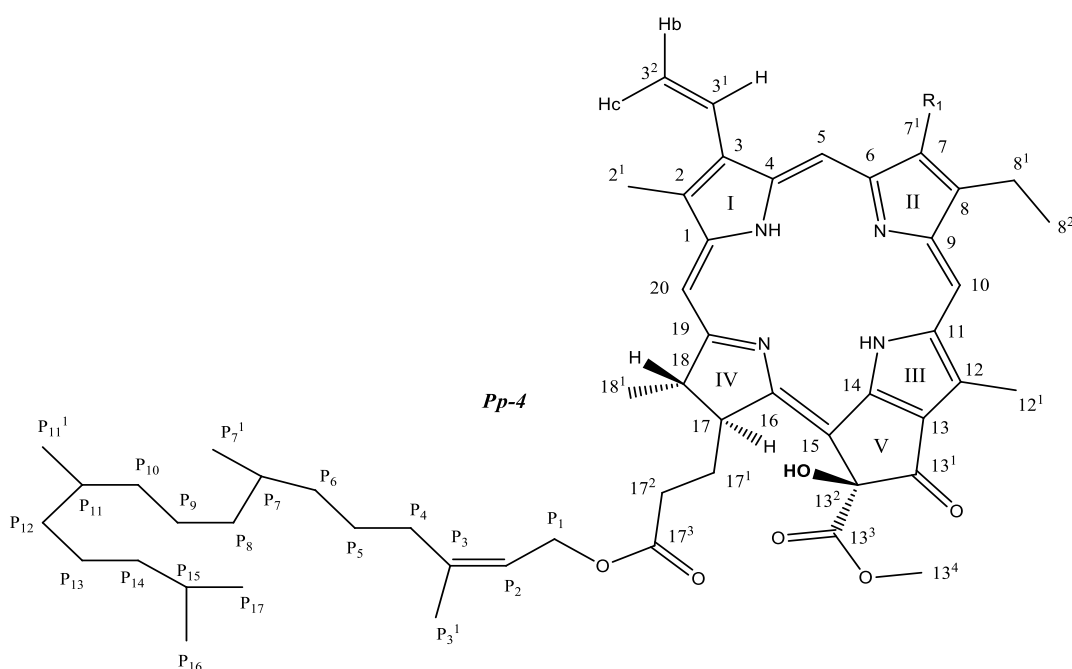


Tabela 4: Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Pp-3** e **Pp-4** (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) com o modelos **Mo-3** (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz; TOMAZ et al., 2008).

C	Mo-3		Pp-3		Pp-4	
	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H
1	142,34	—	142,78	—	141,98	—
2	131,10	—	132,09	—	131,69	—
2 ¹	12,26	3,39 (s)	12,07	3,40 (s)	12,08	3,40 (s)
3	136,82	—	136,69	—	136,41	—
3 ¹	129,19	7,95 (dd, $J=17,85$ Hz, 11,48 Hz)	129,04	7,98 (dd- $J=17,81$ Hz e 11,51 Hz)	128,96	7,96 (dd- $J=17,79$ Hz e 11,54 Hz)
3 ²	123,11	6,27 (trans) (d, $J=17,95$ Hz) e 6,18 (cis) (d, $J=11,10$ Hz)	122,98	6,28 (trans) (dd- $J=17,78$ Hz) e 6,17(Cis) (dd- $J=11,51$ Hz e 1,0 Hz)	122,81	6,26 (Trans) (dd- $J=17,87$ e 1,5 Hz Hz) e 6,16 (Cis) (dd=11,56Hz e 1,5 Hz)
4	136,51	—	136,44	—	136,41	—
5	97,66	9,35 (s)	97,52	9,38 (s)	97,85	9,54 (s)
6	155,55	—	155,55	—	150,94	—
7	136,14	—	135,89	—	136,17	—
7 ¹	11,35	3,19 (s)	11,20	3,21 (s)	11,17	3,17 (s)
8	145,25	—	145,04	—	145,09	—
8 ¹	19,60	3,63 (m)	19,47	3,68 (s, 2H)	19,38	3,72 (s)
8 ²	17,52	1,66 (m)	16,28	1,69 (t) $J=7,55$ Hz	17,41	1,64 (t)
9	150,92	—	150,05	—	155,25	—
10	104,59	9,51 (s)	104,44	9,53 (s)	104,16	9,37 (s)
11	138,14	—	138,00	—	137,73	—
12	129,03	—	129,14	—	129,32	—
12 ¹	12,32	3,69 (s)	12,09	3,82 (s)	12,27	3,62 (s)
13	129,14	—	129,14	—	126,85	—
13 ¹	189,81	—	189,51	—	192,07	—
13 ²	64,90	6,30 (s)	64,75	6,27 (s)	88,96	—
13 ³	169,77	—	169,49	—	173,63	—
13 ⁴	53,07	3,91 (s)	52,86	3,88 (s)	53,38	3,72 (s)
14	149,59	—	150,02	—	149,79	—
15	105,10	—	105,63	—	107,64	—
16	161,19	—	161,30	—	162,42	—
17	51,42	4,15 (m)	51,30	4,16 (m)	51,77	4,14 (m)
17 ¹	29,89	—	29,68	—	29,67	—
17 ²	31,42	—	31,24	—	31,56	—
17 ³	173,18	—	173,83	—	172,76	—
18	50,36	4,34 (m)	50,19	4,47 (m)	50,30	4,53 (m)
18 ¹	23,28	1,84 (d)	23,08	1,81 (d)	22,69	1,62 (m)
19	172,63	—	172,89	—	172,40	—
20	93,72	8,60 (s)	93,59	8,58(s)	93,60	8,63 (s)

Tabela 5: Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia fitila de ***Pp-3*** e ***Pp-4*** (δ_c , CDCl_3 , 50 MHz) com o modelo ***Mo-4*** (δ_c , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).

	<i>Mo-4</i>	<i>Pp-3</i>	<i>Pp-4</i>
C			
P 1	59,40	61,46	61,55
P 2	123,10	117,79	117,81
P 3	140,10	142,19	142,75
P 4	39,80	39,78	39,80
P 5	25,10	24,98	24,97
P 6	36,60	37,37	37,35
P 7	32,70	32,60	32,72
P 8	37,20	37,31	37,28
P 9	24,50	24,86	24,74
P 10	37,30	37,25	37,22
P 11	32,60	32,74	32,59
P 12	37,30	36,63	36,61
P 13	24,70	24,74	24,39
P 14	39,30	39,34	39,32
P 15	27,90	27,94	27,93
P 16	22,70	22,68	22,69
P 17	22,60	22,59	22,60
P 11¹	19,70	19,70	19,69
P 7¹	19,70	19,63	19,63
P 3¹	16,10	17,30	16,30

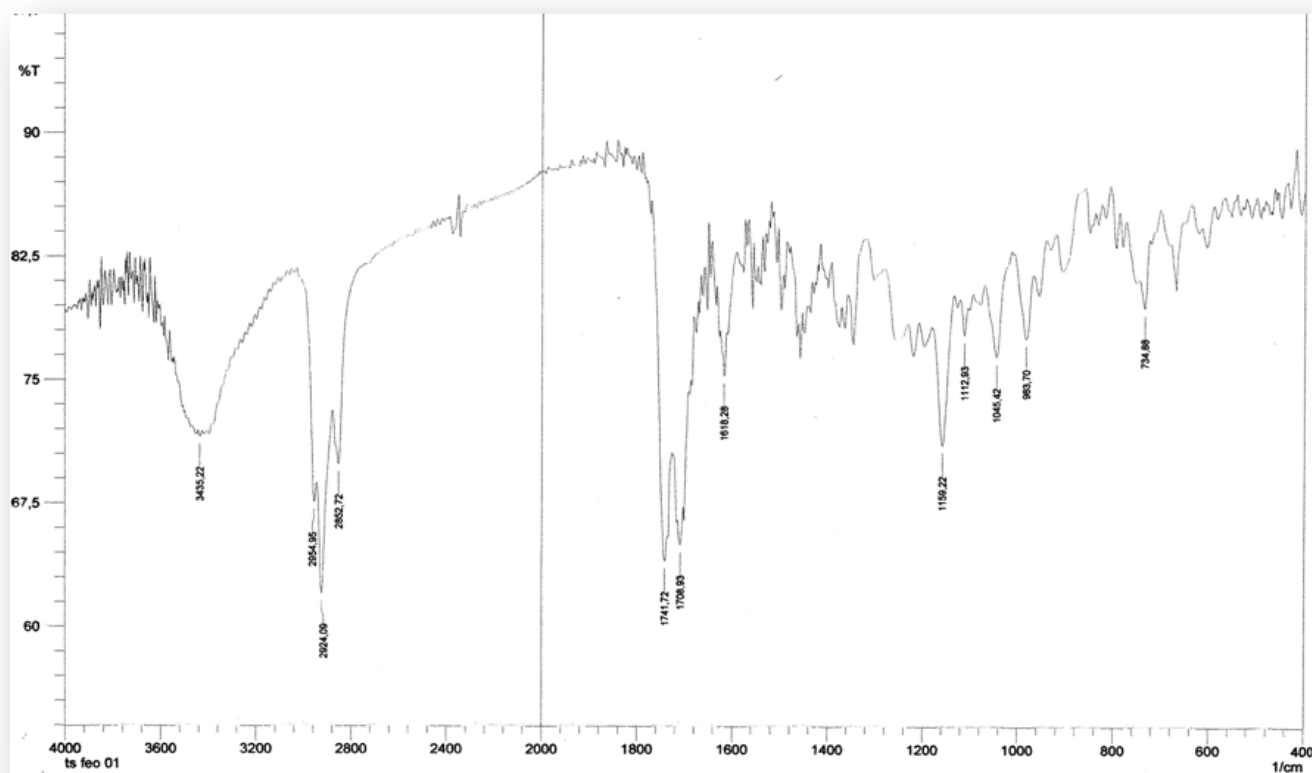


Figura 32: Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de **Pp-4**.

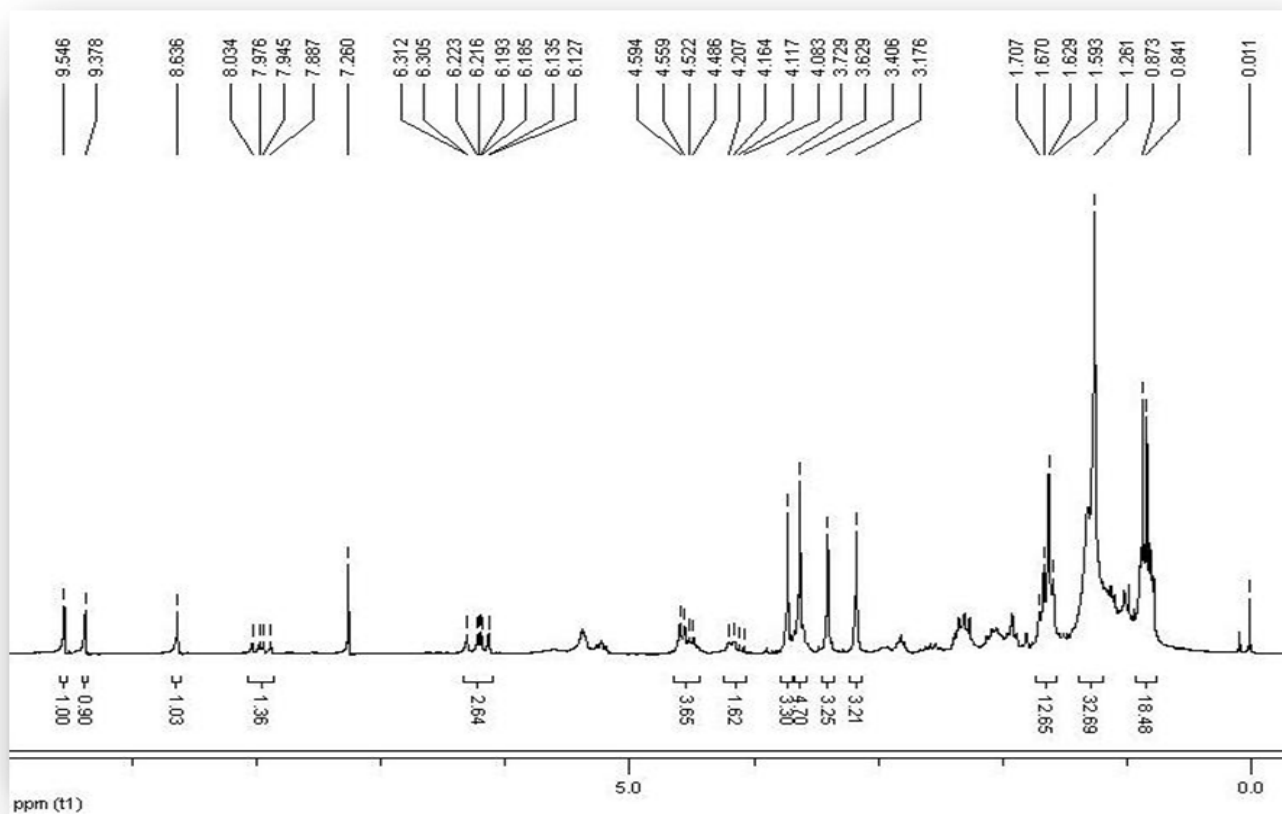


Figura 33: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-4**

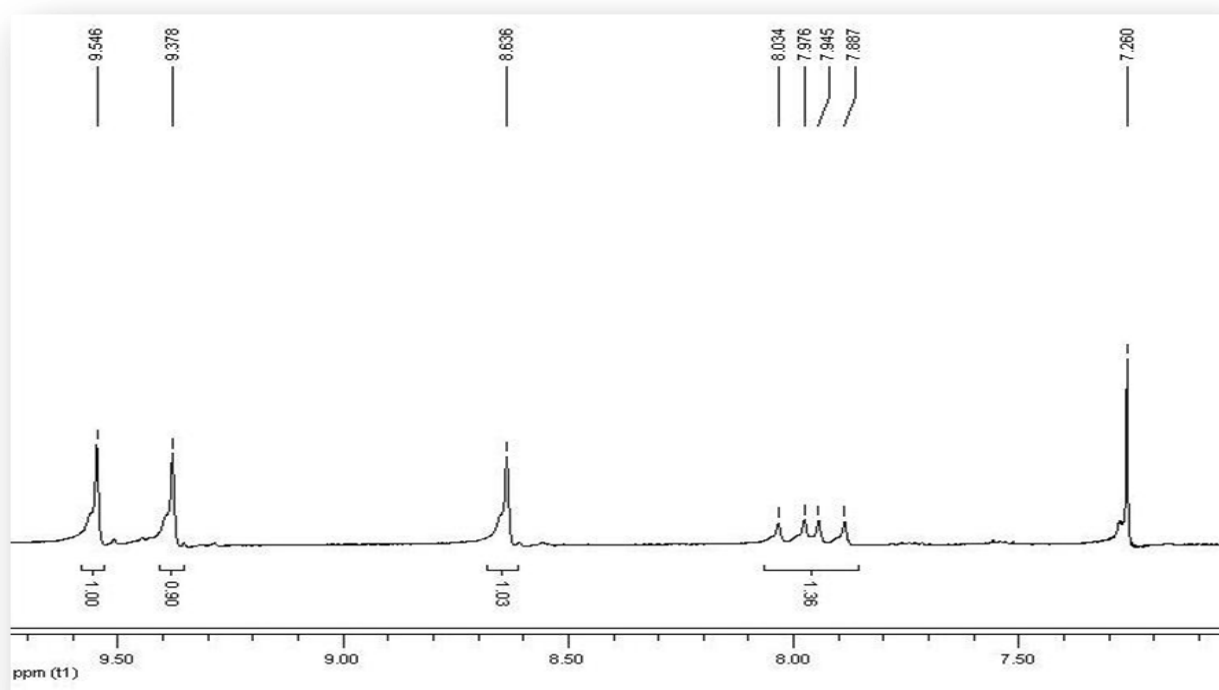


Figura 34: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-4**.

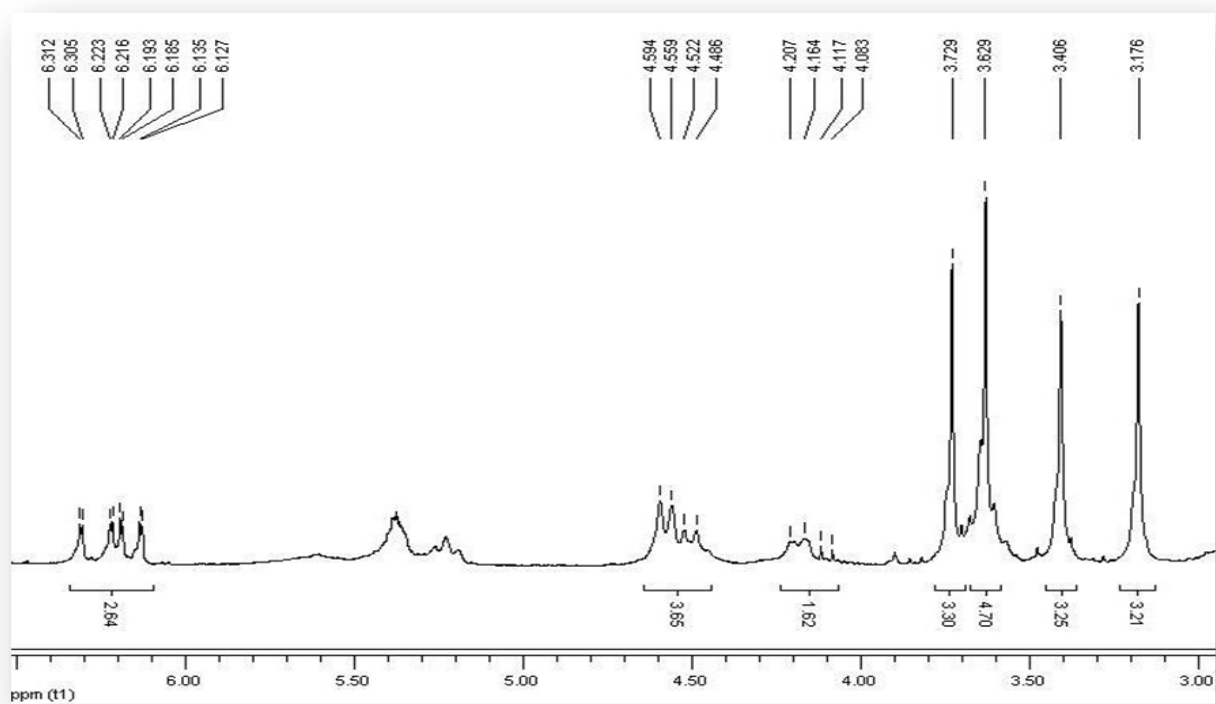


Figura 35: Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-4**.

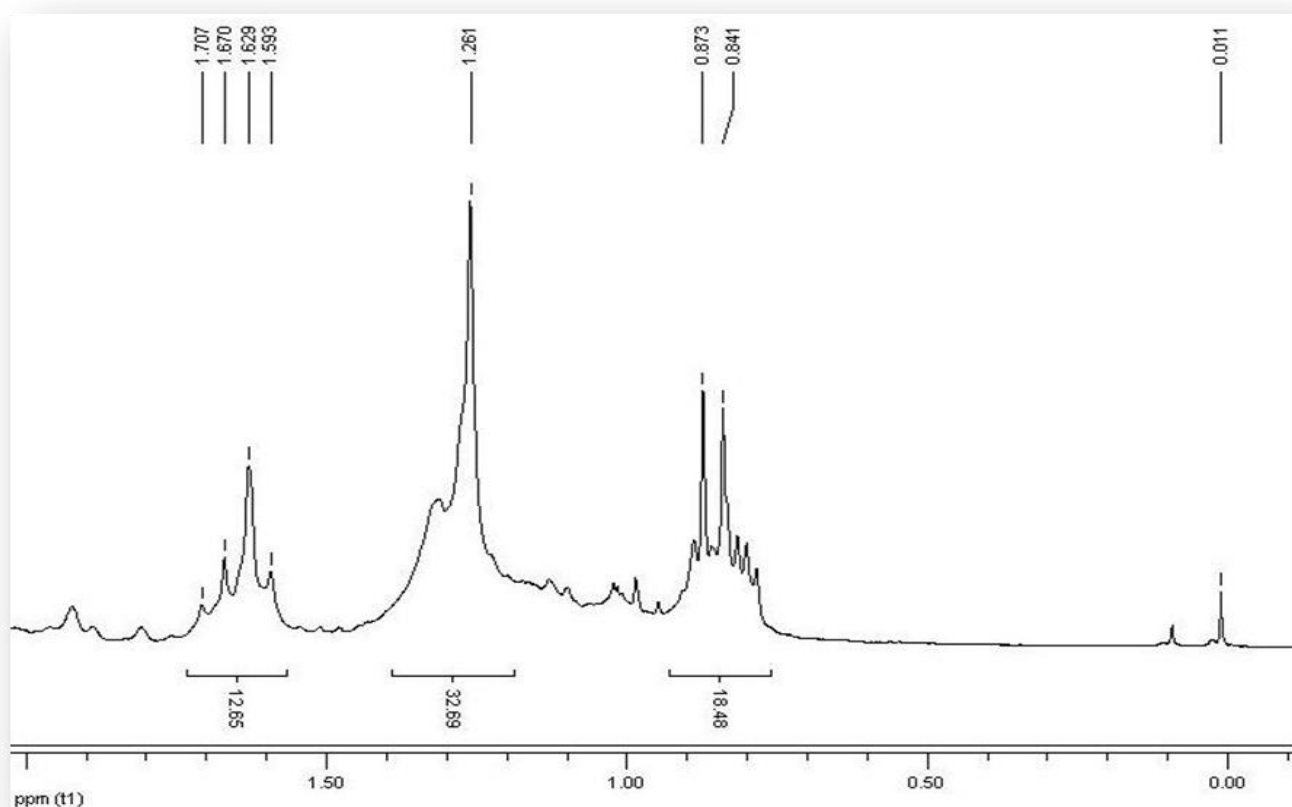


Figura 36: Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-4**

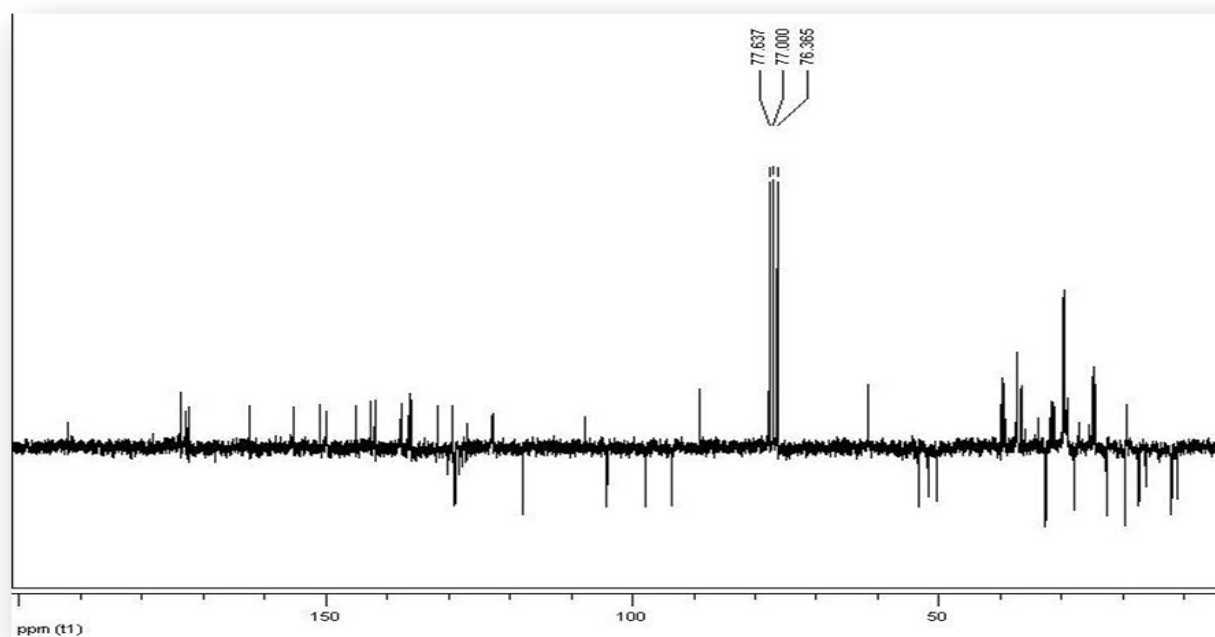


Figura 37: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-4**.

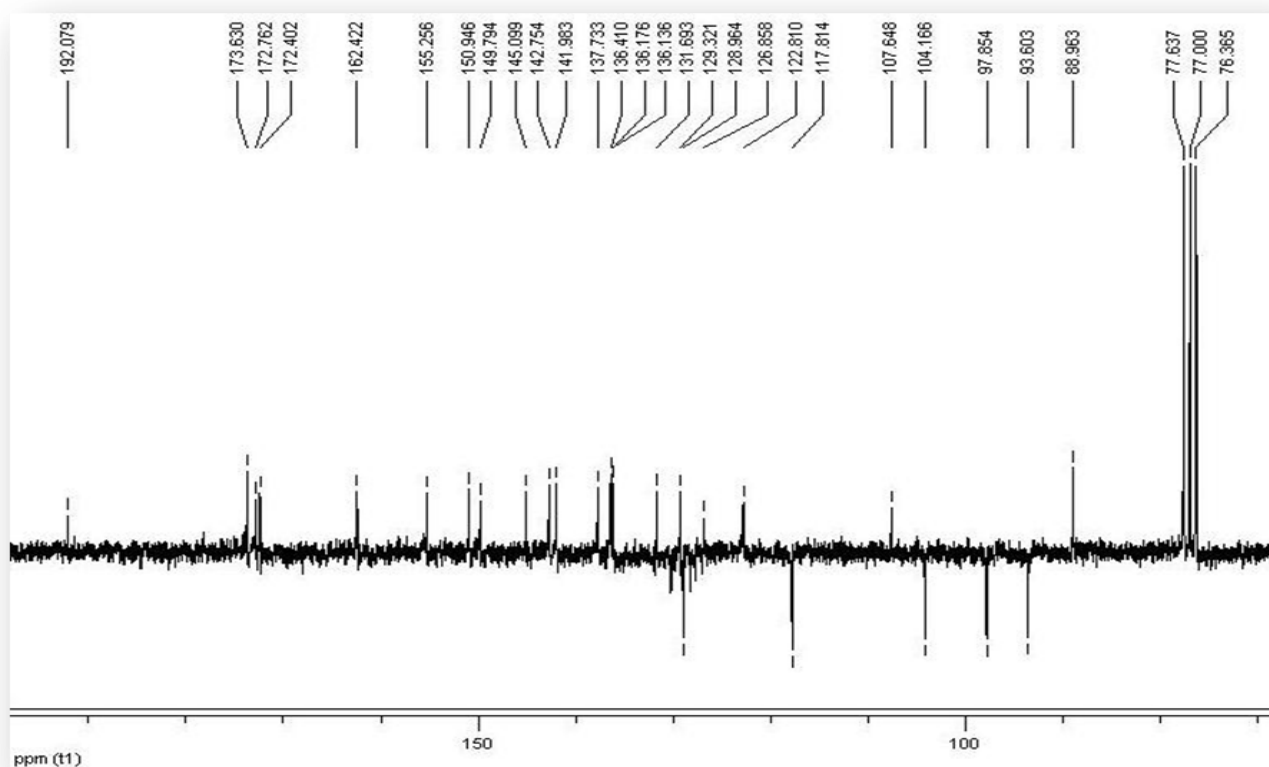


Figura 38: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-4**.

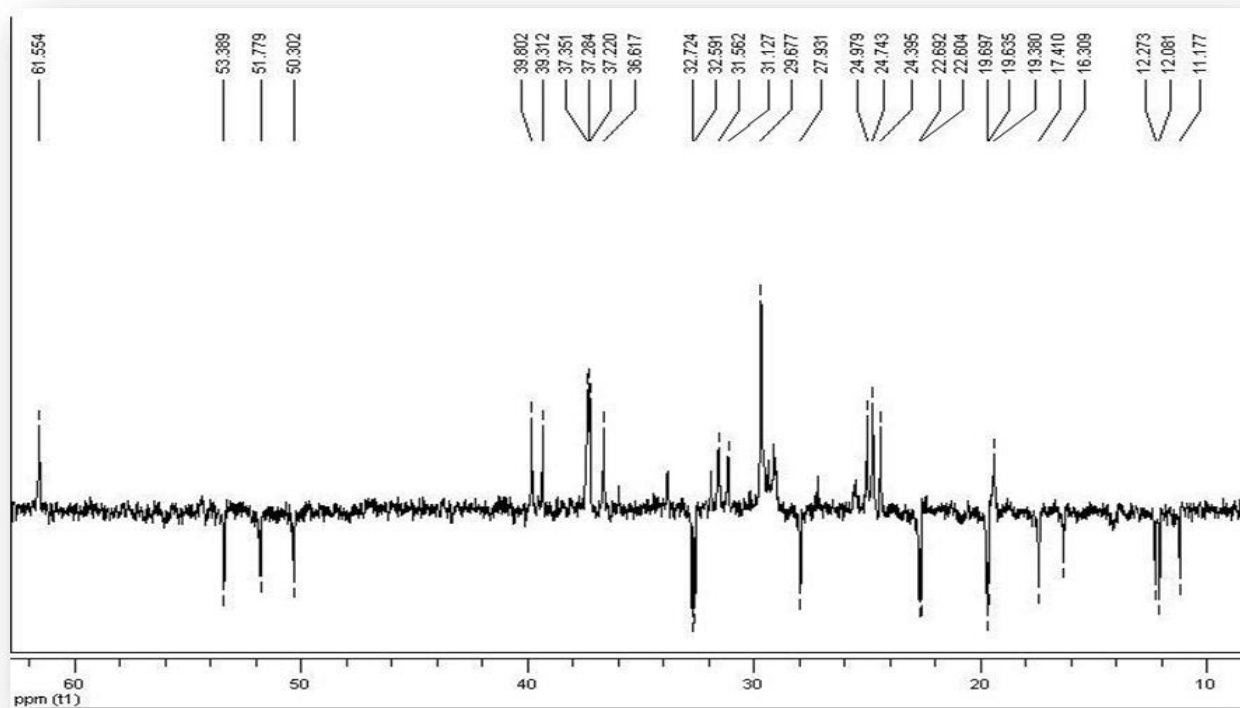


Figura 39: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-4**.

5.2.5 Caracterização estrutural da substância *Pp-5*.

A substância codificada como *Pp-5* mostrou-se como cristais brancos. Seu espectro no IV (Fig. 40, p. 92) mostrou bandas características de estiramento de carbonos sp^3 metínicos, metilênicos e metílicos entre 2949 e 2858 cm^{-1} , uma banda em 3425 cm^{-1} , referente a estiramento O-H sugere que a molécula em análise possui grupo hidroxila. A presença de absorção em 1445 cm^{-1} fortaleceu a presença de carbonos metílicos, por tratar-se de deformação axial da ligação C-H de CH_3 e a presença de estiramento $VC=C$ pode ser proposta pela absorção em 1371 cm^{-1} . Em 1030, 969, e 815 cm^{-1} observaram-se bandas de absorção que remetem à estiramento C-O de álcool e deformação angular de OH de álcool (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

A análise do espectro de RMN 1H (Figura 41, pág. 93 e Figura 42, pag. 93) de *Pp-5* e suas expansões mostraram absorções simples e múltiplas na região compreendida entre δ_H 0,64 e δ_H 2,0 que caracterizam hidrogênios metínicos, metilênicos e metílicos de carbono sp^3 presentes em estruturas como triterpenos e esteroides. Através do multipeto em δ_H 3,50 (*Pp-5*) pôde-se inferir a presença de um hidrogênio oximetínico da posição 3 de núcleo esteroidal e/ou triterpênico (KONGDUANG, et al., 2008). O espectro revelou ainda um dubleto em δ_H 5,34 (*Pp-5*) característico de hidrogênio olefínico no C-6, sugerindo que pode tratar-se de um fitoesteróide (AHMED, 1992).

A análise do espectro de RMN ^{13}C de *Pp-5* (Figura 43 pág. 94) mostraram absorções para 29 átomos de carbono. A presença de metilas esteroidais pode ser vista pelo conjunto de absorções entre δ_C 11,80 e δ 21,18 (Fig. 44, pag. 94), características destes grupos, reforçando, portanto, a proposta de núcleo esteroidal, levantada pelo espectro de RMN 1H . Os sinais para carbono sp^2 metínico em δ_C 121,68 (*Pp-5*) e não-hidrogenado em δ_C 140,67 (*Pp-5*) foram condizentes com a dupla ligação nas posições C-5 e C-6 do β -sitosterol.

Os dados espectrais de RMN 1H e ^{13}C de *Pp-5* quando comparados com os modelos da literatura (KONGDUANG, et al., 2008) (Tabela 6, pág. 96) tornaram possível confirmar que *Pp-5* trata-se do β -sitosterol substância descrita pela primeira vez no gênero *Pilosocereus*.

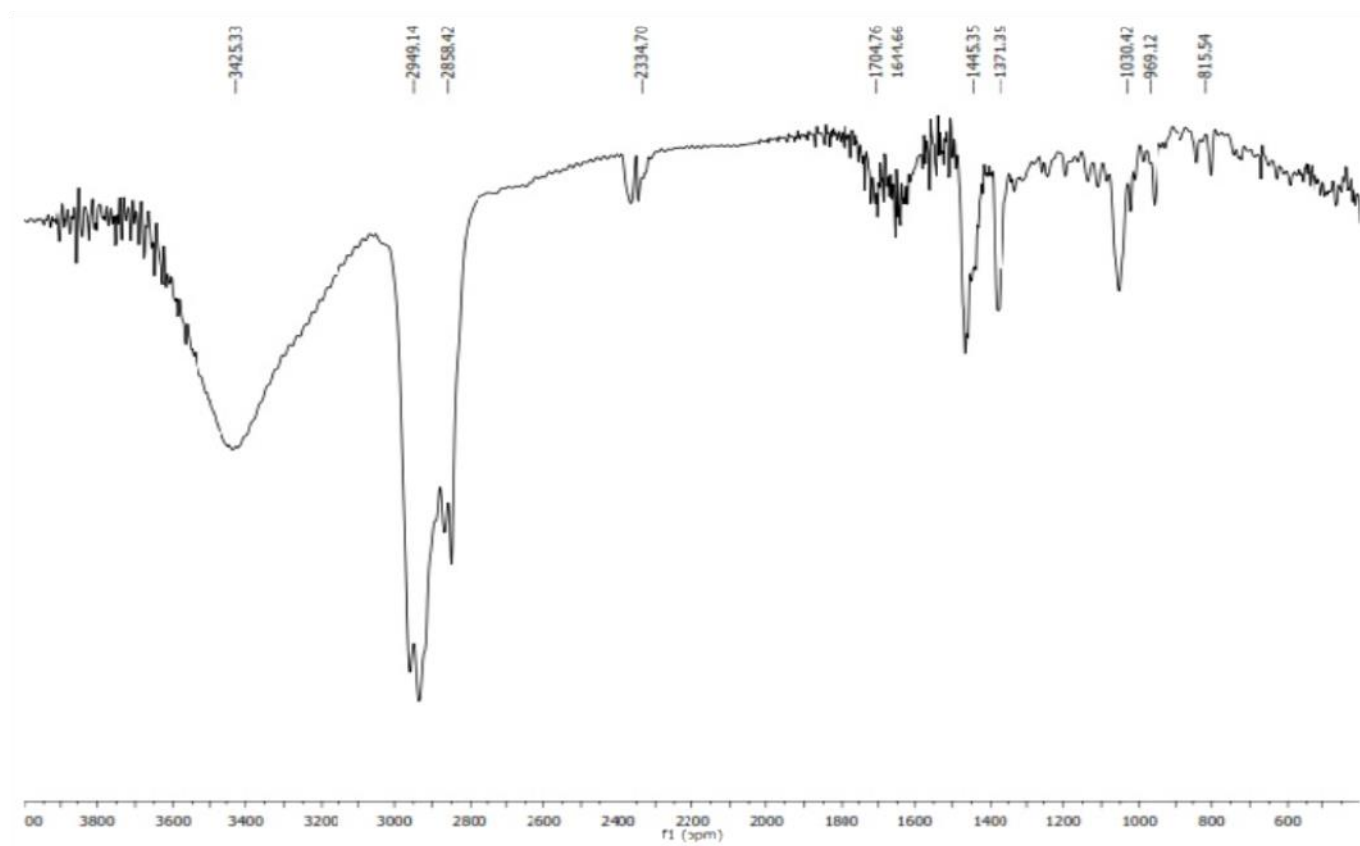
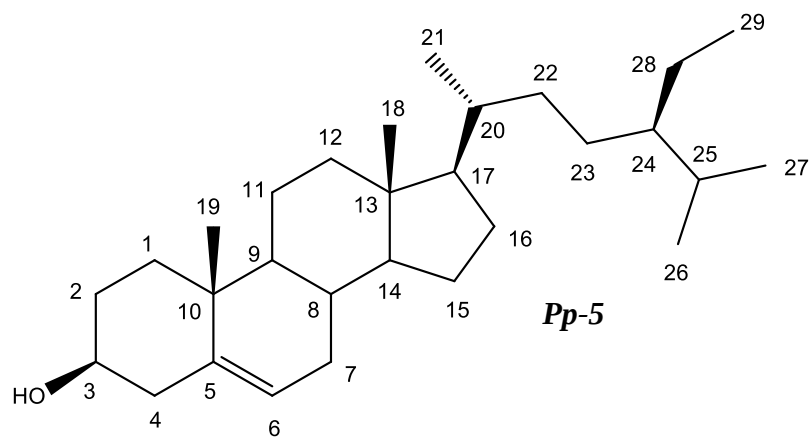


Figura 40: Espectro de IV (KBr , cm^{-1}) de **Pp-5**.

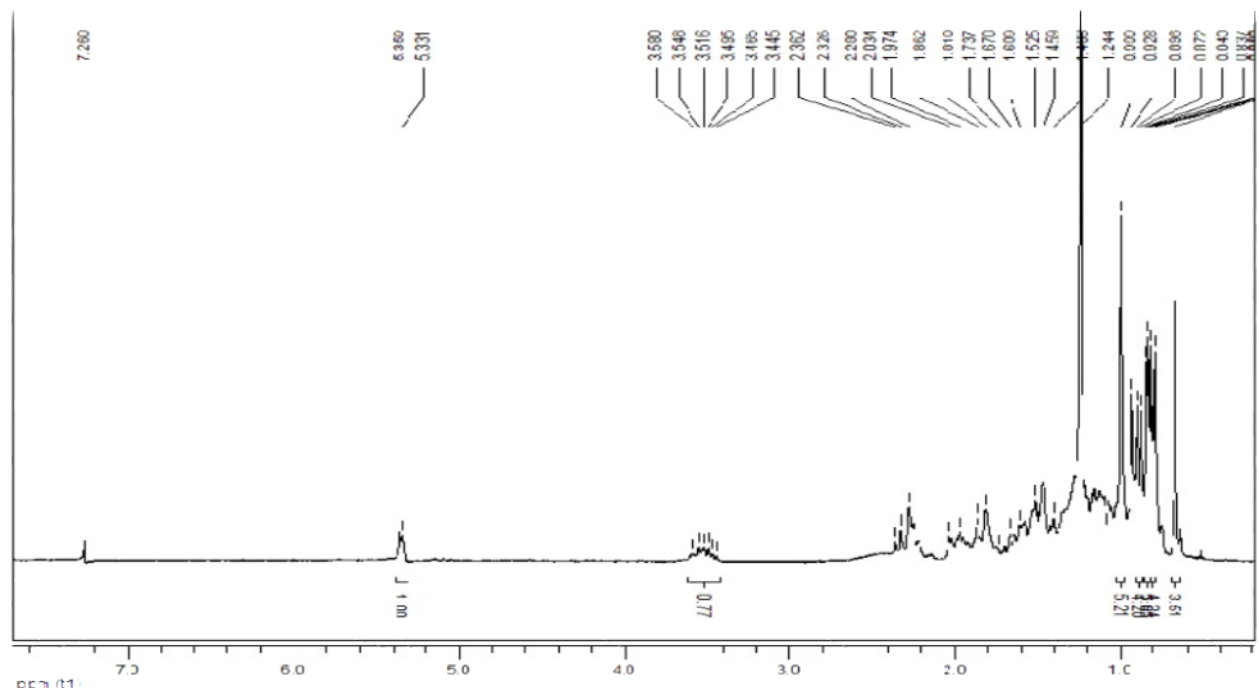


Figura 41: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-5**

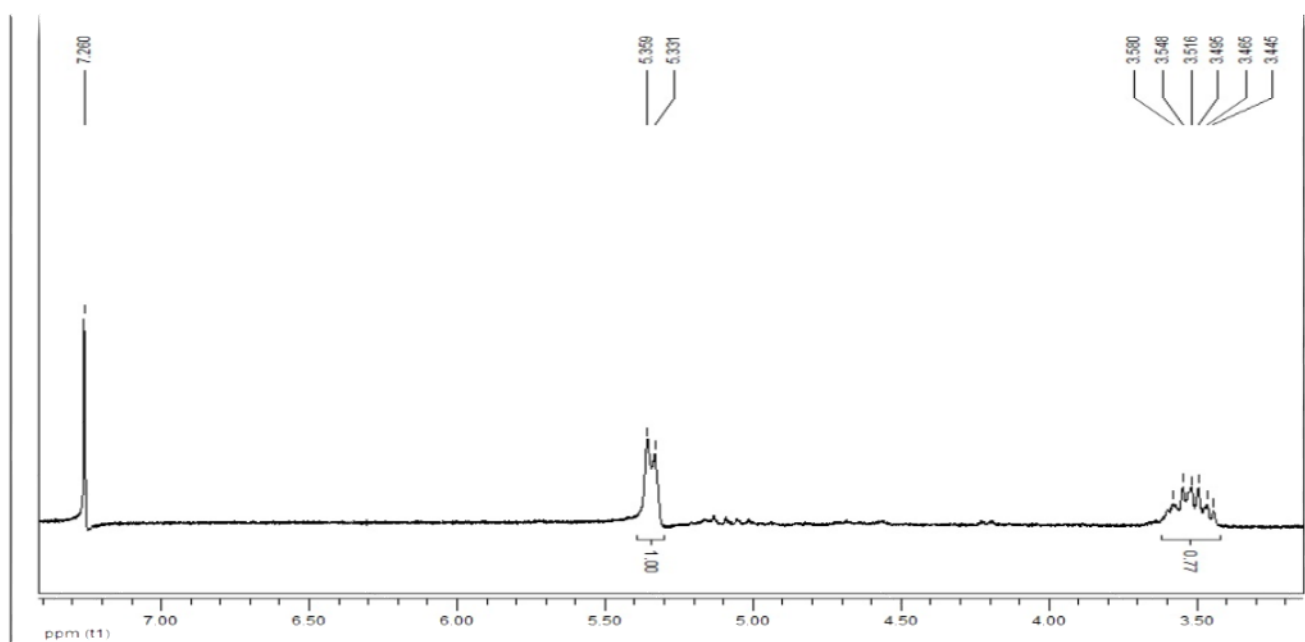


Figura 42: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-5**

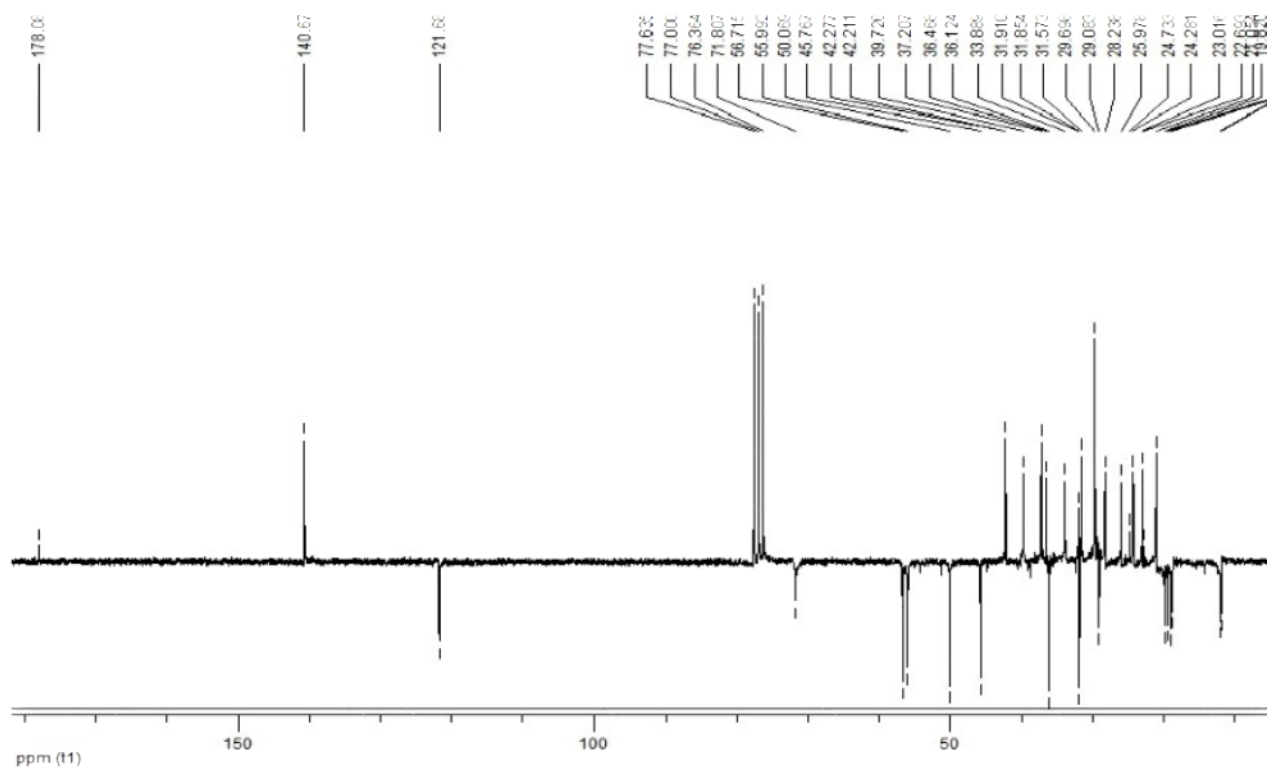


Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-5**.

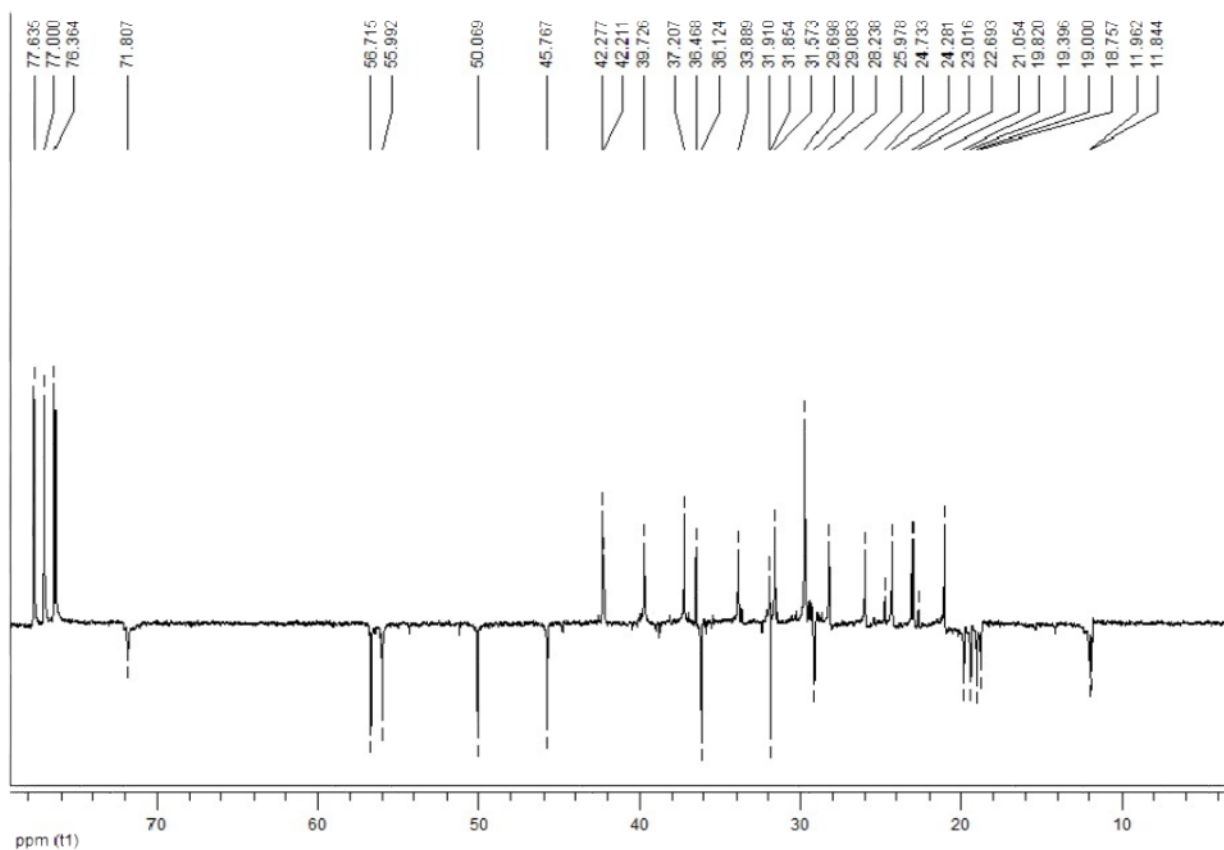


Figura 44: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-5**

5.2.6 Caracterização estrutural da substância *Pp-7*.

A substância *Pp-7* mostrou-se como um pó amorfo. O aspecto amorfo desta substância e a solubilidade para obtenção do espectro de RMN ^1H somente em piridina levantaram a hipótese da substância tratar-se de uma molécula polar.

O espectro de RMN ^1H de *Pp-7* (Fig 45, pág. 97) mostrou-se semelhante ao RMN ^1H de *Pp-5* (Fig. 41, pág. 93) levando a sugerir que a molécula em análise tratava-se do β -sitosterol glicosilado uma vez que na Fig. 45, p. 97 e sua expansão (Fig. 46, p. 97), pôde ser observado um multipletto em δ_{H} 3,97 referente a hidrogênio C-3, que se liga a unidade osídica, um dubleto em δ_{H} 5,07 referente ao hidrogênio anomérico (H-1') e multipletos entre δ_{H} 4,00 e 4,62 referentes a hidrogênios oximetínicos de unidade osídica. Estas absorções permitiram propor que *Pp-7* tratava-se do β -sitosterol glicosilado. (Tabela 6, p. 96)

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 47, p. 98) corroborou a proposta ao exibir absorções para o núcleo esteroidal. A figura 48, pag. 98 exibe os sinais referentes ao C-sp 2 , C-5 e C-6 e uma absorção em δ_{C} 102,53 atribuído ao carbono C-1' da unidade osídica. Absorções entre δ_{C} 78,57 – 71,62 e 62,79 fig. 49 p. 99 referem-se aos carbonos oximetínicos e oximetilênicos, respectivamente da unidade de glicose. (Tabela 6, p. 96)

Os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C de *Pp-7*, comparados àqueles de *Pp-5* e a modelos da literatura confirmaram que *Pp-7* tratava-se do β -sitosterol glicosilado, inédito na espécie *P. pachycladus*.

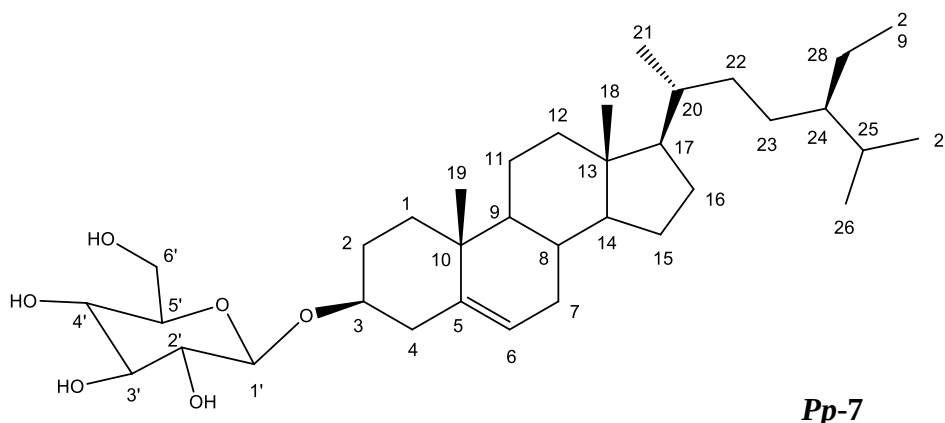


Tabela 6: Dados comparativos de RMN¹H (δ_H , CDCl₃, 200 MHz) e RMN ¹³C (δ_C , CDCl₃, 50 MHz) das substâncias **Pp-5** e **Pp-7** com modelos **Mo-5** (KONGDUANG, et al., 2008) e **Mo-6** (KOJIMA et al., 1990).

C	Mo – 5δ_C	δ_C Pp -5	δ_H Pp-5	Mo – 6δ_C	δ_C Pp-7	δ_H Pp-7
5	140,72	140,67		141,0	140,85	
10	36,48	36,46		37,0	36,91	
13	42,29	42,27		42,4	42,46	
CH						
3	71,80	71,80	3,50 (m)	78,3	78,48	3,97 (m)
6	121,71	121,68	5,34 (d, J=5,34 Hz)	122,0	121,91	5,37 (sl)
8	31,87	31,85		32,1	32,04	
9	50,08	50,06		50,4	50,32	
14	56,73	56,71		57,0	56,81	
17	56,00	55,99		56,3	56,21	
20	36,12	36,12		36,5	36,40	
22	–	–		–	–	
23	–	–		–	–	
24	45,78	45,76		46,1	46,0	
25	29,08	29,08		29,5	29,46	
1'	–	–		102,6	102,53	
2'	–	–		75,4	75,31	
3'	–	–		78,7	78,57	
4'	–	–		71,7	71,72	4,29 (t)
5'	–	–		78,5	78,48	4,06 (m)
CH₂						
1	37,21	37,20		37,6	37,47	
2	31,62	31,57		30,3	30,25	
4	42,18	42,27		39,4	39,32	
7	31,87	31,91		32,2	32,04	
11	21,07	21,05		21,4	21,29	
12	39,73	39,72		40,0	39,94	
15	24,28	24,28		24,6	24,52	
16	28,23	28,23		28,7	28,56	
22	33,90	33,88		34,3	34,19	
23	25,99	25,97		26,4	26,33	
28	23,02	23,01		23,4	23,37	
6'	–	–		62,9	62,79	4,48 (dd, J=5,5 Hz e 11,70 Hz)
CH₃						
18	11,84	11,84	0,67 (s)	12,0	12,13	0,68 (s)
19	19,38	19,39	0,99 (s)	19,3	19,43	0,91 (s)
21	18,75	18,75	–	19,1	19,96	0,95 (d)
26	19,81	19,82	0,88 (d, J=11,31 Hz)	19,5	20,00	0,99 (d)
27	19,00	19,00	0,82(d, J=2,30 Hz)	20,1	21,29	0,88 (d)
29	11,96	11,96	0,84 (dl)	12,2	12,17	0,86 (d)

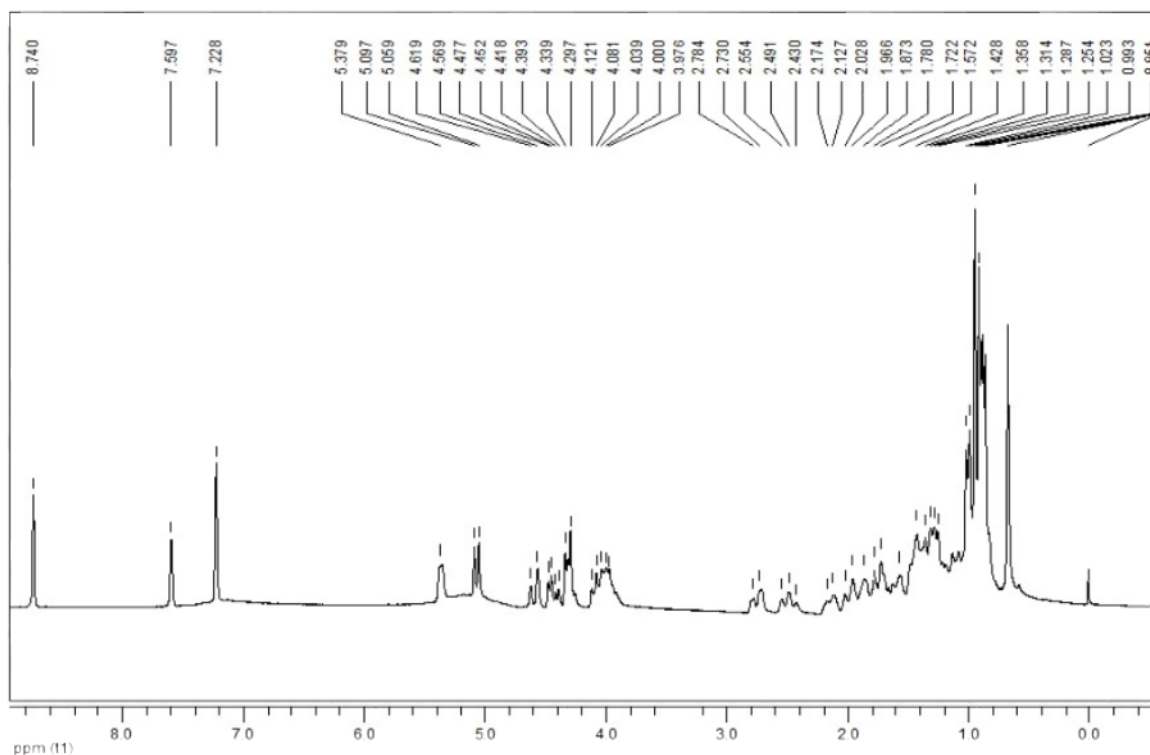


Figura 45: Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de **Pp-7**

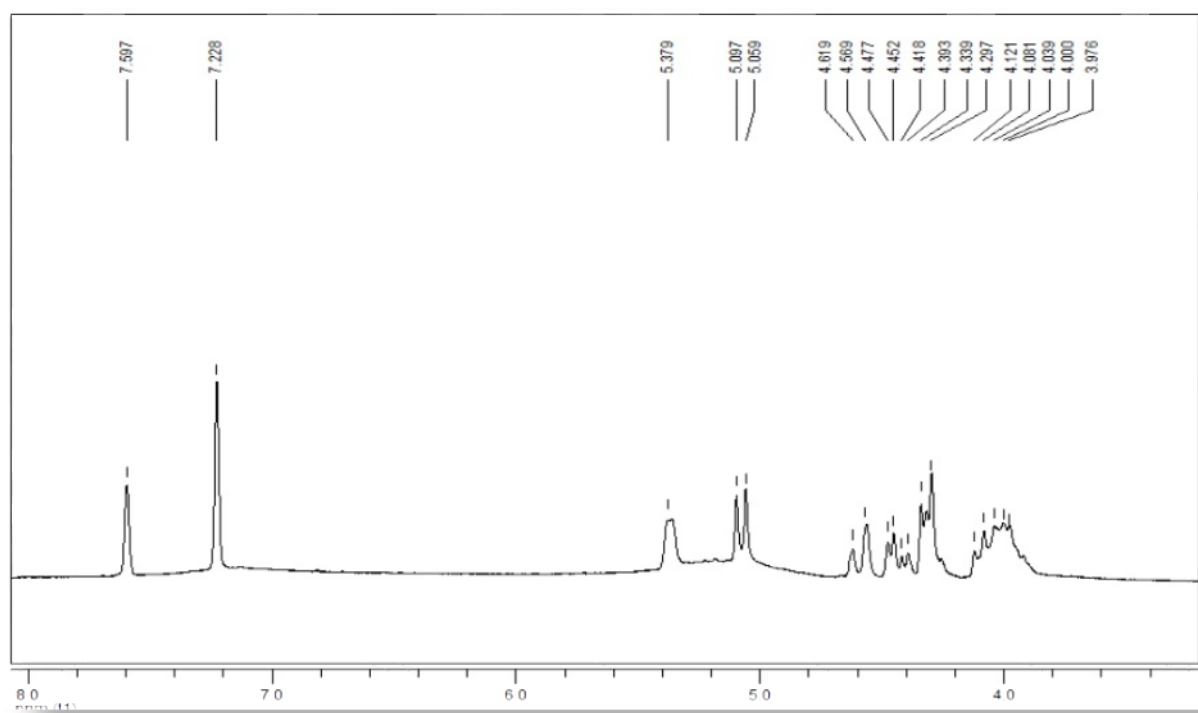


Figura 46: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de **Pp-7**

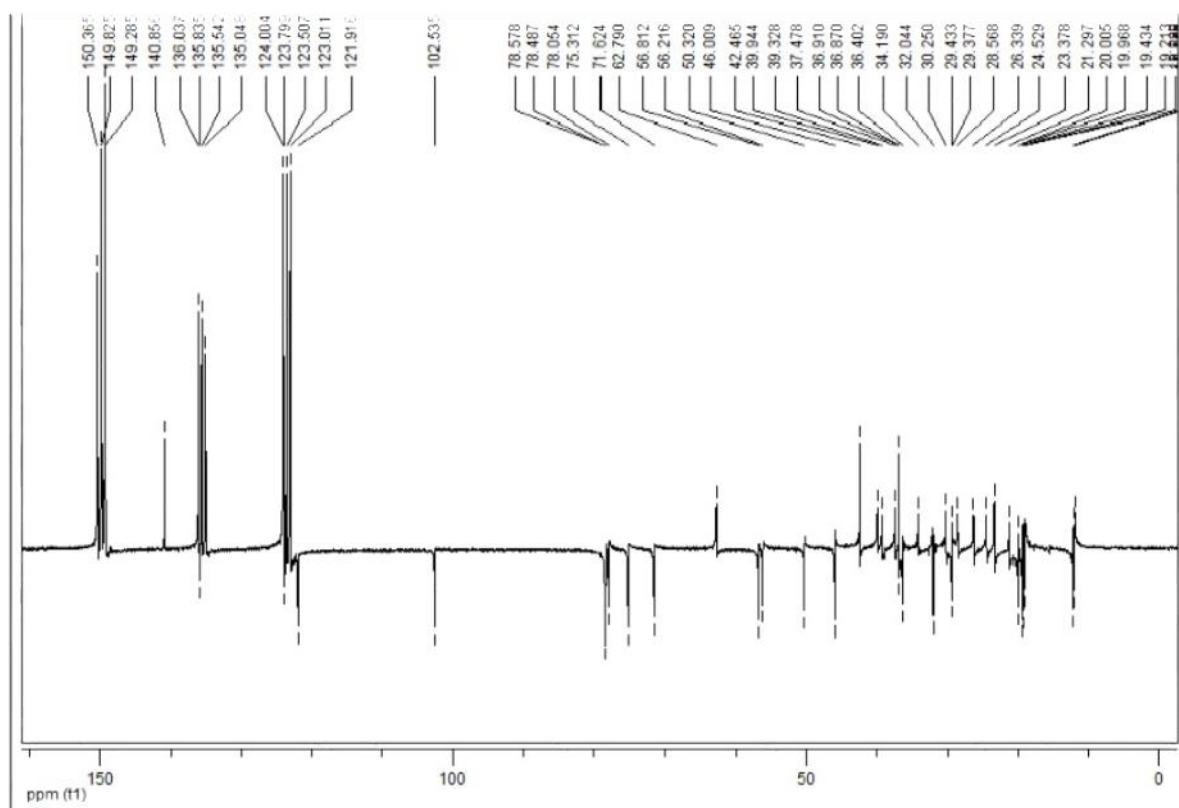


Figura 47: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de **Pp-7**.

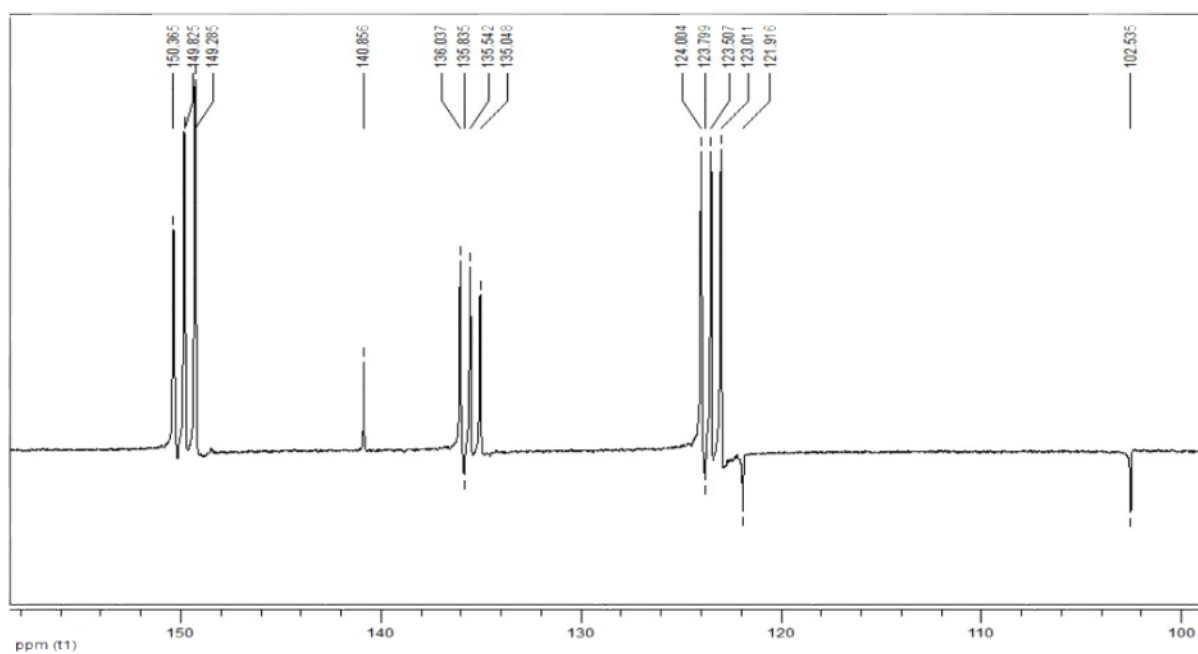


Figura 48: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de **Pp-7**

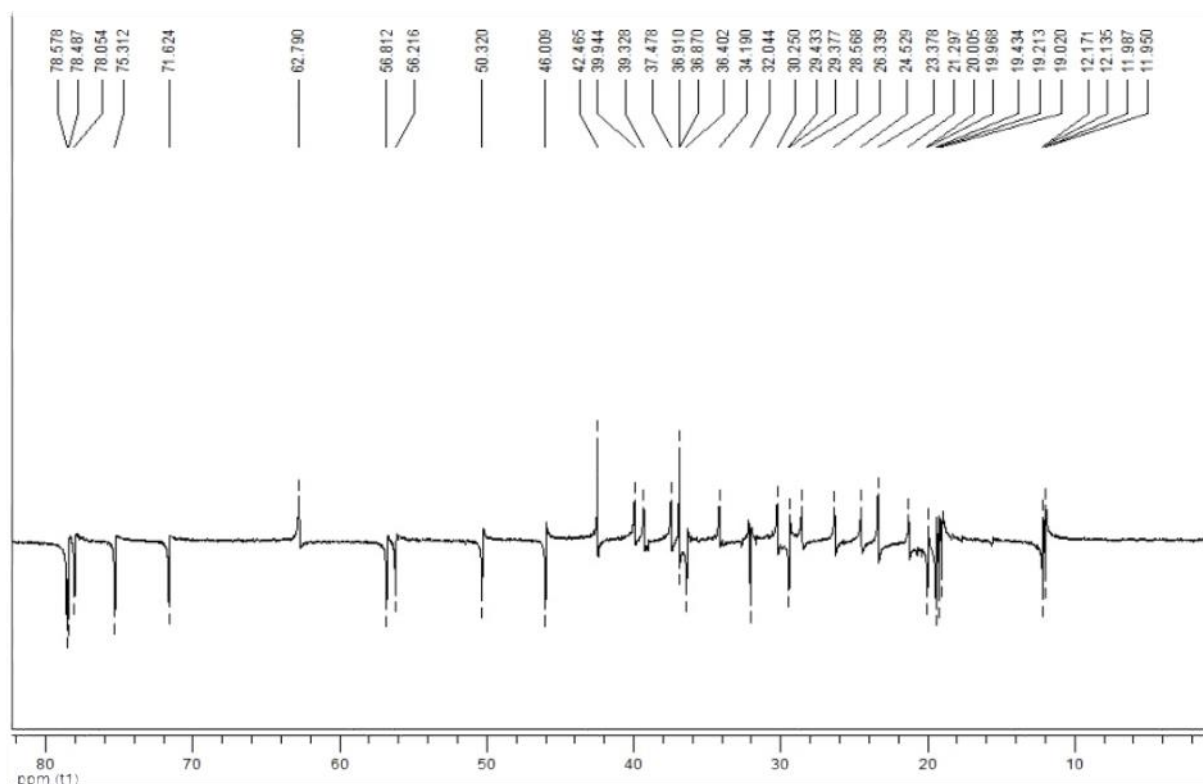


Figura 49: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de **Pp-7**

5.2.7 Caracterização estrutural da substância **Pp-10**.

A substância codificada como **Pp-10** (Esquema 7, pag. 59) foi isolada na forma de cristais brancos. O espectro de RMN ^1H (Fig 50, p.102) mostrou-se semelhante à figura 41 pg. 93 de **Pp-5**, fato que levantou a hipótese de que **Pp-10** seria igual a **Pp-5**. Todavia um multiplete entre δ_{H} 5,18 e 4,9 (Fig. 51, pag. 102) com integração para dois hidrogênios mostrou que a molécula em análise possuía mais dois hidrogênios olefínicos. Este dado permitiu propor que **Pp-10** poderia tratar-se de uma mistura do β -sitosterol e stigmasterol.

O espectro de RMN ^{13}C (Fig 52. Pag. 103) e sua expansão (Fig. 53, pag. 103) mostraram absorções para quatro carbonos sp^2 , sendo um não hidrogenado e três hidrogenados que correspondem exatamente aos carbonos C-5 e C-6 (δ_{C} 140,70 e 121,63) e δ_{C} 138,28 e 129,80 atribuídos aos carbonos C-22 e C-23 do stigmasterol.

A compilação dos dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C de **Pp-10**, comparações com dados de **Pp-5** e modelos da literatura tabela 7, pag. 101, permitiram definir **Pp-10** como a mistura do β -sitosterol (**Pp-5**) e stigmasterol (**Pp-10**).

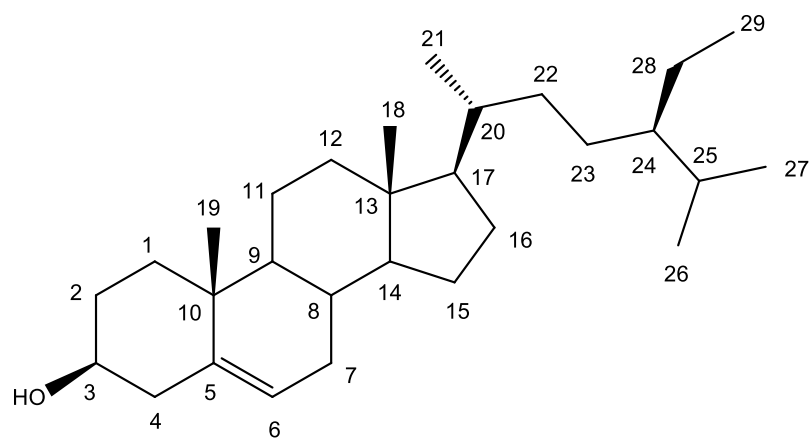
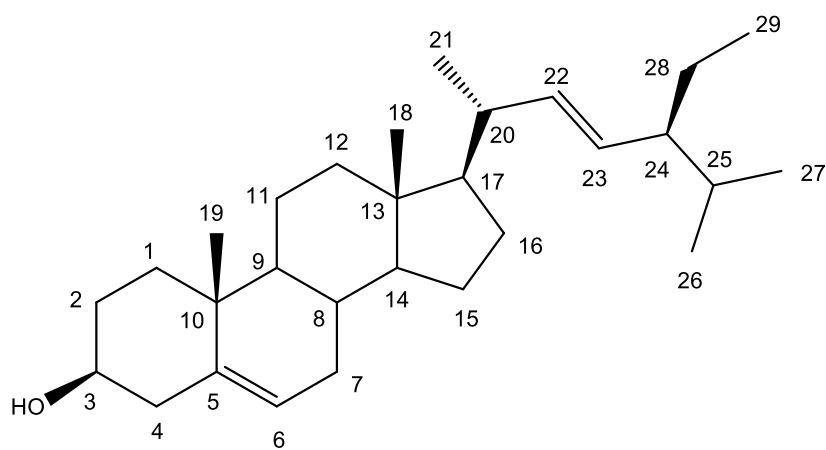
*Pp-5**Pp-10*

Tabela 7: Dados comparativos de RMN ^{13}C das substâncias ***Pp-5***, ***Pp-10a*** e ***Pp-10*** (δ_{C} , CDCl_3 , 50 MHz) com modelos ***Pp-5***, ***Mo-5*** e ***Mo-7*** (KONGDUANG, et al., 2008).

	Mo-5 (Sitosterol)	Mo-7 (Estigmasterol)	<i>Pp-5</i>		<i>Pp-10a</i>		<i>Pp-10</i>	
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
5	140,72	140,72	140,67		140,70		140,70	
10	36,48	36,48	36,46		36,43		36,43	
13	42,29	42,29	42,27		42,25		42,25	
CH								
3	71,80	71,80	71,80	3,50 (m)	71,68	3,48 (m)	71,68	3,48 (m)
6	121,71	121,71	121,68	5,34 (d, $J=5,34$ Hz)	121,63	5,31 (d, $J=5,2$ Hz)	121,63	5,31 (d, $J=5,2$ Hz)-
8	31,87	31,87	31,85		31,82		31,82	
9	50,08	50,08	50,06		50,06		50,06	
14	56,73	56,83	56,71		56,69		56,80	
17	56,00	55,90	55,99		55,99		55,87	
20	36,12	40,50	36,12		36,09		40,47	
22	–	138,32	–		–		138,28	5,12 (dd, $J=15,2$ e 8,2 Hz)
23	–	129,22	–		–		129,20	4,97 (dd, $J=15,2$ e 8,2 Hz)
24	45,78	51,21	45,76		45,74		51,19	
25	29,08	31,87	29,08		29,06		29,06	
CH₂								
1	37,21	37,21	37,20		37,20		37,20	
2	31,62	31,62	31,57		31,55		31,55	
4	42,18	42,29	42,27		42,20		42,14	
7	31,87	31,87	31,91		31,82		31,82	
11	21,07	21,07	21,05		21,02		21,02	
12	39,73	39,64	39,72		39,72		39,62	
15	24,28	24,34	24,28		24,25		24,31	
16	28,23	28,92	28,23		28,20		28,89	
22	33,90	–	33,88		33,87		–	
23	25,99	–	25,97		25,99		–	
28	23,02	25,40	23,01		22,00		25,37	
CH₃								
18	11,84	12,03	11,84	0,67 (s)	11,81	0,64 (s)	11,93	0,66 (s)
19	19,38	19,38	19,39	0,99 (s)	19,35	0,97 (s)	19,35	0,97 (s)
21	18,75	21,05	18,75	–	18,73	–	21,18	–
26	19,81	21,20	19,82	0,88 (d, $J=11,31$ Hz)	19,78	0,88 (d, $J=15,2$ Hz)	21,06	0,88 (d, $J=15,2$ Hz)
27	19,00	18,95	19,00	0,82(d, $J=2,30$ Hz)	18,99	0,79 (d, $J= 2,0$ Hz)	18,95	0,79 (d, $J= 2,0$ Hz)
29	11,96	12,25	11,96	0,84 (dl)	11,99	0,84 (t)	12,22	0,84 (t)

¹H NMR spectrum of compound **1** in CDCl₃. The spectrum shows peaks in the aromatic region (5.4-5.0 ppm) and a multiplet in the aliphatic region (3.5-3.4 ppm). Integration values are provided for several peak groups: 37.54 for the aromatic region, 27.42 for a subset of aromatic peaks, and 35.04 for the aliphatic region. Specific peak labels include 5.326, 5.300, 5.183, 5.142, 5.107, 5.087, 5.031, 4.990, 4.956, 4.914, 3.541, 3.510, 3.483, 3.459, 3.431, and 3.410 ppm.

Figura 51: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-10**.

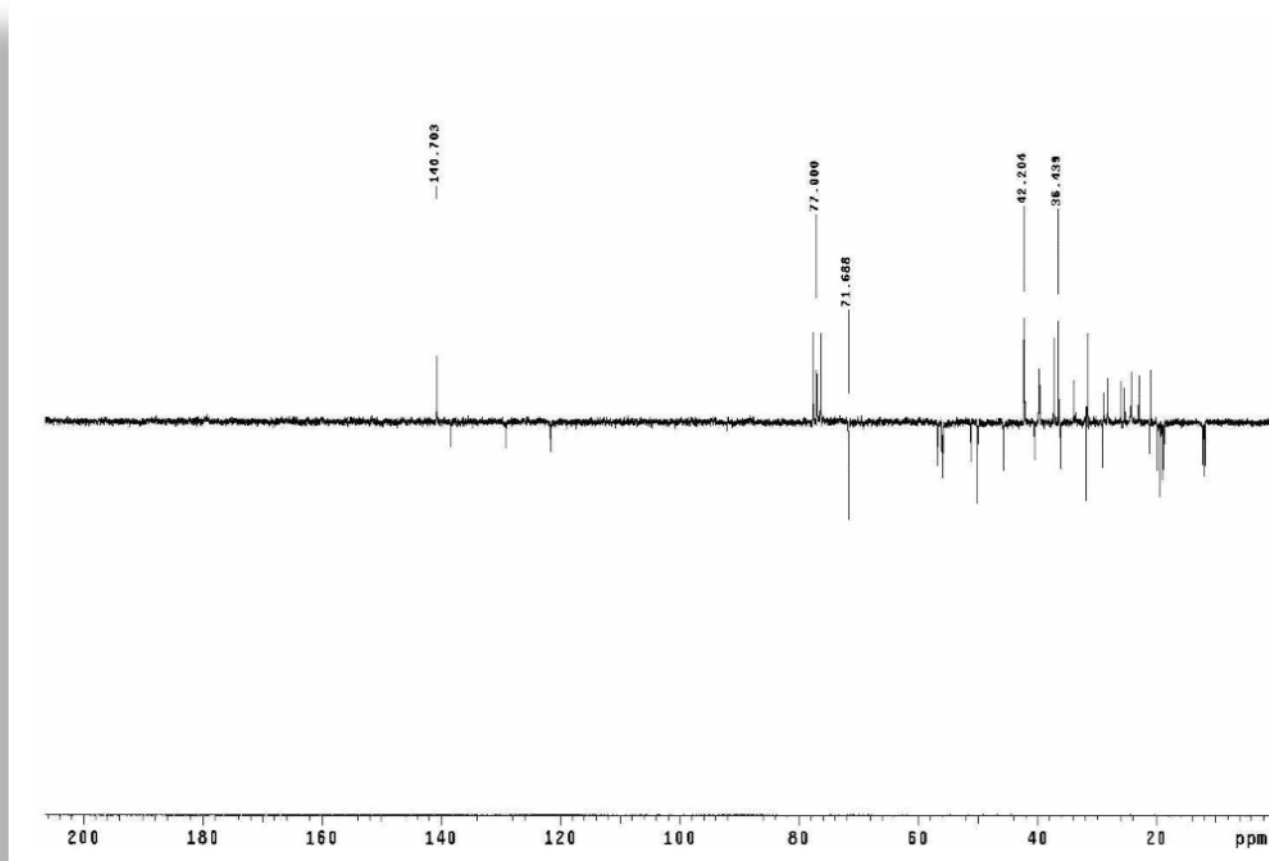


Figura 52: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-10**.

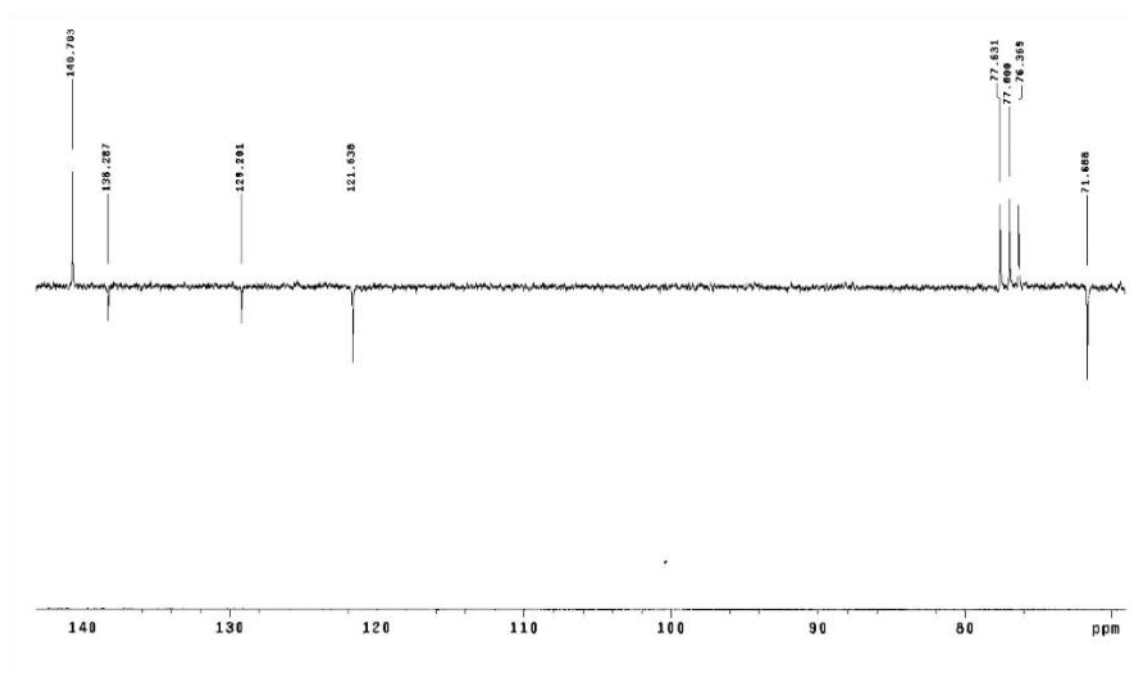
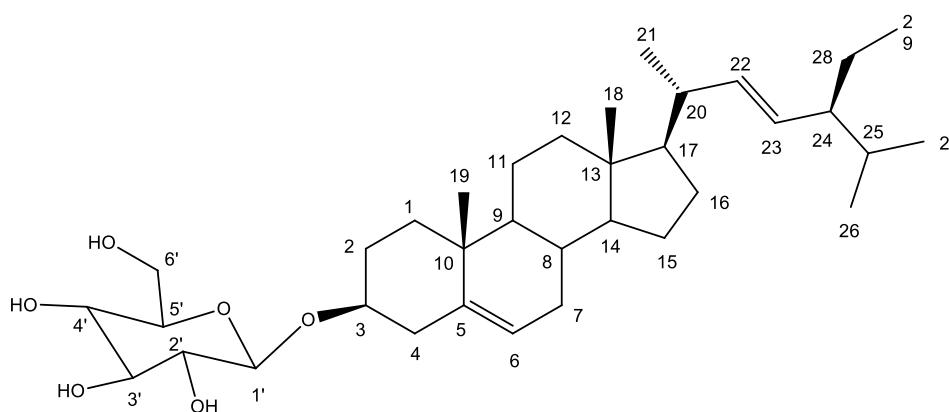


Figura 53: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-10**.

5.2.8 Caracterização estrutural da substância *Pp-11*.

A substância ***Pp-11*** (Esquema 7, p. 59) foi isolada na forma de um pó amorfo. O seu espectro de RMN ^1H (Fig 54, pag. 106) quando comparado com RMN ^1H de ***Pp-7*** (Fig.45, pag. 97) levou a sugerir que a molécula em discussão poderia tratar-se do β -sitosterol glicosilado (Fig. Pág. 95), todavia a feição das absorções entre δ_{H} 5,03 e 5,13 (Fig 55, pag. 106) de ***Pp-11*** quando comparadas com as mesmas regiões (Fig 42, p.93) de ***Pp-7*** e (Fig. 51, pag. 102) de ***Pp-10*** permitiram sugerir que a molécula de ***Pp-11*** poderia ser uma mistura de esteroides glicosilados.

A análise de espectros de RMN ^{13}C de ***Pp-11*** e suas expansões (Figs. 56 a 58, pags. 107 e 108) mostram absorções que permitiram propor que a molécula em análise tratava-se de uma mistura do β -sitosterol glicosilado (***Pp-7***) e do estigmasterol glicosilado (***Pp-11***), proposta ratificada quando comparados os dados espectrais de ***Pp-11*** com aqueles atribuídos para ***Pp-5***; ***Pp-7***; ***Pp-10***. (Tabela, 8, pag. p 105).



Pp-11

Tabela 8: Dados comparativos de *Pp-7* e da mistura *Pp-11a/Pp-11* ($\delta\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 e 50 MHz) com dados da literatura ($\delta\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz), *Mo-8* e *Mo-9* (KOJIMA et al., 1990).

sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo <i>Pp-7/ Pp-11a</i>					estigmasterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo - <i>Pp-11</i>			
C	Mo – $8\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}} Pp-7$	$\delta_{\text{H}} Pp-7$	$\delta_{\text{C}} Pp-11a$	$\delta_{\text{H}} Pp-11a$	Mo – $9\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}} Pp-11$	$\delta_{\text{H}} Pp-11$
5	141,0	140,85		140,88		141,0	140,88	
10	37,0	36,91		37,01		37,0	37,01	
13	42,4	42,46		42,56		42,4	42,56	
CH								
3	78,3	78,48	3,97 (m)	78,13	3,96 (m)	78,3	78,13	3,96 (m)
6	122,0	121,91	5,37 (sl)	121,91	5,36 (m)	122,0	121,91	5,36 (m)
8	32,1	32,04		32,14		32,1	32,14	
9	50,4	50,32		50,41		50,4	50,41	
14	57,0	56,81		56,89		57,1	56,89	
17	56,3	56,21		56,30		56,2	56,30	
20	36,5	36,40		36,47		36,9	36,47	
22	34,3	–		–		138,9	138,88	5,19-5,10 (m)
23	26,4	–		–		129,5	129,44	5,19-5,10 (m)
24	46,1	46,0		46,1		51,5	51,49	
25	29,5	29,46		29,26		32,2	32,14	
1'	102,6	102,53		102,58		102,6	102,58	
2'	75,4	75,31		75,37		75,4	75,37	
3'	78,7	78,57		78,64		78,7	78,64	
4'	71,7	71,72	4,29 (t)	71,72	4,29 (t)	71,7	71,72	4,29 (t)
5'	78,5	78,48	4,06 (m)	78,53	4,06 (m)	78,5	78,53	4,06 (m)
CH₂								
1	37,6	37,47		37,56		37,6	37,56	
2	30,3	30,25		30,34		30,3	30,34	
4	39,4	39,32		39,43		39,4	39,43	
7	32,2	32,04		34,29		32,2	34,29	
11	21,4	21,29		21,38		21,4	21,38	
12	40,0	39,94		40,03		39,9	40,03	
15	24,6	24,52		24,62		24,7	24,62	
16	28,7	28,56		28,64		29,4	28,64	
22	34,3	34,19		34,29		-	-	
23	26,4	26,33		26,48		-	-	
28	23,4	23,37		23,49		25,8	23,49	
6'	62,9	62,79	4,48 (dd, J=5,5 Hz e 11,70 Hz)	62,88	4,58 (dd, J=12 e 2,4 Hz) 4,41 (dd, J=12 e 5 Hz)	62,9	62,88	4,58 (dd, J=12 e 2,4 Hz) 4,41 (dd, J=12 e 5 Hz)
CH₃								
18	12,0	12,13	0,68 (s)	12,08	0,66 (s)	12,3	12,08	0,66 (s)
19	19,3	19,43	0,91 (s)	19,32	0,96 (s)	19,3	19,32	0,96 (s)
21	19,1	19,96	0,95 (d)	19,11	0,97 (d)	21,7	19,11	0,97 (d)
26	19,5	20,00	0,99 (d)	19,52	0,90 (d)	21,4	19,52	0,90 (d)
27	20,1	21,29	0,88 (d)	20,09	0,88 (d)	20,1	20,09	0,88 (d)
29	12,2	12,17	0,86 (d)	12,26	0,84	12,6	12,26	0,84

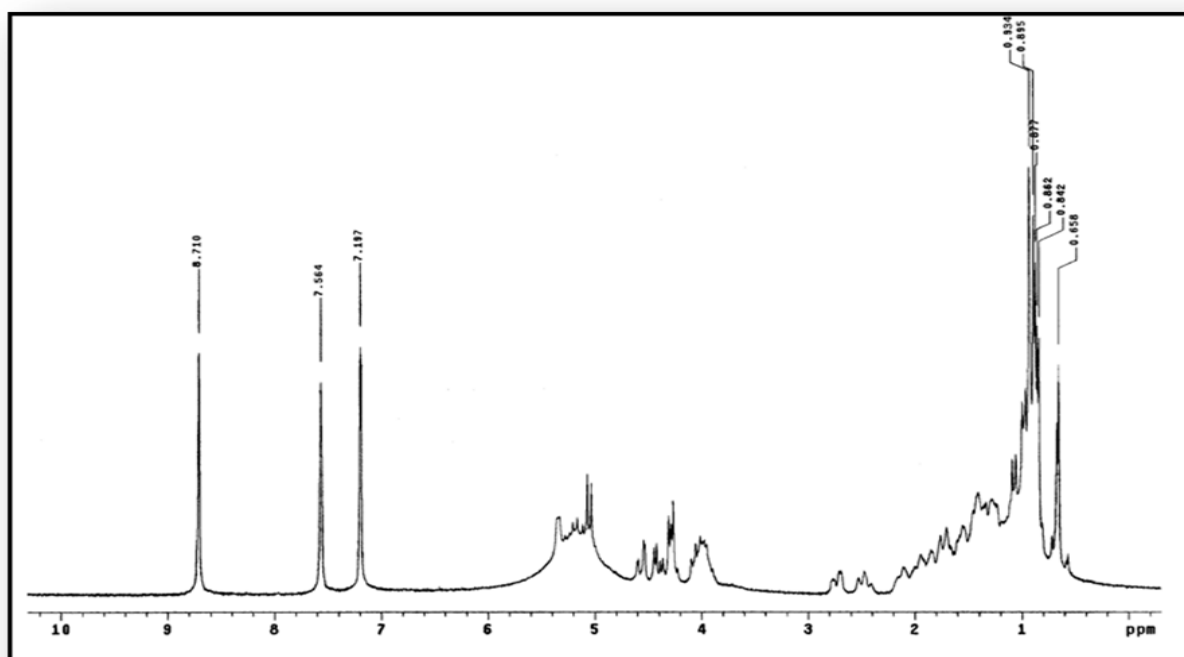


Figura 54: Espectro de RMN ^1H ($\delta\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de *Pp-11*.

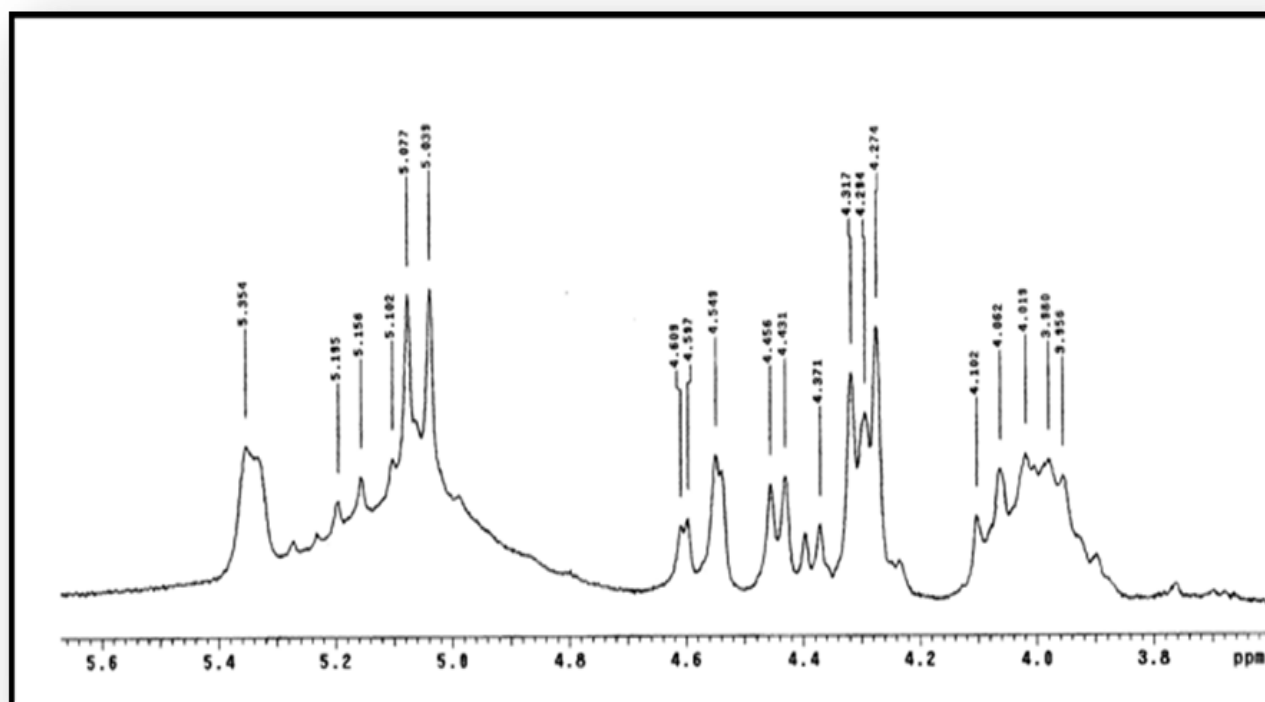


Figura 55: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H ($\delta\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de *Pp-11*.

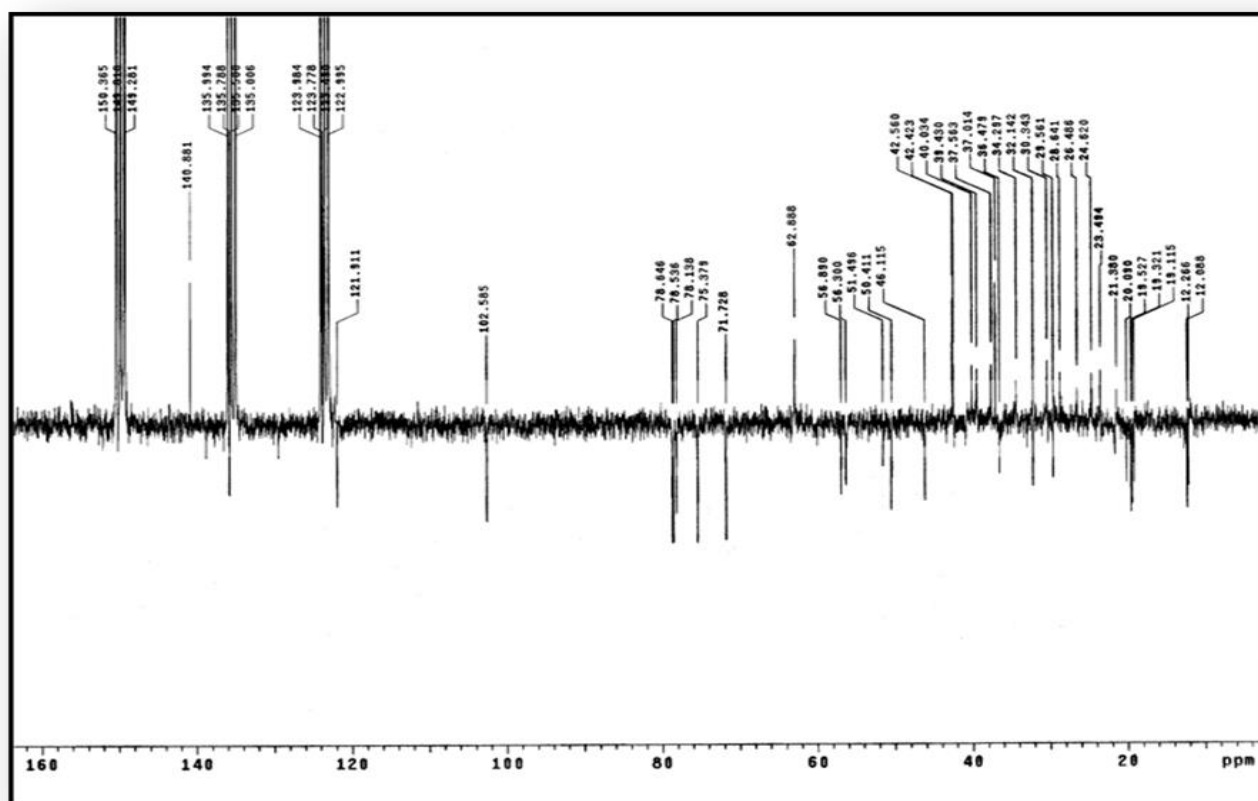


Figura 56: Espectro de RMN¹³CAPT (δ C₅D₅N, 50 MHz) de *Pp-11*.

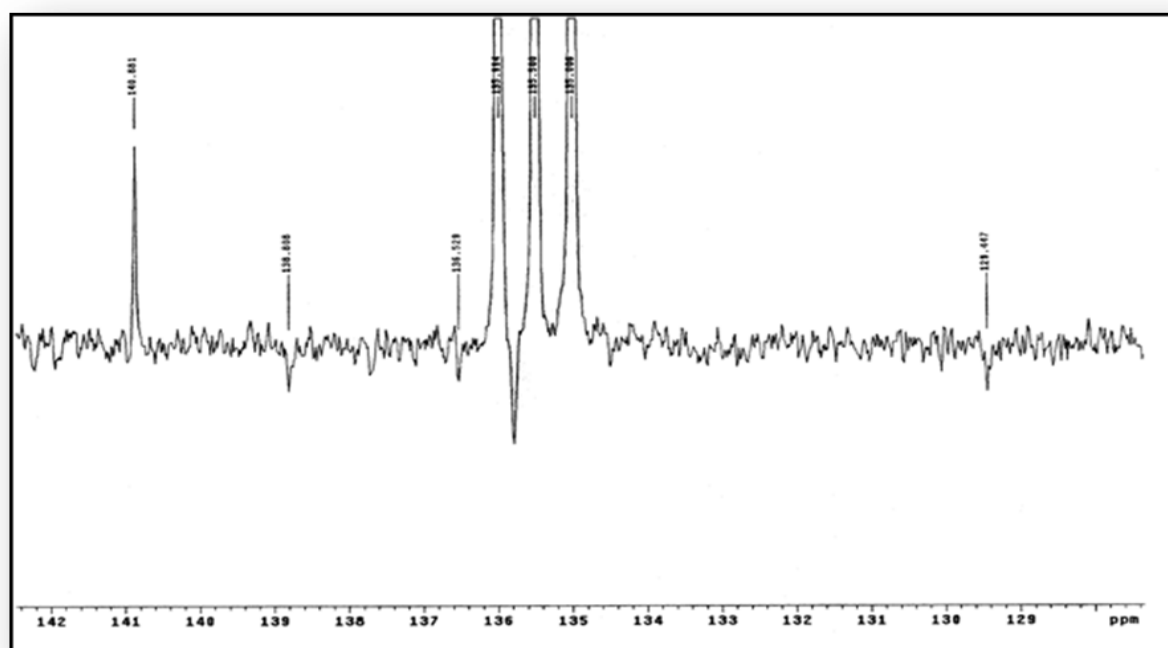


Figura 57: Expansão 1do espectro de RMN ¹³CAPT (δ C₅D₅N, 50 MHz) de *Pp-11*.

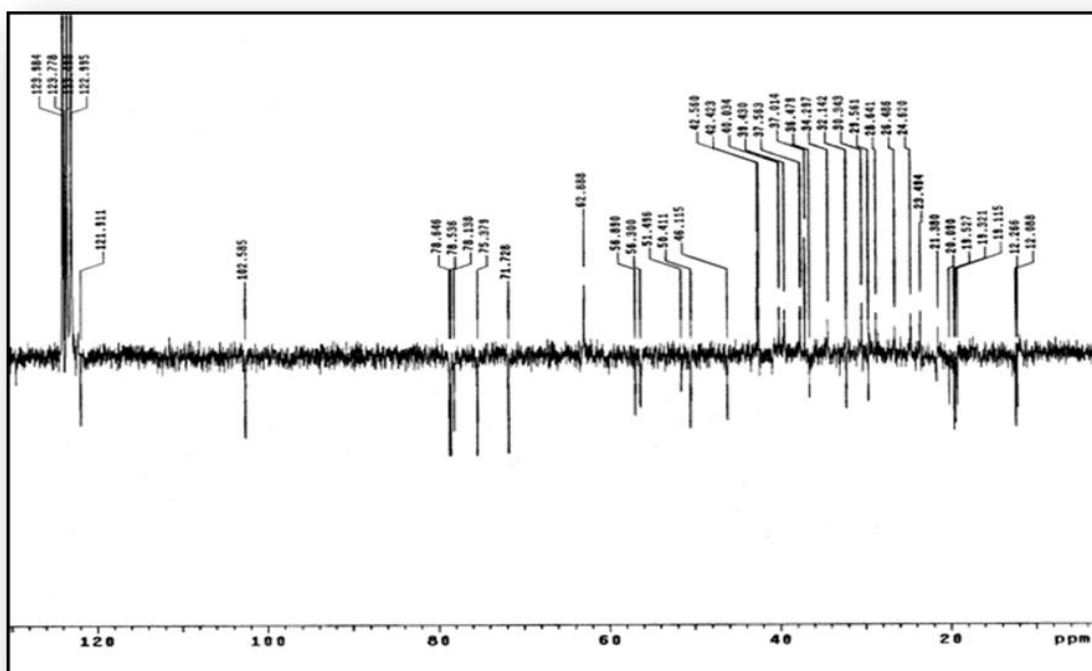


Figura 58: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT ($\delta\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de **Pp-11**.

5.2.9 Caracterização estrutural da substância **Pp-9**.

A substância **Pp-9** (Esquema 7, pag. 59) apresentou-se como cristais brancos e solúveis em clorofórmio / Acetato de etila (8:2). O seu espectro de RMN ^1H (Fig. 59, p. 112) mostrou-se semelhante ao mesmo espectro de **Pp-5** (Fig. 41, p. 93), fato que possibilitou sugerir que **Pp-9** se tratava do β -sitosterol. Todavia, ao se observar a presença de dois singletos largos em δ_{H} 4,69 e 4,62 (Fig. 60, pag. 112) se pôde deduzir que esta molécula possui um C- sp^2 terminal (OLIVEIRA-SILVA et al., 2010), sugestivo, portanto, de que **Pp-9** poderia tratar-se de uma mistura de duas moléculas de esteroides.

A análise do espectro de RMN ^{13}C de **Pp-9** (Fig. 61, 113) e suas expansões (Figs. 62 a 64, pags. 113 e 114) revelou absorções para 58 átomos de carbono, corroborando a proposta de que esta substância poderia tratar-se da mistura de dois esteroides. A existência da dupla ligação terminal foi fortalecida pelas absorções para um carbono sp^2 terminal em δ_{C} 156,79, que estaria ligado a um C- sp^2 não hidrogenado em δ_{C} 105,94 (Fig. 62, pag. 113).

O espectro de correlação heteronuclear HMQC (Fig. 65, p.115) mostrou as correlações existentes entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos. A existência de dupla ligação entre C-5 e C-6 (**Pp-5** e **Pp-9**) e C-24 e C-28 (**Pp-9**) tornou-se inequívoca pelas ligações entre

o H-6/C-6 (δ_H 5,31/ δ_C 121,64), observando que δ_C 121,64 apresentou intensidade para 2 átomos de carbono e ligações entre dois hidrogênios H-28 (δ_H H-28a em 4,63 e δ_H H-28b em 4,68), ambos ligados ao C-28 (δ_C 105,54).

O espectro de correlação heteronuclear (HMBC) (Fig 67, pag. 116) fortalece esta proposta ao mostrar correlações a duas e três ligações entre os hidrogênios de C-sp³ com os C-sp² (δ_C C-24/156,54; δ_C C-5/140,75; δ_C C-6 /121,64 e δ_C C-28/105,54). A Fig. 68, pag. 116 ratifica que **Pp-9** é composta de β -sitosterol (**Pp-5**) e ergosterol (**Pp-9**) pelas correlações a ²J entre o H-6 com o C-7 e ³J deste mesmo hidrogênio com os carbonos C-4; C-8 e C-10, como também dos H-28 (H-28a e H-28b) com o C-25, além de uma correlação ⁴J com o C-22 (Tabela 10 pag. 111).

A compilação destes dados e comparações com **Pp-5** e dados da literatura (Oliveira-Silva et al., 2010), permitiram propor que **Pp-9** trata-se de uma mistura do β -sitosterol (**Pp-5**) e β -sitosterol $\Delta^{24,28}$ (Ergosterol – **Pp-9**) (Tabela 9, p. 110).

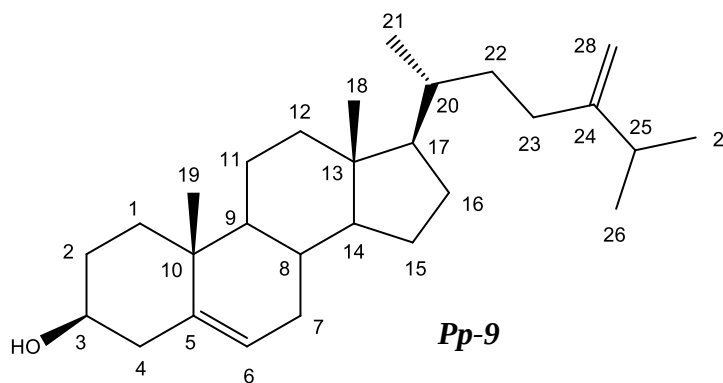


Tabela 9: Dados comparativos de RMN ^{13}C das substâncias ***Pp-9a*** e ***Pp-9*** (δ_{C} , CDCl_3 , 125 MHz) com ***Pp-5***.

	<i>Pp-5</i> (Sitosterol)		<i>Pp-9a</i>	<i>Pp-9</i>	
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
5	140,67	140,75		140,72	
10	36,46	36,48		36,48	
13	42,27	42,30		42,27	
24		—		156,79	—
CH					
3	71,80	71,74	3,48 (m)	71,74	3,48 (m)
6	121,68	121,64	5,31 (d, J=4,5 Hz)	121,64	5,31 (d, J=4,5 Hz)
8	31,85	31,90		31,90	
9	50,06	50,13		50,13	
14	56,71	56,75		56,75	
17	55,99	56,00		56,65	
20	36,12	36,12		36,15	
22	—	—		—	
23	—	—		—	
24	45,76	45,84		—	
25	29,08	29,17		29,17	
CH₂					
1	37,20	37,25		37,25	
2	31,57	31,63		31,63	
4	42,27	42,27		42,27	
7	31,91	31,87		31,63	
11	21,05	21,07		21,07	
12	39,72	39,77		39,77	
15	24,28	24,27		24,27	
16	28,23	28,22		28,22	
22	33,88	33,94		33,94	
23	25,97	26,11		26,11	
28	23,01	23,07		105,94	4,68 (Ha), 4,63 (Hb)
CH₃					
18	11,84	11,81	0,65 (s)	11,84	0,65 (s)
19	19,39	19,37	0,98 (s)	19,38	0,98 (s)
21	18,75	18,76	0,90 (d)	18,75	0,90 (d)
26	19,82	19,78	0,89 (d)	19,81	0,89 (d)
27	19,00	19,03	0,79 9(d)	19,00	0,79 9(d)
29	11,96	11,96	0,82 (dl)	—	—

Tabela 10: Dados comparativos de HMQC e HMBC de **Pp-9** (δ , CDCl₃, 125 MHz).

Pp-9		HMQC		HMBC	
C	Pp-9a δ_C	Pp-9 δ_C	Pp-9δ_H	2J	3J
5	140,75	140,72			
10	36,48	36,48			H-6
13	42,30	42,27			
24	—	156,79			
CH					
3	71,74	71,74	3,48 (m)		
6	121,64	121,64	5,31 (d, J=4,5 Hz)		
8	31,90	31,90			H-6
9	50,13	50,13			
14	56,75	56,75			
17	56,00	56,65			
20	36,12	36,15			
22	—	—			
23	—	—			
24	45,84	—			
25	29,17	29,17			H-28
CH₂					
1	37,25	37,25			
2	31,63	31,63			
4	42,27	42,27			H-6
7	31,87	31,63			
11	21,07	21,07			
12	39,77	39,77			
15	24,27	24,27			
16	28,22	28,22			
22	33,94	33,94			
23	26,11	26,11			
28	23,07	105,94	4,68 (Ha), 4,63 (Hb)		
CH₃					
18	11,81	11,84	0,65 (s)		
19	19,37	19,38	0,98 (s)		
21	18,76	18,75	0,90 (d)		
26	19,78	19,81	0,89 (d)		
27	19,03	19,00	0,79 9(d)		
29	11,96	—	—		

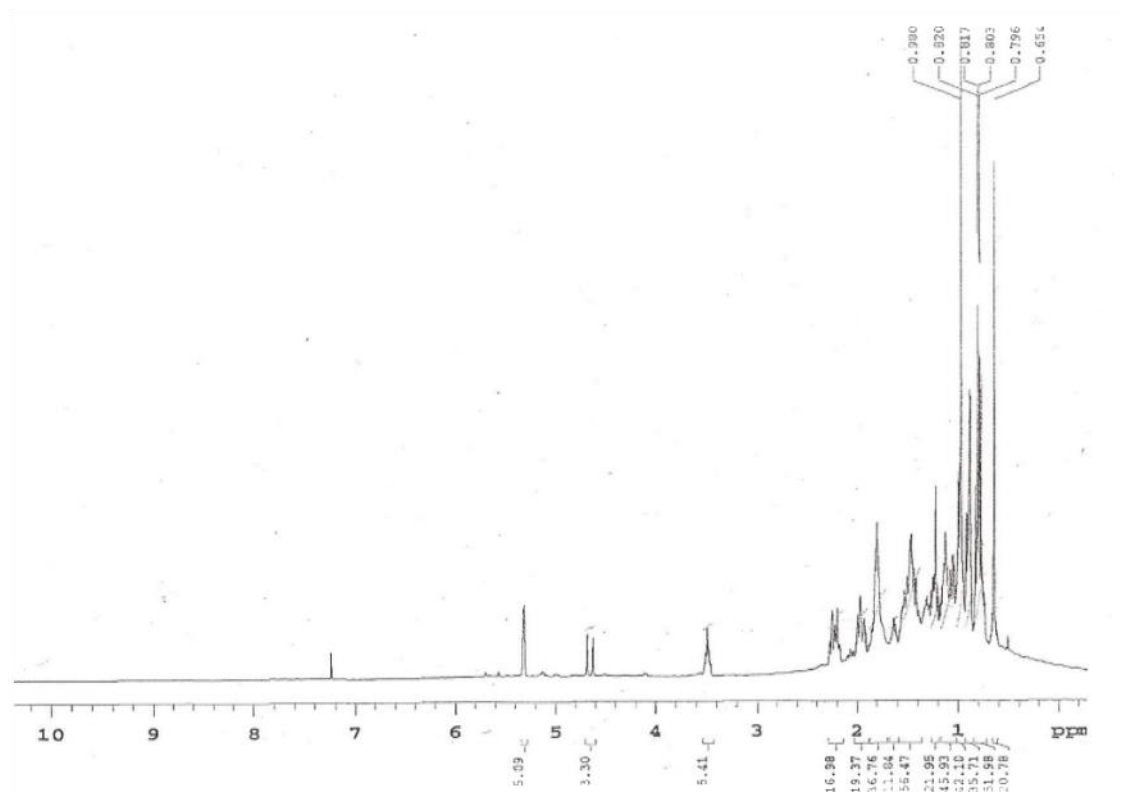


Figura 59: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Pp-9**.

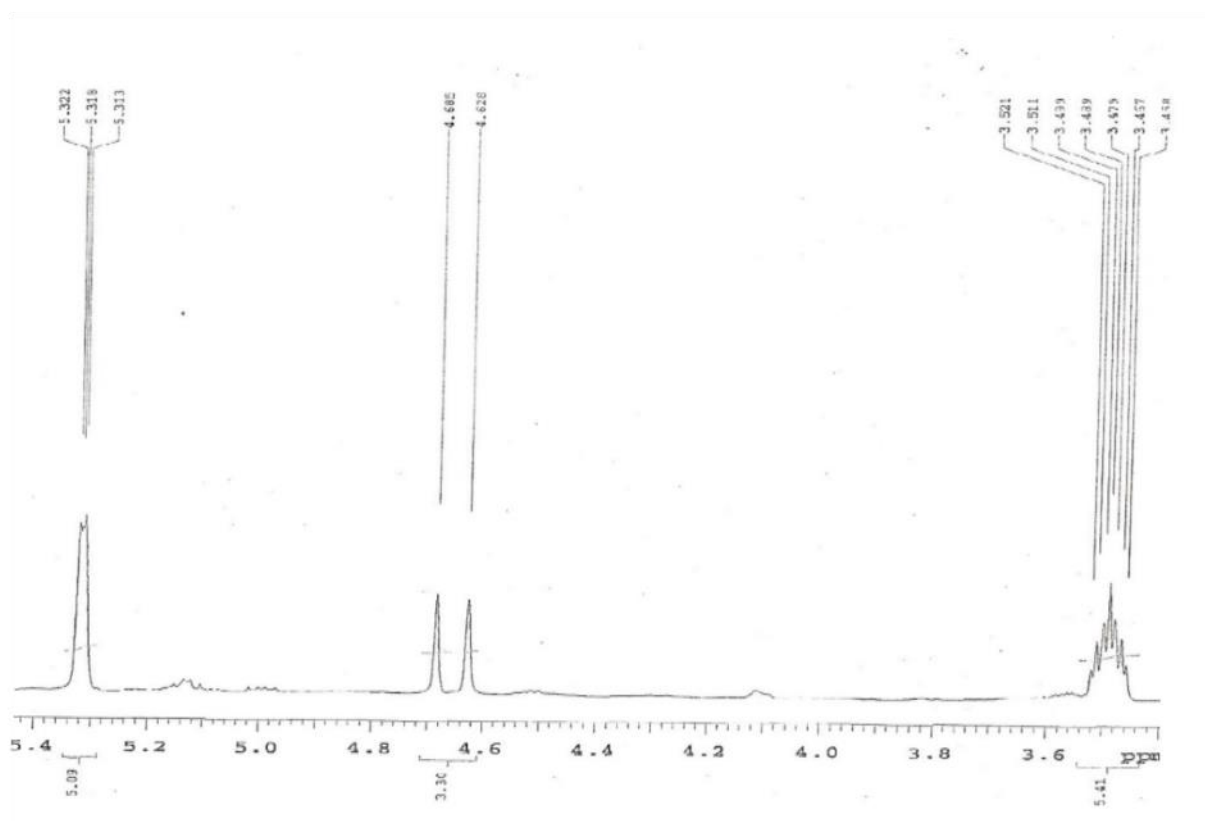


Figura 60: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Pp-9**.

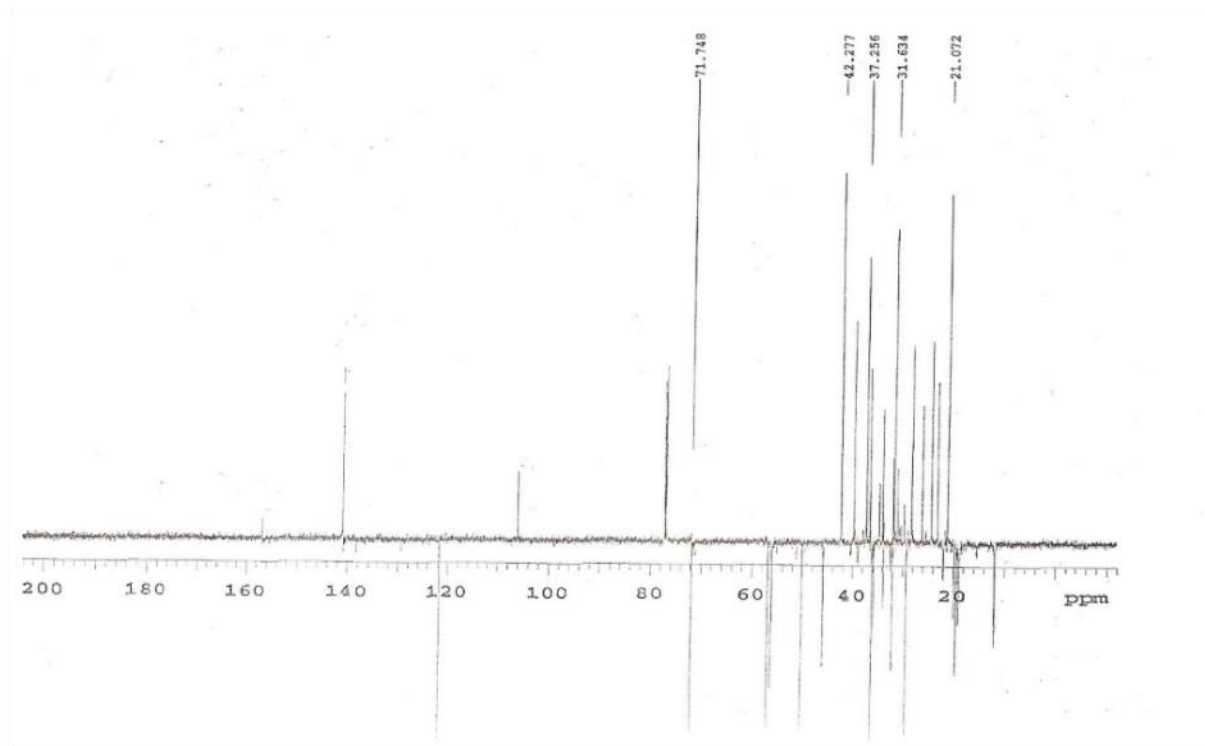


Figura 61: Espectro de RMN¹³CAPT (δ , CDCl₃, 125 MHz) de **Pp-9**.

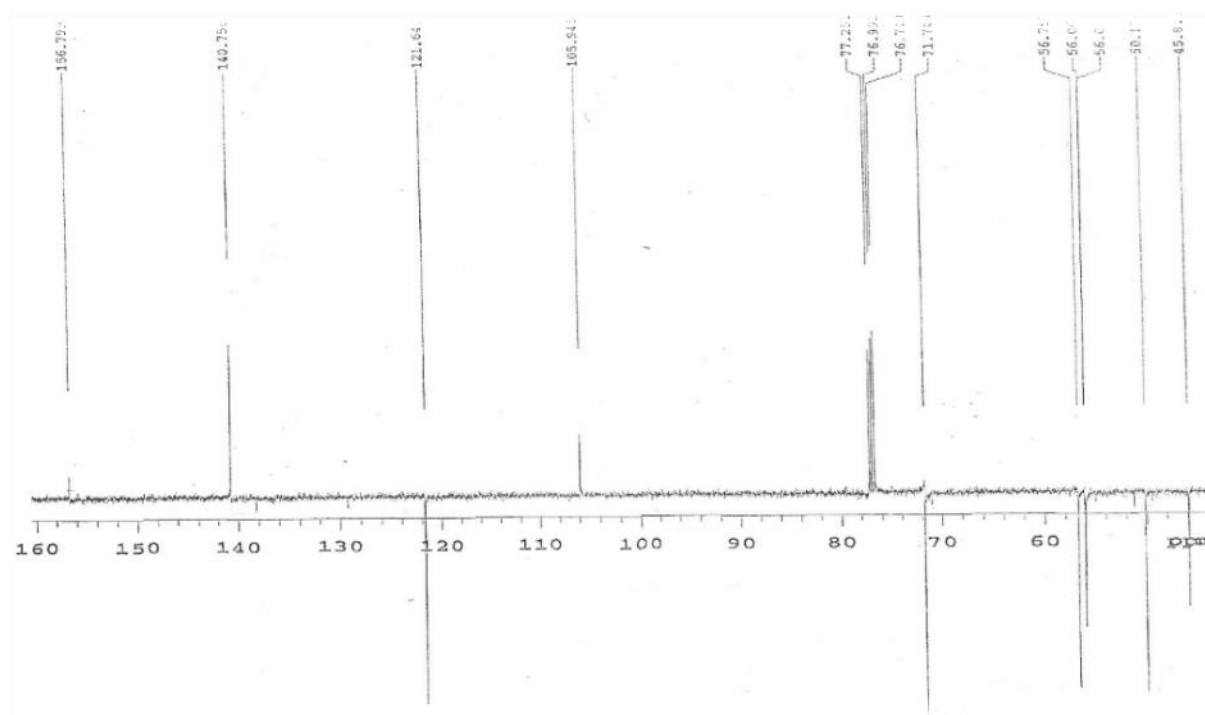


Figura 62: Expansão 1do espectro de RMN ¹³CAPT (δ , CDCl₃, 125 MHz) de **Pp-9**.

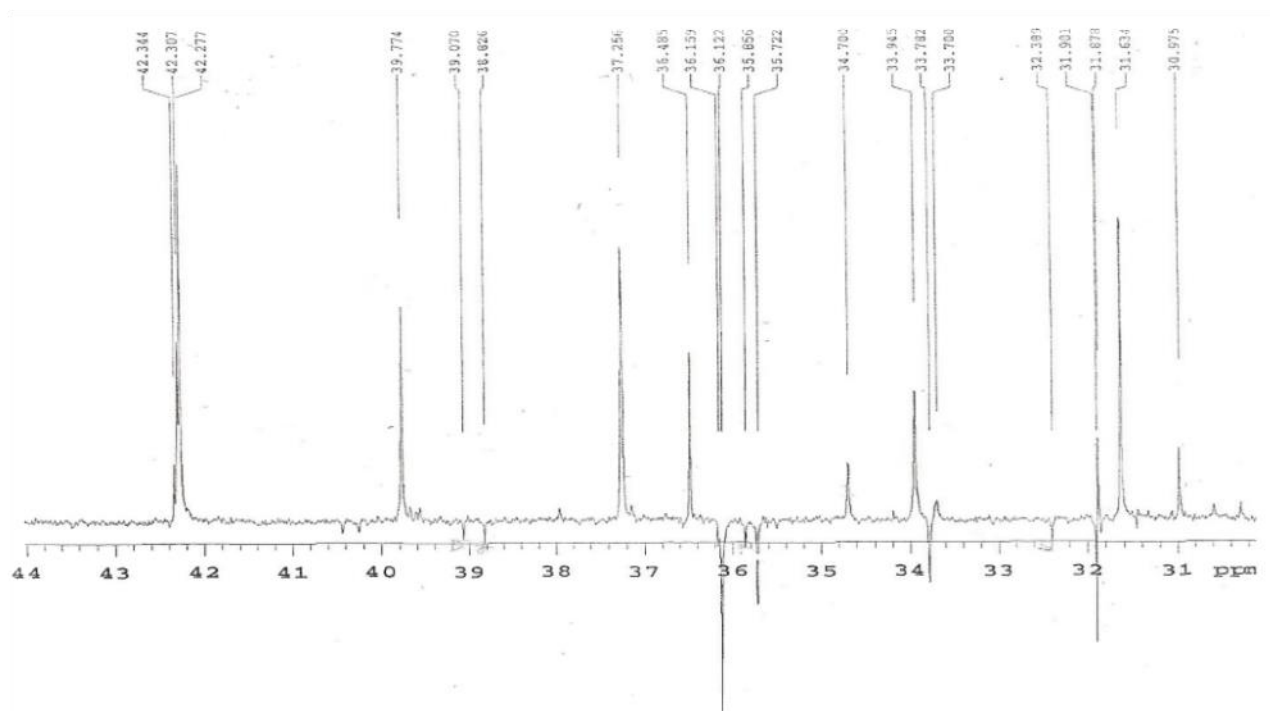


Figura 63 :Expansão 2do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de **Pp-9**.

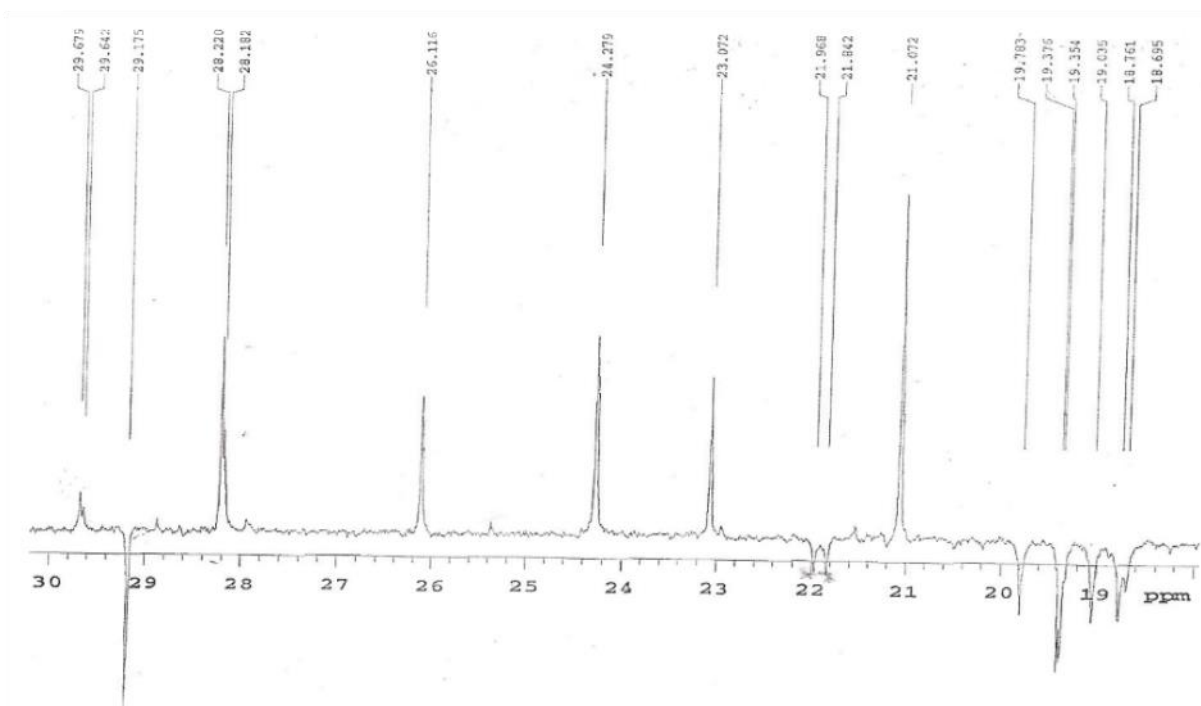


Figura 64: Expansão 3do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de **Pp-9**.

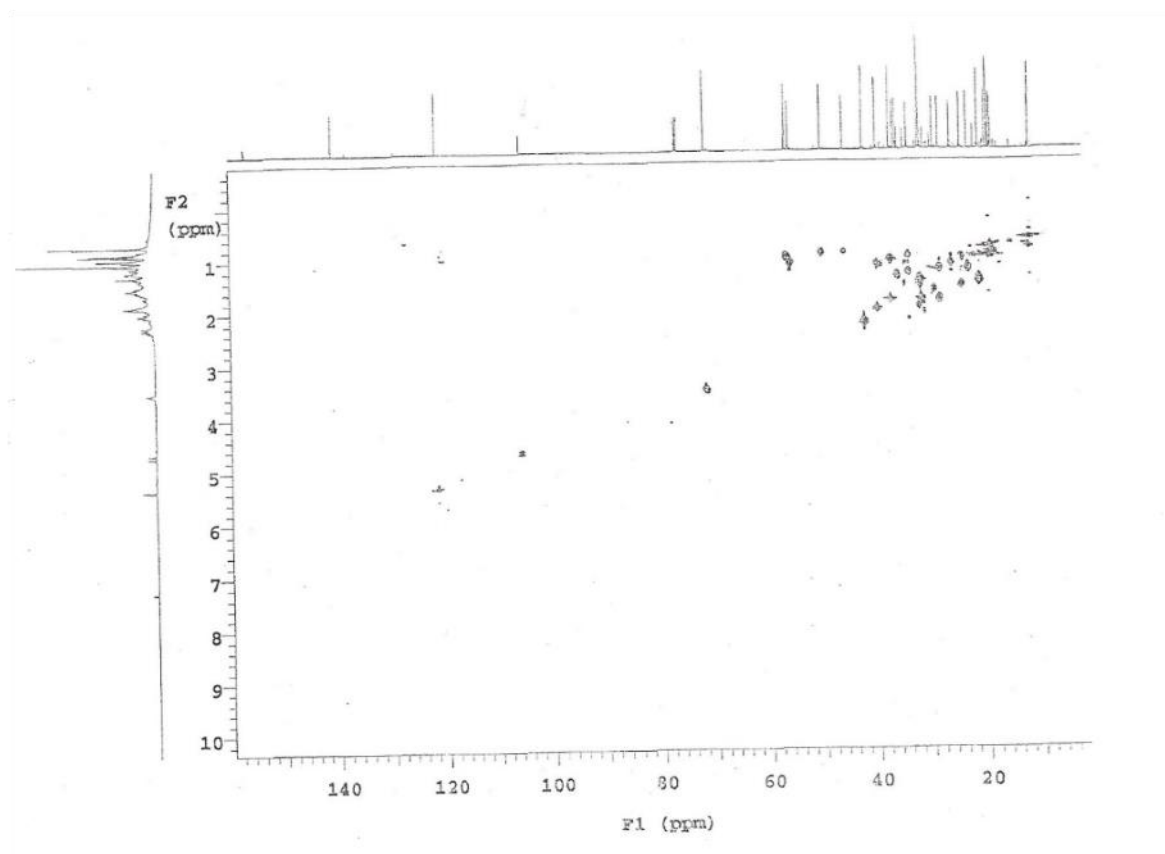


Figura 65: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Pp-9**.

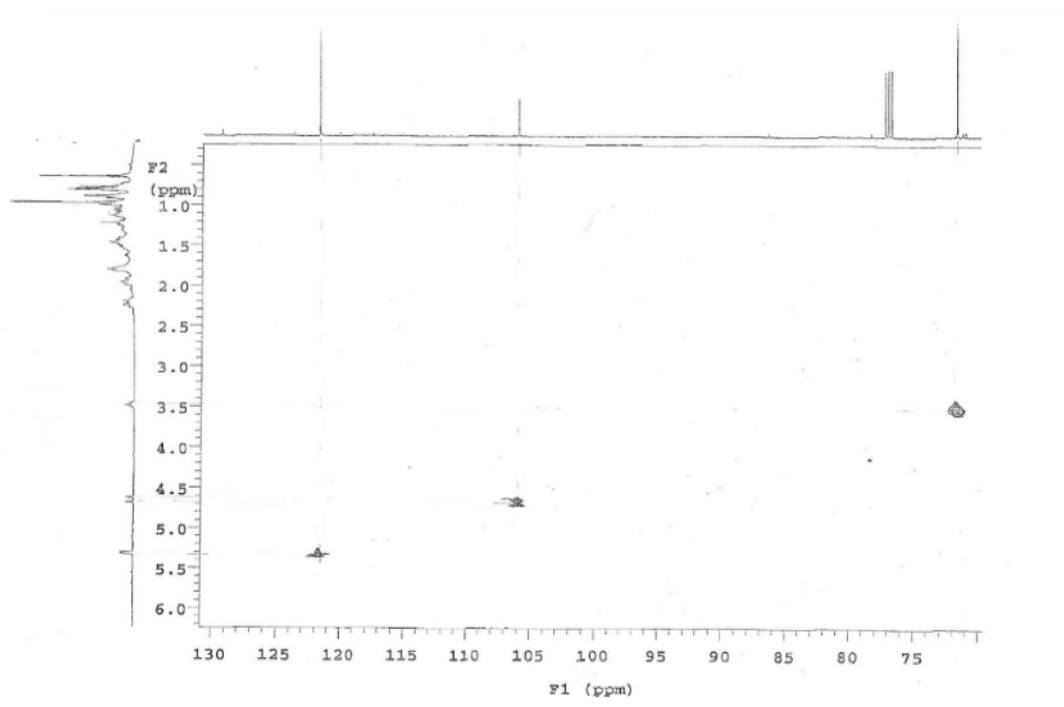


Figura 66: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Pp-9**.

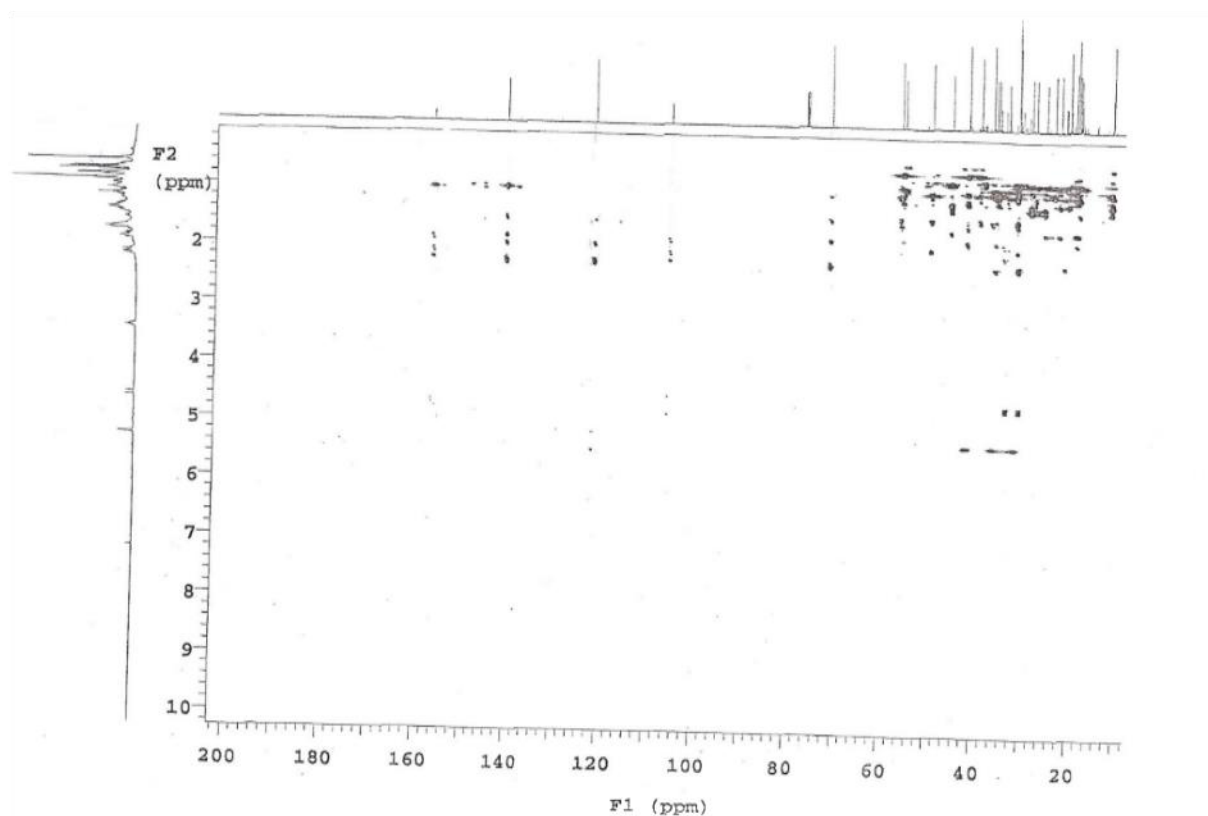


Figura 67: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Pp-9**.

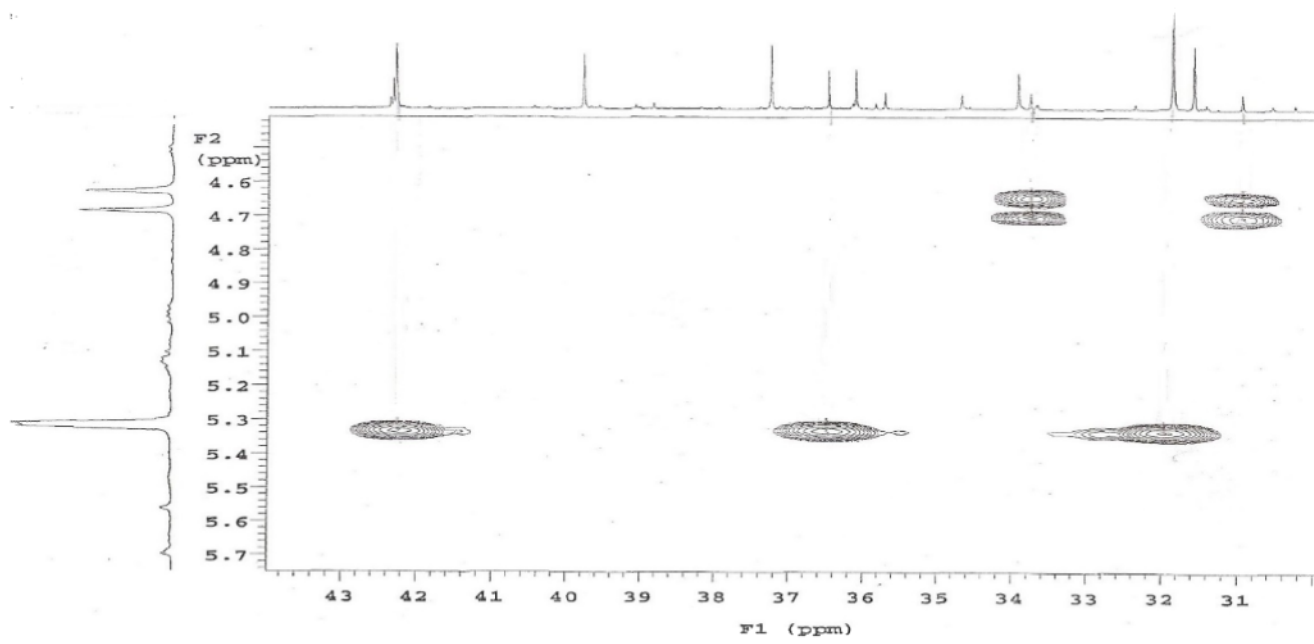


Figura 68: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Pp-9**.

5.2.10 Caracterização estrutural da substância **Pp-6**.

A Substância **Pp-6** foi isolada na forma de cristais amarelos.

As absorções do IV **de Pp-6** (Fig. 69, pag. 119) indicou a presença $\sqrt{C=O}$ de carbonila de aldeído (1.670 cm^{-1}), $\sqrt{C-O}$ ($1.038\text{--}1.172\text{ cm}^{-1}$) e $\sqrt{C=C}$ de núcleo aromático entre 1580 e 1.423 cm^{-1} .

O espectro de RMN¹H (Fig. 70, pag. 119) e suas expansões (Figs. 71 e 72, p. 120) sugerem a presença de um anel tetra substituído, com equivalência nos seus substituintes, ao exibir um sinal com integração para dois hidrogênios que não se acoplam em $\delta_H 7,26$ (S), condizentes com os hidrogênios H-2 e H-6 uma vez que existe um outro singlete em $\delta_H 4.07$, com integração para seis hidrogênios que foi atribuído a duas metoxilas quimicamente e magneticamente equivalentes, sugeridas, portanto, que estariam ligadas aos carbonos C-3 e C-5. Um singlete em $\delta_H 9,92$ com integração para um hidrogênio sugere a presença de um grupo aldeído na molécula e fortalece a proposta dada pelo IV da presença deste grupo em **Pp-6**.

O Espectro de ¹³C-RMN (Fig 73, pag. 121) de **Pp-6** suporta a existência do um anel aromático com equivalência de localização de grupos quando exibe quatro sinais para seis carbono, dos quais o sinal em $\delta_C 147,29$ com intensidade para dois carbonos suportam grupo metoxila, um sinal em $\delta_C 140,75$ com substituinte OH, um carbono em $\delta_C 129,30$ que tem o grupo aldeído como substituinte e um sinal com intensidade para dois carbonos monohidrogenados e equivalentes em $\delta_C 107,35$. O sinal $\delta_C 190,78$ corrobora a proposta da existência na substância em análise de um grupo aldeído e a presença de duas metoxilas em ambientes químico e magneticamente equivalentes é aqui ratificada pela absorção com intensidade para dois carbonos de metoxilas $\delta_C 56,43$. (Tabela 11, p. 118).

A compilação dos dados espectrais e comparações com dados da literatura **Mo-9** (KIM et al., 2003) permitiram identificar **Pp-6** como sendo o 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído (siringaldeído) (Figura p. 118) (Tabela 11, p. 118), inédito na família cactaceae.

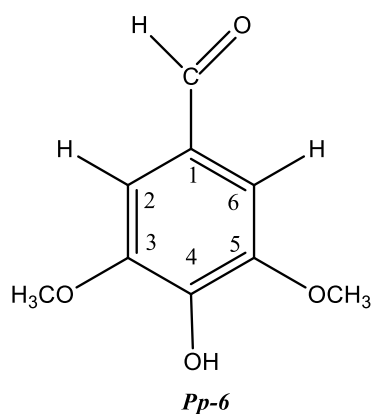


Tabela 11: Dados comparativos de RMN¹³C e RMN ¹H da substância ***Pp-6*** (δ , CDCl₃, 200 e 50 MHz) com modelo *Mo-9* (δ , CDCl₃, 360 e 90 MHz), (KIM. et al., 2003).

<i>Mo-9</i>			<i>Pp-6</i>		
C	δ C	δ H	C	δ C	δ H
1	129,0	–	1	129,30	–
2	107,7	7,21 (s)	2	106,63	7,26(s)
3 OMe	148,9	3,90 (s)	3OMe	147,29	4,07 (s)
4 ArOH	142,9	8,23 (s)	4 ArOH	140,75	7,37 (s)
5 OMe	148,9	3,90 (s)	5 OMe	147,29	4,07 (s)
6	107,7	7,21 (s)	6	106,63	7,26(s)
7	191,1	9,81	7	190,78	9,92 (s)
OMe	56,6	–	OMe	56,43	–

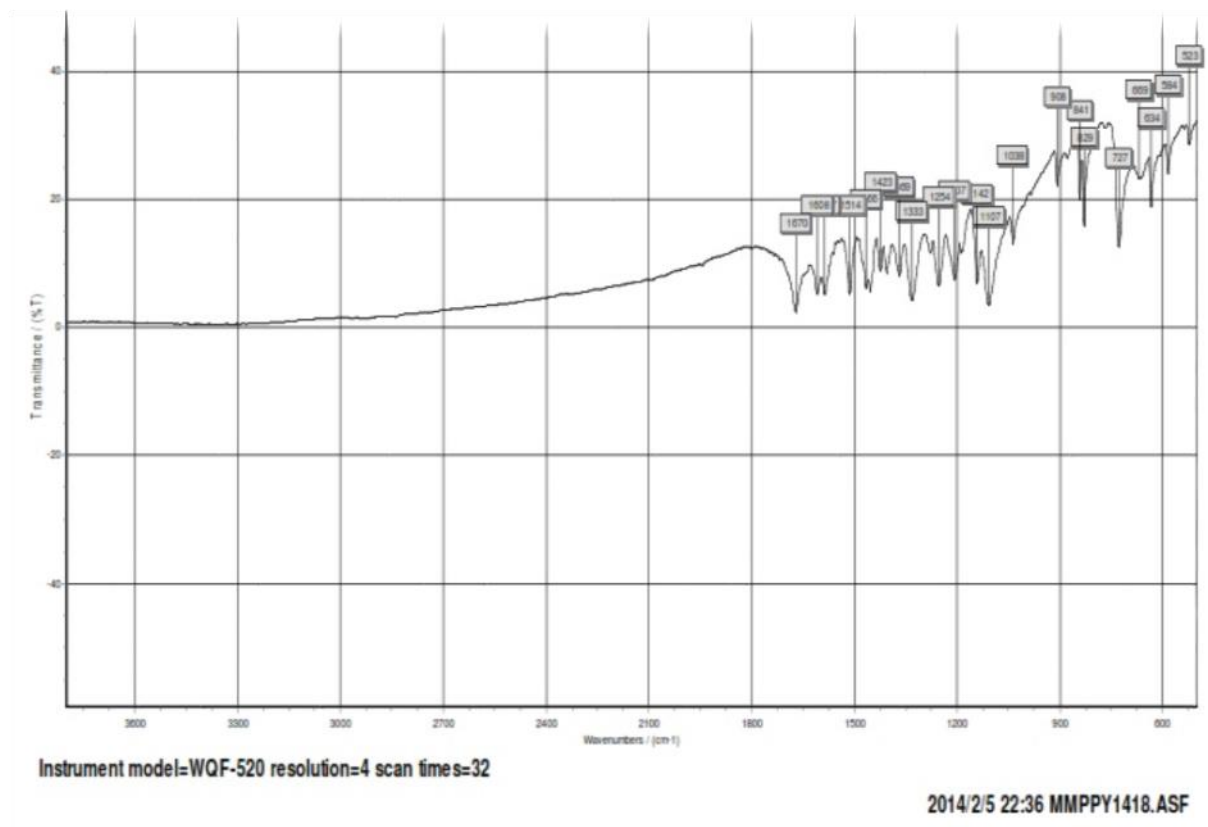


Figura 69: Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de **Pp-6**.

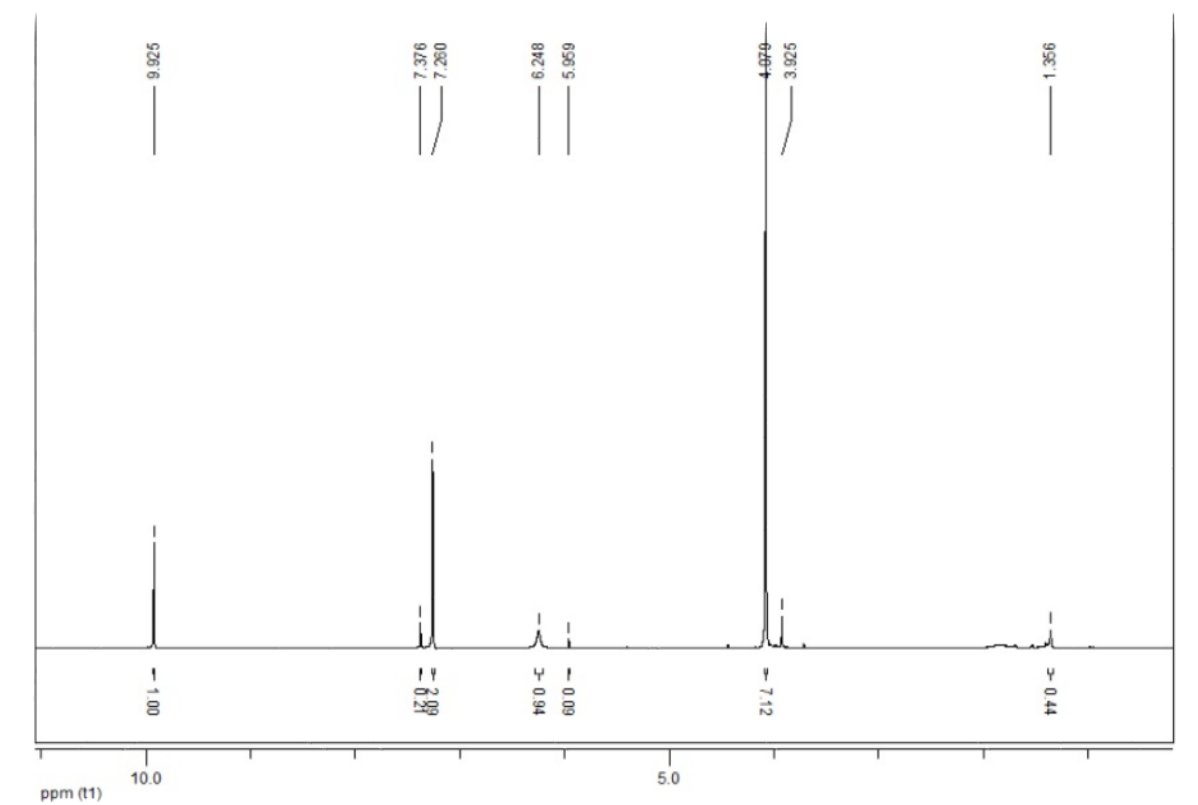


Figura 70: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-6**.

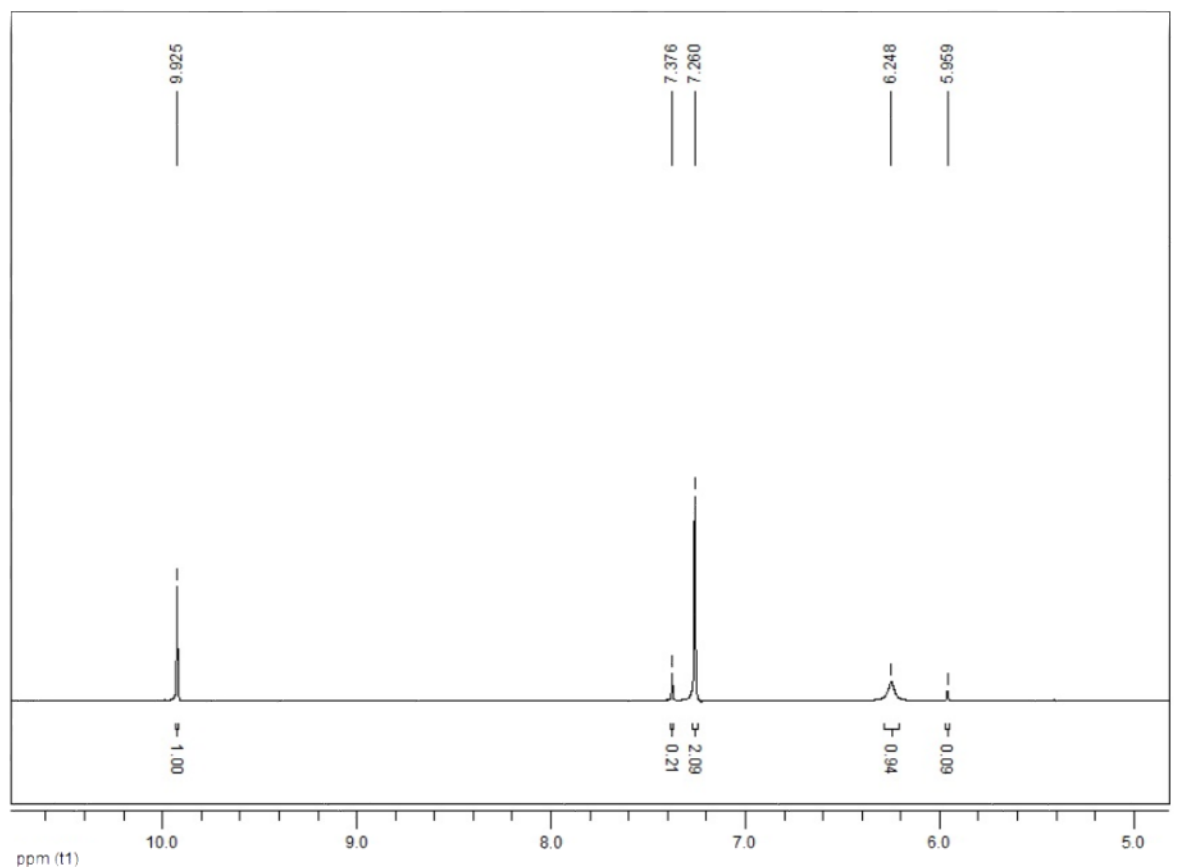


Figura 71: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-6**.

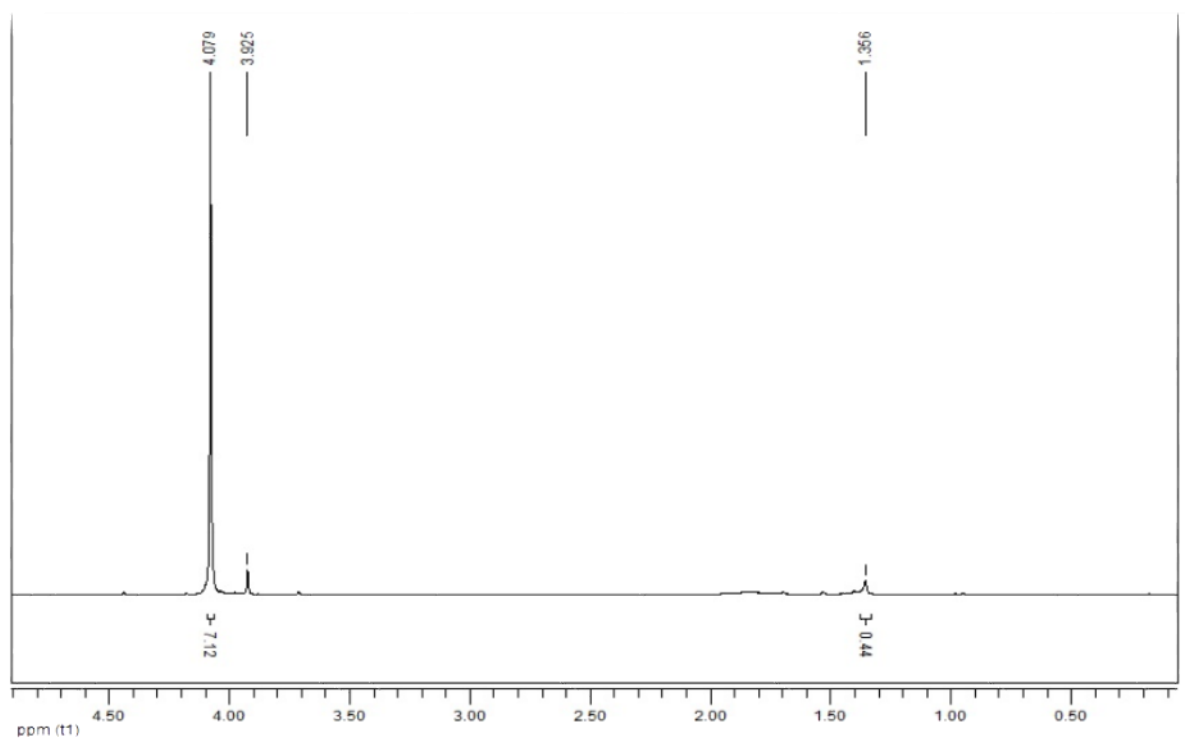


Figura 72: Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Pp-6**.

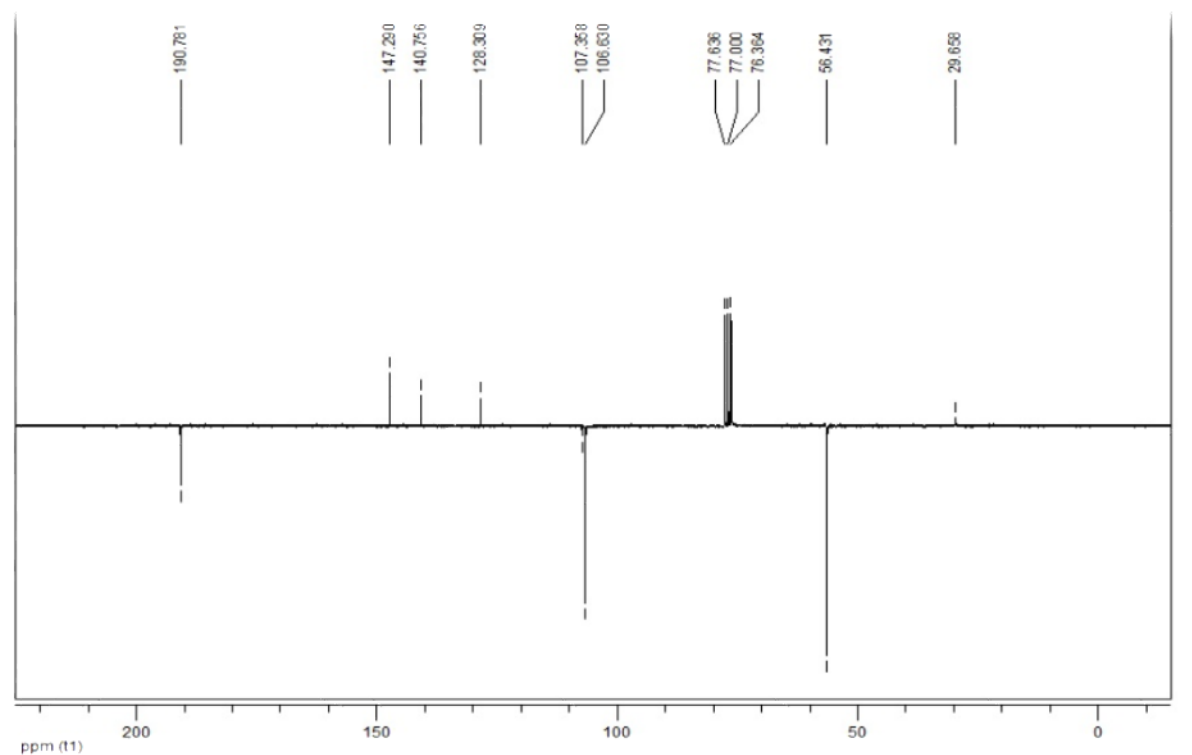


Figura 73: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-6**.

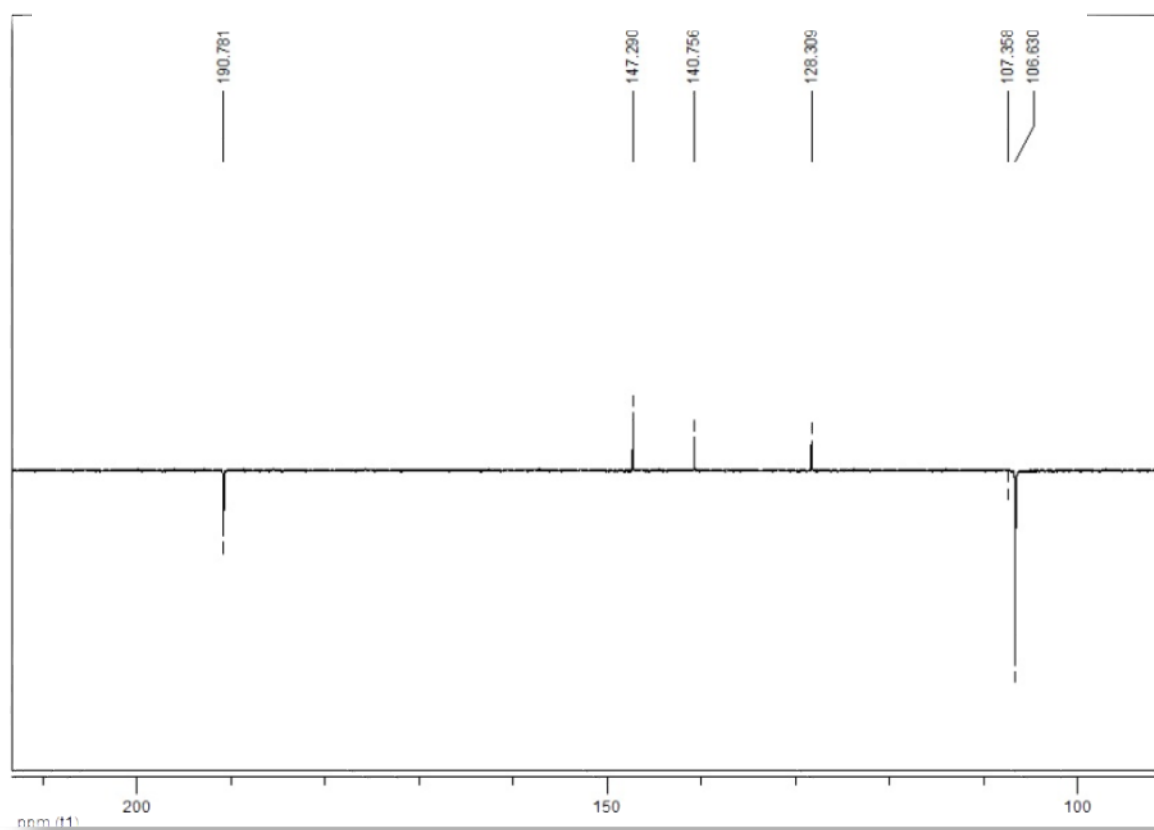


Figura 74: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Pp-6**.

5.2.11 Caracterização estrutural da substância *Pp-8*.

A substância codificada como *Pp-8* foi obtida na forma de cristais brancos.

Os sinais no infravermelho (Fig. 75, pag. 125) indicaram absorções para carbonila de ácido (1655 cm^{-1}), $\nu\text{C}=\text{C}$ de anel aromático são sugeridas pelas bandas entre 1600 e 1400 cm^{-1} , e uma absorção para νOH de grupo hidroxila livre pôde ser visto em 3500 cm^{-1} .

O espectro de ^{13}C RMN (Fig. 79, pag. 127) apoia a existência de anel aromático com seis átomos de carbono pela existência dos sinais em δ_{C} 126,50 (C-1), 131,15 (C-2), 115,91 (C-3), 157,14 (C-4), 115,91 (C-5), 131,15 (C-6) ao observarmos essas absorções na região de aromático. O pico do grupo carbonila de ácido foi observado em δ_{C} 173,29 (C-8). Espectro de ^1H RMN (Fig. 76, pag. 125) mostraram um padrão de acoplamento AA'BB' para H-2, H-3, H-5 e H-6 em 7,13 (d) - $J = 8,6\text{ Hz}$ e 6,78 (d) - $J = 8,6\text{ Hz}$ ao exibirem valores de integrais para dois hidrogênios cada. As absorções de carbono em C-2, C-3, C-5, C-6 e C-7 foram atribuídos pela utilização do espectro HSQC.

Os espectros de correlação bidimensional heteronuclear a duas (2J) e a três ligações ($^3J_{\text{CH}}$) HMBC (Figuras 85 a 87, p. 130 a 131) mostraram correlação a $^2J_{\text{CH}}$ entre o δ_{H} 7,13 (d) (H-2 e H-6) com δ_{C} 115,91 (C-3); δ_{H} 3,50 (s) (H-7) com δ_{C} 173,29 (C-8); δ_{H} 6,78 (H-5) com δ_{C} 157,14 (C-4) e 3J entre δ_{H} 7,13 (d) (H-2) com δ_{C} 40,50 (C-7); δ_{H} 7,13 (H-6 e H-2) com δ_{C} 157,14 (C-4); δ_{H} 6,78 (H-3 e H-5) com δ_{C} 126,50 (C-1); δ_{H} 6,78 (H-3) com δ_{C} 115,91 (C-5); δ_{H} 7,13 (d) (H-2) com δ_{C} 115,91 (C-6) (Figura 86, pg. 130). O HMBC confirmou através do acoplamento entre estes prótons e carbonos as conectividades características de anel fenólico.

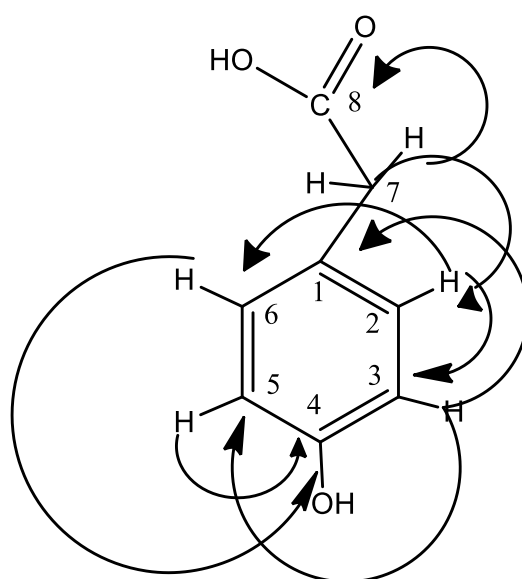
Analisando-se o espectro de correlação bidimensional homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 82, p. 128) tornou-se possível determinar o acoplamento entre os H-2, H-3, H-5 e H-6 em δ_{H} 7,13 (d) com δ_{H} 6,78 (d) do sistema AA'BB'.

A observação de um sinal em δ_{C} 174,80 próximo ao sinal δ_{C} 173,29 (C-8) e que não exibe correlação de acoplamento com os sinais descritos acima, bem como um tripleto em δ_{H} 2,28 ($J=7,4\text{ Hz}$) com integral para 16-H e um multipletto em δ_{H} 1,60 com integral para 16-H, e um sinal em δ_{H} 1,35 com integral para 24-H, permitiu inferir que existe outra substância, em mistura com a substância *Pp-8*.

Essa hipótese foi fortalecida pelos espectros de correlação heteronuclear HSQC e HMBC. No HSQC (Fig. 84, pag. 129) observou-se a correlação direta entre o δ_{C} 34,14 com o tripleto em δ_{H} 2,28; entre o δ_{C} 25,58 com o multipletto em δ_{H} 1,60 e entre o δ_{C} 29,07 com o tripleto largo em δ_{H} 1,35. No HMBC observou-se correlações a 2J entre o δ_{C} 174,80 com o tripleto em δ_{H} 2,28 e a 3J com o δ_{H} 1,60 (m). Outras correlações também foram observadas a

$^2J_{CH}$ entre δ_C 25,58 com o tripleto em δ_H 2,28 e com o tripleto largo em δ_H 1,35; entre δ_C 29,07 com o multipeto em δ_H 1,60 e a $^3J_{CH}$ entre δ_C 34,14 com o tripleto largo em δ_H 1,35. Correlações estas condizentes com uma suposta cadeia de ácido graxo de cadeia linear. O espectro de correlação homonuclear RMN $^1H \times ^1H$ COSY demonstrou correlações entre os hidrogênios H-2 (δ_H 2,28 (t)) e H-3 (δ_H 1,60 (m)) e entre H-3 e H-4 (δ_H 1,35 (tl)). Corroborando a proposta da segunda substância se tratar de um ácido graxo de cadeia linear saturada. Entretanto, os sinais observados nos espectros são ainda insuficientes para a determinação estrutural completa do ácido graxo.

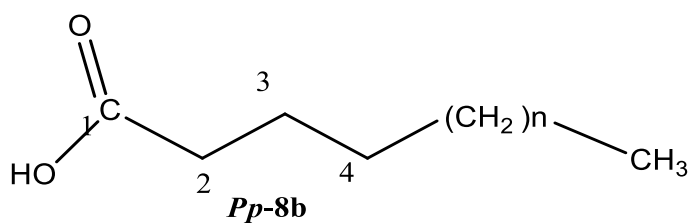
Os dados espectrais nos permitem identificar **Pp-8** como uma mistura do ácido p-hidroxifenilacético (**Pp-8a**) com um ácido graxo de cadeia linear e saturada (**Pp-8b**).



Pp-8a e Correlações no HMBC

Tabela 12: Dados de RMN¹³C e RMN ¹H da substância **Pp-8a** (δ , C₃D₆O, 125 e 500 MHz).

HMQC		
C	δ C	δ H
1	126,50	–
2	131,15	7,13(d) – J=8,6 Hz
3	115,91	6,78 (d) – J=8,6 Hz
4	157,14	–
5	115,91	6,78 (d) – J=8,6 Hz
6	131,15	7,13(d) – J=8,6 Hz
7	40,50	3,50 (s)
8	173,29	–

**Tabela 13:** Dados de RMN¹³C e RMN ¹H (HSQC e HMBC) da substância **Pp-8b** (δ , C₃D₆O, 500 e 125 MHz).

HMQC			HMBC	
C	δ C	δ H	² J	³ J
1	174,80	–	H-2	H-3
2	34,19	2,28 (J=7,4 Hz)		H-4
3	25,58	1,60 (m)	H-2; H-4	
4	29,72	1,35(tl)	H-3	
(CH ₂) _n	–	–		
	–	–		
	–	–		
CH ₃	–	–		

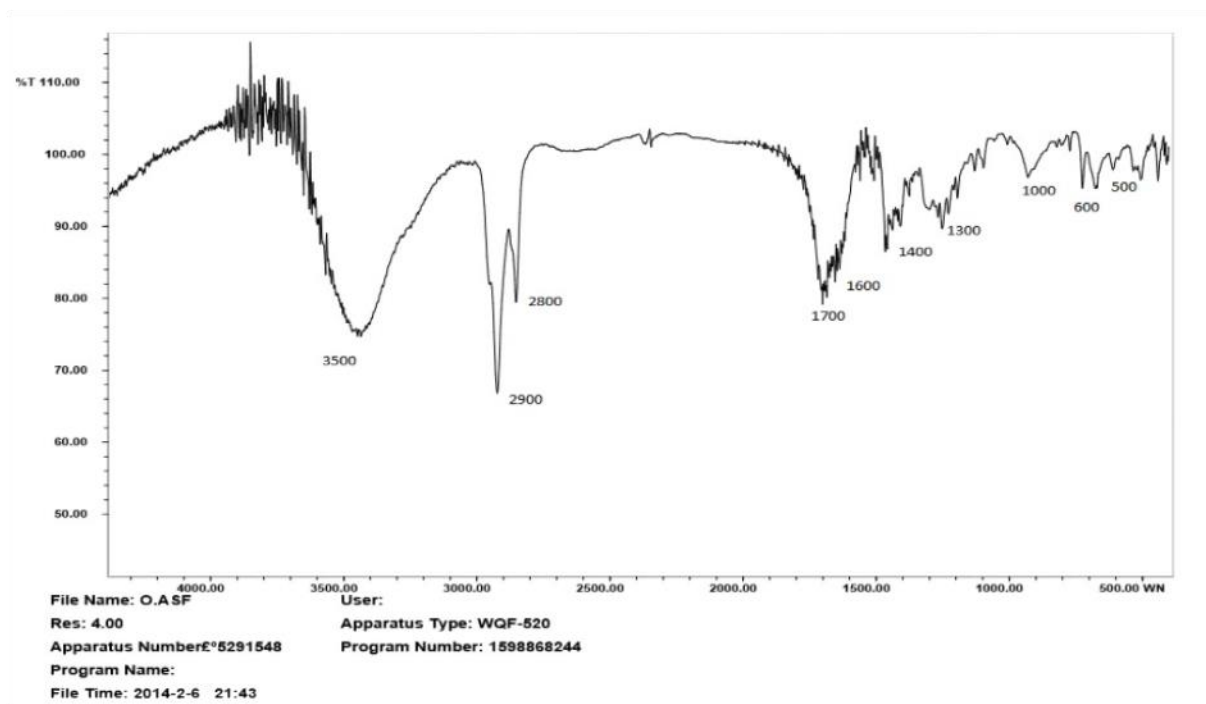


Figura 75: Espectro de IV (KBr , cm^{-1}) de *Pp-8a* e *Pp-8b*.

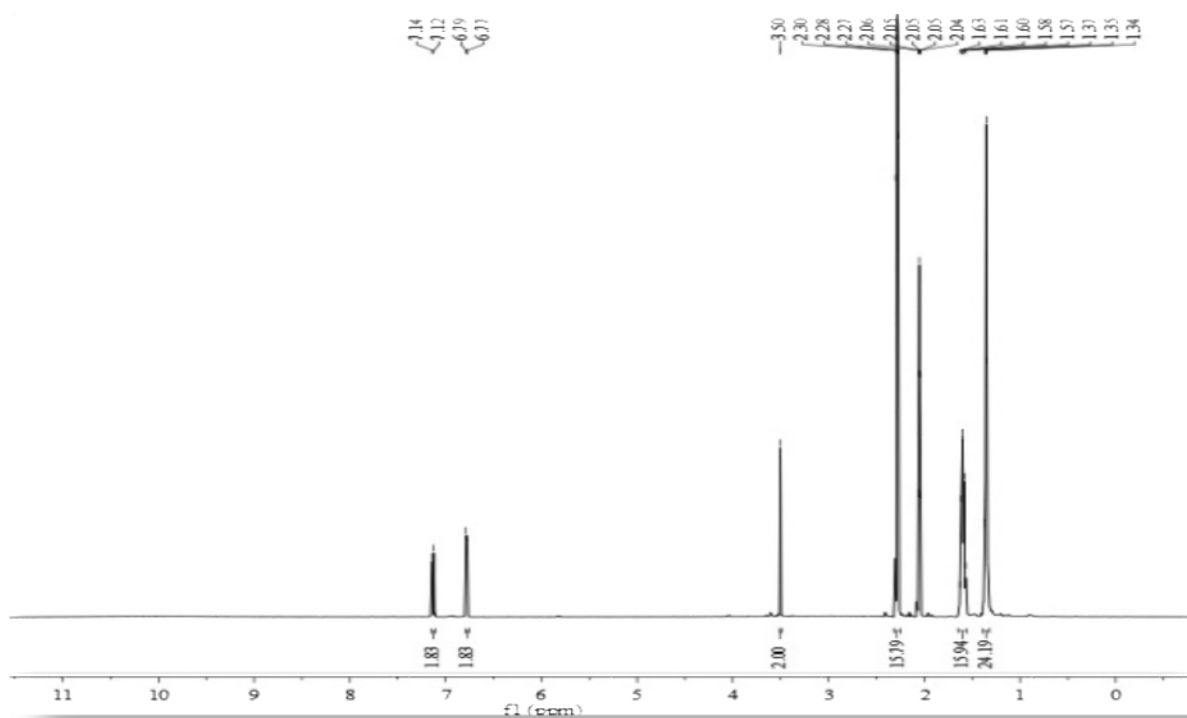


Figura 76: Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de *Pp-8a* e *Pp-8b*.

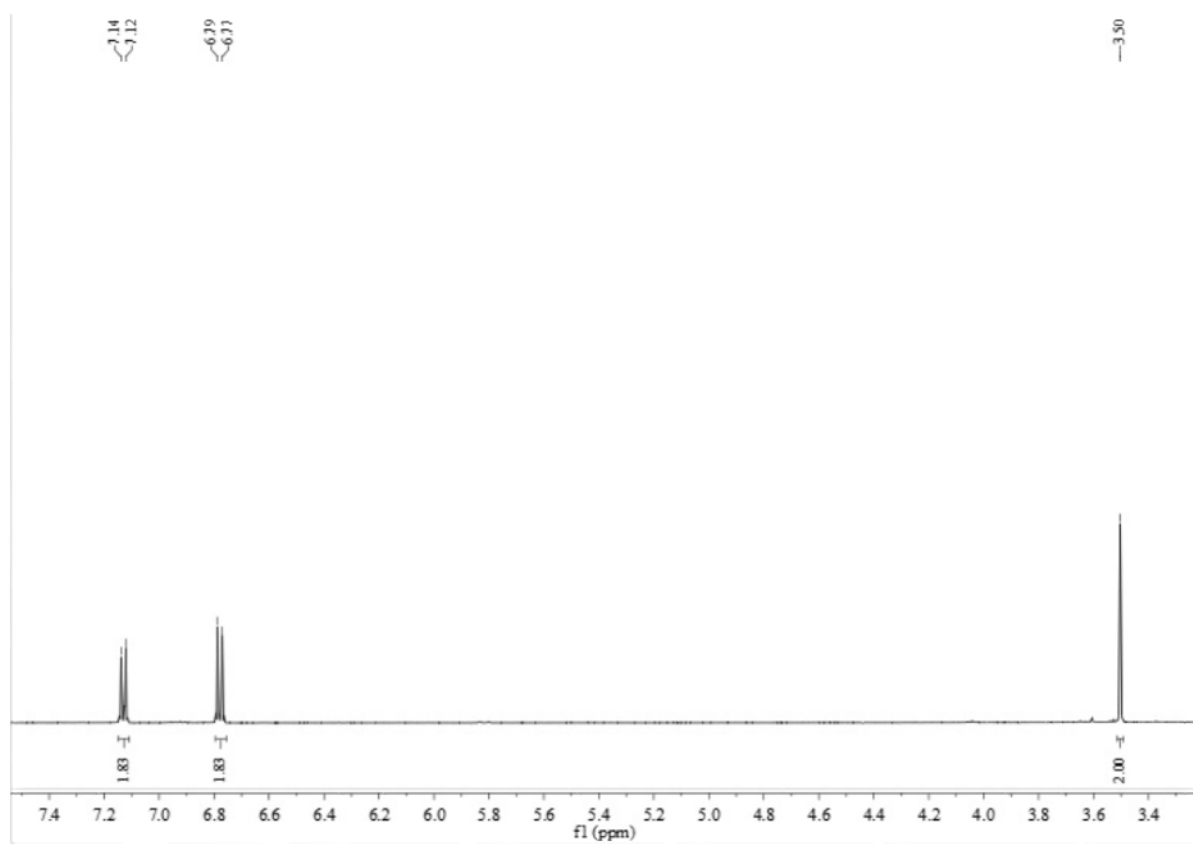


Figura 77: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de **Pp-8a** e **Pp-8b**.

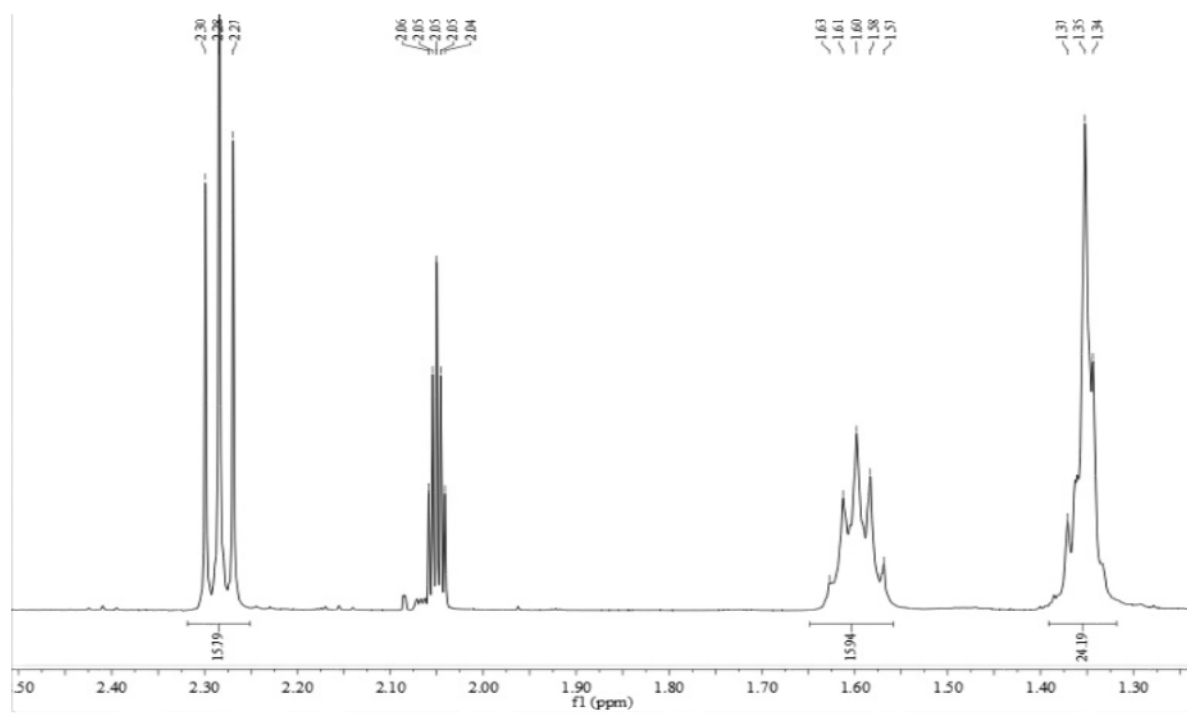


Figura 78: Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de **Pp-8a** e **Pp-8b**.

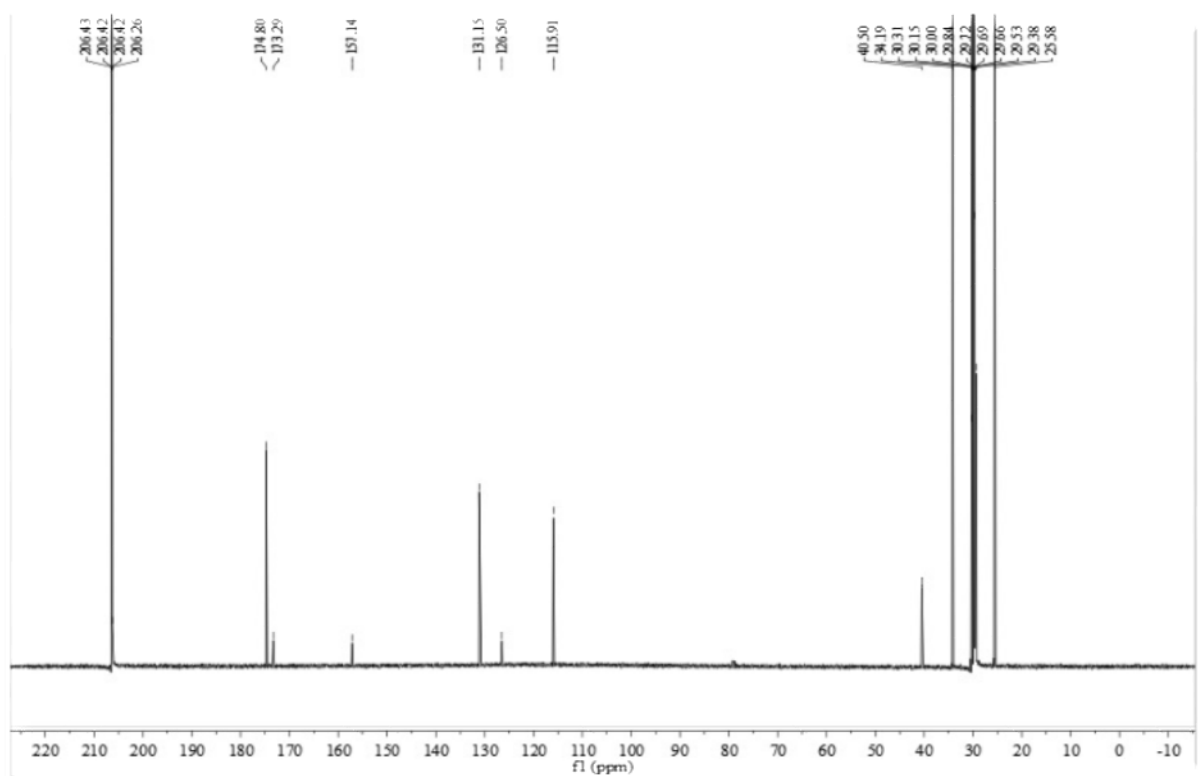


Figura 79: Espectro de RMN ^{13}C BB (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 125 MHz) de ***Pp-8a*** e ***Pp-8b***.

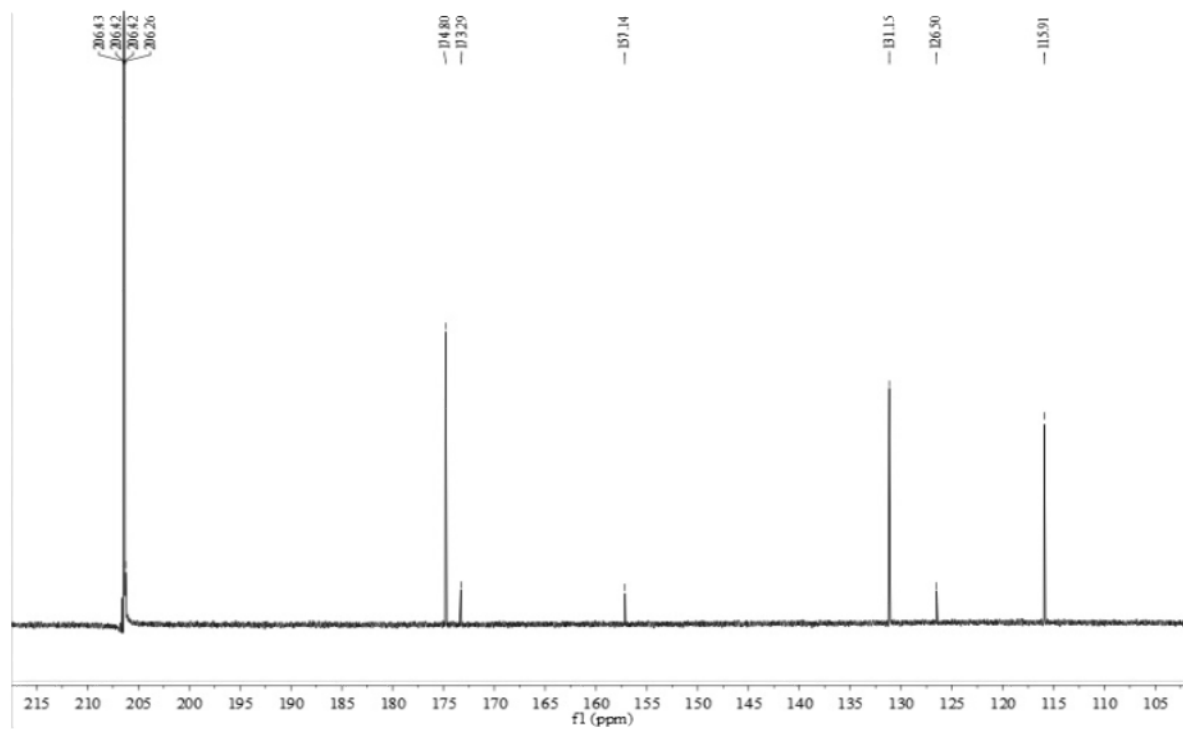


Figura 80: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C BB (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 125 MHz) de ***Pp-8a*** e ***Pp-8b***.

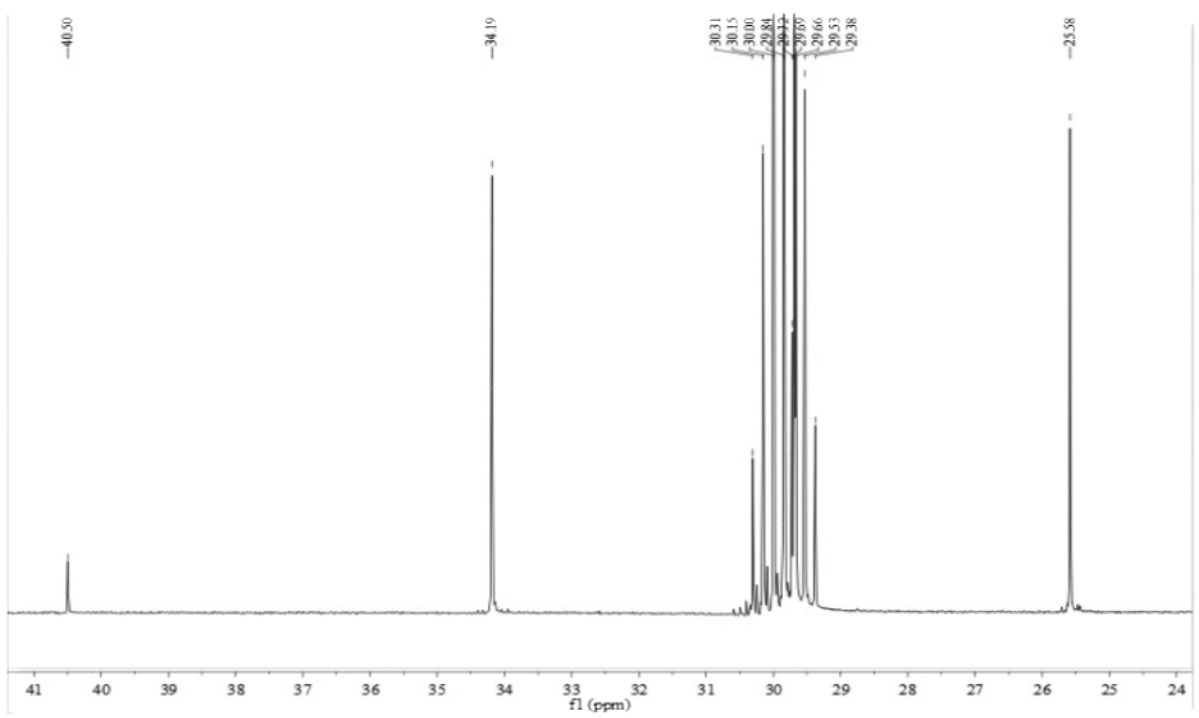


Figura 81: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C BB (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 125 MHz) de *Pp-8a* e *Pp-8b*.

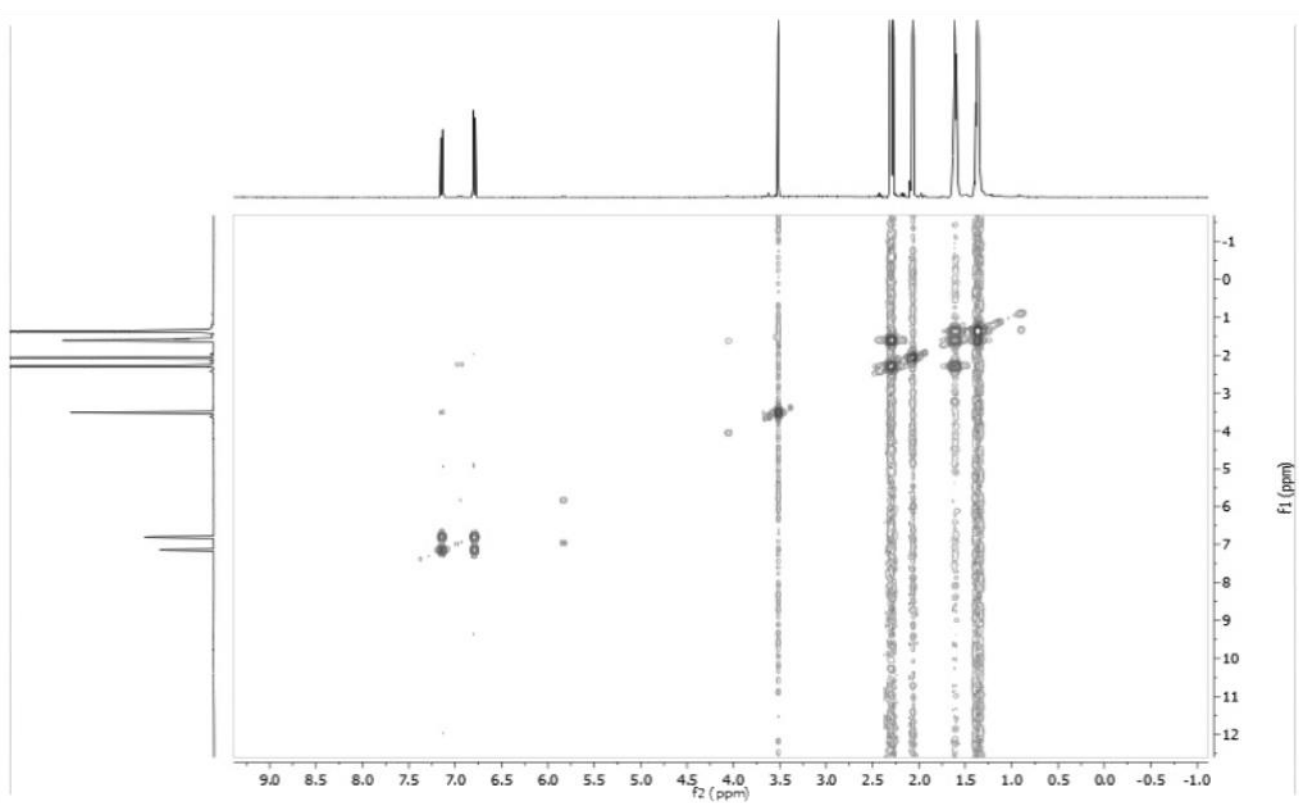


Figura 82: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de *Pp-8a* e *Pp-8b*.

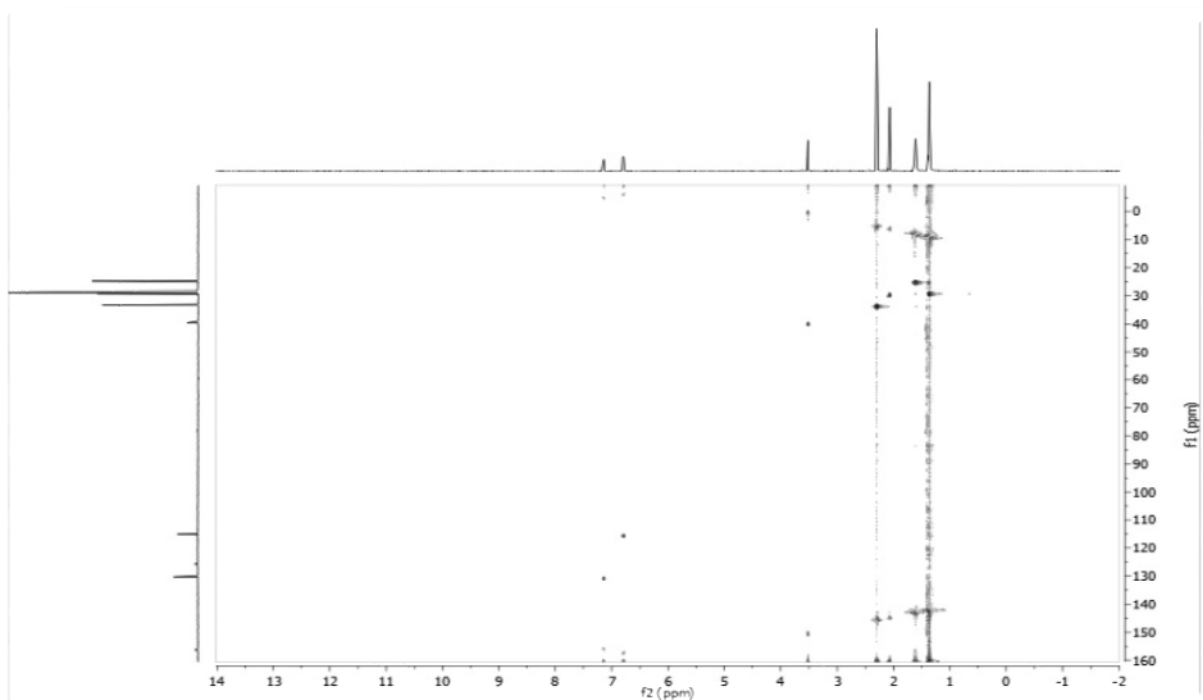


Figura 83: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de ***Pp-8a*** e ***Pp-8b***.

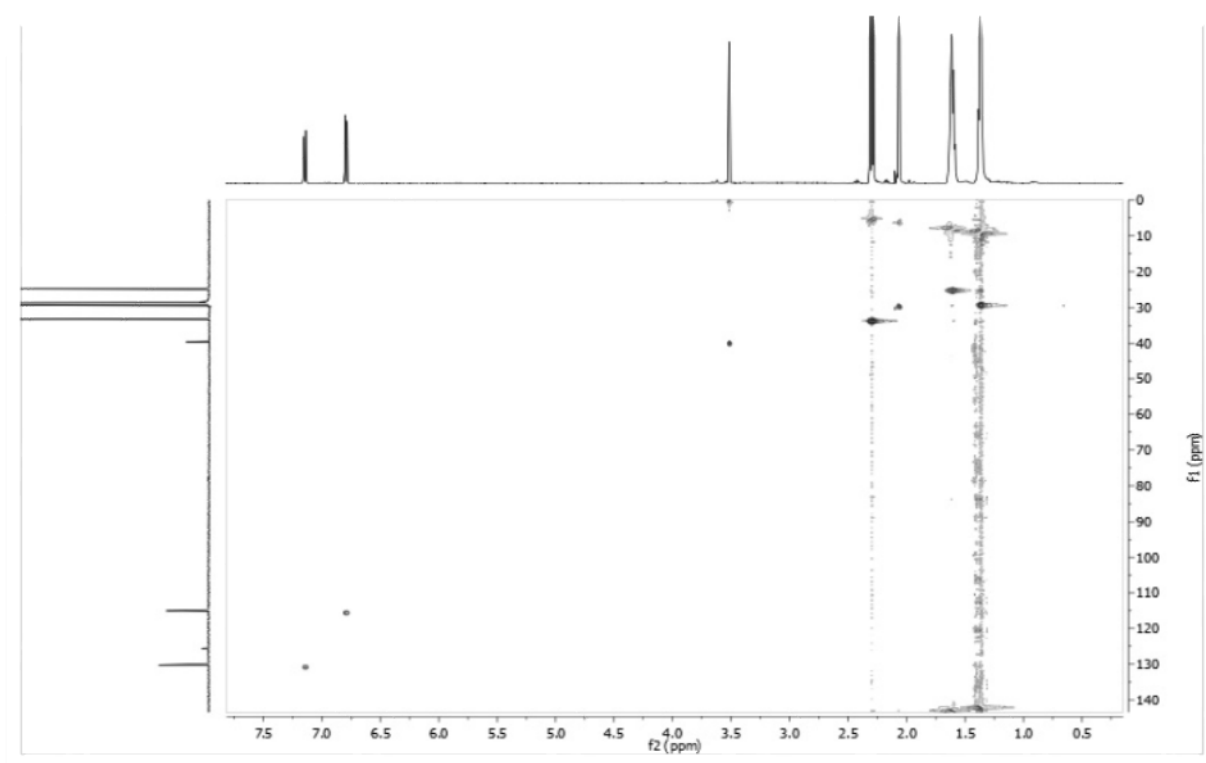


Figura 84: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMQC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de ***Pp-8a*** e ***Pp-8b***.

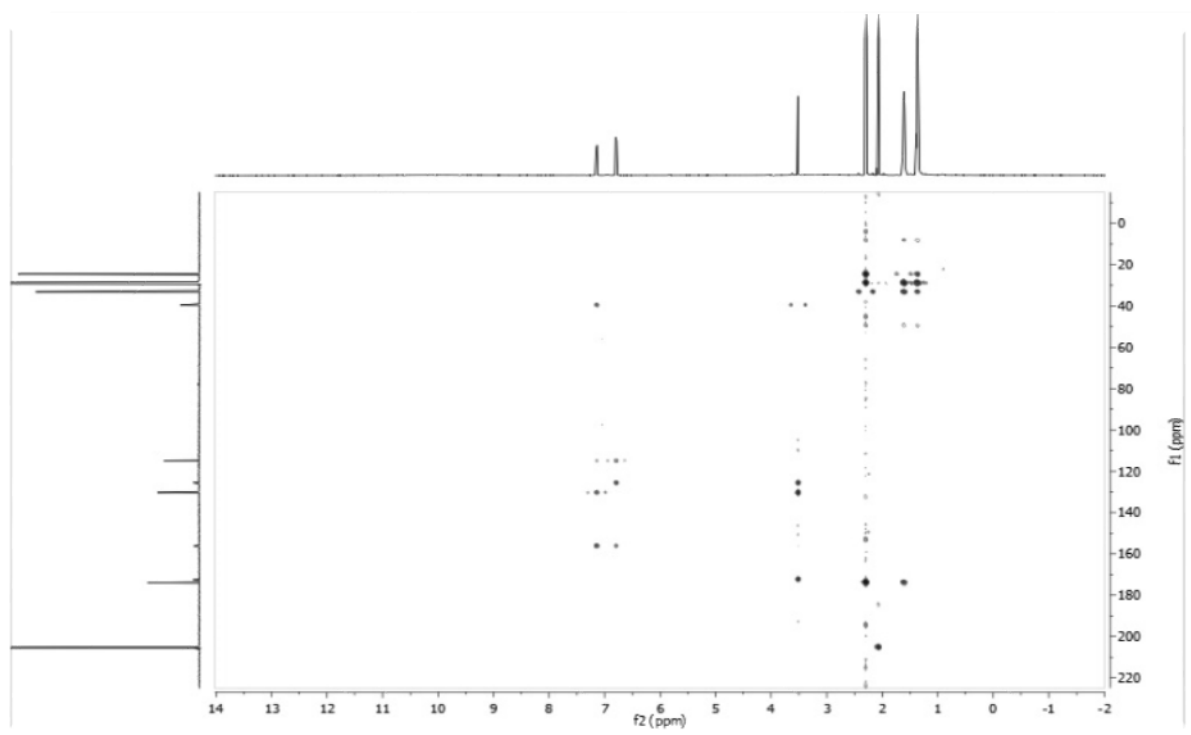


Figura 85: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de *Pp-8a* e *Pp-8b*.

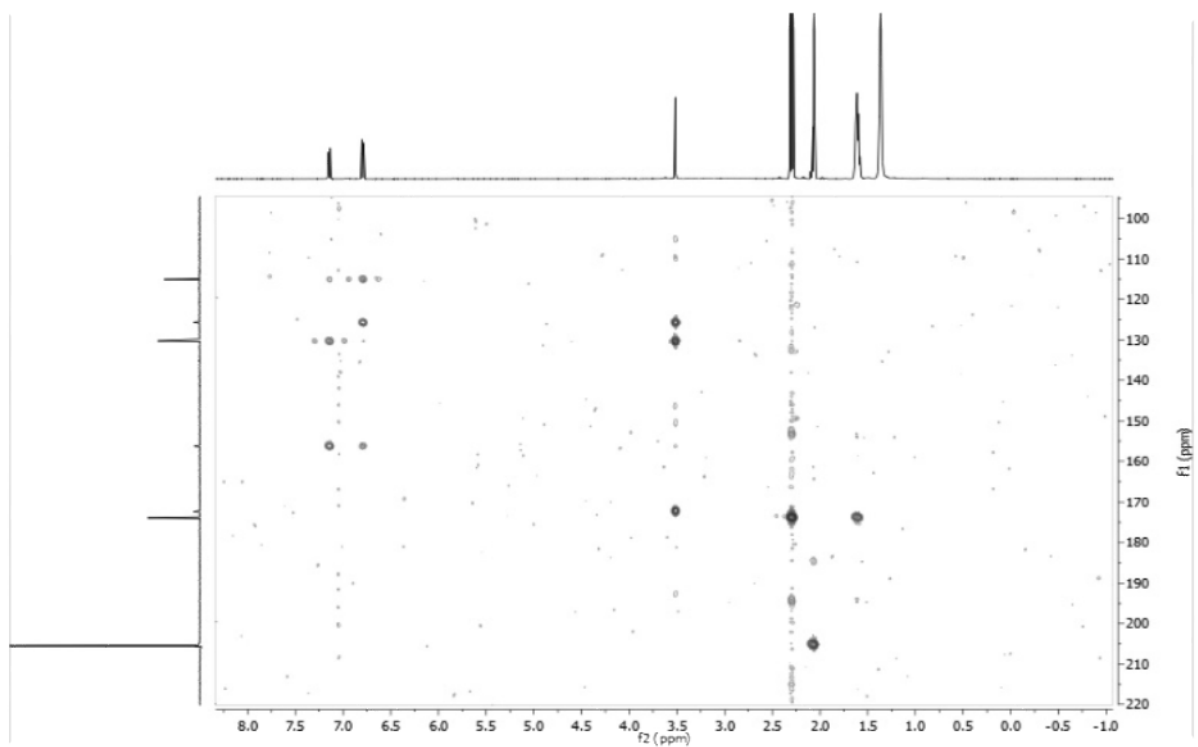


Figura 86: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de *Pp-8a* e *Pp-8b*.

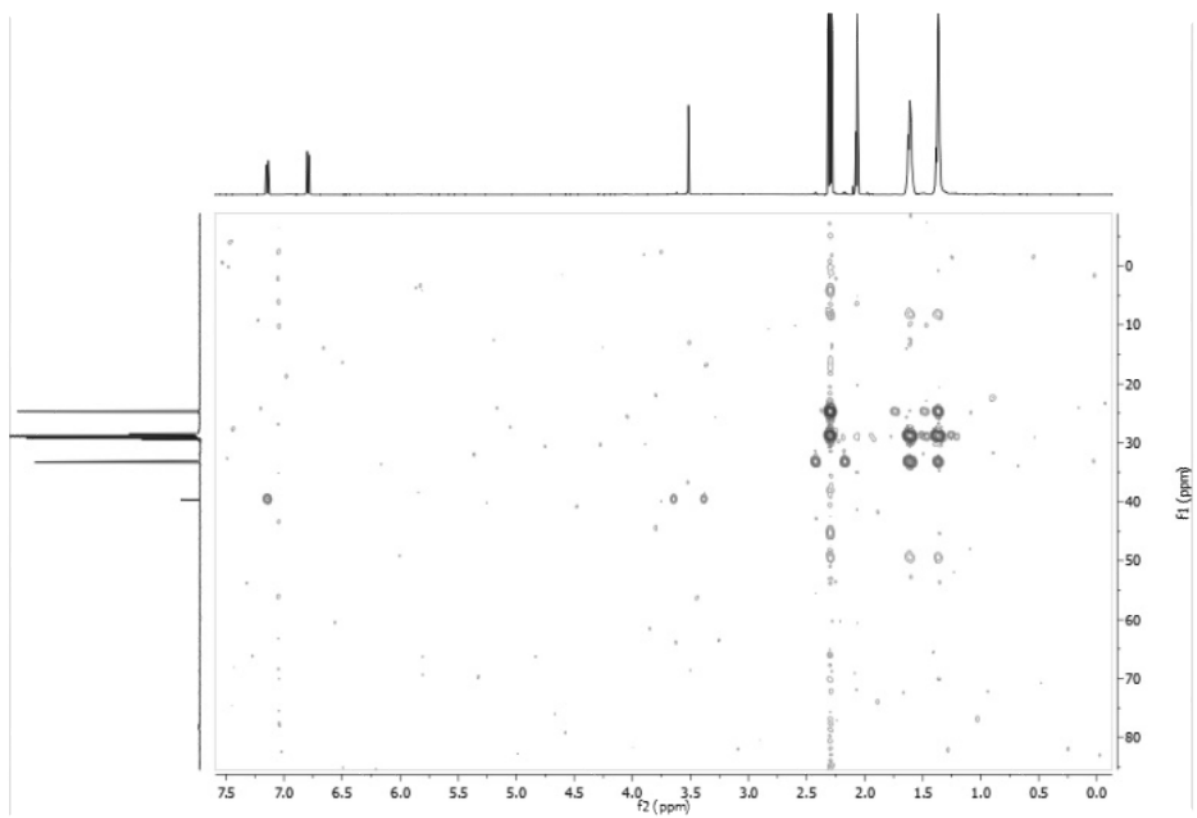


Figura 87: Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 500 MHz) de ***Pp-8a*** e ***Pp-8b***.

5.3 Atividade antimicrobiana

5.3.2 Resultados

Os produtos testados não apresentaram inibição do crescimento bacteriano e fúngico. Os resultados puderam ser considerados negativos para atividade biológica, levando em consideração os parâmetros estabelecidos por Mitcher et al., 1972; Holetz et al., 2002; Houghton et al., 2007 (Tabela 14. p. 132).

Tabela 14: Triagem das cepas bacterianas e fúngicas frente às fases do fruto e do caule de *Pilosocereus pachycladus* F.RITTER.

	Produto – 1024 µg/mL										Controle			
MICROORGANISMO	Fase N-butanólica (FRUTO)	Fase Hexânica (FRUTO)	Fase Hidroalcoólica (FRUTO)	Fase AcOEt (FRUTO)	Fase CH ₂ Cl ₂	Fase n-butanólica (CAULE)	Fase Hexânica (CAULE)	Fase Hidroalcoólica (CAULE)	Fase AcOEt (CAULE)	Fase CH ₂ Cl ₂ (CAULE)	Cloranfenicol	Nistatina	Cepa de Microorganismo	Esterilidade
<i>S. aureus</i> ATCC- 6538	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-		+	-
<i>S. aureus</i> M-117	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-		+	-
<i>S. epidermidis</i> 12228	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-		+	-
<i>P. aeruginosa</i> P 12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-		+	-
<i>P. aeruginosa</i> LM 13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-		+	-
<i>C. albicans</i> ATCC-76645	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	+	-
<i>C. albicans</i> LM-108	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	+	-
<i>C. albicans</i> LM-106	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	+	-
<i>C. tropicalis</i> ATCC- 13803	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	+	-
<i>C. tropicalis</i> LM-14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	+	-
<i>Candida</i> kruseiLM-13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	+	-
<i>C. krusei</i> LM-08	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		-	+	-

5.4 Atividade moduladora da resistência bacteriana

5.4.1 Resultados e Discussão

As fases do caule não mostraram nenhuma atividade antibacteriana a 256 µg/mL contra quaisquer cepas de *Staphylococcus aureus* (CIM ≥ utilizados 512 µg / mL). Quando o composto foi incorporado no meio de crescimento a 128 µg/mL ($\leq \frac{1}{4}$ CIM), uma redução 2 vezes maior na CIM foi observada para a tetraciclina nas fases hexânica, diclorometânica e n-butanólica. Na fase diclorometânica foi observada uma redução de 4x para o norfloxacino e para o brometo de etídio. Mostrando que nesses casos houve modulação da atividade o antibiótico através inibição da bomba de efluxo (Tabela 15. p. 134).

As fases do fruto não mostraram nenhuma atividade antibacteriana a 256 µg/mL contra quaisquer cepas de *Staphylococcus aureus* (CIM ≥ utilizados 512 µg / mL). Quando o composto foi incorporado no meio de crescimento a 128 µg/mL ($\leq \frac{1}{4}$ CIM) uma redução 2 vezes maior na CIM foi observada para o norfloxacino, nas fases hexânica e acetato de etila, para o brometo de Etídio foi observada uma redução de (2x) na fase acetato de etila. A fase hexânica apresentou uma redução de (4x) para tetraciclina. A fase diclorometânica apresentou uma redução de (4x) para o norfloxacino e brometo de etídio. Desta forma as fases do fruto descritas, assim como as do caule, demonstram também capacidade de modulação da atividade antimicrobiana através da inibição da bomba de efluxo (Tabela 16. p. 134).

O Siringaldeído oriundo da fase diclorometânica do caule não mostrou nenhuma atividade antibacteriana a 256 µg/mL contra quaisquer cepas de *Staphylococcus aureus* (CIM ≥ utilizados 512 µg / mL). Quando o composto foi incorporado no meio de crescimento a 128 µg/mL ($\leq \frac{1}{4}$ CIM), uma redução 32 vezes maior na CIM foi observado para a tetraciclina, uma redução dramática da CIM do antibiótico, a norfloxacina teve uma redução de 2 vezes, o brometo de etídio duas vezes e a eritromicina não teve redução. (Tabela 17. p. 134) .

O Siringaldeído modulou a atividade dos antibióticos através da redução da concentração de antibiótico necessária para inibir o crescimento das bactérias resistentes às drogas. Esta atividade pode ser relacionada à sua lipofilicidade, uma característica comum de vários inibidores de bomba de efluxo. Esta qualidade, conforme apontado por Gibbons (2004), é provavelmente importante para a solubilidade na membrana bacteriana e para a ligação com transportadores de efluxo.

Assim, os resultados aqui apresentados indicam que *Pilosocereus pachycladus* F.RITTER (Cactaceae) e algumas de suas fases podem servir como uma fonte de produtos

naturais que modulam a resistência bacteriana a múltiplas drogas, sendo o Siringaldeído (**Pp-6**) um modelo estrutural bastante promissor como uma fonte potencial de adjuvante antibiótico.

Tabela 15: Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) de teste em cepas para antibióticos na ausência e na presença das fases do caule 128 $\mu\text{g/mL}$

Linhagem/Antibiótico	CAULE	Antibiótico + Fase(1/4 CIM)				
	Antibiótico isolado	Fase hidroalcoólica	Fase Hexânica	Fase CH_2Cl_2	Fase AcOEt	Fase n-Butanólica
IS-58/Tetraciclina	64	64	32 (2x)	32 (2x)	64	32 (2x)
RN-4220/Eritromicina	>256	>256	>256	>256	>256	>256
AS-1199B/Norfloxacina	128	128	128	32(4x)	128	128
Brometo de Etídio	32	32	32	8(4x)	32	32

Tabela 16: Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) de teste em cepas para antibióticos na ausência e na presença das fases do Fruto - 128 $\mu\text{g/mL}$

Linhagem/Antibiótico	FRUTO	Antibiótico + Fase(1/4 CIM)				
	Antibiótico isolado	Fase hidroalcoólica	Fase Hexânica	Fase CH_2Cl_2	Fase AcOEt	Fase n-Butanólica
IS-58/Tetraciclina	64	64	16 (4x)	32 (2x)	64	64
RN-4220/Eritromicina	>256	>256	>256	>256	>256	>256
AS-1199B/Norfloxacina	128	128	64 (2x)	32(4x)	64 (2x)	128
Brometo de Etídio	32	32	32	8(4x)	16(2x)	32

Tabela 17: Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) de teste em cepas para antibióticos na ausência e na presença de 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído (Siringaldeído) - 128 $\mu\text{g/mL}$

Linhagem/Antibiótico	Antibiótico isolado	Antibiótico + <i>Pp-6</i> (1/4 CIM)
IS-58/Tetraciclina	64	4 (32x)
RN-4220/Eritromicina	≥ 256	>256
AS-1199B/Norfloxacina	128	64 (2x)
Brometo de Etídio	32	16 (2x)

CONCLUSÕES

8. CONCLUSÕES

- O desenvolvimento deste estudo expõe a sua importância para o conhecimento da espécie *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER e contribui para o conhecimento quimiotaxonomico da família Cactaceae que se caracteriza com a identidade da região do semiárido brasileiro.
- Através de métodos cromatográficos usuais e técnicas espectroscópicas de IV, RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais e comparações com os dados da literatura foi possível isolar e identificar 12 constituintes químicos de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER sendo definidas as estruturas químicas como: um álcool alifático (**Pp-1**), duas substancias graxas, (**Pp-2 e Pp-8b**); cinco esteroides, (**Pp-5, Pp-7, Pp-9, Pp-10 e Pp-11**); duas feofitinas, (**Pp-3 e Pp-4**); duas substâncias fenólicas, (**Pp-6 e Pp-8**).
- As substâncias **Pp-5, Pp-7, Pp-9, Pp-10 e Pp-11** foram descritos pela primeira vez no gênero *Pilosocereus*, os constituintes químicos **Pp-1, Pp-2, Pp-3, Pp-4, Pp-6 e Pp-8** tratam-se de substâncias inéditas na família Cactaceae fatos estes que mostram a importância quimiotaxonomica deste trabalho.
- Os estudos pioneiros, fitoquímico e da atividade antimicrobiana, de *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER permitiu se conhecer as classes de metabólitos secundários presentes na espécie e contribuir para o conhecimento científico da atividade farmacológica desta espécie, uma vez que, os resultados aqui apresentados indicam que *Pilosocereus pachycladus* F. RITTER (Cactaceae) pode servir como uma fonte de produtos naturais que modulam a resistência bacteriana a múltiplas drogas, sendo a substância codificada como **Pp-6** e caracterizada estruturalmente como Siringaldeído um metabólito secundário bastante promissor como uma fonte potencial de adjuvante antibiótico.

9. REFERÊNCIAS

ABUD, H.F.; GONÇALVES, N. R.; REIS, R.G.E.; PEREIRA, D.S. & BEZERRA, A.M.E. Germinação e expressão morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Pilosocereus pachycladus* Ritter. **Revista Ciência Agronômica**, 41, n. 3, p. 468-474, 2010.

ABDUL-WAHAB, I.R.; GUILHON, C.C.; FERNANDES, P.D. & BOYLAN, F. Anti nociceptive activity of *Pereskia bleo* Kunth. (*Cactaceae*) leaves extracts. **Journal of Ethnopharmacology** 144, 741–746, 2012.

AGRA, M. F. **Plantas da medicina popular dos Cariris Velhos-Espécies mais comuns**. Editora União. 1ª ed. João Pessoa, Paraíba-Brasil, 1996.

AGRA, M.F; SILVA, K. N; BASÍLIO, I. J. L. D; FREITAS, P.F; BARBOSA-FILHO, J.M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia. João Pessoa**, 18: 472-508, 2008.

AHMAD, A.; DAVIES, J.; RANDALL, S.; SKINNER, G.R.B. Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*. **Antiviral Research** 30, p75-85, 1996.

AHMED, W.; AHMAD, Z.; MALIK, A. Stigmasteryl galactoside from *Rhynchosia minima*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 4038-4039, 1992.

AHMED, M. S.; El Tanbouly, N. D.; Islam, W. T.; Sleem, A. A. & El Senousy, A. S. Antiinflammatory Flavonoids from *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl) Haw. Flowers growing in Egypt. **Phytother. Res.** 19, 807–809, 2005.

ALLIGIANAIS, N.; KALPOTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINOU, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, p.4168-4170, 2001.

ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais brasileiras**. 1ª Ed. São Paulo: Editora Hemus, 1993.

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.

AQUINO, R.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C.; CERRI, R.; MELOO, J. F.; Quinovic acid glycosides from *Guettarda platypoda*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 9, p. 2927-2930, 1988.

BALESTRIN, L. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades alelopática, antibacteriana e antioxidante de *Dorstenia Multiformis* miquel, Moraceae**. Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BANG, MH, HAN, JT, KIM, HY, PARK, YD, PA , CH, LEE, KR, BAEK, NI. 13-hydroxy-9Z,11E,15E-octadecatrienoic Acid from the Leaves of *Cucurbita moschata*. **Arch. Pharm. Res.**, 25, 438-440, 2002.

BARBERA, G.; INGLESE, P.; BARRIOS, E. **Agroecología, cultivos y usos del nopal. Estudio FAO producción y protección vegetal**. Roma: FAO, p. 85, 1999.

BARBERA, G. **História e importância econômica e agroecológica**. In: Barbera, G.; Inglese, P. y Pimienta-Barrios, E. Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira. FAO/SEBRAE, 132, 1-11, 2001.

BARBOSA, A.S. & ANDRADE, A. P. de. Grupo de pesquisa - lavoura \ xerófila. **Cactaceae: uma breve descrição e ecologia de algumas cactáceas de ocorrência no semiárido paraibano, Brasil, 2011**. Disponível em: http://www.insa.gov.br/grupodepesquisa-lavouraxerofila/index.php?option=com_content&view=category&id=67&Itemid=76&lang=pt Acessado em: 10 de junho de 2014.

BIGGS, J. M. (Inventor). Anti-viral compositions. Patent UK 2339532. 02/02/2000.

BRUHN, J.G. & SANCHEZ-MEJORADA, H. Phenethylamines from *Echinocereus cinerascens* and *Pilosocereus chrysacanthus*. **Phytochemistry**. Vol 16, p 622-623, 1977.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010

BRITO FILHO, S. G.; FERNANDES, M. G.; CHAVES, O. S.; CHAVES, M. C. O.; ARARUNA, F. B.; EIRAS, C.; LEITE, J. R. S.A.; AGRA, M. F.; BRAZ-FILHO, R.; SOUZA, M. F. V. Chemical constituents isolated from *Turnera subulata* Sm. and electrochemical characterization of phaeophytin b. **Química Nova**, v. 37, n. 4, 603-609, 2014.

BROWN, S.D.; MASSINGILL, J.L.; HODGKINS, J.R.E. & HODGKINS, J.E. Cactus Alkaloids. **Phytochemistry**, Vol 7, p2031-2036. 1968.

BURRET, F.; LEBRETON, PH.; VOIRIN, B. Les aglicones flavoniques de Cactées: Distribution, significati on. **Journal of natural Products**, vol 45, n 6, 1982

CAVALCANTI, N.B. & RESENDE, G.M. Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de Mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.), Facheiro (*Pilosocereus pachycladus* RITTER), Xique-xique (*Pilosocereus gounellei* (A. WEBWR EX K.SCHUM.) BLY. EX ROWL.) e Coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis* BRITTON & ROSE). **Caatinga**, v.20, n.1, 2007.

CLELAND, R.; SQUIRES, E. Evalution of new antimicrobials “in vitro” and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15. Wayne, PA, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.

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

DUAN, H.; TAKAISHI, Y.; MOMOTA, H.; OHMOTO, Y.; TAKI, T. Immunosuppressive constituents from *Saussurea medusa*. **Phytochemistry**, v. 59, p. 85-90, 2002.

DZIDIC, S.; SUSKOVIC, J.; KOS, B. Antibiotic resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. **Food Technology Biotechnology**, v. 46 (11), p. 11-21, 2008.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica*, v. 64, p. 711-713, 1978.

ER, H. M.; CHENG, E.H.; RADHAKRISHNAN, A.K. Anti-proliferative and mutagenic activities of aqueous and methanol extracts of leaves from *Pereskia bleo* (Kunth) DC (*Cactaceae*). **Journal of Ethnopharmacology** 113, 448–456, 2007.

ESPINEL-INGROFF, A.; ESPINEL-INGROFF, A. Standardized disk diffusion method for yeasts. **Clinical Microbiology Newsletter**. v. 29, n. 13, p. 97-100, 2002.

FERREIRA, V. F., PINTO, A. C. A Fitoterapia no Mundo Atual. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1829, 2010.

FEUGANG, J.M.; YE, F.; ZHANG, D.Y.; YU, Y.; ZHONG, M.; ZHANG, S. & ZOU, C. Cactus Pear Extracts Induce Reactive Oxygen Species Production and Apoptosis in Ovarian Cancer Cells. **Nutrition and Cancer**, 62(5), 692–699, 2010.

GALATI, E. M; MONFORTE, M.T; MICELI, N; MONDELLO, M. R; TAVIANO, M. F; GALLUZZO, M; TRIPODO, M. M. *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. Mucilages show cytoprotective effect on gastric mucosa in rat. **Phytother Res.** 21(4): 344-6; Abr. 2007.

GIBBONS, S. Anti-staphylococcal plant natural products. **Nat. Prod. Rep.** 21: 263–277, 2004.

GOODMAN & GILMAN'S. **Manual of Pharmacology and Therapeutics**. Nova Iorque: McGraw Hill, 2008.

GREGORIO, A.; NICOLETA, A.; GIUFFRIDA, D. Lipoxygenase Activity in Prickly pear fruit (*Opuntia ficus indica* [L] Mill. Cactaceae). **Journal of Food Biochemistry**. **34**, p.439-450, 2010.

GREGORY, R. A.; KUTI, J. O.; FELKER, P. A comparison of *Opuntia* fruit quality and winter hardiness for use in Texas. **J. Arid Environ.** v.24, p.37-46, 1993.

HADACEK, F. GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v. 11, p. 137-147, 2000.

HASSANBAGLOU, B.; HAMID, A.A.; ROHEEYATI, A.M.; SALEH, N.M; ABDULAMIR, A.S.; KHATIB, A. & SABU, M.C. Antioxidant activity of different extracts from leaves of *Pereskia bleo* (Cactaceae). **Journal of Medicinal Plants Research** Vol. 6(15), pp. 2932-2937, 23, 2012.

HOLETZ, F. B.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Etnopharmacology**, v.110, p.391-400, 2007.

JERZ, G.; ARREY, T. N.; WRAY, V. DU, Q.; WINTERHALTER, P. Structural Chracterization of 13²-hydroxy-(13²-S)-phaeophytin-A from leaves and stems of *Amaranthus tricolor* isolated by high- speed countercurrent chromatography. **Innovative Food Science & Emerging Tecnologies**, v. 8, p. 413-418, 2007.

KASAI, R.; MATSUMOTO, K.; NIE, R. L.; MORITA, T.; AWAZU, A; ZHOU, J.; TANAKA, O. Sweet and bitter cucurbitane glycosides from *Hemsleya carnosiflora*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 5, p. 1371-1376, 1987.

KATZUNG, B. **Farmacologia Básica & Clínica**. 10^a ed. Brasil: McGraw Hill, 2007.

KAZAMA, C.C; UCHIDA, D.T.; CANZI, K.N.; SOUZA, P; CRESTANI, S.; JUNIOR, A.G.; JUNIOR, A.L. Involvement of arginine-vasopressin in the diuretic and hypotensive effects of *Pereskia grandifolia* Haw. (*Cactaceae*). **Journal of Ethnopharmacology** 144, 86–93, 2012.

KIM, J.M.; KIM, D.H.; PARK, S.J.; PARK, D.H.; JUNG, S.Y; KIM, H.J.; LEE, Y.S.; JIN, C. & RYU, J.H. The n-butanolic extract of *Opuntia ficus-indica* var. saboten enhances long-term memory in the passive avoidance task in mice. **Progress in Neuro Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, 34, 1011-1017, 2010.

KIM, H.; RALPH, J.; LU, F.; RALPH, S. A.; BOUDET, A. M.; MACKAY, J. J., SEDEROFF, R.R., ITO, T.; KAWAI, S.; OHASHI, H.; HIGUCHI, T. NMR analysis of lignins in CAD-deficient plants. Part 1. Incorporation of hydroxycinnamaldehydes and hydroxybenzaldehydes into lignins. **Org. Biomol. Chem.**, 1, 268 – 281, 2003.

KINOSHITA, K.; AKIBA, M.; SAITOH, M.; YE, Y.; KOYAMA, K.; TAKAHASHI, K.; KONDO, N. & YUASA, H.. Antinociceptive effect of triterpenes from cacti. **Pharmaceutical Biology**, Vol. 36, No. 1, pp. 50–57, 1998.

KIRCHER, H. W.; HEED, W. B.; RUSSELL, J. S.; SENITA, J. G. Cactus alkaloids: their significance to sonoran desert *Drosophila* ecology. **J. Insect Physiol.**, Vol. 13, 1869 - 1874, 1967.

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

KONGDUANG, D.; WUNGSINTAWEEKUL, J.; DE-EKNAMKUL, W.; Biosynthesis of β -sitosterol and stigmasterol proceeds exclusively via the mevalonate pathway in cell suspension cultures of *Croton stellatopilosus*. **Tetrahedron Letters**, v. 49, p. 4067-4072, 2008.

KUTI, J.O. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. **Food Chemistry** 85, p 527–533, 2004.

MALEK, S.N.A.; WAHAB, N.A.; YAACOB, H.; SHIN, S.K.; LAI, H.S.; SERM, L.G. RAHMAN, S.N.S.A. Cytotoxic Activity of *Pereskia bleo* (cactaceae) Against Selected Human Cell Lines. **International Journal of Cancer Research**, 4(1), 20-27, 2008.

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

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. 1ª Ed. Viçosa: Editora UFV, 2000.

MAREGESI, S.M.; PIETERS, L.; NGASSAPA, O.D.; APERS, S.; VINGERHOETS, R.; COS, P.; BERGHE, D.A.V.; VLIETINCK, A.J. Screening os some tanzanian medicinal plants from bunda district for antibacterial, antifungal and antiviral activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 58-66, 2008.

MARTINS, L. S. T. **Germinação de sementes de *Pilosocereus arrabidae* (Lem.) Byl. & Row (Cactaceae) de Arraial do Cabo**, Rio de Janeiro – Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro/Escola Nacional de Botânica Tropical Rio de Janeiro, 2007.

MATSUO, A.; ONO, K.; HAMASAKI, K.; NOZAKI, H. Phaeophytins from a cell suspension culture of the liverwort *Plagiochila ovalifolia*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 2, p. 427-430, 1996.

MELOS, J. L. R.; SILVA, L. B.; PERES, M. T. L. P.; MAPELI, A. M.; FACCENDA, O.; ANJOS, H. H.; TORRES, T. G.; TIVIROLI, S. C.; BATISTA, A. L.; ALMEIDA, F. G. N.; FLAUZINO, N. S.; TIBANA, L. A.; HESS, S. C.; HONDA, N. K. Constituintes químicos e avaliação do potencial alelopático de *Adiantum tetraphyllum* HUMB. & BONPL. EX. WILLD (PTERIDACEAE). **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.292-297, 2007.

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. **Desenvolvimento de fitoterápicos**. São Paulo: Probe Editorial, 1999.

MITSCHER, L. A.; LEU, R. P.; WU, N. W.; BEAL, J. L.; WHITW, R. Anticicrobial agents from higher plants I: Introduction, rationale and methodology. **Llodya**, v.35, n.2, p.157-166, 1972, 1972.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, S. K.; PFALLER, A. M. **Microbiologia Médica**. 6ª Ed. Brasil: Elsevier, 2014.

NAQVI, S. H.; KILIAN, M. S. Y.; VOHORA, S. B. Anti-bacterial, antifungal and antihelminthec investigations on Indian medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 62, n. 3, p. 221-228, 1991.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS-NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 7 ed. Villanova. PA: NCCLS, 2000.

NECCHI, R.M.M. **Farmacobotânica, atividade antiinflamatória e parâmetros bioquímicos de *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-dick (Cactaceae)**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFSM, RS, 2011.

NECCHI, R.M.M.; ALVES, A. I.; ALVES, S. H.; MANFRON, M. P. *In vitro* antimicrobial activity, total polyphenols and flavonoids contents of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae). **Research in Pharmacy**. 2(3) , p. 01-07, 2012.

NOBEL, P.S. **Environmental biology of agaves and cacti**. Cambridge University Press, New York. 1988, p.166.

OGUNBODEDE, O.; MCCOMBS, D.; TROUT, K.; DALEY, P. & TERRY, M. New mescaline concentrations from 14 taxa/cultivars os *Echinopsis spp.* (Cactaceae) (“San Pedro”) and their relevance to shamanic practice. **Journal of Ethnopharmacology**, 131, p356-362, 2010.

OLIVEIRA-SILVA, F.; OLIVEIRA, R. I.; SILVA, M. G. V.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes Químicos das Folhas de *Senna spectabilis*. Química Nova, vol. 33, n. 9, 1874-1876, 2010.

OMS (Organização Mundial da Saúde). **A crescente ameaça da resistência antimicrobiana. Opções de Ação.** Sumário Executivo, 2012.

PARK, E.H; KAHNG, J.H; LEE, S.H; SHIN, K.H. An anti-inflammatory principle from cactus. **Fitoterapia**. 72 (3); p288-90, Mar 2001.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. Introdução à Espectroscopia. 4 ed. Cengage Learning, 2010.

PEREIRA, C.A.P.; ÁLVAREZ, M.J.M. & MARTÍNEZ, C.A.M. Composição química, análise estrutural e fatores antinutricionais de filocládios de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. var. *hookeri* (Link & Otto) Kimn. (*Cactaceae*). **Interciência**, 33, n. 6, 2008.

PEÑA-VALDIVIA, C.B.; TREJOA, C.; ARROYO-PEÑA, V.B.; URDANETA, A.B.S. & MORALES, R.B. Diversity of Unavailable Polysaccharides and Dietary Fiber in Domesticated Nopalito and Cactus Pear Fruit (*Opuntia spp.*). **Chemistry & Biodiversity**. Vol. 9, 1599, 2012.

PIATTELLI, M. & IMPERATO, F. Betacyanins of the family *Cactaceae*. **Phytochemistry**, Vol. 8, p. 1503 -1507, 1969

PIDDOCK, L. J. V. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance e ux pumps in bacteria. **Clin. Microbiol. Rev.** 19: 382–402, 2006.

QUEIROZ, L. P; RAPINI, A; GIULIETTI, A. M. **Rumo ao Amplo Conhecimento da Biodiversidade do Semi-Árido Brasileiro**. Ministério da Ciência e Tecnologia. Brasília, 2006. Disponível em: <http://www.uefs.br/ppbio/cd/portugues/editorial.htm> Acessado em: 07/05/2014

REBMAN, J. P.; PINKAVA, D. J. *Opuntia* cacti of North America – an overview. **Flor. Entomol.** v. 84, n. 4, p. 474-483, 2001.

ROCHA, E. A. & AGRA, M. F. Flora do Pico do Jabre, Paraíba, Brasil: *Cactaceae* juss. **Acta Bot. Bras.**, vol.16, n.1, p. 15-21, 2002

SALIM, N.; ABDELWAHEB, C.; RABAH, C.; AHCENE, B. Chemical composition of *Opuntia ficus-indica* (L.) fruit. **African Journal of Biotechnology**, 8 (8), p. 1623-1624, 2009.

SANTOSCOY, R. A. C.; URIBE, J. A. G.; SALDÍVAR, S. O. S. Phenolic Composition, Antioxidant Capacity and In Vitro Cancer Cell Cytotoxicity of Nine Prickly Pear (*Opuntia spp.*) Juices. **Plant Foods Hum Nutr.** 64. p146–152, 2009.

SENDA, Y.; ISHIYAMA, J. I.; IMAIZUMI, S.; HANAYA, K. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of 1-Tetralols and Chroman-4-ols. **J.C.S. Perkin**, 1, 217-220, 1977.

SASIDHARAN, S.; CHEN, Y.; SARAVANAN, D.; SUNDRAM, K.M.; LATHA, L.Y. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2011.

SCHWIKKARD, S. L.; MULHOLLAND, D. A.; HUTCHINGS, A. Phaeophytins from *Tapura fisheri*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 8, p. 2391-2394, 1998.

SKINNER, G & ROBERT, B. (Inventores). **Antiviral Activity of Extract of Cactus**. WO Patente 93/11779. 24/06/1993.

SAWAYA, W. N.; KHAN, P. Chemical characterization of prickly pear seed oil, *puntia ficus-indica*. **J. Food Sci.** v. 47, p. 2060-2061, 1982.

SILVA, D. A.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F. V. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250-1254, 2006.

SILVA JR., I.E.; CECHINEL FILHO, V.; ZACCHINO, S.A.; LIMA, J.C.S.; MARTINS, D.T.O. Antimicrobial screening of some medicinal plants from Mato Grosso Cerrado. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 1b, p. 242-248, 2009.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7 ed. John Wiley & Sons, 2005.

SIM, K.S.; SRI NURESTRI, A.M.; NORHANOM, A.W. Phenolic content and antioxidant activity of crude and fractionated extracts of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. Vol. 4(5), 193-201, 2010.

SIRIWARDHANA, N & JEON, Y. J. Antioxidative effect of cactus pear fruit (*Opuntia ficus-indica*) extract on lipid peroxidation inhibition in oils and emulsion model systems. **Eur Food Res Technol.** (219) p. 369–376, 2004.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 409-413, 2007.

STASI, L.C. **Plantas Medicinais: Arte e Ciência**. 1ª Ed. São Paulo: Editora da Unesp, 1995.

STINTZING, F. C. & CARLE, A. S. R. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. **Eur Food Res Technol.**, p. 396–407, 2001.

TAN, M.L.; SULAIMAN, S.F.; NAJIMUDDIN, N.; SAMIAN, M.R.; MUHAMMAD, T.S.T Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. **Journal of Ethnopharmacology** 96, 287–29, 2005.

TAKIZAWA, T.; KINOSHITA, K.; KOYAMA, K.; TAKAHASHI, K. A new type of triterpene from *Trichocereus pachanoi*. **Journal of Natural Products**, vol 56, n. 12, p. 2183-2185, 1993.

TANAKA, L.Y.A; OLIVEIRA, A.J.B.; GONÇALVES, J.E.; CIPRIANI, T.R.; SOUZA, L.M.; MARQUES, M.C.A.; WERNER, M.F.P; BAGGIO, C.H; GORIN, P.A.J.; SASSAKI, G.L.; IACOMINI, N. Arabinogalactan with anti-ulcer protective effects isolated from *Cereus peruvianus*. **Carbohydrate Polymers**, 82, 714-721, 2010.

TAYLOR, N. & ZAPPI, D. **Cacti of eastern Brazil**. Surrey: The Royal Botanic Gardens, 2004. p.499.

TENOVER, F. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. **The American Journal of medicine**. 119 (6A), S3-S9, 2006.

TESORIERE, L.; FAZZARI, M.; ALLEGRA, M. & LIVREA, M.A. Biothiols, Taurine, and lipid-soluble antioxidants in the edible pulp of sicilian cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruits and changes of bioactive juice components upon industrial processing. **J. Agric. Food Chem.** 53, 7851-7855, 2005.

TOMAZ, A. C. A.; NOGUEIRA, R. B. S. S.; PINTO, D. S.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V.; CUNHA, E. V. L. Chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl) Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 8, n. 1, p. 47-52, 2008.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia Popular: A busca Instrumental Enquanto Prática Terapêutica. **Texto Contexto Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 115-121, 2006.

TORRES, L. M.; CARTER, E. J. V.; INFANTE, J. A. G.; GUZMAN, N. E. R.; VALENCIA, E. E. H.; CALDERAS, F.; ALVARADO, R. J. Study of the antioxidant properties of extracts obtained from nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes after convective drying. **J Sci Food Agric.** (91), p1001–1005, 2011.

TRABULSI, R. & ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5 ed. Editora Atheneu: 2008.

TROMBETTA, D; PUGLIA, C; PERRI, D; LICATA, A; PERGOLIZZI, S; LAURIANO, E. R; DE PASQUALE, A; SAIJA, A; BONINA, F. P. Effect of \ polysaccharides from *Opuntia ficus-indica* (L.) cladodes on the healing of dermal wounds in the rat. **Phytomedicine**. 3(5): 352-8; Mai. 2006.

TURRA, A. F.; MARÇAL, F. J. B.; BARETTA, I. P.; TAKEMURA, O. S.; LAVERDE-JR, A. Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Pereskia*

grandifolia Haworth (Cactaceae). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 1, p. 9-14, jan./abr. 2007.

VÁZQUEZ-RAMÍREZ, R; OLGUÍN-MARTÍNEZ, M; KUBLI-GARFIAS, C; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, R. Reversing gastric mucosal alterations during ethanol induced chronic gastritis in rats by oral administration of *Opuntia ficus-indica* mucilage. **World J Gastroenterol**. 21;12(27):4318-24; Jul. 2006.

VALENTE, L.M.M; PAIXÃO, D.; NASCIMENTO, A.C.; SANTOS, P.F.P; SCHEINVAR, L.A.; MOURA, M.R.L.; TINOCO, L.W.; GOMES, L.N.F. & SILVA, J.F.M. Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the Cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). **Food Chemistry**, 123, 1127-1131, 2010.

VATTAA, A.F.; KANDU-LELOB, C.; ADEMOLAB, I.O. & ELOFF, J.N. Direct anthelmintic effects of *Cereus jamacaru* (Cactaceae) on *trichostrongylid* nematodes of sheep: In vivo studies. **Veterinary Parasitology** 180, p. 279–286, 2011.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n. 1, p. 1-7, 2006.

VIEIRA, S.C.H.; SÓLON, S.; VIEIRA, M.C.; ZÁRATE, N.A.H. Levantamento de fitoterápicos manipulados em farmácias magistrais de Dourados-MS. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 28-34, 2010.

WOUNG-LEUNG, Y. L. Antimicrobial activities of some Hon-Kong plants used in chinese medicine. **Fitoterapia**, v. 69, n.1, p. 11-16, 1988.

ZAPPI, D., TAYLOR, N., MACHADO, M. 2010. *Cactaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000070>).

ZAMPINI, I.C.; ORDOÑEZ, R.; GIANNINI, N.P.; BLENDINGER, P.G.; ISLA, M.I. Nutraceutical properties and toxicity studies of fruits from four *Cactaceae* species grown in Argentine Northwestern. **Food Research International** 44, p2345–2351, 2011.