



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS**

AMANDA FERREIRA SANTANA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E
BIOLÓGICA DAS FRAÇÕES CLOROFÓRMICA E
HIDROMETANÓLICA DO EXTRATO DA RAIZ DE *Cereus
jamacaru* DC. (Cactaceae)**

Feira de Santana – Bahia
2016

AMANDA FERREIRA SANTANA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES
ANTIOXIDANTE E BIOLÓGICA DAS FRAÇÕES
CLOROFÓRMICA E HIDROMETANÓLICA DO EXTRATO
DA RAIZ DE *Cereus jamacaru* DC. (Cactaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS, como requisito para obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Profa. Dra. Angélica Maria Lucchese
Co-orientadora: Profa. Dra. Marilene Lopes Rocha

Feira de Santana – Bahia
2016

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

S223c Santana, Amanda Ferreira
Composição química e atividades antioxidante e biológica das frações clorofórmica e hidrometanólica do extrato da raiz de *Cereus jamacaru* DC. (Cactaceae) / Amanda Ferreira Santana. – Feira de Santana, 2016.
114 f. : il.

Orientadora: Angélica Maria Lucchese.
Co-orientadora: Marilene Lopes Rocha.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2016.

1. *Cereus jamacaru* DC. 2. Mandacaru. 3. Planta medicinal. I. Lucchese, Angélica Maria, orient. II. Rocha, Marilene Lopes, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU: 582.852

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Clayton Queiroz Alves
(Universidade Estadual de Feira de Santana)

Profa. Dra. Raquel Guimarães Benevides
(Universidade Estadual de Feira de Santana)

Profa. Dra. Marilene Lopes da Rocha
(Universidade Estadual de Feira de Santana)
Coorientadora e Presidente da Banca

*A Cris, pelo amor
incondicional, dedico.*

AGRADECIMENTOS

“Não há no mundo exagero mais belo que a gratidão.”
Jean de La Bruyère

Quero agradecer primeiramente a **Deus** pela vida, pela saúde, pela minha família, pela força e persistência para atingir meus objetivos.

A **Cris**, meu grande amor, pela confiança, paciência, por me acalmar nos momentos de desespero, por dar mais sentido e paixão a minha vida. Ao seu lado tenho certeza que “é impossível ser feliz sozinho”. Somos elos de uma corrente indestrutível!

A minha mãe **Railda** pelo amor, esforço, dedicação, pelo exemplo de luta e perseverança.

A meu pai **Ailton** (*in memoriam*) que onde quer que esteja, tenho certeza que sente orgulho de mim.

A **Paulo** e **Reinaldo** que sempre torceram por mim e vibraram a cada conquista. Sou eternamente grata por todo amor e carinho que dedicam a nós.

A minha orientadora **Angélica Lucchese** por sua orientação, pela oportunidade, confiança e paciência em todas as etapas do trabalho. Me recebeu em seu laboratório como uma mãe recebe um filho e me concedeu o prazer de ser sua orientanda. Minha eterna gratidão!

A minha amiga e co-orientadora **Marilene Rocha** pelo profissionalismo, competência e disponibilidade. Uma pessoa incapaz de uma palavra vazia. Me ensinou que ser mestre vai muito além de um título, ser mestre é ser exemplo.

A meu braço direito e esquerdo no Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON) **Edna Peralta**, pela ajuda com os equipamentos, atenção e presença constante. Sou eternamente grata! Você me faz acreditar que ainda existem pessoas boas no mundo.

Aos meus colegas do LAPRON **Alexandre Espeleta, Lucas Souza, Adriane Bastos, Maíra Meira, Sammya Valadares, Acsa Magalhães, Aline Nascimento e Serly Santiago**, o meu muito obrigada a todos pelos momentos de alegria e bom convívio. Em especial a **Horácio Bomfim**, pela ajuda na execução dos testes biológicos. Sem você os meus dias no Biotério seriam solitários e mais longos. Obrigada parceiro!

À amiga do Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais e Bioativos (LAFAR) **Valéria Goés** pelo incentivo e apoio. Você é especial.

A **Júnior e Bete** por facilitarem o meu trabalho no Biotério da UEFS.

A professora **Leandra de Oliveira e sua equipe** da **UESB**, pela ajuda com os testes toxicológicos.

A **Universidade Estadual de Feira de Santana** e ao **Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais** pela realização do curso.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – **CAPES**, pela concessão da bolsa de estudo.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste.

Muito obrigada!!!

“Chega um momento na vida em que você sabe quem é importante para você,
quem nunca foi, quem não é mais e quem o será sempre.”

(Mário Quintana)

RESUMO

Cereus jamacaru DC. é uma espécie de Cactaceae utilizada na medicina popular, conhecida popularmente como mandacaru. Este estudo teve como objetivo identificar as classes de metabólitos, quantificar o teor de fenólicos e flavonoides, avaliar a atividade antioxidante, toxicidade e potencial farmacológico das frações clorofórmica (FC) e hidrometanólica (FHM) da raiz de *C. jamacaru*. Os extratos foram preparados por maceração e as frações foram obtidas por partição líquido-líquido. As classes de metabólitos foram detectadas por cromatografia em camada delgada, em reveladores químicos. Os teores de fenólicos e flavonoides foram determinados por espectrometria no UV-vis. A ação antioxidante foi avaliada pelos métodos de sequestro do radical (DPPH) e β -caroteno/ácido linoleico. Foi avaliado a toxicidade aguda e o efeito sobre o sistema nervoso central pelo teste do rota rod. A atividade antinociceptiva foi apurada nos testes das contorções abdominais, formalina e placa quente. A atividade anti-inflamatória foi realizada pelo teste do edema de pata induzido por carragenina. A presença de terpenos, esteroides, flavonoides, ácidos fenólicos e aminoácidos foi detectada nas frações. A FC apresentou maior conteúdo de fenólicos e flavonoides, e melhor atividade antioxidante que a FHM pelos métodos analisados. Através da avaliação toxicológica realizada, sugere-se que as frações são atóxicas por via oral. Em relação à atividade antinociceptiva, as frações reduziram ($p < 0,001$) o número de contorções e o tempo de lambida na 1ª e 2ª fase, em todas as doses testadas. As frações aumentaram o tempo de latência ao calor ($p < 0,01$ e $p < 0,001$) em todas as doses e tempos observados. A atividade anti-inflamatória foi evidenciada nas frações ($p < 0,001$), em todas as doses e tempos observados. As frações não afetaram a coordenação motora dos animais, além de possuírem propriedades antinociceptivas e anti-inflamatória, com indícios de mecanismo de ação central, apresentando também efeito na redução dos processos inflamatórios agudos. Espera-se, a partir desse estudo, propiciar uma maior conscientização da população para a conservação e uso sustentável desta espécie.

Palavras-Chave: Mandacaru. Semiárido. Planta Medicinal. Metabólitos.

ABSTRACT

Cereus jamacaru DC. is a species of Cactaceae used in folk medicine, popularly known as mandacaru. This study aimed to identify the metabolites classes quantify the phenolic content and flavonoids, evaluate the antioxidant activity, toxicity and pharmacological potential of chloroform fractions (FC) and hydromethanol (FHM) *C. jamacaru* root. The extracts were prepared by maceration and fractions are obtained by liquid-liquid partition. The classes of metabolites were detected by thin layer chromatography, in chemical developers. The content of phenolics, and flavonoids were determined by UV-vis spectrometry. The antioxidant activity was evaluated by the radical sequestration methods (DPPH) and β -carotene/linoleic acid. Acute toxicity and the effect on the central nervous system by route rod test was evaluated. The antinociceptive activity was determined in tests of writhing, formalin and hot plate. The anti-inflammatory activity was carried out by the paw edema induced by carrageenan. The presence of terpenes, steroids, flavonoids, phenolic acids and amino acids was detected in the fractions. FC showed higher content of phenolics and flavonoids, and best antioxidant activity FHM analyzed by methods. Through the toxicological evaluation, it is suggested that the fractions are non-toxic orally. Regarding the antinociceptive activity, fractions reduced ($p < 0,001$) the number of writhes and licking time in the 1^a and 2^a stage, at all doses tested. Fractions increased heat to the latency time ($p < 0,01$ and $p < 0,001$) at all doses and times observed. The anti-inflammatory activity was detected in fractions ($p < 0,001$) in all the doses and times observed. The fractions did not affect the coordination of the animals, besides their antinociceptive and anti-inflammatory properties, with central action mechanism indicia, also showing the reduction effect of acute inflammatory processes. It is expected from this study, promote greater public awareness for the conservation and sustainable use of this species.

Keywords: Mandacaru. Semiarid. Medicinal plant. Metabolites.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
INTRODUÇÃO GERAL	
Figura 1. <i>Cereus jamacaru</i> DC.	19
CAPÍTULO I - COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS FRAÇÕES CLOROFÓRMICA E HIDROMETANÓLICA DO EXTRATO DA RAIZ DE <i>Cereus jamacaru</i> DC. (CACTACEAE)	
Figura 1. (A) Material vegetal de <i>Cereus jamacaru</i> secando à temperatura ambiente (B) Material pulverizado em moinho de facas (C) Extração em metanol (D) Rotaevaporação sob pressão reduzida (E) Extrato metanólico bruto	41
Figura 2. (A1 e A2) Partição líquido-líquido (B) Fração Clorofórmica (C) Fração Hidrometanólica	42
Figura 3. Curva de decaimento da densidade ótica em sistema de cooxidação de β -caroteno/ácido linoleico	46
Figura 4. Cromatografia em camada delgada em luz UV 254 nm: (A) Fração Clorofórmica (B) Fração Hidrometanólica	48
Figura 5. Quantificação de fenólicos: (A) Fração Clorofórmica (B) Fração Hidrometanólica	49
Figura 6. Quantificação de flavonoides: (A) Fração Clorofórmica (B) Fração Hidrometanólica	49
Figura 7. Curva de calibração Ácido Gálico (ANEXO 2)	105
Figura 8. Curva de calibração Quercetina (ANEXO 2)	105
Figura 9. Atividade antioxidante (DPPH): (A) Fração Clorofórmica (B) Fração Hidrometanólica	50
Figura 10. Curva de calibração Trolox 1 (ANEXO 2)	106
Figura 11. Curva de calibração Trolox 2 (ANEXO 2)	106
Figura 12. Curva de calibração Trolox 3 (ANEXO 2)	106
Figura 13. Curva de calibração Ácido Ascórbico 1 (ANEXO 2)	107
Figura 14. Curva de calibração Ácido Ascórbico 2 (ANEXO 2)	107
Figura 15. Curva de calibração Ácido Ascórbico 3 (ANEXO 2)	107
Figura 16. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FC (amostra1) (ANEXO 2)	108
Figura 17. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FC (amostra2) (ANEXO 2)	108
Figura 18. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FC (amostra3) (ANEXO 2)	108
Figura 19. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FHM (amostra1) (ANEXO 2)	109
Figura 20. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FHM (amostra2) (ANEXO 2)	109

Figura 21. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FHM (amostra3) (ANEXO 2)	109
Figura 22. Curva cinética de degradação do β -caroteno da FC (ANEXO 2)	110
Figura 23. Curva cinética de degradação do β -caroteno da FHM (ANEXO 2)	110
Figura 24. Atividade antioxidante (Sistema β -caroteno/ácido linoleico)	51
Figura 25. Atividade antioxidante pelo método β -caroteno da FC (amostra1) (ANEXO 2)	111
Figura 26. Atividade antioxidante pelo método β -caroteno da FC (amostra2) (ANEXO 2)	111
Figura 27. Atividade antioxidante pelo método β -caroteno da FC (amostra3) (ANEXO 2)	111
Figura 28. Atividade antioxidante pelo método β -caroteno da FHM (amostra1) (ANEXO 2)	112
Figura 29. Atividade antioxidante pelo método β -caroteno da FHM (amostra2) (ANEXO 2)	112
Figura 30. Atividade antioxidante pelo método β -caroteno da FHM (amostra3) (ANEXO 2)	112

CAPÍTULO II - AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E ESTUDO DAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DAS FRAÇÕES CLOROFÓRMICA E HIDROMETANÓLICA DO EXTRATO DA RAIZ DE *Cereus jamacaru* DC. (CACTACEAE)

Figura 1. (A) Material vegetal de <i>Cereus jamacaru</i> secando à temperatura ambiente (B) Material pulverizado em moinho de facas (C) Extração em metanol (D) Rotaevaporação sob pressão reduzida (E) Extrato metanólico bruto	73
Figura 2. (A1 e A2) Partição líquido-líquido (B) Fração Clorofórmica (C) Fração Hidrometanólica	74
Figura 3. Aparelho de rota-rod	77
Figura 4. Caixa de observação utilizada para o teste das contorções abdominais e formalina	78
Figura 5. Placa Quente	80
Figura 6. Pletismômetro	81
Figura 7A. Efeito da FC (75, 150, 300 mg/kg v.o T60min) no teste da coordenação motora em camundongos 7B. Efeito da FC (75, 150, 300 mg/kg v.o T120min) no teste da coordenação motora em camundongos	82/83
Figura 8A. Efeito da FHM (75, 150, 300 mg/kg v.o T60min) no teste da coordenação motora em camundongos 8B. Efeito da FHM (75, 150, 300 mg/kg v.o T120min) no teste da coordenação motora em camundongos	83/84
Figura 9. Efeito da FC nas contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos	84
Figura 10. Efeito da FHM nas contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos	85

Figura 11A. Efeito da FC na primeira fase do teste da formalina em camundongos	86
11B. Efeito da FC na segunda fase do teste da formalina em camundongos	
Figura 12A. Efeito da FHM na primeira fase do teste da formalina em camundongos	87
12B. Efeito da FHM na segunda fase do teste da formalina em camundongos	
Figura 13. Efeito da FC na latência da dor avaliada pelo teste da placa quente em camundongos	88
Figura 14. Efeito da FHM na latência da dor avaliada pelo teste da placa quente em camundongos	89
Figura 15. Efeito da FC (75, 150 e 300 mg/kg) sobre o edema de pata induzido por carragenina em camundongos	90
Figura 16. Efeito da FHM (75, 150 e 300 mg/kg) sobre o edema de pata induzido por carragenina em camundongos	91

LISTA DE TABELAS

	Pág.
CAPÍTULO I - COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS FRAÇÕES CLOROFÓRMICA E HIDROMETANÓLICA DO EXTRATO DA RAIZ DE <i>Cereus jamacaru</i> DC. (CACTACEAE)	
Tabela 1. Determinação do rendimento do extrato bruto e frações (%).	47
Tabela 2. Perfil fitoquímico das frações de <i>C. jamacaru</i> .	48
Tabela 3. Teor de compostos fenólicos totais das frações, expressos em miligramas de equivalente ácido gálico por gramas de extrato (\pm desvio padrão).	49
Tabela 4. Teor de flavonoides totais das frações, expressos em miligramas de equivalente quercetina por gramas de extrato (\pm desvio padrão).	49
Tabela 5. Atividade antioxidante das frações avaliada pelo CE ₅₀ (DPPH), valores expressos em $\mu\text{g/mL}$.	50
Tabela 6. Parâmetros cinéticos do potencial antioxidante no sistema β -caroteno/ácido linoleico (F1 e F2), para as frações (FC e FHM). Valores expressos em $\mu\text{g/mL}$.	52

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A/AS – Anisaldeído-Ácido Sulfúrico
AINES – Anti-inflamatórios não-esteroides
ANOVA – Análise de Variância
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C. – *Cereus*
CCD – Cromatografia em Camada Delgada
CE₅₀ – Concentração Eficiente a 50%
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
cm – centímetro
DC. – De Candolle
DL50 – Dose Letal a 50%
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DRG – Dragendorff
EAG/g – Equivalente Ácido Gálico/gramas
EQ/g – Equivalente Quercetina/gramas
E.P.M – Erro Padrão da Média
ERL – Erlich
FC – Fração Clorofórmica
FHM – Fração Hidrometanólica
LAPRON – Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos
LAFAR – Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais e Bioativos
mg/mL – miligramas por mililitro
mg/Kg – miligramas por quilograma
mm – milímetro
mL – mililitro
NaCl – Cloreto de Sódio
NID – Ninidrina
NP/PEG – Solução metanólica com 1% de 2-aminoetil difenilborinato + solução etanólica com 5% de polietilenoglicol
nm – nanômetro
OMS – Organização Mundial de Saúde
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
r.p.m – rotação por minuto
SNC – Sistema Nervoso Central
SUS – Sistema Único de Saúde
UV-vis – Ultravioleta-visível
s.p – subplantar
v.i.p – via intraperitoneal
v.o – via oral
v/v – volume/volume
µg – Micrograma
µL – Microlitro
µg/mL – Micrograma por mililitro
%AA – Porcentagem de Atividade Antioxidante

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
1.1 Semiárido brasileiro.....	16
1.2 Biodiversidade.....	16
1.3 A família Cactaceae.....	17
1.4 O gênero <i>Cereus</i>	18
1.4.1 <i>Cereus jamacaru</i> e seu uso medicinal.....	19
1.5 Desenvolvimento de novos fármacos.....	21
1.6 Conceitos de nocicepção e inflamação.....	23
2. OBJETIVOS.....	25
2.1 OBJETIVO GERAL.....	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
3. REFERÊNCIAS.....	26
CAPÍTULO I - COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS FRAÇÕES CLOROFÓRMICA E HIDROMETANÓLICA DA RAIZ DE <i>Cereus jamacaru</i> DC. (CACTACEAE)	32
Resumo.....	33
Abstract.....	34
1. INTRODUÇÃO.....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.1 Coleta do material botânico.....	40
2.2 Obtenção e processamento do extrato bruto.....	40
2.3 Fracionamento do extrato bruto.....	42
3. Análise da Composição Química.....	43
3.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	43
3.2 Quantificação de Compostos Fenólicos.....	44
3.3 Quantificação de Flavonoides Totais.....	44
4. Atividade Antioxidante.....	44
4.1 Atividade Sequestrante do Radical Livre DPPH.....	44
4.2 Inibição da cooxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	45
4.3 Cálculo de CE ₅₀	47
5. RESULTADOS.....	47
5.1 Rendimento do Extrato Bruto e Frações.....	47
5.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	47
5.3 Quantificação de Compostos Fenólicos e Flavonoides Totais.....	48
6. Atividade Antioxidante.....	50
6.1 Atividade Sequestrante do Radical Livre DPPH.....	50
6.2 Cálculo de CE ₅₀	50
6.3 Inibição da cooxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	51
7. DISCUSSÃO.....	53
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
9. REFERÊNCIAS.....	59

CAPÍTULO II - AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E ESTUDO DAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DAS FRAÇÕES CLOROFÓRMICA E HIDROMETANÓLICA DO EXTRATO DA RAIZ DE *Cereus jamacaru* DC.

(CACTACEAE)	65
Resumo.....	66
Abstract.....	67
1. INTRODUÇÃO.....	68
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	72
2.1 Coleta do material botânico.....	72
2.2 Obtenção e processamento do extrato bruto.....	72
2.3 Fracionamento do extrato bruto.....	74
3. Ensaio Biológicos.....	75
3.1 Animais Utilizados.....	75
3.2 Teste de Toxicidade Aguda.....	75
3.3 Teste para avaliar a coordenação motora (Rota Rod).....	77
3.4 Teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético.....	78
3.5 Teste da Formalina.....	78
3.6 Teste da Placa Quente.....	79
3.7 Teste do Edema de Pata Induzido por Carragenina.....	80
4. Análise Estatística dos Dados.....	81
5. RESULTADOS.....	81
5.1 Teste de Toxicidade Aguda.....	81
5.1.1 Pré-Teste.....	81
5.1.2 Procedimento de Dose Fixa.....	82
5.2 Teste para avaliar a coordenação motora (Rota Rod).....	82
5.3 Teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético.....	84
5.4 Teste da Formalina.....	85
5.5 Teste da Placa Quente.....	88
5.6 Teste do Edema de Pata Induzido por Carragenina.....	89
6. DISCUSSÃO.....	91
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
8. REFERÊNCIAS.....	97
9. ANEXO 1.....	104
10. ANEXO 2.....	105
11. ANEXO 3.....	113
12. ANEXO 4.....	114

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Semiárido brasileiro

O semiárido é uma área marcada pela irregularidade das chuvas, determinando longos períodos de seca, com fortes deficiências hídricas nos rios, solos e ecossistemas xerófilos, ocorrentes na região Nordeste (GIULIETTI; QUEIROZ, 2006). A Caatinga é um dos biomas mais ricos em recursos genéticos vegetais dada a sua alta biodiversidade, com predominância das famílias Cactaceae, Bromeliaceae, Herbaceae e Euphorbiaceae (SAMPAIO et al., 2002). Ocupa a maior parte dos 844 mil km² do semiárido nordestino, chegando a representar 9,92% do território nacional (IBGE, 2015).

A palavra caatinga é de origem tupi e significa mata branca, referindo-se ao aspecto da vegetação durante a estação seca, quando a maioria das árvores perde as folhas, e os troncos esbranquiçados dominam a paisagem (ALBUQUERQUE et al., 2010).

As espécies de Cactáceas mais comumente encontradas são *Cereus jamacaru* DC. (mandacaru), *Pilosocereus gounellei* (F.A.C.Weber) Byles e G.D. Rowley (xique-xique), *Pilosocereus pachycladus* F. Ritter (facheiro), *Melocactus bahiensis* (Britton & Rose) Luetzelb. (coroa de frade) (CAVALCANTI; RESENDE, 2007), *Harrisia adscendens* Guerke Britton & Rose (rabo-de-raposa), *Nopalea Cochenillifera* L. Salm-Dyck. (palma-de-engorda), *Opuntia dillenii* Ker-Gawler Haworth (palma-de-espinho), *Opuntia ficus-indica* L. Miller (palma-de-gado) e *Opuntia palmadora* Britton & Rose (palmatória) (ANDRADE, 2008). Aspectos anatômicos, ecológicos e fisiológicas peculiares à família Cactaceae, são responsáveis pela adaptação desta ao clima semiárido (DUQUE, 2004).

1.2 Biodiversidade

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, estimada em cerca de 20% do número total de espécies do planeta. Esse patrimônio genético tem valor econômico-estratégico inestimável em várias atividades, mas é no desenvolvimento de novos medicamentos que reside sua maior potencialidade.

Estima-se que 25 a 50% dos medicamentos disponíveis na terapêutica atual foram desenvolvidos de fontes naturais, sendo 25% a partir de plantas, 13% de microorganismos e 3% de animais (NEWMAN; CRAGG, 2007).

A importância desses recursos genéticos é incontestável, existindo uma grande preocupação por parte da comunidade científica em conhecer e utilizar de forma racional esse recurso, bem como, ampliar a coleta de determinadas espécies, aprofundar os estudos sistematizados sobre o manejo dos recursos genéticos com espécies existentes na região, na conservação da diversidade biológica e na utilização de forma sustentável de seus componentes (ROTTA et al., 2006).

1.3 Família Cactaceae

Relatos informam que espécies da família Cactaceae foram introduzidas no Brasil ainda na época do Império, pelos portugueses, provavelmente das Ilhas Canárias, para ser iniciado o cultivo da cochonilha (*Coccus cati*), que produz o corante carmim, que naquela época era de grande valor comercial (LUCENA et al., 2012a).

A família Cactaceae é constituída de 124 gêneros e aproximadamente 1.440 espécies de distribuição quase exclusivamente neotropical (HUNT et al., 2006). No Brasil, estão registradas 160 espécies pertencentes a 32 gêneros, dentre as quais 80 espécies ocorrem na região Nordeste (ARRUDA et al., 2005). Dotadas de feições peculiares, as cactáceas apresentam notáveis especializações anatômicas, morfológicas e funcionais. Graças a elas, conseguem rápida absorção, grande retenção e mínimo consumo de água, captada das chuvas ou do ar (RIZZINI, 1979).

As espécies de cactáceas são geralmente xerófitas, suculentas, perenes e adaptadas às regiões semiáridas das Américas. Os cactos possuem hábitos diversos: arbóreo, arbustivo, subarbustivo, trepador, epífito ou geófito; apresentam raiz fibrosa ou tuberosa (ZAPPI; TAYLOR, 2008). Têm uma haste fotossinteticamente ativa, de cor variável, forma e tamanho, formando cladódios, que pode ser liso, cilíndrico, colunar ou globular e são geralmente revestidos de espinhos (BARROSO et al., 1987). Em relação aos cladódios colunar, estes têm um papel central, com uma estrutura radial que se forma a partir de três a

diversos ângulos (CULLMANN et al.,1987). As raízes são finas e dispostas, horizontalmente, na camada superficial do solo, formando uma verdadeira esponja, até 30-40 cm de profundidade e se estendendo por alguns metros, em torno do tronco (NOBEL, 1988).

As cactáceas apresentam grande potencial como fonte de substâncias de uso medicinal, cosmético, alimentício (BIAVATTI et al., 2007) e ornamental (LIMA, 1996).

De acordo com Andrade et al. (2006a; 2006b), apesar de agricultores que vivem na região do semiárido nordestino terem um vasto conhecimento sobre as espécies da família Cactaceae, poucos estudos com foco etnobotânico têm sido realizados para ampliar o conhecimento sobre cactos e a diversidade de utilizações aplicadas às espécies pela população tradicional. Estes estudos podem contribuir consideravelmente para fornecer informações para o desenvolvimento e aplicação do manuseamento sustentável destas plantas. Em outras regiões do mundo, estudos etnobotânicos com cactos foram iniciados, por exemplo, no México (DEL LUNA-MORALE; AGUIRRE, 2001; JIMÉNEZ-SIERRA; EGUIARTE, 2010), Cuba (FUENTES, 2005), Colômbia (FERNÁNDEZ-ALONSO, 2006) e nos Estados Unidos (JIMÉNEZ-SIERRA; EGUIARTE, 2010), a analisar as informações relativas aos aspectos variados de uso, gestão e domesticação de espécies.

1.4 Gênero *Cereus*

A palavra *Cereus* significa “tocha” em grego e latim, então provavelmente esse gênero foi nomeado devido a forma de candelabro do primeiro cacto descrito (DAVET, 2005). Pertencente à tribo Cereeae, o gênero *Cereus* (subfamília Cactoideae) compreende quatro subgêneros distribuídos na América do Sul, dentre os quais, o subgênero *Cereus* é encontrado em vários biomas, como Caatinga, Cerrado, Campos rupestres e Mata Atlântica (TAYLOR; ZAPPI, 2004). Foi primeiramente descrito por Hermann, em 1968 e depois por Miller em 1754. Em 1909, Riccobono dividiu o gênero e criou a denominação de *Piptanthocereus* (BRITTON; ROSE, 1937).

As espécies pertencentes ao gênero *Cereus* possuem hastes eretas, altas e colunares, exceto *C. pachyrhizus*. As hastes geralmente são ramificadas e

apresentam de 4 a 6 “costelas” salientes. As aréolas presentes no caule possuem espinhos eretos. As flores são alongadas, com formato de funil e com abertura noturna (BRITTON; ROSE, 1963).

Espécies de Cactaceae da caatinga nordestina, principalmente do gênero *Cereus*, tem sido de grande importância na alimentação da fauna local (ROCHA; AGRA, 2002).

Espécies do gênero *Cereus* nativas do Brasil listadas em Zappi et al., (2011): *Cereus adelmarii* (Rizzini & Mattos) P.J.Braun, *C. albicaulis* (Britton & Rose) Luetzelb., *C. bicolor* Rizzini & A.Mattos, *C. fernambucensis* Lem., *C. fernambucensis* Lem. subsp. *fernambucensis*, *C. estevesii* P.J.Braun, *C. fernambucensis* subsp. *sericifer* (Ritter) N.P.Taylor & Zappi, *C. hexagonus* (L.) Mill, *C. hildmannianus* K.Schum, *C. hildmannianus* K.Schum. subsp. *hildmannianus*, *C. hildmannianus* subsp. *uruguayanus* (R.Kiesling) N.P.Taylor, *C. insularis* Hemsl, *C. jamacaru* DC., *C. jamacaru* subsp. *calcirupicola* (F.Ritter) N.P.Taylor & Zappi, *C. jamacaru* DC. subsp. *jamacaru*, *C. kroenleinii* N.P.Taylor, *C. mirabella* N.P.Taylor, *C. pierre-braunianus* E. Esteves Pereira, *C. saddianus* (Rizzini & Mattos) P.J.Braun e *C. spegazzinii* F.A.C.Weber.

1.4.1 *Cereus jamacaru* e seu uso medicinal

Cereus jamacaru DC. (Figura 1), popularmente conhecido como mandacaru ou mandacaru-de-boi, é um cacto colunar característico da região semiárida do Brasil (BRAUN et al., 2013). É uma cactácea xerófila, que possui mecanismos de sobrevivência especial, que resistem à seca (GERMANO et al., 1991); para o gado, o uso na alimentação justifica-se pela capacidade de armazenar grande quantidade de água (cerca de 15%) (BRAGA, 2008).



Figura 1. *Cereus jamacaru* (De Candolle) coletados em Feira de Santana – Ba. (Foto: Amanda Santana)

Possui tronco lenhoso chegando a alcançar cerca de 60 cm de diâmetro e aproximadamente 10 m de altura (BRAGA, 1976). Os espinhos são radiais, podendo apresentar cerca de 9 a 30 cm de comprimento (BRITTON; ROSE, 1937) e podem apresentar coloração amarela, marrom ou avermelhada (SHEINVAR, 1985).

As flores são laterais e subapicais, brancas, medindo de 20 a 30 cm de comprimento. Os frutos são elipsoides, medindo cerca de 5 a 12 cm de comprimento e 7 a 12 cm de diâmetro (SHEINVAR, 1985). A polpa é funicular branca, mucilagínosa, doce, comestível, apresentando sementes de cor preta (ROCHA; AGRA, 2002).

O caule é utilizado na medicina popular como diurético e toda a planta é usada no tratamento do escorbuto e nas afecções do aparelho respiratório (SHEINVAR, 1985). As raízes são utilizadas nas doenças respiratórias, renais e como diuréticas (AGRA *et al.*, 2008).

Essa espécie é comumente encontrada em Caatinga do nordeste do Brasil. Neste bioma, o mandacaru é uma espécie chave para a sustentabilidade e conservação da biodiversidade (CAVALCANTI; RESENDE, 2006), sendo uma importante fonte de água e de nutrientes durante a estação seca. Nas áreas semiáridas do Brasil, são usados como ração para o gado depois da remoção dos picos de fogo, especialmente no ano mais seco (BRITTON; ROSE, 1963; MEDEIROS *et al.*, 1994). É utilizado também como planta ornamental, uma vez que a sua forma colunar se destaca na paisagem (LIMA, 1996). Para alimentação humana é utilizado cozido ou como um ingrediente em doces e seu fruto é consumido fresco (DE LUCENA *et al.*, 2013).

Na Bahia, o estudo mais recente citando o uso de cactáceas na medicina popular registrou a utilização de chás das raízes de *C. jamacaru* para tratar infecções urinárias (ANDRADE, 2008) e usada também no tratamento de doenças como reumatismo, feridas, furúnculos e inflamação do rim (DE LUCENA *et al.*, 2013).

A medicina popular vem contribuindo cada vez mais às ciências do homem, devido aos conhecimentos e práticas médicas de caráter empírico, influenciadas pelo contexto econômico, físico e sociocultural no qual se encontram inseridas. Com isso, a etnobotânica, que tem sido definida como o

estudo das inter-relações diretas entre humanos e plantas, procura interligar o conhecimento tradicional que determinada comunidade acumulou sobre o ambiente em que vive para que possa interagir com este ambiente e retirar a base de sustento para a sobrevivência e cultura (ALBERTASSE; THOMAZ; ANDRADE, 2010). Esse conhecimento empírico transmitido de geração a geração foi de fundamental importância para que pudéssemos compreender e utilizar as plantas medicinais como recurso terapêutico na cura de doenças (TESKE; TRENTINE, 2001).

No Brasil existe atualmente um medicamento fitoterápico composto conhecido como Flor da Noite Composta, registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com a espécie *C. jamacaru*, sendo utilizado para o tratamento do climatério (fase da vida em que ocorre a transição do período reprodutivo ou fértil para o não reprodutivo, devido à diminuição dos hormônios sexuais produzidos pelos ovários) e outros cinco medicamentos a partir de outras espécies do gênero (*C. grandiflorus*, *C. hildemarianus* e *C. peruvianus*) (BRASIL, 2013).

1.5 Desenvolvimento de novos fármacos

É notável o grande desenvolvimento do uso de plantas medicinais em diversas áreas, tanto como medicamentos fitoterápicos e fonte de fármacos, como de cosméticos e alimentos funcionais (ALVES, 2010). O uso das plantas para fins medicinais tem despertado um grande interesse pelo conhecimento da composição química das plantas (SIMÕES et al., 2003). O uso de extratos vegetais e fitoquímicos com fins medicinais é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (GONÇALVES et al., 2005). Graças à sua atividade metabólica secundária, os vegetais superiores são capazes de produzir substâncias antibióticas, utilizadas como mecanismo de defesa (GOTLIEB, 1981). A aplicação de plantas medicinais para o tratamento de muitas doenças está associada à medicina popular em diferentes partes do mundo (COUTINHO et al., 2004).

Os metabólitos secundários são substâncias que, na maioria das vezes, exercem fatores de interação entre organismos e desta maneira, frequentemente apresentam diversas atividades biológicas de interesse e farmacologicamente

importantes (SIMÕES et al., 2003). A interação do ambiente com os mecanismos fisiológicos das plantas medicinais pode influenciar no metabolismo secundário, o que implica uma grande variação na produção de metabólitos secundários intra e interespecies (ARIMURA et al., 2005).

Várias são as classes de metabólitos secundários, dentre elas se destacam triterpenos, compostos fenólicos em geral, flavonoides e alcaloides. Esses compostos possuem uma gama imensa de atividades farmacológicas, tais como anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, dentre outras inúmeras atividades. Portanto, as fontes de metabólitos secundários parecem ser inesgotáveis em relação às possibilidades de se encontrar novas e diferentes estruturas com atividades de extrema importância medicinal e comercial (YUNES; CALIXTO, 2001). São de grande importância nas seguintes áreas: farmacêutica, alimentar, agrônômica e cosmética. Entre essas se destaca a farmacêutica (GAMBETA, 2008).

Os avanços da Química, Farmacologia e Biologia Molecular a partir de meados do século XX, aliados à introdução de novos ensaios bioquímicos, conduziram ao desenvolvimento da Química Medicinal, com o planejamento racional de fármacos baseado na abordagem fisiológica. Entretanto, diminuiu também, nos últimos anos, o número de novos fármacos lançados no mercado e pode-se observar um ressurgimento no interesse por produtos naturais como fonte de novas substâncias bioativas (COSTA, 2009).

Do ponto de vista tecnológico, a busca de novos fármacos oriundos de plantas é um processo interativo de descoberta de protótipos moleculares, a partir do fracionamento biomonitorado de espécies vegetais (LEE, 2004). Dentre as recentes estratégias utilizadas para o isolamento e identificação de substâncias com potencial terapêutico, a pesquisa por substâncias presentes em extratos de plantas se destaca como uma das mais importantes. O estudo biomonitorado enfatiza o conhecimento da estrutura dos constituintes químicos de uma planta, com ênfase nas substâncias com atividade biológica (PINTO et al., 2002).

Os medicamentos desenvolvidos a partir de plantas são denominados fitoterápicos ou fitofármacos. Os fitoterápicos são produtos complexos obtidos das plantas para fins terapêuticos, como uma tintura ou um xarope que traz a planta em sua complexidade ou partes desta para a sua fabricação; enquanto os

fitofármacos são medicamentos que tem como princípio ativo uma substância isolada de planta e que possui atividade farmacológica sobre o organismo. O seu uso adequado traz uma série de benefícios para a saúde, ajudando no combate de doenças infecciosas, alérgicas, disfunções metabólicas, entre outros (RIBEIRO et al., 2004).

1.6 Conceitos de nocicepção e inflamação

A dor pode ser definida como uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada ou descrita em termos de lesões teciduais, que apresentam caráter subjetivo e abstrato (BASBAUM; BUSHNELL, 2002). É considerada um sinal clássico no processo inflamatório e o seu controle contribui de forma substancial na terapêutica a ser empregada. Diante disso, os fármacos anti-inflamatórios que possuem boa eficácia no tratamento da dor são bastante desejados (CASTRO, 2011).

A partir de suas características fisiopatológicas, a dor pode ser classificada como nociceptiva, neuropática e/ou psicogênica. A dor nociceptiva resulta da ativação direta de nociceptores da pele e outros tecidos em resposta a uma lesão tecidual, acompanhada de inflamação, a exemplo da dor pós-operatória e da queimadura. Já a dor neuropática é decorrente de alteração ou lesão do sistema nervoso central ou periférico, e manifesta-se na ausência de agressões teciduais; e a dor psicogênica é aquela em que o estímulo psíquico seria responsável por seu eliciar (ALVES NETO et al., 2009; KLAUMANN et al., 2008).

O termo nocicepção está relacionado com o reconhecimento de sinais dolorosos pelo sistema nervoso, que formulam informações relacionadas à lesão. Baseado nestes conceitos, o termo dor seria melhor aplicado a seres humanos do que aos animais, pelo fato deste termo envolver um componente emocional (KLAUMANN et al., 2008). A percepção do estímulo nociceptivo na periferia se dá por estruturas específicas situadas nas terminações nervosas das fibras sensoriais, denominadas nociceptores ou receptores da dor (LUIZ, 2007). Segundo Julius e Basbaum (2001), os nociceptores são as terminações nervosas das fibras aferentes primárias, amplamente distribuídos na pele, vasos,

músculos, articulações e vísceras. Caracterizam-se dependendo da localização e da capacidade de resposta a diferentes estímulos (DAHL; MOINICHE, 2004).

A inflamação é uma resposta não específica da microcirculação do tecido lesionado provocado por estímulos biológicos, físicos, químicos ou pela combinação destes (NATHAN, 2002). A reação inflamatória se caracteriza por uma cascata de eventos onde sinais clássicos da inflamação, tais como, rubor, calor tumor e dor, se fazem presentes. (GILROY et al., 2004). Esses eventos acompanham algumas alterações fisiológicas como, vasodilatação, aumento do fluxo sanguíneo local e da permeabilidade vascular, migração de leucócitos, necrose e apoptose, além da liberação de mediadores químicos (HUERRE; GOUNON, 1996; VIVIER; MALISSEN, 2005).

Muitos são os trabalhos publicados no mundo sobre estudo farmacológico de plantas buscando atividade antinociceptiva (GUIMARÃES et al., 2013; LIMA et al., 2013; SILVA et al., 2015). As pesquisas que fortaleceram a busca de analgésicos a partir dos vegetais e marcaram a história de plantas no tratamento da dor foi o isolamento da morfina a partir de *Papaver soniferum* e do ácido salicílico extraído de *Salix alba* (MCCURDY; SCULLY, 2005).

Embora o número de pesquisas sobre plantas com atividades anti-inflamatórias tenha crescido ao longo dos anos, somente em 2005 foi desenvolvido o primeiro anti-inflamatório fitoterápico brasileiro, conhecido como Acheflan®, a partir do óleo essencial de *Cordia verbenacea*, um arbusto da mata atlântica comumente chamado de erva-baleeira, eficaz no tratamento de contusões, tendinite e reumatismos (MICHIELIN, 2009).

Resultados ainda não publicados, de trabalhos em andamento do nosso grupo de pesquisa (Grupo de Pesquisa em Química de Produtos Naturais e Bioativos / Farmacologia de Produtos Naturais e Bioativos), indicaram que os extratos metanólicos da raiz da espécie *C. jamacaru* apresentaram ação antinociceptiva, anti-inflamatória e antimicrobiana. Levando-se em consideração que são escassos os trabalhos científicos sobre o uso medicinal de espécies da família Cactaceae, justifica-se a importância de aprofundar os estudos a partir do fracionamento do extrato metanólico bruto da raiz de *Cereus jamacaru*.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Avaliar o potencial farmacológico das frações clorofórmica e hidrometanólica oriundas do extrato metanólico da raiz de *Cereus jamacaru* investigando sua atividade antioxidante e composição química.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar o conteúdo de fenólicos e flavonoides totais e determinar a atividade antioxidante das frações clorofórmica (FC) e hidrometanólica (FHM);
- Identificar as classes de metabólitos das frações utilizando técnicas cromatográficas;
- Estudar a toxicidade aguda pré-clínica das frações (FC e FHM);
- Averiguar os possíveis efeitos das frações (FC e FHM) sobre o SNC e na coordenação motora de camundongos através do teste do rota rod;
- Verificar a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória das frações (FC e FHM) pelos testes das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, formalina, placa quente e edema de pata induzida por carragenina utilizando modelo animal.

3. REFERÊNCIAS

AGRA, M. J. 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. **Rev Bras Farmacogn**, v.18, 2008.

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

ALBUQUERQUE et al. Caatinga: biodiversidade e qualidade de vida. **Artmed**. Bauru, SP: Canal6, 2010.

ALVES, L. F. Plantas Medicinais e Fitoquímicas no Brasil: Uma Visão Histórica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Janeiro: UFRJ/IQ, 2010.

ALVES NETO, O. et al. Dor: princípios e práticas. Porto Alegre: **Artmed**, 2009.

ANDRADE, C. T. S.; MARQUES, J. G. W.; ZAPPI, D. C. Utilização de cactáceas por sertanejos baianos. Tipos conexivos para definir categorias utilitárias. *Sitientibus*. **Série Ciências Biológicas (Etnobiologia)**, 6:3–12. 2006a.

ANDRADE, C. T. S.; MARQUES, J. G. W.; ZAPPI, D. C. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 8(3):36–42. Botucatu. 2006b.

ANDRADE, C. T. da S. Cactos úteis na Bahia: ênfase no semiárido. Pelotas: Ed. **USEB**. 2008.

ARIMURA, G.; KOST, C.; BOLAND, W. Herbivore-induced, indirect plant defences. **Biochimica et Biophysica Acta**;1734:91-111. 2005.

ARRUDA, E.; MELO-DE-PINA, G. F.; ALVES, M. Anatomia dos órgãos vegetativos de Cactaceae da caatinga pernambucana. **Revista Brasil. Bot.**, V.28, n.3, p.589-601, jul.-set. 2005

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; COSTA, C. G.; ICHASO, C. L. F.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H.C. Sistemática de angiospermas do Brasil. vol. 1. In: **Livros Técnicos e Científicos**. Edited by de Janeiro R. S.A.; São Paulo: Ed. da Universidade de São Paulo, 255p. 1987.

BASBAUM, A.; BUSHNELL, M. C. Pain: basic mechanisms. In: GUAMBERARDINO, M. A. Pain: an updated review. International Association for the Study of Pain. Seattle: **IASP Press**, 2002.

BIAVATTI, M.; MARENSI, V.; LEITE S. N.; REIS, A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. **Rev Bras Farmacogn**, v.17, 2007.

BRAGA, R. Plantas do Nordeste: especialmente do Ceará. (**Coleção Mossoreense, 42**). 3ed. Mossoró: ESAM. 1976.

- BRAGA, A. Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará. 4. **Ed. Escola Superior de Agricultura de Mossoró**: Editora Universitária da UFRN. 2008.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta a banco de dados**. Disponível em:< http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/ConsultaProduto/comconsulta_medicamento.asp>. Acesso em: 26/09/2013.
- BRAUN, P.; MACHADO, M.; TAYLOR, N. P. *Cereus jamacaru*. In: IUCN 2013. **IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. 2013. Acesso em: 22 de novembro de 2013.
- BRITTON, N. L.; ROSE, J. The Cactaceae: Descriptions and Illustrations of Plants of the Cactus Family. 1nd edn. **Dover Publications**, New York. 1937.
- BRITTON, N. L.; ROSE, J. The Cactaceae: Descriptions and Illustrations of Plants of the Cactus Family. 2nd edn. **Dover Publications**, New York. 1963.
- CASTRO, R.A. de. Avaliação do Potencial Analgésico e Anti-inflamatório do Composto Pirazólico 1,5-difenil-3-hidrazinopirazol(a) – DHP. **Dissertação. UFRRJ** – Instituto de Veterinária – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas. Rio de Janeiro, 82 p. 2011.
- CAVALCANTI, N. B.; RESENDE, G. M. Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento do mandacaru sem espinhos (*Cereus hildemannianus* K. Schum). **Rev. Caatinga** 19: 255-260. 2006.
- CAVALCANTI, N. B.; RESENDE, G. M. Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.), facheiro (*Pilosocereus pachycladus* RITTER), xiquexique (*Pilosocereus gounelli* (A. WEBER EX K. SCHUM.) BLY. EX ROWL.) e coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis* BRITTON & ROSE). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 1, p. 28-35, 2007.
- COSTA, R. R. P. Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: Candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária. **Rev. Virtual Quim.**, 2009.
- COUTINHO, H. D. M. BEZERRA, D. A. C.; LÔBO, K.; BARBOSA, I. J. F. Atividade antimicrobiana de produtos naturais. **Revista Conceitos**, nº 10, 2004.
- CULLMANN, W.; GOETZ, E.; GROENER, G. The encyclopedia of Cact. Portland, Oregon: **Timber Press**; 340p. 1987.
- DAHL, J. B.; MOINICHE, S. Pre-emptive analgesia. **British Medical Bulletin**, v. 71, p. 13-27, 2004.
- DAVET, A. Estudo Fitoquímico e Biológico do Cacto - *Cereus jamacaru* De Candolle, Cactaceae. **Master's thesis**, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2005.

DE LUCENA et al. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, 9:62. 2013.

DEL LUNA-MORALE, C. C.; AGUIRRE, R. J. R. Clasificación tradicional, aprovechamiento y distribución ecológica de la pitaya mixteca em México. **Interciencia**, 26(1):18–24. 2001.

DUQUE, J. G. O Nordeste e as lavouras xerófilas. v. 193. 3. ed. **Mossoró: Coleção Mossoroense**, 1980. 265 p. DUQUE, J. G. O Nordeste e as lavouras xerófilas. 4. ed. **Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil**, 88 p. 2004.

FERNÁNDEZ-ALONSO, J. L. Nueva especie colombiana de *Browningia* (Cactaceae, Cactoideae, Browningieae) potencialmente promisoría para el país. **Revista de la Academia de Ciências Exactas, Físicas y Naturales**, 30(114):19–30. 2006.

FUENTES, V. R. Etnobotánica de Cactaceae em Cuba. In: **Memorias del Taller Conservación de cactus Cubanos**. Cuba: Jardim Botánico Nacional, Universidad de La Habana:15–24. 2005.

GAMBETA, R. M. Perfil fitoquímico de diferentes extratos de *Ilex paraguariensis* st. Hilaire. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI). **Erechim**, 2008.

GERMANO, R. H.; BARBOSA, H. P.; COSTA, R. G.; MEDEIROS, N. A. Avaliação de composição química e mineral de seis cactáceas do semiárido paraibano. In: **Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia**. João Pessoa, Brasil. 1991.

GILROY, D. W. et al. Inflammatory resolution: new opportunities for drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, p. 401-16, 2004.

GIULIETTI, A. M.; QUEIROZ, L. P. Recursos genéticos do semi-árido nordestino. Recife, **IMSEAR**, v. 5, 196p., 2006.

GONÇALVES, A. L.; FILHO, A. A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq Inst Biol**, v.3, 2005.

GOTLIEB, O. R. Micromolecular Evolution Systematics and Ecology. **An Essay into a Novel Botanical Discipline**, 170 pp., Springer-Verlag, Heidelberg. 1981.

GUIMARÃES, A. G.; QUINTANS, J. S. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Monoterpenes with Analgesic Activity - A Systematic Review. **Phytotherapy research**. *Phytother. Res.* 27: 1–15. 2013.

HUERRE, M. R.; GOUNON, P. Inflammation: patterns and new concepts. **Res Immunol**, v. 147, n. 7, p. 417-34, 1996.

HUNT, D. R.; TAYLOR, N. P.; CHARLES, G. (eds.) The New Cactus Lexicon. **Text. dh Publications**, Milborne Port. 2006.

IBGE. Mapa de Biomas e de Vegetação. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>. Acesso em: 01 de maio de 2015.

JIMÉNEZ-SIERRA, C. L.; EGUIARTE, L. E. Candy barrel cactus (*Echinocactus platyacanthus* Link & Otto): a traditional plant resource in Mexico subject to uncontrolled extraction and browsing. **Economic Botany**, 64(2):99–108. 2010.

JULIUS, D., BASBAUM, A.I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, 413: 203-210, 2001.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Pathophysiology of pain. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, p. 1-12, 2008.

LEE, K. Current development in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product leads. **Journal of Natural Products**. 2004.

LIMA, J. L. Plantas Forrageiras das Caatingas: Usos e Potencialidades. **Embrapa Semiárido**, Petrolina. 1996.

LIMA, A. C. B. de; PAIXÃO, M. S.; MELO, M.; SANTANA, M. T. de; DAMASCENA, N. P.; DIAS, A. S.; PORTO, Y. C. B. S.; XIMENE, A. F.; SANTOS, C. C. S.; LIMA, C. A. L.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ESTEVAM, C. dos S.; ARAÚJO, B. S. Orofacial antinociceptive effect and antioxidante properties of the hydroethanol extract of *Hyptis fruticosa* salmz ex Benth. **Journal of Ethnopharmacology**, 146, 192–197, 2013.

LUCENA, C. M. et al. Uso e conhecimento de cactáceas no município de são mamede (Paraíba, Nordeste do Brasil). **Revista de biologia e farmacia – Volume especial – 2012a**.

LUIZ, A.P. Análise do mecanismo de ação antinocicpetiva do extrato etanólico obtido das raízes da *Humirianthera ampla* Miers. **Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. UFSC**. 99p. 2007.

MCCURDY, C.R.; SCULLY, S.S. Analgesic substances derived from natural products (natureceuticals). **Life Sciences**. v. 78, p. 476 – 484. 2005.

MEDEIROS, J.; SATHLER, M. G. B.; GÓIS, F. Comparação de Diferentes Tipos de Embalagens para o Armazenamento de Sementes de Mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.). **Boletim Técnico Científico**, Mossoró. 1994.

MICHIELIN, E.M.Z. Obtenção de extrato de erva baleeira (*Cordia verbenacea* D.C.) por diferentes técnicas: medida da atividade biológica, modelagem matemática e determinação do equilíbrio de fases. **Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC**. 235 p.2009.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, p. 846-852, 2002.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**. v. 70, p. 461-477, 2007.

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

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIA, R. A. Produtos Naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química Nova**. 2002.

RIBEIRO, M.; ALBIERO, A. L. M.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Taraxacum officinale Weber (dente-de-leão): uma revisão das propriedades e potencialidades medicinais. Maringá, **Apadec**, 2004.

RIZZINI, C. T. Tratado de Fitogeografia do Brasil: aspectos sociológicos e florísticos. 2º vol. **Ed. Universidade de São Paulo**. 1979.

ROCHA, E.; AGRA, M. F. Flora do Pico do Jabre, Paraíba, Brasil: Cactaceae juss. **Acta Bot. Bras** 16(1): 15-21. 2002.

ROTTA, G. W.; MICOL L.; SANTOS, N. B. Manejo sustentável no portal da Amazônia: um benefício econômico, social e ambiental. Alta Floresta - MT: **IMAZON**, 24 p. 2006.

SAMPAIO, E. V. S. B.; GIULIETTI, A. M.; VIRGINIO, J.; CAMARRA-JORAS, C. F. L. Vegetação e Flora da Caatinga. Recife, Associação Plantas do Nordeste (APNE), **Centro Nordestino de Informações sobre Plantas (CNIP)**. 2002.

SCHEINVAR, L. Cactáceas. Flora Ilustrada Catarinense. **Fascículo CACT**. Itajaí. 1985.

SILVA, J. C.; JUNIOR, R. G. de O.; RIBEIRO, F. P. R. de A.; SANTOS, M. R. de M. C.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ALMEIDA, J. R. G. da S. Prospecção tecnológica de alcaloides usados no tratamento da dor. **Revista GEINTEC** – ISSN: 2237-0722. São Cristóvão/SE, Vol. 5/n. 3/ p.2284- 2295. 2015.

SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). Farmacognosia da planta ao medicamento. 5. ed. Florianópolis: **Editora da UFSC**, 2003.

TAYLOR, N.; ZAPPI, D. Cacti of Eastern Brasil. **Royal Botanic Gardens**, Kew. 511 p. 2004.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. Herbarium: compêndio de fitoterapia. 4. ed. **University Press**, p.73-76. 2001.

VIVIER, E.; MALISSEN, B. Innate and adaptive immunity: specificities and signaling hierarchies revisited. **Nat Immunol**, v. 6, n. 1, p. 17-21, 2005.

ZAPPI, D. C.; TAYLOR, N. Diversidade e endemismo das Cactaceae na Cadeia do Espinhaço. **Megadiversidade**. Volume 4 (Nº 1-2). 2008.

ZAPPI, D. C. et al. Plano de ação nacional para a conservação das Cactáceas. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, **Icmbio**, **(Série Espécies Ameaçadas, 24)**. 112 p. 2011.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó. **Argos**, 2001.

CAPÍTULO I

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS FRAÇÕES CLOROFÓRMICA E HIDROMETANÓLICA DO EXTRATO DA RAIZ DE *Cereus jamacaru* DC. (CACTACEAE)

RESUMO

Cereus jamacaru DC. pertence à família Cactaceae e é pouco estudado do ponto de vista químico. Este estudo teve como objetivo caracterizar quimicamente as frações clorofórmica (FC) e hidrometanólica (FHM), quantificar o teor de compostos fenólicos e flavonoides e avaliar sua atividade antioxidante. O perfil cromatográfico foi analisado por cromatografia em camada delgada. O teor de fenólicos foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, em espectrofotômetro UV-Vis a 750 nm, utilizando ácido gálico como padrão. A determinação de flavonoides foi feita em espectrofotômetro UV-Vis a 425 nm, por reação com cloreto de alumínio. Quercetina foi utilizada como padrão. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método do sequestro do radical (DPPH) a 517 nm, com trolox e ácido ascórbico como padrão, e pelo teste do β -caroteno/ácido linoleico, por espectrofotometria (470 nm), com trolox como padrão. A presença de terpenos, esteroides, ácidos fenólicos, flavonoides e aminoácidos foi detectada em ambas as frações, apresentando resultados negativos para alcaloides. A FC apresentou conteúdo fenólico de $104,05 \pm 5,11$ mg EAG/g e flavonoides de $8,87 \pm 0,65$ mg EQ/g. Já a FHM, $21,90 \pm 0,30$ mg EAG/g e $0,67 \pm 0,02$ mg EQ/g, respectivamente. A FC apresentou $CE_{50} = 242,52 \pm 2,26$ μ g/mL e a FHM apresentou $CE_{50} = 994,43 \pm 6,96$ μ g/mL pelo método DPPH. A FC apresentou $CE_{50} = 1050,7 \pm 22,6$ μ g/mL e a FHM apresentou $CE_{50} = 1990,7 \pm 33,4$ μ g/mL pelo método β -caroteno/ácido linoleico. A eficácia do antioxidante foi avaliada em intervalos de tempo (F1 e F2). Para FC foi possível observar valores de F1 e F2 inferiores a 1. Para FHM foi possível observar valores de F2 superiores a 1, indicando que essa amostra, embora iniba a formação de radicais livres no período de indução, gera espécies químicas que aceleram a oxidação durante a degradação do ácido linoleico. A FC apresentou melhor resultado que a FHM na quantificação de compostos fenólicos e flavonoides, sequestro de radical DPPH e inibição da cooxidação do β -caroteno/ácido linoleico. Estudos posteriores serão realizados visando o isolamento dos compostos presentes nas frações.

Palavras-chave: Cromatografia. Fenólicos. Flavonoides. DPPH. β -caroteno.

ABSTRACT

Cereus jamacaru DC. belongs to the family Cactaceae and is understudied the chemical point of view. This study aimed to chemically characterize the chloroform fractions (FC) and hydromethanol (FHM), quantifying the content of phenolics and flavonoids and evaluate its antioxidant activity. The chromatographic profile was analyzed by thin layer chromatography. The phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method, in UV-Vis spectrophotometer at 750 nm, using gallic acid as standard. The determination was made in flavonoids UV-Vis spectrophotometer at 425 nm, by reaction with aluminum chloride. Quercetin was used as standard. The antioxidant activity was evaluated by radical sequestration method (DPPH) at 517 nm, with trolox and ascorbic acid as standard, and the test of β -carotene/linoleic acid by spectrophotometry (470 nm), with trolox default. The presence of terpenes, sterols, phenolic acids, flavonoids and amino acids was detected in both fractions, with negative results for alkaloids. FC presented phenolic content of $104,05 \pm 5,11$ mg GAE/g and flavonoid $8,87 \pm 0,65$ mg EQ/g. Already FHM, $21,90 \pm 0,30$ mg GAE/g and $0,67 \pm 0,02$ mg EQ/g, respectively. The FC was $EC_{50} = 242,52 \pm 2,26$ μ g/mL and FHM had $EC_{50} = 994,43 \pm 6,96$ μ g/mL by DPPH method. FC showed $EC_{50} = 1050,7 \pm 22,6$ μ g/mL and FHM showed $EC_{50} = 1990,7 \pm 33,4$ μ g/mL for β -carotene method/linoleic acid. The antioxidant effectiveness was evaluated at intervals (F1 and F2). FC was observed lower values F1 and F2 to 1. For FHM was observed F2 values greater than 1, indicating that this sample, although inhibits the formation of free radicals in the induction period, generates chemical species that accelerate the oxidation during degradation of linoleic acid. FC showed better results than the FHM quantification of phenolics and flavonoids, DPPH radical sequestration and inhibition of cooxidação of β -carotene/linoleic acid. Further studies will be conducted to the isolation of the compounds present in fractions.

Keywords: Chromatography. Phenolic. Flavonoids. DPPH. β -carotene.

1. INTRODUÇÃO

O semiárido nordestino tem como símbolo o mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.), um cacto colunar cujos frutos são muito apreciados na alimentação humana: suas hastes são utilizadas para a alimentação do gado (ARAGÃO et al., 2000) e sua raiz é utilizada pela medicina popular no tratamento de “pedra nos rins” (AGRA et al., 1996) e de infecções urinárias (ANDRADE, 2008).

O Brasil possui a maior diversidade biológica do mundo, essa compreende entre plantas, animais e microorganismos, porém muitas plantas ainda não possuem estudos fitoquímicos e farmacológicos, fornecendo possibilidades para serem pesquisadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). O uso de extratos vegetais e fitoquímicos com fins medicinais é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (GONÇALVES et al., 2005).

Os produtos naturais ainda desempenham um papel significativo na descoberta de novos medicamentos. Dos agentes terapêuticos aprovados, em todo o mundo, nos últimos 30 anos (1981 a 2010), 29% foram obtidos de origem natural. Dos medicamentos anticancerígenos, 48,6% são obtidos de produto naturais ou diretamente derivados destes, e dos medicamentos aprovados para tratamento de infecções 33,7% são obtidos a partir de fontes naturais. Estes resultados mostram como os produtos naturais são uma fonte expressiva para a obtenção de medicamentos, e que estes foram e ainda são valorizados como fonte de protótipos para a descoberta de novos fármacos (CHAPLA, 2012).

O desenvolvimento da indústria de fitoterápicos no Brasil e uma ampla distribuição de fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS), como preconiza a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, por meio do Decreto Presidencial Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, dependem do desenvolvimento de metodologias adequadas, que estabeleçam o controle de qualidade destes medicamentos (BRASIL, 2006). A segurança dos produtos de origem vegetal, estão diretamente relacionados à qualidade química dos mesmos (BRANDÃO et al., 2002).

A Organização Mundial da Saúde refere que 65 a 80% da população mundial busca nas plantas fins terapêuticos, seja por motivo de pobreza ou

precariedade no sistema de saúde (CALIXTO, 2000). O estudo fitoquímico, desperta ao longo da história o interesse de diversos profissionais, sejam farmacêuticos, químicos, médicos, agrônomos entre outros (SOUZA et al., 2008). A composição química de um extrato pode ser conhecida através de testes químicos qualitativos rápidos e de baixo custo, sugerindo as possíveis classes de metabólitos secundários de interesse (MATOS, 1997).

As preparações vegetais têm uma característica muito especial que as distinguem de drogas químicas: uma única planta pode conter um grande número de fitocompostos bioativos (MENDONÇA-FILHO, 2006). Extratos com solventes orgânicos são preparados a partir da espécie selecionada e então são avaliados por ensaios biológicos *in vitro* e submetidos a processos de fracionamento biomonitorado (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998). Em relação ao fracionamento, diferentes técnicas cromatográficas, bem como uma combinação delas, podem ser utilizadas (MENDHAM et al., 2002). A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição desses componentes em duas fases. Uma das fases permanece estacionária, enquanto a outra se move através dela (COLLINS et al., 2006). É um método ideal para separação de espécies iônicas ou macromoléculas de interesse biológico, bem como uma imensa variedade de outros compostos de alta massa molecular e/ou baixa estabilidade térmica, como por exemplo, metabólicos vegetais, pigmentos de plantas e produtos farmacêuticos (BOYSEN; HEARN, 2010), o que determina maior aplicabilidade na pesquisa sobre plantas medicinais.

Muitas pesquisas já foram realizadas nas áreas de produtos naturais, destacando a presença de estruturas privilegiadas, denominadas metabólitos secundários, presentes em algumas plantas. Estas estruturas oferecem aos produtos naturais um efeito farmacológico diferenciado e são utilizadas para o tratamento de várias doenças (CALIXTO, 2005).

Os metabólitos secundários são estruturas complexas, com baixo peso molecular, com atividades biológicas marcantes (BERG; LUBERT, 2008); que possuem uma distribuição limitada na natureza, encontrados apenas em organismos específicos, expressando a individualidade das espécies (DEWICK, 2009). A interação do ambiente com os mecanismos fisiológicos das plantas medicinais pode influenciar no metabolismo secundário, o que implica uma

grande variação na produção de metabólitos secundários intra e interespécies (ARIMURA et al., 2005).

Despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas exercidas pelas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas também pela imensa atividade farmacológica que possuem. Muitos são de importância comercial não apenas na área farmacêutica, mas também nas áreas alimentar, agrônômica, perfumaria, entre outras (SIMÕES et al., 2007). A origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato. O ácido chiquímico é precursor de taninos hidrolisáveis, cumarinas, alcaloides derivados dos aminoácidos aromáticos e fenilpropanoides (compostos fenólicos e flavonoides), compostos que tem em comum a presença de um anel aromático na sua constituição; ao passo que os derivados do acetato são os aminoácidos alifáticos e os alcaloides derivados deles; terpenoides, esteroides, ácidos graxos e triglicerídeos (LEITE, 2008).

Os flavonoides são compostos fenólicos que não podem ser sintetizados pela espécie humana (DEWICK, 2002). São biossintetizados a partir da via mista dos fenilpropanoides com malonil-CoA e caracterizados por apresentarem 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental com dois anéis aromáticos unidos por uma cadeia de três átomos de carbono podendo ou não formar um terceiro anel (C6-C3-C6) (SIMÕES, 2000).

Segundo Simões et al. (2010), os compostos fenólicos pertencem a uma classe que inclui uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem pelo menos um anel aromático, no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila.

Os compostos fenólicos de plantas podem ser divididos em fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (SOUZA et al., 2007; SIMÕES et al., 2010); são encontrados comumente nas plantas e apresentam muitos efeitos biológicos, incluindo a atividade antioxidante. O potencial antioxidante desses compostos é devido principalmente a propriedade redox e estrutura química, que desempenham funções importantes de neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição (SILVA et al., 2011).

Antioxidante é um composto que protege o sistema biológico contra o efeito nocivo de processos ou reações que podem causar oxidação excessiva (KRINSKY, 1994). O reino vegetal constitui uma importante fonte de produtos naturais que diferem amplamente em suas propriedades biológicas e estruturas químicas e que possuem efeito antioxidante. Nos últimos anos, uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento (ATOUI et al., 2006) e a redução do risco de doenças crônicas, como por exemplo, doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, doença de Alzheimer e de Parkinson (LIN; CHANG, 2005).

De forma geral, denominam-se antioxidantes as substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato. Os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (SOARES, 2002).

A busca por substâncias antioxidantes derivadas de vegetais vem crescendo e muitos centros de pesquisas estão investindo neste campo (BOSCOLO et al., 2007). Dentre os antioxidantes naturais, destacam-se as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides, que são os antioxidantes mais abundantes na alimentação humana (PODSEDEK, 2007). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na de propagação de processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido a ressonância presente na estrutura destas substâncias (SOUSA et al., 2007).

Os carotenoides são compostos lipossolúveis, amarelos, laranjas e vermelhos, presentes em frutas e vegetais que atuam como pigmentos fotoprotetores na fotossíntese e como estabilizadores de membranas (KURZ et al., 2008). Além da atividade antioxidante através da interação com radicais livres e do sequestro do oxigênio, os carotenoides possuem atividade provitamina A,

sendo o β -caroteno o principal precursor da vitamina A e o mais abundante, estando presente em diversos vegetais como a cenoura, mamão, abóbora, dentre outros (SOUZA et al., 2012).

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas; um dos mais usados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2- difenil-1-picril-hidrazila - DPPH, de coloração púrpura que absorve a 517 nm (ROGINSKY; LISSI, 2005).

Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar, o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância (BRAND WILLIAMS et al., 1995). A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livre e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (SÁNCHEZ MORENO et al., 1998).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE_{50} e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

A atividade antioxidante também pode ser avaliada pelo método espectrofotométrico de sistema de co-oxidação do betacaroteno/ácido linoleico, que se baseia na inibição da oxidação do betacaroteno induzida pelos produtos de degradação do ácido linoleico, através dos compostos presentes no extrato (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Nele, a atividade antioxidante é medida pela habilidade que a amostra a ser testada tem em minimizar a completa oxidação do ácido linoleico e betacaroteno em um sistema aquoso-lipídico emulsificado, que perde sua coloração alaranjada quando reage com radicais (VON GADOW et al., 1997).

Desta forma, este trabalho iniciou estudos para a caracterização do potencial medicinal do *C. jamacaru*; pouco estudada do ponto de vista químico esta planta é utilizada em diversos produtos encontrados no mercado brasileiro. Para tanto, propõe-se a identificação de substâncias, quantificação de compostos fenólicos e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante *in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

A coleta do material botânico foi realizada na zona rural do município de Feira de Santana (12°12'32,9"S e 38°55'59"W). A coleta das raízes de *C. jamacaru* (*voucher* 205707) foi realizada em abril de 2014 no período da manhã (9:00 horas). Esta espécie foi previamente identificada conforme exsicata depositada no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana. As amostras da raiz foram encaminhadas diretamente ao LAPRON (Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos) da Universidade Estadual de Feira de Santana.

2.2 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO EXTRATO BRUTO

As raízes da espécie selecionada foram colocadas para secar à temperatura ambiente, ao abrigo da luz, sendo posteriormente pulverizado em moinhos de facas, para que fosse realizado um cálculo que determinasse o rendimento final de cada extrato através da equação $RET = Mf/Mi \times 100$ = Rendimento de extrato total (%); Mf = massa final do extrato seco (g); Mi = massa inicial da amostra (g). O material pulverizado foi submetido à extração, três vezes consecutivas, por maceração com metanol em recipientes de vidro. Os extratos brutos foram concentrados em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, em temperaturas de 40-42°C. O resíduo de solvente do extrato metanólico foi retirado por evaporação em capela de exaustão (Figura 1).

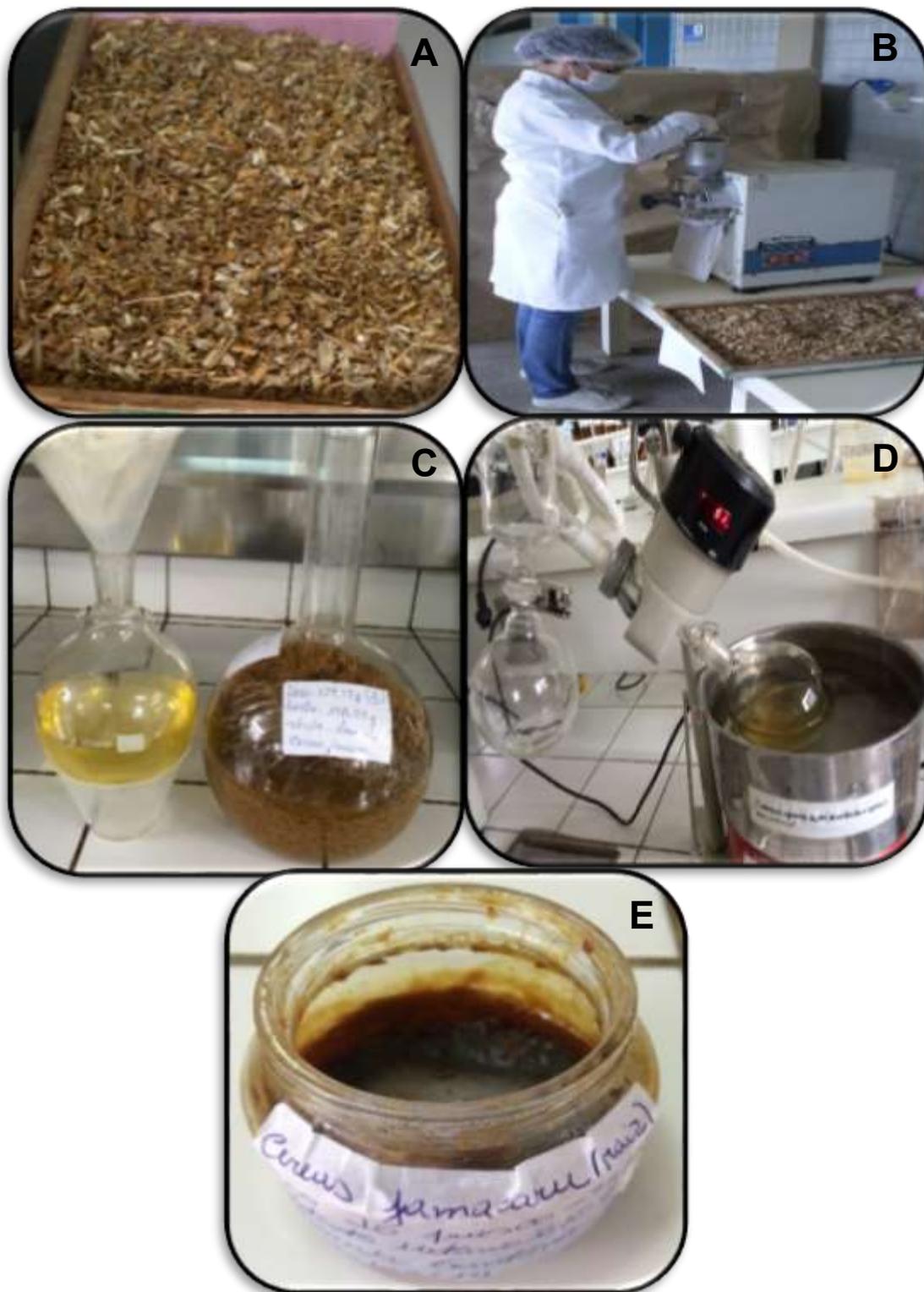


Figura 1. (A) Material vegetal de *Cereus jamacaru* secando à temperatura ambiente (B) Material pulverizado em moinho de facas (C) Extração em metanol (D) Rotaevaporador sob pressão reduzida (E) Extrato metanólico bruto (Fotos: Amanda Santana)

2.3 FRACIONAMENTO DO EXTRATO BRUTO

O extrato metanólico da raiz de *C. jamacaru* foi fracionado por partição líquido-líquido (Figuras 2A1 e 2A2) para obtenção das frações. 25g do extrato metanólico bruto foi ressuspenso em metanol:água (7:3 v/v) e extraído com clorofórmio para obtenção das FC (Figura 2B) e FHM (Figura 2C), visando uma semi-purificação das substâncias através de suas polaridades. A FC foi concentrada em evaporador rotatório e colocada para secar em capela de exaustão, enquanto a FHM teve o metanol retirado no evaporador rotatório (Fisatom 802) e a solução final foi liofilizada (Liofilizador Terrone Enterprise I).

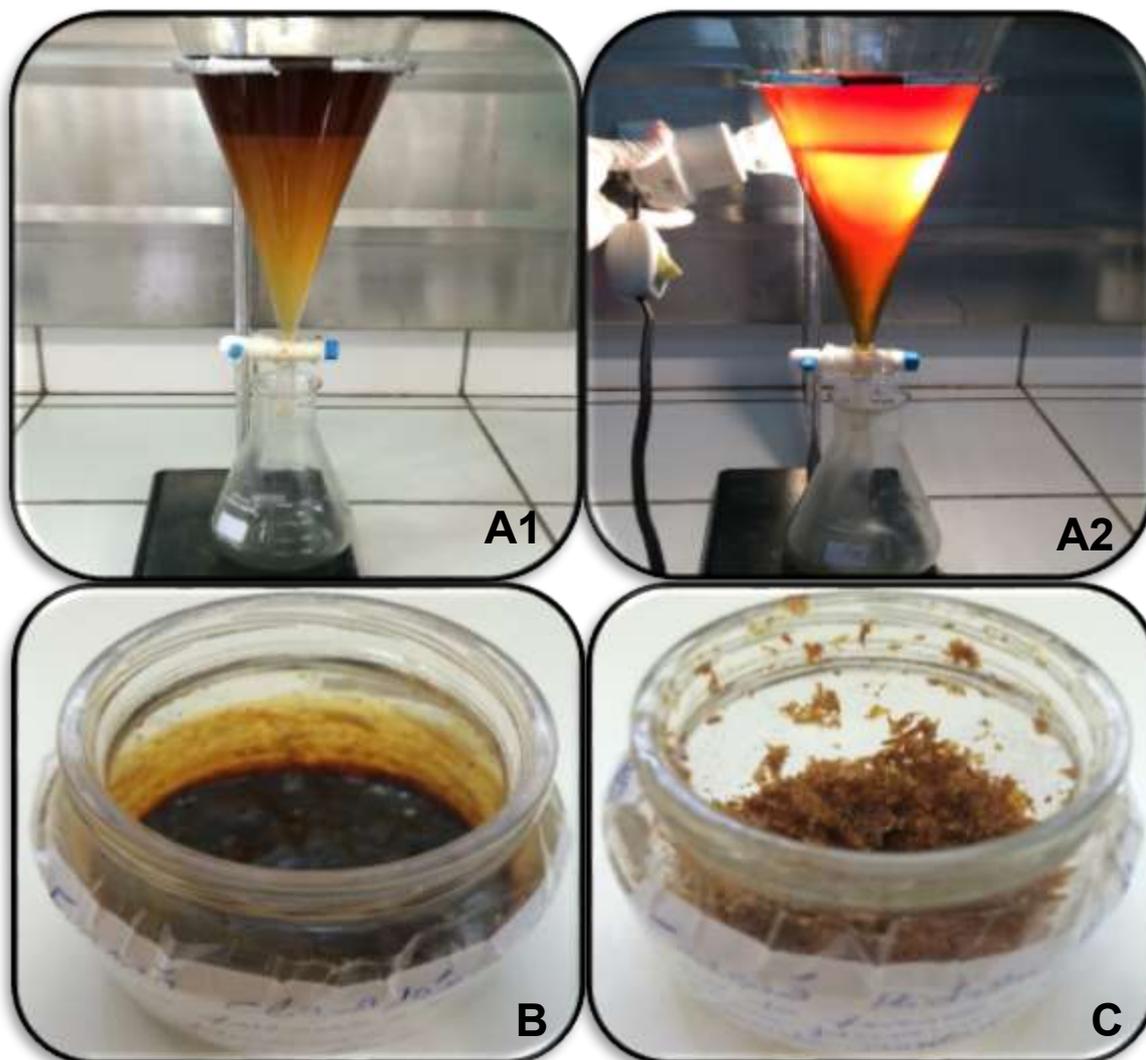


Figura 2. (A1 e A2) Partição líquido-líquido (B) Fração Clorofórmica (C) Fração Hidrometanólica (Fotos: Amanda Santana)

3. ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

As frações foram submetidas à análise por cromatografia em camada delgada (CCD), para determinação do perfil cromatográfico. A quantificação de fenólicos e flavonoides e determinação da atividade antioxidante também foi realizada.

3.1 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

A cromatografia em camada delgada é um método que consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido sobre uma superfície plana (COLLINS et al., 2006).

As frações foram submetidas a CCD, visando uma análise fitoquímica preliminar, utilizando-se sistemas de eluentes e reveladores específicos (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998). Para realização do método foram utilizadas cromatoplasmas pré-fabricadas de sílica gel 60 (Alugram® Sil G/UV₂₅₄), de 0,20 mm de espessura como fase estacionária e diversos eluentes como fase móvel variando o tipo e a proporção conforme o comportamento cromatográfico das frações analisadas. A FC (0,05g) foi redissolvida em clorofórmio:metanol (3:0,1) e foi aplicada sobre as placas a 1cm da borda inferior e 0,5 cm da borda lateral. As fases móveis utilizadas na cromatografia foram respectivamente hexano/acetona (2:8 v/v) e clorofórmio/metanol (10:0,1 v/v) as quais foram empregadas separadamente. Após o desenvolvimento dos cromatogramas, as placas foram secas à temperatura ambiente e reveladas. Os reveladores utilizados foram Anisaldeído-Ácido Sulfúrico (A/AS) que detecta a presença de terpenos e esteroides; Dragendorff (DRG) que detecta a presença de alcaloides; NP/polietilenoglicol (NP/PEG) que detecta a presença de ácidos fenólicos e flavonoides; Erlich (ERL) que detecta a presença de alcaloides; e Ninidrina (NID) que detecta a presença de aminoácidos.

A FHM (0,05g) foi redissolvida em metanol, e foi aplicada sobre as placas a 1cm da borda inferior e 0,5 cm da borda lateral. As fases móveis utilizadas na cromatografia foram respectivamente acetato de etila/metanol/água (100:13,5:10 v/v/v) e clorofórmio/metanol/hidróxido de amônio (85:14:1 v/v/v) as

quais foram empregadas separadamente. Após o desenvolvimento dos cromatogramas, as placas foram secas à temperatura ambiente e reveladas. Os reveladores utilizados foram A/AS, DRG, NP/PEG, ERL e NID.

3.2 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Concentrações de 4.000 e 9.000 µg/mL foram obtidas da FC e FHM, respectivamente. Para 100 µL de cada amostra (em triplicata) foram adicionados 1000 µL de água ultrapura e 200 µL do reagente de Folin-Ciocalteu. Foram homogeneizados e colocados em repouso por 5 minutos, protegidos da luz. Foram adicionados aos tubos 600 µL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 15%, homogeneizados e completou-se o volume para 5 mL de água ultrapura (3.100 µL). Os tubos foram agitados em Vortex e colocados em repouso a temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 90 min. Foram obtidos os valores das absorvâncias em espectrofotômetro a 750 nm, usando metanol espectroscópico como branco e ácido gálico como padrão de referência (PERES et al., 2009).

3.3 QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS

Concentrações de 4.000 e 9.000 µg/mL foram obtidas da FC e FHM, respectivamente. Para 1.500 µL de cada amostra (em triplicata) foram adicionados 100 µL de solução metanólica de AlCl₃ a 5% e 3.400 µL de solução de ácido acético a 5%. Os tubos foram agitados em Vortex e colocados em repouso a temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 30 minutos. Foram obtidos os valores das absorvâncias em espectrofotômetro a 425 nm, usando metanol espectroscópico como branco e quercetina como padrão de referência (WOISKY, 1996).

4. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.1 ATIVIDADE SEQUESTRANTE DO RADICAL LIVRE (DPPH)

A atividade antioxidante foi analisada pela capacidade dos antioxidantes, presentes nos extratos, captarem o radical livre DPPH. As leituras foram realizadas após 30 minutos em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu® UV

SPECTROPHOTOMETER) no comprimento de onda 517 nm. As amostras da FC foram diluídas em metanol grau espectroscópico nas concentrações de 150, 200, 250, 300, 350, 400 e 450 µg/mL. As amostras da FHM foram diluídas em metanol grau espectroscópico nas concentrações de 501, 600, 699, 801, 999, 1101 e 1200 µg/mL. Para cada concentração o teste foi realizado em triplicata. Em 1,0 mL de cada amostra foi acrescido 2,0 mL de solução de DPPH, e reservada por 30 minutos à temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Como branco foi utilizado 3,0 mL de metanol espectroscópico. Como controle do DPPH foi utilizado 2,0 mL de solução de DPPH e 1,0 mL de metanol espectroscópico. Como controle da amostra foi utilizado 2,0 mL de metanol espectroscópico e 1,0 mL de cada amostra. Decorrido o tempo foi realizada a leitura das absorbâncias em 517 nm (espectrofotômetro). Trolox e ácido ascórbico foram utilizados como padrões de referência. Para avaliar a atividade captadora de radical livre, a porcentagem de inibição foi baseada na equação: % de inibição = [(absorbância do controle – absorbância da amostra) /absorbância do controle] x 100 (SOUSA et al., 2007).

4.2 INIBIÇÃO DA COOXIDAÇÃO DO SISTEMA B-CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO

Seguido do teste de DPPH para avaliação da atividade antioxidante foi feito o teste de inibição de cooxidação do β-caroteno/ácido linoleico segundo Lima (2008) com algumas adaptações. Para o preparo da mistura reativa, adicionou-se 40 µL de ácido linoléico, 530 µL de Tween 40, 20 µL de solução de β-caroteno a 2 mg/mL em clorofórmio e 1000 µL de clorofórmio em erlenmeyer. Posteriormente, a mistura foi submetida à completa evaporação do clorofórmio sob a bomba de vácuo. A esta mistura isenta de clorofórmio, adicionou-se cerca de 50 mL de água destilada. O valor da absorbância da solução sistema do β-caroteno/ácido linoleico foi ajustada para 0,600 á 0,700 nm com um comprimento de onda de 470nm. Para análise da atividade antioxidante β-caroteno/ácido linoléico, preparou-se uma solução metanólica das frações, pesando-se 0,04g da FC e 0,09g da FHM e avolumando com metanol grau espectroscópico em balão volumétrico de 10 mL. Adicionou-se 5mL da solução sistema de β-caroteno/ácido linoleico e 400 µL da amostra nas concentrações de 100, 200,

300, 400 e 500 µg/mL. Como controle negativo (branco) foi utilizado 5 mL de solução sistema mais 400 µL de metanol espectroscópico, substituindo a amostra e como controle positivo, uma solução de trolox com uma concentração de 0,2 mg/mL. Os tubos foram mantidos em banho-maria durante 120 minutos a uma temperatura de 50 °C, com leituras a cada 15 minutos. Sendo a primeira leitura feita antes de submeter as soluções ao banho-maria e levando ao vortex para agitação. O teste foi realizado em triplicata.

O decaimento da densidade ótica do controle (Ac0 – Acf) foi considerado como 100% de cooxidação. A partir dessa relação o decréscimo da absorbância das amostras foi correlacionado com a queda do controle, obtendo-se a porcentagem da inibição da cooxidação e a curva cinética. O percentual de oxidação das amostras foi calculado pela fórmula que segue: oxidação % = (Abs. inicial da amostra - Abs final) x 100 / (Abs inicial do controle – Abs final). Onde o percentual de inibição da cooxidação [proteção] se dá pela equação: % Proteção = 100 – (% oxidação). Para verificar a eficiência do antioxidante foi também realizada uma avaliação a partir das tangentes (tg), expresso através dos valores de F1 e F2, (YANISHILIEVA; MARINOVA, 1995) calculados a partir de dois intervalos da curva cinética de oxidação (absorbância a 470 nm x tempo em min). Quando a razão entre essas tangentes (F1 ou F2) apresentarem valores inferiores a 1, o composto testado atua eficientemente como antioxidante; quando o valor apresentado for acima de 1, indica uma ação pró-oxidante do composto. Os valores de F1 e F2 foram calculados de acordo com a figura 3.

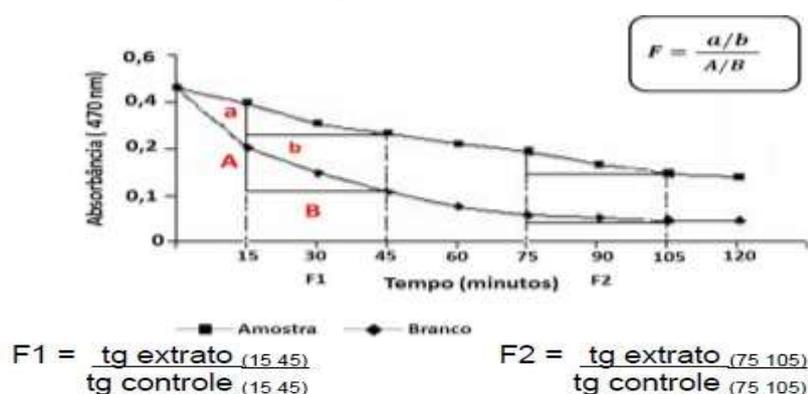


Figura 3. Curva de decaimento da densidade ótica em sistema de cooxidação de β-caroteno/ácido linoleico. A relação entre as tangentes representa os fatores cinéticos F1 e F2, nos quais (a) e (A) são os catetos opostos, obtidos pela diferença das leituras das absorbâncias da amostra e do branco; (b) e (B) são os catetos adjacentes, obtidos pela diferença entre os tempos da amostra e do branco, respectivamente. Adaptado de JARDINI; MANCINI-FILHO (2007)

4.3 CÁLCULO DE CE₅₀

Os resultados da atividade antioxidante (DPPH e β -caroteno/ácido linoleico) foram relacionados utilizando o programa “Excel for Windows”, obtendo-se a equação da reta. A resolução desta equação (substituindo o valor de Y por 50) resultou no valor de CE₅₀ (MENSOR et al., 2001), que é a concentração da amostra necessária para inibir 50% do radical.

5. RESULTADOS

5.1 RENDIMENTO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES

Após a secagem em capela de exaustão, o extrato bruto e as frações foram devidamente pesados para que fosse possível realizar a determinação do rendimento final (%) (tabela 1).

Tabela1. Determinação do rendimento do extrato bruto e frações (%)

Espécie	Massa inicial da amostra (g)	Massa final do extrato seco (g)	Rendimento do extrato total (%)
<i>C. jamaçaru</i>			
Extrato metanólico bruto	2.278,10*	89,8	3,9
Fração Clorofórmica (FC)	25**	8,5	34,0
Fração Hidrometanólica (FHM)	25**	10,7	42,8

*amostra pulverizada

**25 g do extrato metanólico bruto

Fonte: Dados da Pesquisa

5.2 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Verificou-se que o melhor eluente para a separação das substâncias na FC foi hexano/acetona (2:8 v/v) (Figura 4A) e o da FHM foi clorofórmio/metanol/hidróxido de amônio (85:14:1 v/v/v) (Figura 4B). As amostras foram aplicadas em igual volume nas placas cromatográficas de sílica gel e após a pulverização dos reveladores (A/AS, DRG, NPPEG, ERL e NID) foi detectado em ambas as frações a presença de terpenos, esteroides, flavonoides, ácidos fenólicos e aminoácidos (Tabela 2).

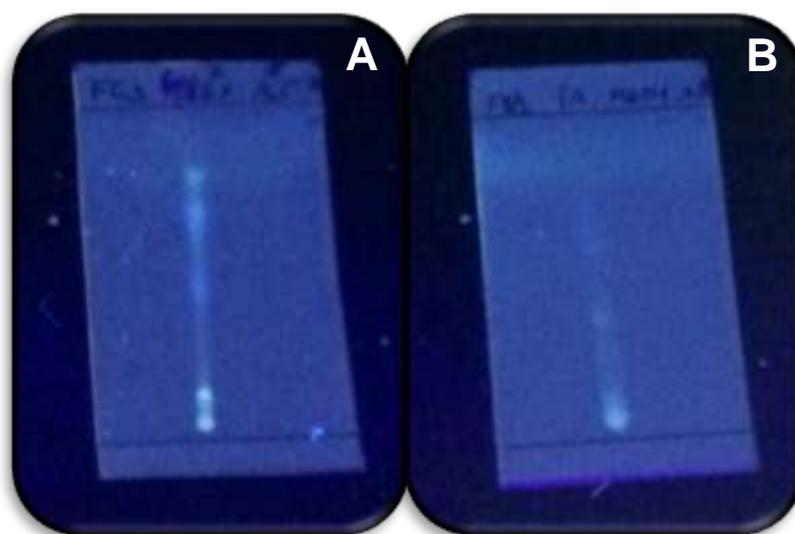


Figura 4. Cromatografia em camada delgada em luz UV 254 nm: (A) Fração Clorofórmica (B) Fração Hidrometanólica (Fotos: Amanda Santana)

Tabela 2. Perfil fitoquímico das frações de *C. jamaicarum*

Amostra	Reveladores				
	A/AS	DRG	NP/PEG	ERL	NID
Fração Clorofórmica (FC)	+	-	+	-	+
Fração Hidrometanólica (FHM)	+	-	+	-	+

A/AS – Anisaldeído Ácido-Sulfúrico; DRG – Dragendorff; NP/PEG – NP/polietilenoglicol; ERL – Erlich; NID – Ninidrina
 Resultado positivo (+); Resultado negativo (-) Fonte: Dados da Pesquisa

5.3 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS

Como descrito na tabela 3 e 4 a FC apresentou maior quantidade de compostos fenólicos (Figuras 5A, 5B) e flavonoides (Figuras 6A, 6B) em relação a FHM. Para as curvas de calibração foi utilizado o ácido gálico (Sigma®) nas concentrações de 50, 100, 150, 200, 250 e 300 µg/mL (Figura 7 – ANEXO 2) e quercetina (Aldrich®) nas concentrações de 2, 8, 14, 20, 26, 32 e 45 µg/mL (Figura 8 – ANEXO 2) para fenólicos e flavonoides respectivamente.

Tabela 3. Teor de compostos fenólicos totais das frações, expressos em: miligramas de equivalente ácido gálico por gramas de extrato (\pm desvio padrão)

Amostra	Compostos Fenólicos (mg EAG/g \pm DP)
Fração Clorofórmica (FC)	104,05 \pm 5,11
Fração Hidrometanólica (FHM)	21,90 \pm 0,30

Fonte: Dados da Pesquisa

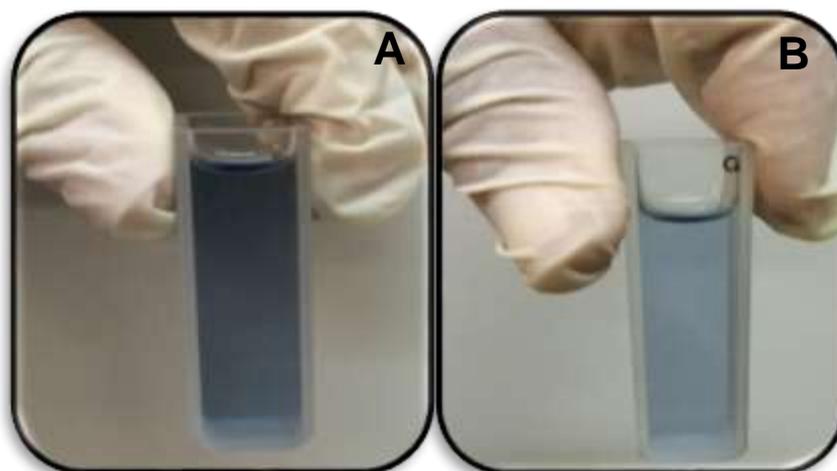


Figura 5. Quantificação de fenólicos: (A) Fração Clorofórmica (B) Fração Hidrometanólica
(Fotos: Amanda Santana)

Tabela 4. Teor de flavonoides totais das frações, expressos em: miligramas de equivalente quercetina por gramas de extrato (\pm desvio padrão)

Amostra	Flavonoides totais (mg EQ/g \pm DP)
Fração Clorofórmica (FC)	8,87 \pm 0,65
Fração Hidrometanólica (FHM)	0,67 \pm 0,02

Fonte: Dados da Pesquisa

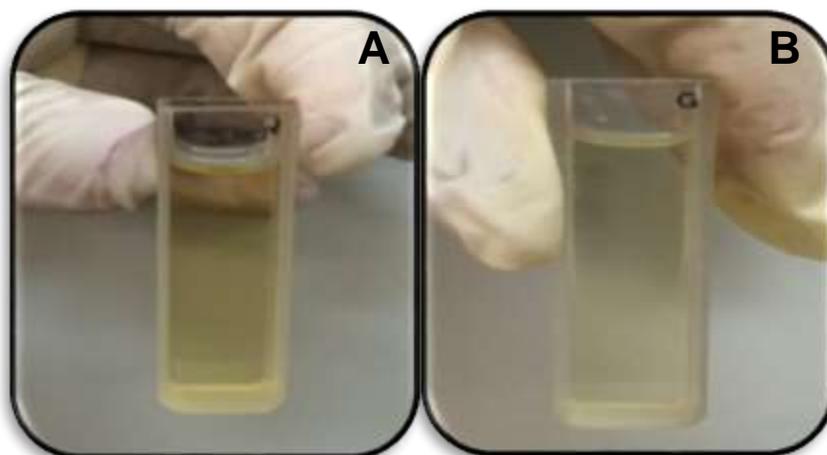


Figura 6. Quantificação de Flavonoides: (A) Fração Clorofórmica (B) Fração Hidrometanólica
(Fotos: Amanda Santana)

6. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

6.1 ATIVIDADE SEQUESTRANTE DO RADICAL LIVRE (DPPH)

6.2 CÁLCULO DE CE₅₀

De acordo com a Tabela 5, pode-se observar que a FC (242,5 µg/mL) apresentou menor valor de CE₅₀ (Figura 9A e 9B) quando comparada a FHM (994,4 µg/mL). Para as curvas de calibração foi utilizado Trolox (concentrações de 2, 5, 8, 10, 12 e 15 µg/mL) e ácido ascórbico (1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12 µg/mL) (Figuras 10 a 15 – ANEXO 2). As curvas das amostras da FC e FHM se encontram no ANEXO 2 (Figuras 16 a 21 – ANEXO 2).

Tabela 5. Atividade antioxidante das frações avaliada pelo CE₅₀ (DPPH), valores expressos em µg/mL

Amostra	CE ₅₀ ±DP (µg/mL)
Fração Clorofórmica (FC)	242,5±2,26
Fração Hidrometanólica (FHM)	994,4±6,96
Trolox	9,5±0,84
Ácido Ascórbico	7,1 ±0,66

Fonte: Dados da Pesquisa

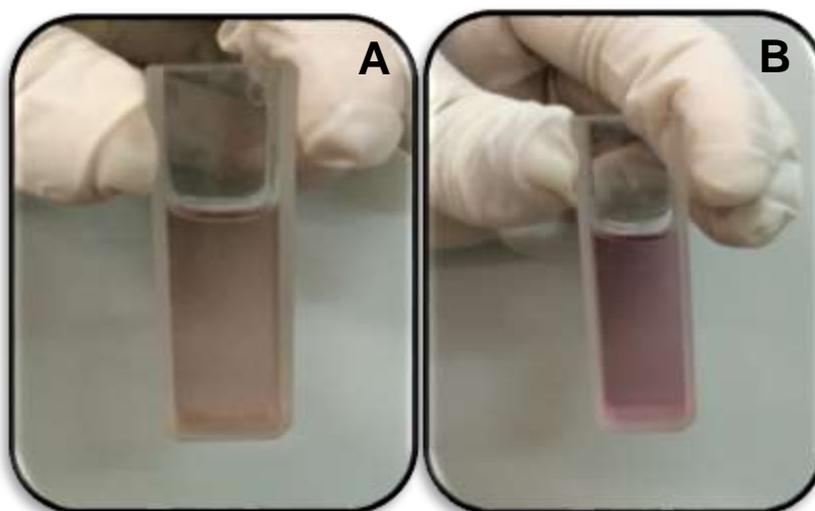


Figura 9. Atividade antioxidante (DPPH): (A) Fração Clorofórmica (B) Fração Hidrometanólica
(Fotos: Amanda Santana)

6.3 INIBIÇÃO DA COOXIDAÇÃO DO SISTEMA B-CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO

As curvas cinéticas das FC e FHM (Figuras 22 e 23) de degradação do β -caroteno foram determinadas, avaliando a eficácia do antioxidante adicionado em intervalos de tempo. Os resultados do teste de inibição de cooxidação do β -caroteno/ácido linoleico (Figura 24) podem ser observados na tabela 6. A FC apresentou valores de F1 e F2 inferiores a 1 em todas as concentrações analisadas, já a FHM apresentou valores de F1 inferiores a 1 e valores de F2 superiores a 1 em todas as concentrações analisadas. Quando F1 ou F2 apresentam valores inferiores a 1, a amostra atua como antioxidante; quando o valor é acima de 1, indica uma ação pró-oxidante. A FC apresentou valor de $CE_{50}=1050,7\pm 22,6$ $\mu\text{g/mL}$ e a FHM apresentou valor de $CE_{50}=1990,7\pm 33,4$ $\mu\text{g/mL}$, representados pelas figuras 25 a 30 (ANEXO 2).



Figura 24. Atividade antioxidante (Sistema β -caroteno/ácido linoleico)
(Foto: Amanda Santana)

Tabela 6. Parâmetros cinéticos do potencial antioxidante no sistema β -caroteno/ácido linoleico (F1 e F2), para as frações (FC e FHM). Valores expressos em $\mu\text{g/mL}$

Concentrações	400 $\mu\text{g/mL}$		600 $\mu\text{g/mL}$		800 $\mu\text{g/mL}$		1000 $\mu\text{g/mL}$		1200 $\mu\text{g/mL}$	
Amostras	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2
Fração Clorofórmica (FC)	0,90	0,74	0,74	0,82	0,60	0,79	0,53	0,85	0,45	0,95
Trolox (200 $\mu\text{g/mL}$)	0,20	0,55								

Concentrações	603 $\mu\text{g/mL}$		900 $\mu\text{g/mL}$		1206 $\mu\text{g/mL}$		1503 $\mu\text{g/mL}$		1800 $\mu\text{g/mL}$		2106 $\mu\text{g/mL}$	
Amostras	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2
Fração Hidrometanólica (FHM)	0,95	1,42	0,78	1,26	0,71	1,33	0,60	1,19	0,47	1,10	0,39	1,08
Trolox (200 $\mu\text{g/mL}$)	0,31	0,60										

Fonte: Dados da Pesquisa

7. DISCUSSÃO

De acordo com a literatura, dentre as substâncias mais frequentemente encontradas em Cactáceas, estão os alcaloides feniletilamínicos, como a hordenina, a mescalina e a lofoforina (DINGERDISSEN; MCLAUGHLIN, 1973; AGURELL; LUNDSTROM; MOSOUD, 1969; NEAL et al., 1971).

Os alcaloides feniletilamínicos das Cactáceas são derivados do metabolismo da tirosina. A tirosina é um aminoácido aromático sintetizado na via metabólica do chiquimato, podendo ser obtida a partir da fenilalanina ou a partir do ácido arogênico (HIGUCHI 1997).

Os resultados obtidos através da análise sistemática qualitativa preliminar para a identificação de grupos de metabólitos secundários evidenciaram a presença de terpenos, esteroides, flavonoides e aminoácidos nas frações de *C. jamacaru*. As frações apresentaram resultados negativos para alcaloides.

Estudos desenvolvidos por Davet (2005), demonstraram que as hastes de *C. jamacaru* (partes aéreas) são ricas em alcaloides e esteroides, confirmando o indicado pela literatura para as Cactáceas. Segundo Gomes et al., (2009) a triagem fitoquímica do extrato etanólico do cladódio de *Harrisia adscendens*, pertencente também a família Cactaceae, detectou a presença de antroquinonas, fenóis, alcaloides, cumarinas e saponinas.

No entanto, resultados negativos de alcaloides na raiz não implicam necessariamente na sua ausência, possivelmente a quantidade dos mesmos esteja pequena para ser detectada (BRUM et al., 2011) ou que o clima ou a área de coleta tenha influência na produção desses metabólitos.

Os metabólitos secundários das plantas, responsáveis pelas bioatividades, podem sofrer alterações qualitativas e quantitativas dependendo dos estímulos ambientais. Fatores como intensidade luminosa, temperatura, pluviosidade, disponibilidade de nutrientes do solo, estágio de desenvolvimento das plantas, interações existentes entre as plantas e animais podem influenciar nas rotas metabólicas das plantas provocando diferentes redirecionamentos de síntese dos compostos (MARTINS, 2012). A época e horário da coleta, bem como técnicas de colheita e pós-colheita podem interferir também. É válido ressaltar que estes fatores podem apresentar correlações entre si, não atuando

isoladamente, podendo exercer influência conjunta no metabolismo secundário (MORAIS, 2009).

A análise do teor dos principais componentes biologicamente ativos em matérias-primas de origem vegetal ou de fitoterápicos é uma etapa essencial para a segurança e eficácia de sua utilização na elaboração de produtos farmacêuticos (WILLIAMSON, 2001).

Os vegetais superiores sintetizam e acumulam uma grande diversidade de compostos fenólicos, cujo papel no metabolismo da planta não está inteiramente elucidado (JULKUNEN-TIITTO 1985). Nos últimos anos, tem havido um crescente interesse nestes compostos devido ao papel que podem ter na prevenção de algumas doenças. Os compostos fenólicos são denominados por fitoquímicos, sendo metabólitos secundários das plantas que atuam como mecanismo de proteção e caracterizam-se por possuírem um ou mais anéis aromáticos e um ou mais grupo hidroxila. Estes compostos estão divididos em classes consoante ao número de anéis presentes na sua estrutura (FERGUSON, 2001; ARAÚJO et al., 2011).

A atividade antioxidante de plantas está correlacionada à quantidade de compostos fenólicos (CHEUNG L.; CHEUNG P.; OOI, 2003). Dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos têm recebido atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipo-oxigenase *in vitro*. A atividade antioxidante dos compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química (SOUZA et al., 2007). Por este motivo, justifica-se a importância de quantificar esses compostos.

Os compostos fenólicos podem prevenir danos no DNA causados por agentes cancerígenos ou radicais livres através de mecanismos como o estresse oxidativo relacionado com enzimas, como a glutathione peroxidase, glutathione reductase, lipoxigenase, xantina oxidase, etc (ALÍA et al., 2006). Estudos efetuados mostram que a maioria dos compostos fenólicos é absorvido no intestino superior e por essa mesma razão, esta zona tem sido apontada como um local de quimioprevenção (MANACH et al., 2004; ARAÚJO et al., 2011; HERVERT-HERNÁNDEZ et al., 2011).

Os flavonoides são substâncias fenólicas e têm sua estrutura baseada em 2-fenil-benzopirano (C₆C₃C₆) (BRUNETON, 2011). Estes compostos quanto à

sua estrutura são identificados como flavanonas, flavonas, flavonóis, antocianinas e isoflavonoides. Estes compostos são também muito conhecidos devido ao seu grande poder antioxidante conferindo estabilidade oxidativa aos produtos onde se encontram presentes. (REPO-CARRASCO-VALENCIA et al., 2010).

Em estudos efetuados nos cladódios de *Opuntia ficus indica* (Cactaceae), foi detectada a presença de compostos fenólicos, mais propriamente flavonoides como derivados de isoramnetina (STINTZING; CARLE, 2005; GINESTRA et al., 2009). Segundo Sousa et al., (2014) o teor de fenóis encontrados nos extratos aquoso, etanol 70% e acetona 80% das folhas de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae) foi de $50,1 \pm 0,3$, $95,6 \pm 2,9$ e $117,8 \pm 2,5$ mg EAG/g_{extrato}, respectivamente. Já segundo Farias (2013) o conteúdo de flavonoides totais encontrados em brotos de palma (*Opuntia* sp.) variou de 20,29 a 32,13 mg/100g_{extrato}.

Em estudos realizados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON/UEFS) os resultados obtidos na quantificação de fenólicos e flavonoides totais demonstraram que a FC da raiz de *C. jamaru* apresentou teores mais altos ($104,05 \pm 5,11$ mg EAG/g_{extrato} e $8,87 \pm 0,65$ mg EQ/g_{extrato}, respectivamente) que o extrato metanólico bruto da raiz ($4,0$ µg/mL) da referida espécie ($34,80 \pm 1,55$ mg EAG/g_{extrato} e $1,73 \pm 0,03$ mg EQ/g_{extrato}, respectivamente). Com o particionamento do extrato metanólico bruto os compostos fenólicos e flavonoides ficaram concentrados na FC. Possivelmente isso ocorre pela presença de flavonoides de baixa polaridade.

A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes. Segundo Sousa et al. (2007) os antioxidantes são compostos que estabilizam ou desativam radicais livres antes que estes ataquem alvos biológicos nas células. Eles inibem a oxidação de vários substratos de duas formas, pela inibição da formação dos radicais livres (impossibilitando a etapa de iniciação) ou pela eliminação dos radicais livres (interrompendo a reação de oxidação em cadeia), podendo ser endógenos ou exógenos (SOARES, 2002).

Antioxidantes naturais estão presentes em ervas e são responsáveis pela inibição ou prevenção dos efeitos deletérios do estresse oxidativo. Ervas contêm sequestradores de radicais livres, sendo os principais os polifenóis, flavonoides

e compostos fenólicos. Devido eficiência parcial do sistema antioxidante endógeno do organismo humano a melhor alternativa a combater o excesso de radicais livres é a prevenção através do consumo de antioxidantes exógenos, como a vitamina C e vitamina E (KHALAF et al., 2008).

De acordo com Brand-Williams et al. (1995), apesar da praticidade do método, alguns cuidados devem ser tomados na interpretação dos resultados obtidos devido ao mecanismo de reação do DPPH com outras substâncias, mecanismo esse dependente da conformação estrutural dos compostos envolvidos na reação. Alguns reagem rapidamente com o DPPH, enquanto que outros, a maioria, a reação é mais complexa.

Estudos desenvolvidos por Turra et al., (2007) concluíram que os extratos das folhas de *Pereskia grandifolia* (Cactaceae) (1000 µg/mL) apresentaram propriedades antioxidantes relativamente baixas, com percentual de inibição entre 10 e 30%. Já os resultados obtidos por Nascimento et al., (2009) demonstraram atividade antioxidante do extrato metanólico do cladódio de *Opuntia monacantha* (Cactaceae) com IC₅₀ de 833,3 mg/mL. As frações AcOEt e n-BuOH foram ainda mais ativas (53,2 e 277,8 mg/mL, respectivamente) e mostraram a presença de substâncias fenólicas por CCD com revelação em UV e NP/PEG-UV. Valores superiores aos encontrados no extrato análogo da espécie mexicana *Opuntia ficus-indica* (IC₅₀ de 1700 mg/mL), de uso e propriedades consagradas (STINTZING; CARLE, 2005). Quando comparamos estes resultados aos encontrados nesta pesquisa vemos que as frações apresentaram valores mais significativos (CE₅₀ de 242,52 µg/mL (FC) e 994,43 µg/mL (FHM)), pois, os resultados de Nascimento et al., (2009) com o extrato de *Opuntia monacantha* e Stintzing; Carle, (2005) com o extrato de *Opuntia ficus-indica* foram calculados em mg/mL, ou seja, mil vezes maior do que os encontrados nesta pesquisa.

A cooxidação do β-caroteno/ácido linoléico é um ensaio que difere dos outros métodos de avaliação da atividade antioxidante, pois sua matriz de reação é uma emulsão. É um método simples e sensível, porém não é específico, pois substâncias oxidantes ou redutoras interferem no ensaio e muitas vezes não se consegue reproduzir os valores das absorbâncias (VON GADOW et al., 1997). O comportamento de muitos antioxidantes pode mudar ante o meio em que se

encontram. Em emulsões, é relatada maior eficácia protetora de antioxidantes lipofílicos, já que se direcionam na interface óleo-água (KIOKIAS et al., 2008).

Estudos desenvolvidos por Souza et al. (2014) apresentaram valores de cooxidação na faixa de 81,2% mostrando que o extrato em etanol 70% das folhas de *Pereskia aculeata* Mill. (cactaceae) ($70 \mu\text{g mL}^{-1}$) apresentou maior inibição do consumo do β -caroteno quando comparados aos outros extratos testados, acetona 80% (63,5%) e aquoso (75,8%).

A partir das curvas cinéticas obtidas neste teste (Figuras 12 e 13) foi possível calcular os fatores cinéticos das frações (FC e FHM). Esses fatores cinéticos foram propostos por Yanishlieva e Marinova (1995) segundo os quais no fator F1 (calculado no período entre 15 e 45 minutos de reação) é mensurada a eficiência do antioxidante em bloquear a reação em cadeia, por meio da inativação dos radicais peróxidos; os chamados antioxidantes primários. Já o fator F2 (calculado no período entre 75 e 105 minutos) está associado à capacidade do antioxidante de participar de outras reações, como por exemplo, a decomposição dos produtos secundários da oxidação, como os radicais hidroperóxidos (LIMA, 2008).

Os resultados obtidos pelo teste de inibição da cooxidação do β -caroteno/ácido linoleico demonstraram que a FC da raiz de *C. jamacaru* apresentou melhor resultado em relação a FHM, tanto no valor de CE_{50} , quanto no cálculo de F1 e F2. Em todas as concentrações estudadas a FC apresentou valores de F1 e F2 inferiores a 1; ou seja, possui capacidade de degradar os radicais peróxidos, indicando uma ação antioxidante. Entretanto na FHM todos os valores de F2 foram superiores a 1, portanto não sendo efetivo na inativação de produtos secundários da reação como os hidroperóxidos; o que indica que essa amostra, embora iniba a formação de radicais livres no período de indução, gera espécies químicas que aceleram a oxidação durante a degradação do ácido linoleico.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de terpenos, esteroides, flavonoides, ácidos fenólicos e aminoácidos foi detectada nas frações.

A fração clorofórmica apresentou melhor resultado que a fração hidrometanólica na quantificação de compostos fenólicos e flavonoides totais, sequestro de radical DPPH e inibição da cooxidação do β -caroteno/ácido linoleico. Estudos posteriores serão realizados visando o isolamento dos compostos presentes nas frações (cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)) para determinação do perfil cromatográfico, seguido pelo isolamento dos metabólitos secundários (cromatografia em coluna e CLAE semi-preparativo). Os constituintes isolados serão analisados por ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , espectrometria de massas, espectroscopia no infravermelho e ultravioleta.

9. REFERÊNCIAS

AGRA, M. F. et al. Plantas da Medicina Popular dos Cariris Velhos Paraíba, Brasil: **PNE**, 1996.

AGURELL, S.; LUNDSTROM, J.; MASOUD, A. Cactaceae alkaloids VII: alkaloids of *Echinocereus merkeri*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 58, n. 11. 1969.

ALÍA, M.; MATEOS, R.; RAMOS, S.; LECUMBERRI, E.; BRAVO, L.; GOYA, L. Influence of Quercetin and Rutin on Growth and Antioxidant Defense System of a Human Hepatoma Cell Line (Hepg2). **Eur J Nutr**. 45:19-28, 2006.

ANDRADE, Cássia Tatiana da S. Cactos úteis na Bahia: ênfase no semiárido. Pelotas: Ed. **USEB**, 128p. 2008.

ARAGÃO, T. C. F. R.; SOUZA, P. A. S.; UCHÔA, A. F.; COSTA, I. R.; BLOCH Jr, C; CAMPOS, F. A. P. Characterization of a methionine-rich protein from the seeds of *Cereus jamacaru* Mill (Cactaceae). Brazilian: **Journal of Medical and Biological Research**, v. 33(8), p. 897-903. 2000.

ARAÚJO, J.; GONÇALVES, P.; MARTEL, F. Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines. **Nutrition Research**. 31: 77–87. 2011.

ARIMURA, G.; KOST, C.; BOLAND, W. Herbivore-induced, indirect plant defences. *Biochimica et Biophysica*. **Acta**;1734:91-111. 2005.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P.; FOOD CHEM. 2005, 89, 27; BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; **Quim. Nova**. 2006.

BERG, J. M. T.; LUBERT, J. Bioquímica. 6.Ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 545p. 2008.

BOSCOLO, O. H. et al. Potencial antioxidante de algumas plantas de restinga citadas como medicinais. **Rev. Bras. PI. Med**. v. 9, n. 1, p. 8-12, 2007.

BOYSEN, R. I.; HEARN, M. T. W. High performance liquid chromatographic separation methods. **Comprehensive Natural Products**, v. 2, p. 5-49. 2010.

BRANDÃO, M. G. L.; ALVES, R. M. S.; MOREIRA, R. A.; OLIVEIRA, P.; VIEIRA, M. T.; MOREIRA-CAMPOS, L. M. Qualidade de amostras comerciais de chás de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. 5:56-59. 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C.; LEBENSM. *Wiss. Technol*, 28, 25. 1995.

BRASIL. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2006.

BRUM, S. S. et al. Esterificação de ácidos graxos utilizando zircônia sulfatada e compósitos carvão ativado/zircônia sulfatada como catalisadores. **Química Nova**, v. 34, p. 1511-1516, 2011.

BRUNETON, J. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. AS/Espanha: Ed. **Acribia**. 2011.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines. Braz: **J Med Biol Res**. 33: 179-189. 2000.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal review. **J. Ethnofarmacol**. v.100, p. 131-134. 2005.

CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 99-105. 1998.

CHAPLA, V. M. Estudo químico e biológico do fungo endofítico *Phomopsis* sp. isolado da *Senna spectabilis*. 179 p. **Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista**, Araraquara, SP, 2012.

CHEUNG, L. M.; CHEUNG, P. C. K.; OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, Barking, v. 80, n. 2, p. 249-255, 2003.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G.; BONATO, P. S. Fundamentos de cromatografia. Campinas: **Editora Unicamp**, 456 p. 2006.

DAVET, A. Estudo fitoquímico e biológico do cacto – *Cereus jamacaru* de candolle, cactaceae. **Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná**. Curitiba. 2005.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic approach. 2 ed. John Willey & sons, **LTD**. 2002.

DEWICK, P. M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 3. ed. United Kingdom: **Wiley**, 2009.

DINGERDISSE, J. J.; MCLAUGHLIN, J. L. Cactus Alkaloids XXI: β -Phenethylamines from *Dolichothele sphaerica*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 62, n. 10, p. 1633-1666.1973.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; DOS SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Evaluation of the antioxidant activity using the B-carotene/linoleic acid

system and the DPPH scavenging method. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

FARIAS, V. F de S. Avaliação do desenvolvimento, qualidade e capacidade antioxidante em brotos de palma (*Opuntia* sp.) para o consumo humano. **Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar**. Pombal. 2013.

FERGUSON, L. Role of plant polyphenols in genomic stability. **Mutation Research**. 475:89–111. 2001.

GINESTRA, G.; PARKER, M. L.; BENNETT, R. N.; ROBERTSON, J.; MANDALARI, G. Anatomical, Chemical, and Biochemical Characterization of Cladodes from Prickly Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 57:10323– 10330. 2009.

GOMES, E, S, F.; SANTANA, C. R. A.; XAVIER-FILHO, L.; RODRIGUES, S. A. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante do cacto rabo de raposa *Harrisia adscendens* (gürke) britton & rose (cactaceae). 60° Congresso Nacional de Botânica. **Resumo Simples**. 2009.

GONÇALVES, A. L.; FILHO, A. A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq Inst Biol**, v.3, 2005.

HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; GARCÍA, O. P.; ROSADO, J. L.; GOÑI, I. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. **Food Research International**. 44:1182–1189. 2011.

HIGUCHI, T. Biochemistry and molecular biology of wood. Berlim: **Springer Publishing Co.**, 1997.

JARDINI, F. A.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.1, p.137-147, 2007.

JULKUNEN-TIITO, R. Phenolic constituents in the leaves of Northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. **J. Agric. Food Chem**. 33:213-217. 1985.

KHALAF, N. A. et al. Antioxidant Activity of Some Common Plants. **Turk J Biol**. v. 32, p. 51-55, 2008.

KIOKIAS, S. et al. In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, Boca Raton, v.48, n.1, p.78-93, 2008. Disponível em:

<<http://www.informaworld.com/smpp/content~db=all~content=a790617639>>. Acesso em: 05 out. 2015. DOI:10.1080/10408390601079975.

KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, v.66, p. 1003-1010, 1994.

KURZ, C.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. HPLC-DAD- MSn characterisation of carotenoids from apricots and pumpkins for the evaluation of fruit product authenticity. **Food Chemistry**, v. 110, p. 522-530, 2008.

LEITE, J. P. V. Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas. 1.Ed. São Paulo: **Atheneu**, 344p. 2008.

LIMA, A. de. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental**. 2008.

LIN, C. H.; CHANG, C. Y. Textural change and antioxidante properties of broccoli under different cooking treatments. **Food chemistry**, v. 90, n. 1-2, p. 9-15, 2005.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. **Am J Clin Nutr**. 5:727-47. 2004.

MARTINS, F. M. de M. Estudo da influência de fatores ambientais na composição química e atividades biológicas de *Xylopia sericea* St. Hill. **Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo**. 2012.

MATOS, F. J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental. 2. ed. Fortaleza: Edições **UFC**, 141p. 1997.

MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. J. K. Vogel: análise química quantitativa. 6. ed. Rio de Janeiro: **LTC**, 462p. 2002.

MENDONÇA-FILHO, R. R. Bioactive Phytocompounds: New Approaches in the Phytosciences. In: AHMAD, I.; AQIL, F.; OWAIS, M. Modern Phytomedicine: turning medicinal plants into drugs. Alemanha: **WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.** KGaA, Weinheim, 2006.

MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v.15, p.12-130, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Cadernos de Atenção Básica**. 2012.

- MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira** v.27: S4050- S4063. 2009.
- NASCIMENTO, A. C. do; PAIXÃO, D. da; VALENTE, L. M. M.; SCHEINVAR, L. A.; MOURA, M. R. L.; TINOCO, L. W.; GOMES, L. N. F.; SILVA, J. F. M. da. Atividade antioxidante, potencial nutricional e flavonóides dos cladódios de *Opuntia monacantha* (Cactaceae). **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. 2009.
- NEAL, J. M. et al. Cactus alkaloids X: Isolation of hordenine and N-methyltyramine from *Ariocarpus kotschoubeyanus*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 60, n. 3. p. 477-488. 1971.
- PERES, M. T. L. P et al. Estudos químicos e biológicos de *Microgramma vacciniifolia* (Lansd. & Fisch.) Copel (Polypodiaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 897-901. 2009.
- PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT - Food Science Technology**, v. 40, p. 1-11, 2007.
- REPO-CARRASCO-VALENCIA, R.; HELLSTROM, J. K.; PIHLAVA, J. K.; PIHLAVA, J. M. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). **Food chemistry**. 120: 128–133. 2010.
- ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. **Food Chem.** 92, 235. 2005.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F.; *J. Sci. Food. Agric.* 76, 270. 1998.
- SILVA, L. C. N.; SILVA JÚNIOR, C. A.; SOUZA, R. M.; MACEDO, A. J.; SILVA, M. V.; CORREIA, M. T. S. Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 2222–2228, 2011.
- SIMÕES, M.C.O. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2. ed. Porto alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/ **UFRGS**/ Ed. Da UFSC, 2000.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Florianópolis: **Editora da UFSC**, 1102p. 2007.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed. **Editora da UFSC**, 1, 104 p. 2010.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, Campinas. v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, C. M. DE M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, R. M. F. et al. Atividade antioxidante de extratos de folhas de ora-pro-nóbis (*pereskia aculeata* mill.) usando métodos espectrofotométricos e voltamétricos in vitro. **Biosci. J.**, Uberlandia, v. 30, supplement 1, p. 448-457. 2014.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, F. V. D.; MACHADO, C. de F.; JUNGHANS, D. T.; SOUZA, E. H. de; SMETANSKA, I. Production of secondary metabolites using plant cell cultures. **Advance in Biochemistry and Engineering Biotechnology**, p. 187–228. 2008.

SOUZA, C. O.; MENEZES, J. D. S.; RAMOS NETO, D. C.; ASSIS, J. G. A.; SILVA, S. R.; DRUZIAN, J. I. Carotenoides totais e vitamina A de cucurbitáceas do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido. **Ciência Rural**, v. 42, p. 926-933, 2012.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. **Mol. Nutr. Food Res.** 49: 175 – 194. 2005.

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.

VON GADOW, A.; JOUBERT, E.; HANSMANN, C. F. Comparison of antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), alpha-tocopherol, BHT and BHA. **J. Agric. Food Chem.**, 45, 632–638. 1997.

WILLIAMSON, E. M. Synergy and other interactions in phytomedicines. **Phytomedicine**; 8:401-9. 2001.

WOISKY. R.G. Método de controle químico de amostras de própolis.74f. **Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 1996.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E. M. Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. **Food Chemistry**, v.54, n.4, p.377-382. 1995.

CAPÍTULO II

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E ESTUDO DAS ATIVIDADES
ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DAS FRAÇÕES
CLOROFÓRMICA E HIDROMETANÓLICA DO EXTRATO DA
RAIZ DE *Cereus jamacaru* DC. (CACTACEAE)**

RESUMO

Cereus jamacaru apresentou interessante perfil antinociceptivo, antimicrobiano e anti-inflamatório em estudos preliminares. Suas raízes são utilizadas na medicina popular no tratamento de doenças como reumatismo, inflamações renais e infecções urinárias. Vale ressaltar a importância de extratos vegetais padronizados e validados do ponto de vista da sua eficácia, segurança e qualidade. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a toxicidade aguda das frações clorofórmica (FC) e hidrometanólica (FHM) da raiz de *C. jamacaru* (2000 mg/kg, v.o.), avaliar o efeito das frações sobre o sistema nervoso central de camundongos através do teste do rota rod (75, 150 e 300 mg/kg, v.o.), avaliar o efeito das frações quanto a atividade antinociceptiva nos modelos de testes do ácido acético, formalina e placa quente, e quanto a atividade anti-inflamatória no modelo do teste do edema de pata induzido por carragenina (75, 150 e 300 mg/kg, v.o.). Os resultados mostraram que ambas as frações não produziram toxicidade aguda nos camundongos. O teste do rota-rod não evidenciou atividade miorrelaxante em ambas as frações. Em relação à atividade antinociceptiva, todos os resultados foram significativos. As frações reduziram ($p < 0,001$) o número de contorções abdominais em todas as doses testadas. As frações diminuíram o número de lambida e mordida ($p < 0,001$) na pata na primeira (f1) e segunda (f2) fase do teste da formalina em todas as doses testadas. As frações aumentaram o tempo de latência ao calor ($p < 0,01$ e $p < 0,001$) no modelo da placa quente em todas as doses e em todos os tempos observados. A atividade anti-inflamatória foi evidenciada em ambas as frações ($p < 0,001$), em todas as doses e todos os tempos observados no teste do edema de pata. Concluí-se que pelas avaliações farmacológicas avaliadas as frações clorofórmica e hidrometanólica se mostraram atóxicas por via oral e não afetaram a coordenação motora dos animais; além de possuírem propriedades antinociceptivas e anti-inflamatória com indícios de mecanismo de ação central, sendo promissora sua utilização como recurso terapêutico.

Palavras-chave: Mandacaru. Raiz. Dor. Inflamação.

ABSTRACT

Cereus jamacaru presented interesting profile antinociceptive, anti-microbial and anti-inflammatory in preliminary studies. Its roots are used in folk medicine in the treatment of diseases such as rheumatism, kidney inflammation and urinary tract infections. It is worth mentioning the importance of standardized herbal extracts and validated from the point of view of its effectiveness, safety and quality. The objective of this research was to evaluate the acute toxicity of chloroform (FC) fractions and hydromethanol (FHM) *C. jamacaru* root (2000 mg/kg, p.o) to evaluate the effect of the fractions on the central nervous system of mice through the rod route test (75, 150 and 300 mg/kg, p.o) to evaluate the effect of the fractions as antinociceptive activity in models of acetic acid tests, formalin and hot plate, and the anti-inflammatory activity in the test model of paw edema induced by carrageenan (75, 150 and 300 mg/kg, p.o). The results showed that both fractions produced no acute toxicity in mice. The rota-rod test showed no muscle relaxant activity in both fractions. Regarding the antinociceptive activity, all results were significant. Fractions reduced ($p < 0,001$) the number of abdominal contractions at all doses tested. Fractions decreased the number of licking and biting ($p < 0,001$) in the footpad at the first (f1) and second (f2) phase of the formalin test at all doses tested. Fractions increased heat to the latency time ($p < 0,01$ and $p < 0,001$) in the model hot plate at all dose levels and in all observed times. The anti-inflammatory activity was detected in both fractions ($p < 0,001$) at all doses and ever observed in rat paw edema test. It was concluded that the pharmacological ratings assessed chloroform fractions and hydromethanol proved non-toxic orally and did not affect motor coordination of animals; besides their antinociceptive and anti-inflammatory mechanism of action of centrally indicia, and their use as promising therapeutic resource.

Keywords: Mandacaru. Root. Pain. Inflammation.

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as plantas medicinais são representadas por todas as espécies silvestres ou cultivadas, utilizadas como recurso na prevenção, alívio e cura de um processo fisiológico normal ou patológico; ou quando estas são fontes de fármacos ou de seus precursores (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 2000).

As plantas medicinais têm formado a base dos cuidados de saúde em todo o mundo desde os primórdios da humanidade e ainda são amplamente utilizados com grande importância no comércio internacional. O reconhecimento de seu valor farmacêutico e econômico continua a crescer, embora isso varie muito entre os países. As plantas são importantes para a investigação farmacológica e desenvolvimento de medicamentos, não só quando fitocompostos bioativos são usados diretamente como agentes terapêuticos, mas também como matérias-primas para a síntese de drogas ou como modelos para os compostos farmacologicamente ativos (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003).

Os fitoterápicos representam uma porção significativa do mercado mundial de medicamentos, com crescimento nas vendas de 15% ao ano contra 4% do setor de fármacos sintéticos. No Brasil, eles geram um faturamento de cerca de US\$160 milhões anuais, constituindo um mercado promissor e em franca expansão (CARVALHO et al., 2011). Estima-se que 25 a 50% dos medicamentos disponíveis na terapêutica atual foram desenvolvidos de fontes naturais, sendo 25% a partir de plantas, 13% de micro-organismos e 3% de animais (NEWMAN; CRAGG, 2012).

Cereus jamacaru DC. popularmente conhecido como mandacaru, é um cacto colunar característico da região semiárida do Brasil (BRAUN et al., 2013). Na Bahia, o estudo mais recente citando o uso de cactáceas na medicina popular registrou a utilização de chás das raízes de *C. jamacaru* para tratar infecções urinárias (ANDRADE, 2008). No Brasil existe atualmente um medicamento fitoterápico composto registrado na ANVISA com a espécie *C. jamacaru*, sendo utilizado para o tratamento do climatério e outros cinco medicamentos a partir de outras espécies do gênero (*C. grandiflorus*, *C. hildemianus* e *C. peruvianus*) (BRASIL, 2013).

A busca de medicamentos para o alívio da dor é muito antiga e diante disso, as plantas com propriedades terapêuticas ocupam lugar de destaque, uma vez que a atividade analgésica de seus compostos continua sendo a mais estudada (CALIXTO, 2005).

A dor é uma experiência complexa que não envolve apenas a transdução do estímulo nociceptivo ambiental, mas também uma condição capaz de gerar alterações cognitivas e emocionais processadas pelo cérebro (JULIUS; BASBAUM, 2001). A dor é um sinal de alarme que o Sistema Nervoso Central utiliza para sinalizar um processo de agressão ao organismo, com risco para sua integridade física. Esse alarme desencadeia um conjunto de reações de adaptação, de ordem psicofisiológica, autônoma e motora, visando afastar o organismo do agente agressor. A percepção da dor também é chamada de nocicepção, sendo um alerta individual de percepção ou sensação de dor (CHAPMAN; GAVRIN, 1999; GOZZANI, 2002).

Uma distinção entre dor e nocicepção se faz necessária, pois o termo nocicepção pode ser definido como a percepção de uma lesão real sendo controlada por um sistema de receptores que transmitem informações sobre a lesão para o Sistema Nervoso Central através de fibras nervosas especializadas (KONTINEN et al., 2001). Por outro lado, o conceito de dor envolve tanto o componente sensorial, quanto o emocional (COUTAUX et al., 2005). Assim, enquanto a dor envolve a percepção de um estímulo aversivo e exige à capacidade de abstração e elaboração de impulsos sensoriais, a nocicepção refere-se às manifestações neurofisiológicas geradas pelo estímulo nocivo (ALMEIDA et al., 2004).

A transmissão da dor envolve uma interação complexa de estruturas centrais e periféricas desde a pele, vísceras ou outros tecidos até o córtex cerebral (FURST, 1999). A dor reflete a ativação de sensores, denominados nociceptores, por estímulos potencialmente perigosos que excedem a faixa fisiológica (MILLAN, 1999). Os nociceptores estão presentes na pele e em outros tecidos como terminações nervosas livres sensíveis a estímulos de diferentes origens, como mecânicos, térmicos e químicos, capazes de induzirem aumento da condução nervosa (TING et al., 2006).

Após a lesão tecidual ocorre à produção e liberação de mediadores inflamatórios pelos neurônios sensoriais e por células não neuronais como

plaquetas, células sanguíneas, mastócitos, células endoteliais, fibroblastos e células de Schwann (BESSON, 1997). Esses mediadores podem agir sinergicamente potencializando a resposta nociceptiva ou ainda levar a uma sensibilização dos nociceptores promovendo uma hiperalgesia, que é definida como desvio à esquerda da curva estímulo-resposta que demonstra a magnitude da dor em resposta à intensidade do estímulo (RAJA et al., 1999).

A ativação dos nociceptores em resposta a estímulos nocivos leva à despolarização e geração de um potencial de ação que se propaga ao longo de toda a fibra (WOOLF; SALTER, 2000). A maior parte da estimulação destas fibras é produzida pela ativação de receptores específicos acoplados a cascatas de segundos mensageiros intracelulares e canais iônicos. Os canais iônicos responsáveis por correntes de entrada em nociceptores são principalmente os canais de cálcio e os canais de sódio dependentes de voltagem, enquanto os canais de potássio são responsáveis por correntes de saída. Os canais de sódio são os principais responsáveis pela geração e condução de potenciais de ação em neurônios (BEVAN, 1999).

Pesquisas etnofarmacológicas tradicionais no uso de plantas para o alívio da dor são vistas como estratégia produtiva e lógica na procura por novas drogas analgésicas (ELISABETSKY et al., 1995).

A inflamação é uma resposta complexa do tecido vivo e vascularizado envolvendo eventos como retração de células endoteliais, aumento da permeabilidade vascular e do fluxo sanguíneo local, aumento da migração de granulócitos e células mononucleares, assim como proliferação de tecido granulomatoso (ARRUDA, 2008). É um processo de múltiplos passos que compreende um complexo de cascata de fenômenos biológicos dinâmico, que pode ser subdividido em várias etapas e fases (DROZDOVA; BUBENCHIKOV, 2005).

As reações inflamatórias locais são caracterizadas por quatro sinais típicos: rubor (hiperemia), tumor (edema), calor (aumento da temperatura local) e dor, como descritos por Cornelius Celsus, no início da era Cristã (GILROY et al., 2004). O quinto sinal da inflamação, é a perda da função do tecido ou órgão lesado, associado com reações crônicas (KALISCH, 1975).

A resposta inflamatória aguda provocada por infecção ou lesão tecidual envolve o recrutamento de componentes do sangue (leucócitos) para o local da

infecção ou lesão. Esta resposta é, geralmente, desencadeada por receptores do sistema imune inato, como os receptores “Toll-like” (TLRs), receptores “NOD-like” (NLRs), todos localizados em células residentes (ROCK; KONO, 2008). Usualmente é rápida, agindo durante horas a dias e envolve modificações vasculares com exsudação de fluidos e proteínas do plasma e também a migração de elementos vasculares, a exemplo dos polimorfonucleares, principalmente os neutrófilos. Já a fase crônica da inflamação acontece quando o processo dura mais de três meses. Nesta fase, as células mais ativas são as mononucleares, entre elas os linfócitos, macrófagos e plasmócitos. Os eventos principais da fase crônica são a angiogênese e a fibrose com formação de granuloma (HOCHBERG et al., 2010).

A resposta fisiológica observada no processo inflamatório está relacionada com a liberação de diferentes mediadores pró-inflamatórios, como aminas biogênicas (histamina e serotonina), cininas (bradicininas), prostanoídes (prostaglandinas), citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-6), fator de ativação plaquetária (PAF) e substância P (KIM et al., 2007).

Muitos medicamentos anti-inflamatórios atuais são alvo desses mediadores em diferentes níveis, mas eles carecem de especificidade e seus efeitos indesejáveis restringem seu uso a longo prazo (DHIKAV et al., 2002), portanto, a tendência no momento é a produção de medicamentos à base de vegetais, uma vez que os fitoterápicos não apresentam esses efeitos colaterais (KUMARI, 2014).

A descoberta de novos fármacos a partir de plantas conduziu ao isolamento de muitas substâncias que ainda hoje são utilizadas clinicamente, ou então serviram como protótipos para a síntese de novos fármacos (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2008).

É notável que a maioria dos novos medicamentos descobertos nas últimas décadas tem a sua origem da natureza. Constituintes químicos obtidos de plantas medicinais e outros produtos naturais têm sido cada vez mais utilizados para tratar várias doenças (NAPIMOGA; YATSUDA, 2010).

No entanto, o uso indiscriminado de algumas plantas para o tratamento de doenças sem qualquer evidência científica, pode ser muito prejudicial. Por isso, a avaliação da toxicidade e o potencial farmacológico das frações de C.

jamacaru, é de grande interesse científico, ambiental, tecnológico, econômico e social.

Nesse sentido, o presente estudo se encarrega de fazer um estudo toxicológico pré-clínico das frações clorofórmica e hidrometanólica da raiz de *C. jamacaru*, avaliar o efeito das frações sobre o sistema nervoso central de camundongos por meio da triagem farmacológica comportamental e do teste do rota rod, avaliar o efeito das frações sobre a atividade antinociceptiva nos modelos de testes por indução química (ácido acético e formalina e térmica (placa quente), e a atividade anti-inflamatória no modelo do teste do edema de pata induzido por carragenina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

A coleta do material botânico foi realizada na zona rural do município de Feira de Santana (12°12'32,9"S e 38°55'59"W). A coleta das raízes de *C. jamacaru* (voucher 205707) foi realizada em abril de 2014 no período da manhã (9:00 horas). Esta espécie foi previamente identificada conforme exsicata depositada no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana. As amostras da raiz foram encaminhadas diretamente ao LAPRON (Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos) da Universidade Estadual de Feira de Santana.

2.2 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO EXTRATO BRUTO

As raízes da espécie selecionada foram colocadas para secar à temperatura ambiente, ao abrigo da luz, sendo posteriormente pulverizado em moinhos de facas, para que fosse realizado um cálculo que determinasse o rendimento final de cada extrato através da equação $RET = \frac{Mf}{Mi} \times 100 = \text{Rendimento de extrato total (\%)}$; Mf = massa final do extrato seco (g); Mi = massa inicial da amostra (g). O material pulverizado foi submetido à extração, três vezes consecutivas, por maceração com metanol em recipientes de vidro. Os extratos brutos foram concentrados em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, em temperaturas

de 40-42°C. O resíduo de solvente do extrato metanólico foi retirado por evaporação em capela de exaustão (Figura 1).

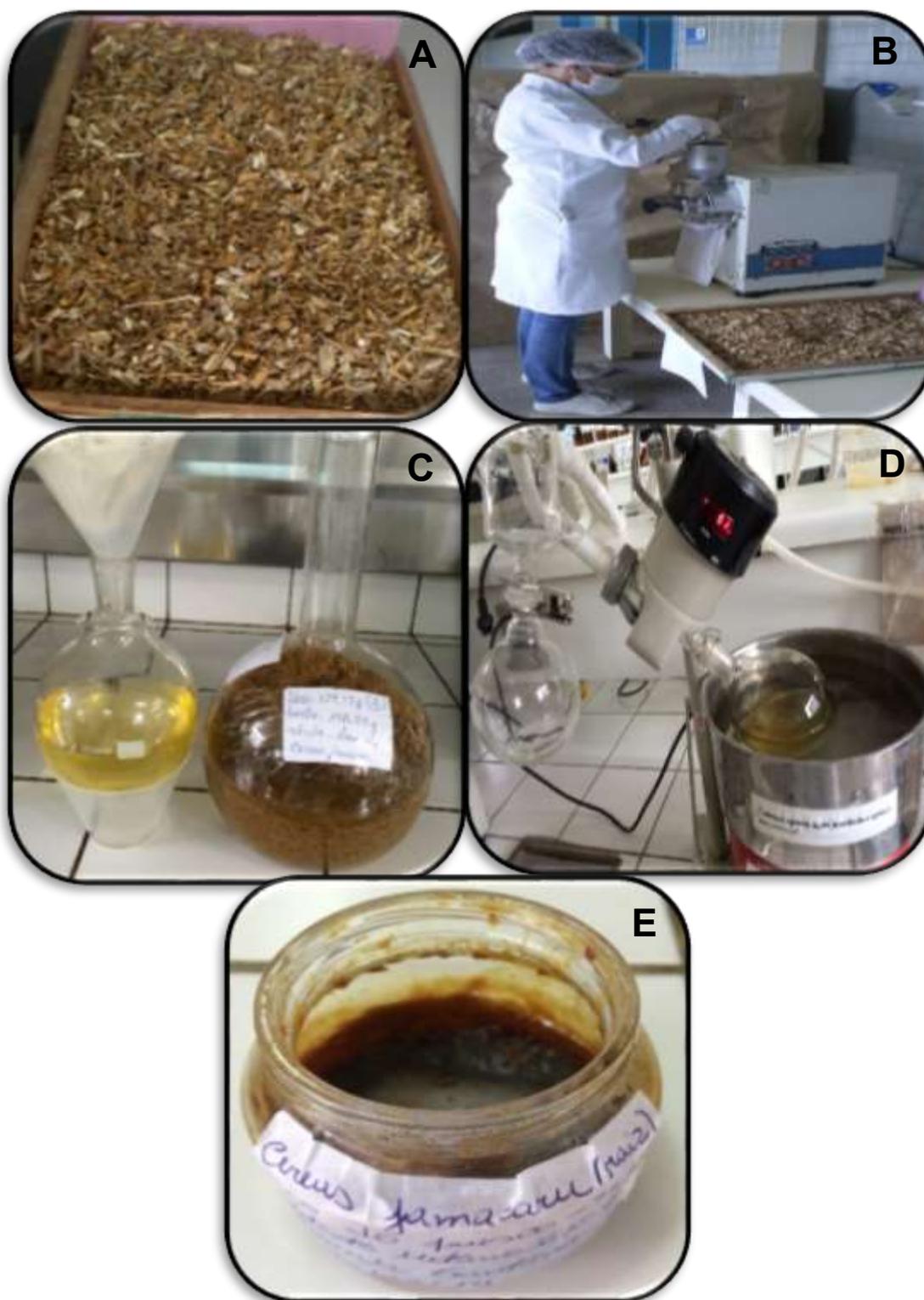


Figura 1. (A) Material vegetal de *Cereus jamacaru* secando à temperatura ambiente (B) Material pulverizado em moinho de facas (C) Extração em metanol (D) Rotaevaporador sob pressão reduzida (E) Extrato metanólico bruto (Fotos: Amanda Santana)

2.3 FRACIONAMENTO DO EXTRATO BRUTO

O extrato metanólico da raiz de *C. jamacaru* foi fracionado por partição líquido-líquido (Figuras 2A1 e 2A2) para obtenção das frações. 25g do extrato metanólico bruto foi ressuspenso em metanol:água (7:3 v/v) e extraído com clorofórmio para obtenção das FC (Figura 2B) e FHM (Figura 2C), visando uma semi-purificação das substâncias através de suas polaridades. A FC foi concentrada em evaporador rotatório e colocada para secar em capela de exaustão, enquanto a FHM teve o metanol retirado no evaporador rotatório e a solução final foi liofilizada (Liofilizador Terrone Enterprise I).

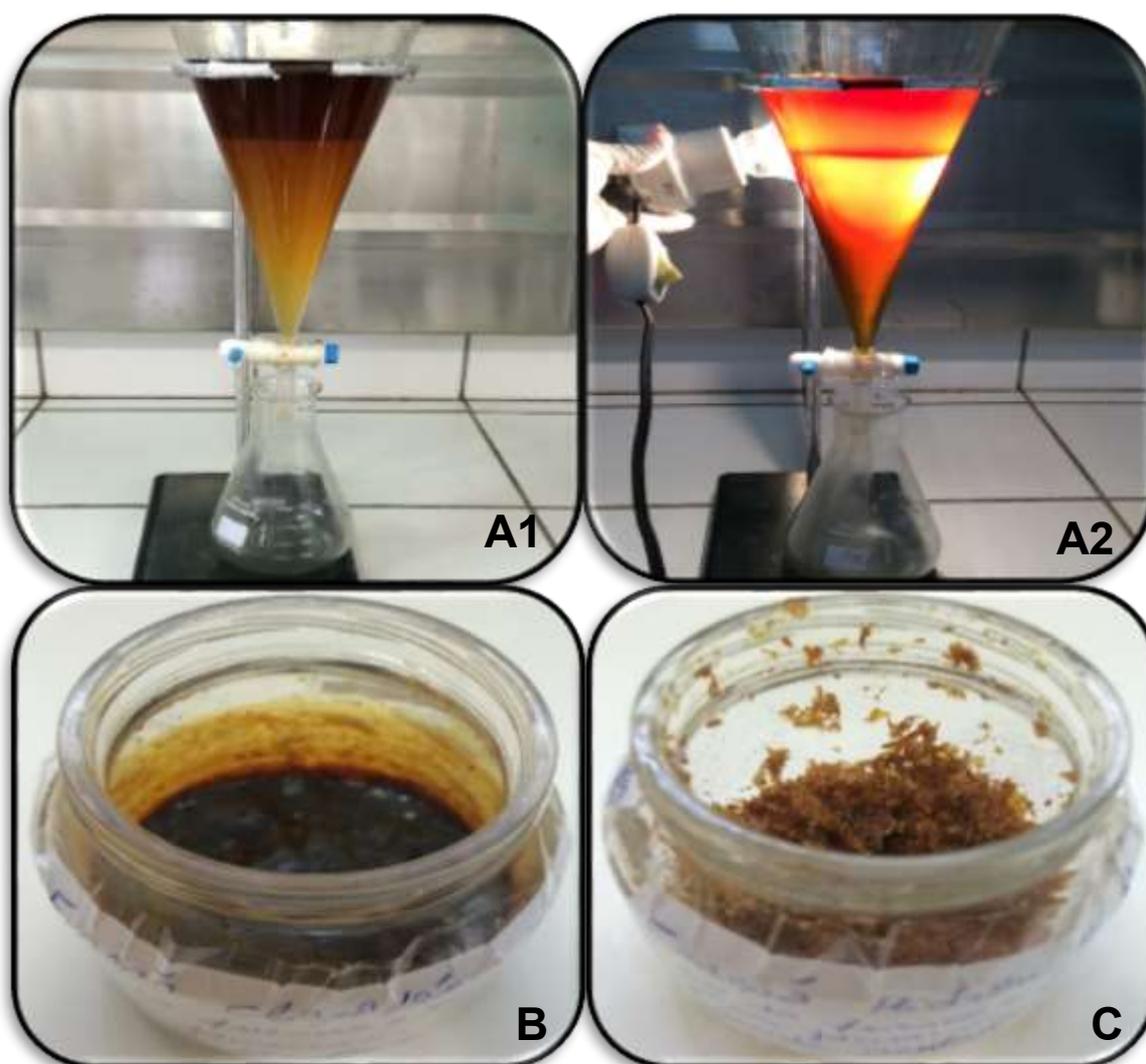


Figura 2. (A1 e A2) Partição líquido-líquido (B) Fração Clorofórmica (C) Fração Hidrometanólica (Fotos: Amanda Santana)

3. ENSAIOS BIOLÓGICOS

3.1 ANIMAIS UTILIZADOS

Os testes biológicos foram realizados no Laboratório de Farmacologia (LAFAR) localizado no Biotério Central da UEFS, que forneceu os camundongos machos adultos (25 a 30g) utilizados como cobaias. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, providas de cama de serragem selecionada, com garrafa acoplada a um bico de aço inoxidável para água, e cocho para ração do tipo peletizada, ambos fornecidos *ad libitum*.

A sala foi mantida a uma temperatura de 20 a 22° C e com ciclos de 12 h claro / 12 h escuro (fase clara de 06h00 às 18h00), de acordo com os padrões recomendados para roedores (GHIRALDINI, 1995; MERUSSE; LAPICHICK, 1996).

As gaiolas com os animais foram transferidas para a sala de experimentação, onde foram realizados todos os experimentos, com pelo menos uma hora de antecedência à execução dos mesmos, a fim de promover uma adaptação do animal ao novo ambiente e evitar possíveis alterações fisiológicas e comportamentais decorrentes do estresse causado pela remoção e manuseio dos animais.

Antes da realização dos experimentos, as bancadas foram higienizadas com uma solução de etanol a 70% e durante a sua execução foi utilizada uma solução de etanol de baixa graduação (10 %) nas bancadas e nos aparelhos para evitar qualquer tipo de influência nos resultados. Os testes foram realizados no período vespertino (entre 12:00 e 17:00), sendo os animais utilizados uma única vez e sacrificados após o término dos experimentos.

Todos os procedimentos experimentais foram analisados e previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA/UEFS, protocolo n° 003/2014 (ANEXO 1).

3.2. TESTE DE TOXIDADE AGUDA

O teste de toxicidade oral aguda foi realizado conforme descrito pela Organization for Economic Cooperation and Development, Guia OECD-

420/2001 “Procedimento de dose fixa” (OECD, 2001). O objetivo deste teste é identificar a menor dose que cause sinais de toxicidade evidente, obtendo desta forma uma estimativa da DL₅₀. O princípio do teste baseia-se em um procedimento usando doses fixas de 5, 50, 300 e 2000 mg/kg. A dose inicial é selecionada com base em teste preliminar, no qual se observa a dose que produza sinais de toxicidade sem causar efeitos tóxicos graves ou mortalidade. Em seguida realiza-se o estudo com 5 animais por grupo, iniciando com a dose definida no pré-teste.

O experimento foi realizado com 23 camundongos suíços, adultos, provenientes do Biotério Central da UEFS.

Inicialmente foi realizado o pré-teste, onde as FC e FHM solubilizadas em água destilada foram administradas por via oral, a um único animal, na dose provável de produzir toxicidade evidente. A dose inicial escolhida para iniciar o pré-teste foi baseado em estudos prévios que testaram a dose de 500 mg/Kg, com a qual não se observou sinais de toxicidade seguindo o protocolo utilizado (BRITO, 1994) nem mortalidade, desta forma a dose fixa maior de acordo com o protocolo seria de 2000 mg/Kg e, portanto, foi a dose escolhida para o pré-teste.

Depois de determinada a dose inicial através do pré-teste, os animais foram divididos em 4 grupos, sendo um grupo controle com 5 animais tratados com o veículo (água destilada), e 3 grupos de 5 animais cada, tratados com as frações na dose de 2000 mg/Kg, de acordo com os resultados do teste preliminar. Antes da administração os animais foram submetidos a jejum de 3 horas, com acesso livre apenas a água. O acesso à ração foi permitido apenas após 2 horas da administração. Em seguida, os animais foram observados durante as primeiras 8 horas, com especial atenção nas primeiras 4 horas, e durante 14 dias para avaliação de sinais clínicos de caráter geral e tóxicos.

Os parâmetros foram avaliados segundo o protocolo de toxicidade aguda descrito por BRITO (1994), através de escalas analógicas unipolares variando de 0 a 4 pontos, sendo 0 (zero) o valor representante da normalidade, ou através de escalas bipolares variando de 0 a 8 pontos, sendo 4 o valor representante da normalidade (ANEXO 3).

Os animais foram pesados no início e no final do experimento. No último dia de observação, os animais foram eutanasiados e submetidos a laparotomia para retirada, pesagem e observação macroscópica dos rins, fígado, coração e

pulmões. Esse experimento foi realizado na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Jequié – Ba.

3.3 TESTE PARA AVALIAR A COORDENAÇÃO MOTORA (ROTA ROD)

Durante a execução deste teste, os animais foram colocados em um cilindro (Figura 3) que gira a uma velocidade constante, a fim de verificar se são capazes de se equilibrarem sobre o mesmo (MATTEI; FRANCA, 2006). Para evitar uma interpretação equivocada dos resultados devido a uma incapacidade natural dos animais em manter o equilíbrio e a movimentação na barra giratória, 24h antes da realização do teste foi feita uma pré-seleção dos animais (sem administração de substâncias), na qual foram considerados aptos a participarem aqueles animais que permaneceram na barra giratória (com velocidade de 7 r.p.m.) durante 180 segundos, em até 3 tentativas (MENDES et al., 2002). No dia seguinte, os camundongos pré-selecionados foram divididos em cinco grupos de oito animais (controle e experimentais) e, antes da realização do tratamento, foi realizada uma leitura basal, medindo-se o tempo de permanência no aparelho conforme descrito anteriormente. Em seguida, os animais do grupo controle foram tratados com o veículo (solução de NaCl a 0,9%), os animais do grupo padrão com diazepam 1,5 mg/Kg (v.i.p), e os demais grupos com as FC e FHM do extrato da raiz de *C. jamacaru* (v.o) nas doses de 75, 150 e 300 mg/Kg, submetidos ao teste aos 60 e 120 minutos após o tratamento, para novamente ser feito o registro do tempo de permanência (s) de cada animal na barra giratória.



Figura 3. Aparelho Rota Rod (Foto: Amanda Santana)

3.4 TESTE DAS CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS PELO ÁCIDO ACÉTICO

O teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético se baseia no fato de que uma injeção intraperitoneal (v.i.p) de ácido acético (0,8%) provocará uma reação nociceptiva, caracterizada por contorções abdominais seguidas de extensões dos membros posteriores (ALMEIDA, 2006). Para a realização desse experimento cinco grupos com 8 animais cada foram formados e os animais foram tratados com as FC e FHM do extrato da raiz de *C. jamacaru* nas doses de 75, 150 ou 300 mg/Kg (v.o), um grupo controle (NaCl a 0,9% v.o) e um grupo padrão, tratados com indometacina (20 mg/Kg v.i.p). Após 60 minutos da administração dos tratamentos, os animais foram tratados com solução de ácido acético 0,8% (v.i.p), sendo colocados em caixas de observação (Figura 4), onde foi registrado o número total de contorções abdominais apresentadas por cada animal contabilizadas durante um período de 15 minutos após 5 minutos iniciais.

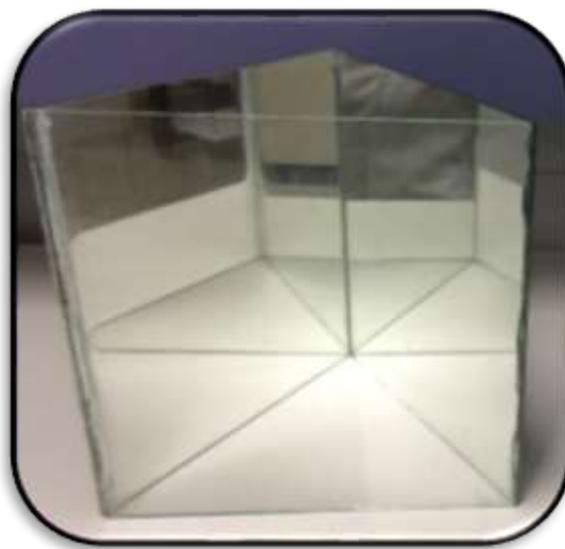


Figura 4. Caixa de observação utilizada no teste das contorções abdominais e formalina
(Foto: Amanda Santana)

3.5 TESTE DA FORMALINA

O teste da formalina é um método válido e seguro para o estudo da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória em camundongos, sendo

considerado um modelo bifásico de comportamento indicativo de dor persistente, produzida pela injeção subplantar (s.p) do agente nociceptivo (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Para este teste foram utilizados cinco grupos com oito camundongos cada. Os animais receberam o tratamento com três doses da FC e FHM do extrato da raiz de *C. jamacaru* (75, 150 ou 300 mg/Kg, v.o), um grupo controle (NaCl a 0,9%) e outro grupo foi tratado com morfina (10mg/Kg v.i.p), que funcionou como padrão. Decorridos 60 minutos, os camundongos receberam 20µL de formalina (2,5% formaldeído em solução salina) a qual foi injetada na região subplantar da pata posterior esquerda. Depois da injeção de formalina, os animais foram colocados em caixas individuais de observação (Figura 4) e o tempo gasto, em segundos, na lambida da pata injetada foi considerado indicativo de nocicepção. A primeira fase da resposta nociceptiva normalmente ocorre entre 0-5 minutos e a segunda ocorre de 15-30 minutos após a injeção de formalina.

3.6 TESTE DA PLACA QUENTE

No teste da placa quente, inicialmente, os animais foram submetidos a uma triagem, onde a latência basal de todos os animais foi registrada usando o tempo de corte de 10 segundos, com a finalidade de se avaliar a sensibilidade dos mesmos ao estímulo térmico. A placa quente (Ugo Basile, modelo DS 37) foi mantida a $50\pm 1^{\circ}\text{C}$ (PIETROVSKI et al., 2006). Em seguida, grupos com oito camundongos, foram divididos e receberam o tratamento com três doses das FC e FHM do extrato da raiz de *C. jamacaru* (75, 150 e 300mg/Kg v.o), morfina (10mg/kg v.i.p), e um grupo controle tratado com NaCl a 0,9%. Os animais foram colocados na superfície da placa a $50\pm 1^{\circ}\text{C}$, dentro de um cilindro de acrílico de 24cm de diâmetro (Figura 5) 30, 60 e 120 minutos após a administração das substâncias. O tempo decorrido entre a colocação do animal na placa e a ocorrência de lambida das patas ou comportamento de pular foi registrado como latência. Para minimizar danos às patas dos animais, o tempo máximo de permanência na placa foi de 30 segundos (SILVA et al., 2005).

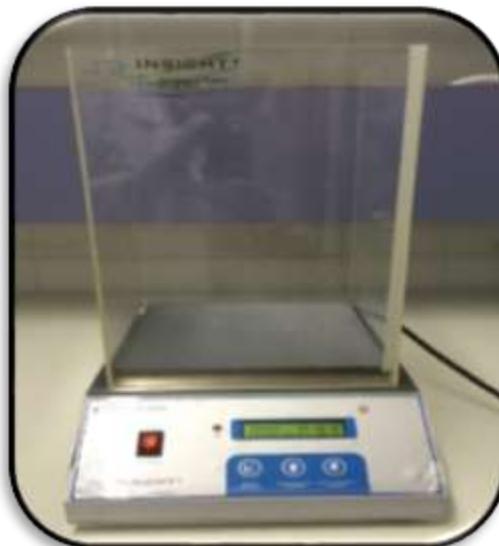


Figura 5. Placa quente (Foto: Amanda Santana)

3.7 TESTE DO EDEMA DA PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA

Para realização do teste do edema de pata induzido pela carragenina foram utilizados cinco grupos com oito camundongos. Os animais receberam os tratamentos com as FC e FHM do extrato da raiz de *C. jamacaru* (75, 150 ou 300mg/Kg v.o), veículo (solução salina 0,9% v.o), e o outro grupo dos animais foram tratados com indometacina (10 mg/kg v.i.p). Após 60 minutos os animais receberam 50 μ L de carragenina (2,5% diluída em solução salina) a qual foi injetada na região subplantar da pata posterior esquerda, e igual volume de solução salina (NaCl 0,9%) na pata posterior direita (NSONDE NTANDOU et al., 2010). Em seguida o volume das patas foi medido imediatamente e 60, 120, 180 e 240 minutos após a administração de carragenina e solução salina na região subplantar usando um pletismômetro (Figura 6). O edema foi considerado pela diferença do volume entre a pata tratada com carragenina e a que recebeu a solução salina.



Figura 6. Pletismomêtro (Foto: Amanda Santana)

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados obtidos nos experimentos foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M) e analisados pelo teste ANOVA (análise de variância) de uma via seguida do teste Dunnett ou Tukey, quando necessário, exceto para o teste de edema de pata (duas vias seguida do teste Bonferroni) mediante a utilização do programa estatístico *Graph Pad Prism*, versão 6.0. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$ (WINER et al., 1991).

5. RESULTADOS

5.1 TESTE DA TOXIDADE AGUDA

5.1.1 Pré-teste

A dose inicial de 2000 mg/Kg de ambas as frações, não produziram sinais de toxicidade graves e nenhuma mortalidade. Portanto, foi a dose escolhida para realização do teste.

5.1.2 Procedimento da dose fixa

Após a administração os animais foram avaliados e os resultados encontram-se no ANEXO 4. A análise de variância indicou que as médias dos tratamentos (peso corpóreo dos animais no início e final do teste) não são iguais. Entretanto, não existe diferença estatística entre as médias ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Pode-se observar que as frações FC e FHM não apresentaram sinais de toxicidade evidente nos animais e a partir dessas informações, foi dado continuidade aos experimentos para avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória.

5.2 TESTE PARA AVALIAR A COORDENAÇÃO MOTORA (ROTA ROD)

O teste da barra giratória (rota-rod) foi realizado para verificar uma possível interferência sobre a coordenação motora dos roedores após administração da FC e FHM nas doses de 75, 150 ou 300 mg/kg. Não houve diferença significativa entre os animais do grupo controle daqueles tratados com as frações em nenhum dos tempos (60 minutos e 120 minutos) nas doses citadas acima (Figuras 7A, 7B, 8A e 8B). Como esperado, o padrão (Diazepam 1,5 mg/Kg) utilizado como droga depressora do SNC, diminuiu em $16\pm 3,3s$ e $21,5\pm 2,2s$ o tempo de permanência dos camundongos no aparelho, quando comparados ao grupo controle $180\pm 0,0s$.

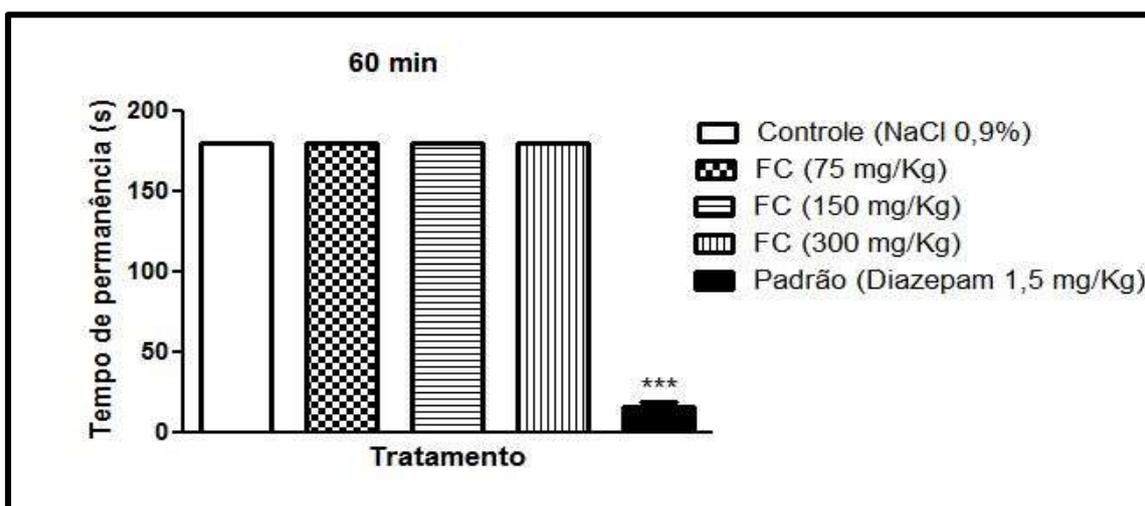


Figura 7A. Efeito da fração clorofórmica (75, 150, 300 mg/kg, v.o. T60min) no teste da coordenação motora em camundongos. Resultados expressos como média \pm e.p.m. *** $p < 0,001$. (ANOVA seguido de Dunnet)

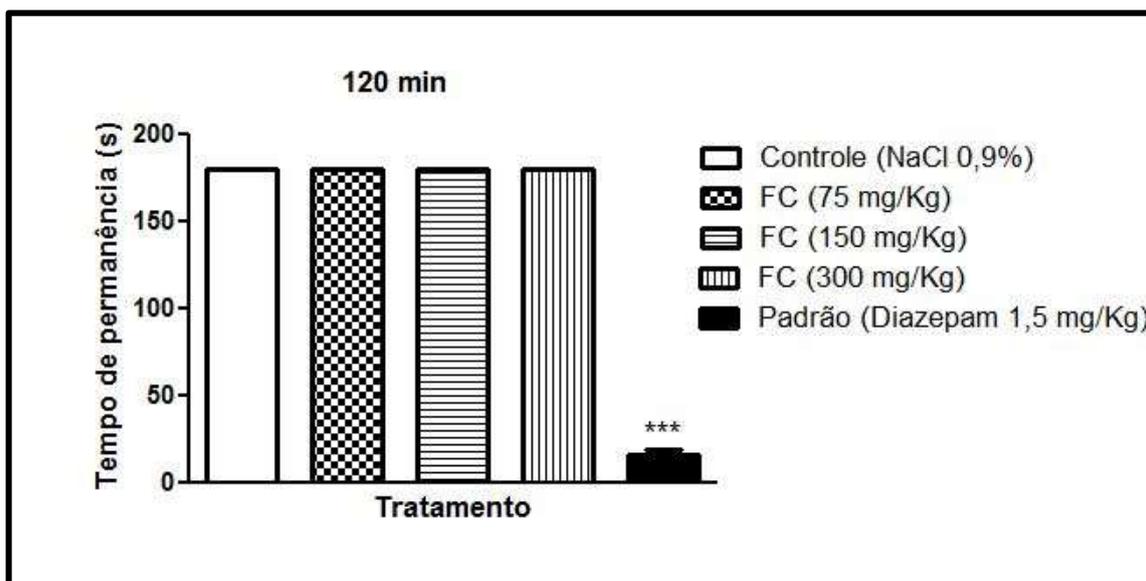


Figura 7B. Efeito da fração clorofórmica (75, 150, 300 mg/kg, v.o. T120min) no teste da coordenação motora em camundongos. Resultados expressos como média \pm e.p.m. *** $p < 0,001$. (ANOVA seguido de Dunnet)

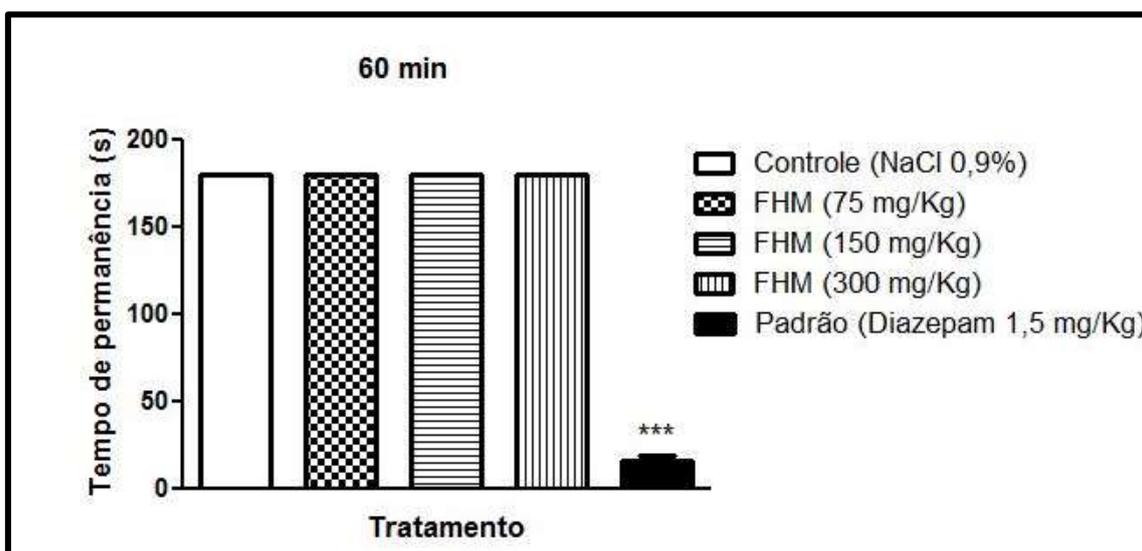


Figura 8A. Efeito da fração hidrometanólica (75, 150, 300 mg/kg, v.o. T60min) no teste da coordenação motora em camundongos. Resultados expressos como média \pm e.p.m. *** $p < 0,001$. (ANOVA seguido de Dunnet)

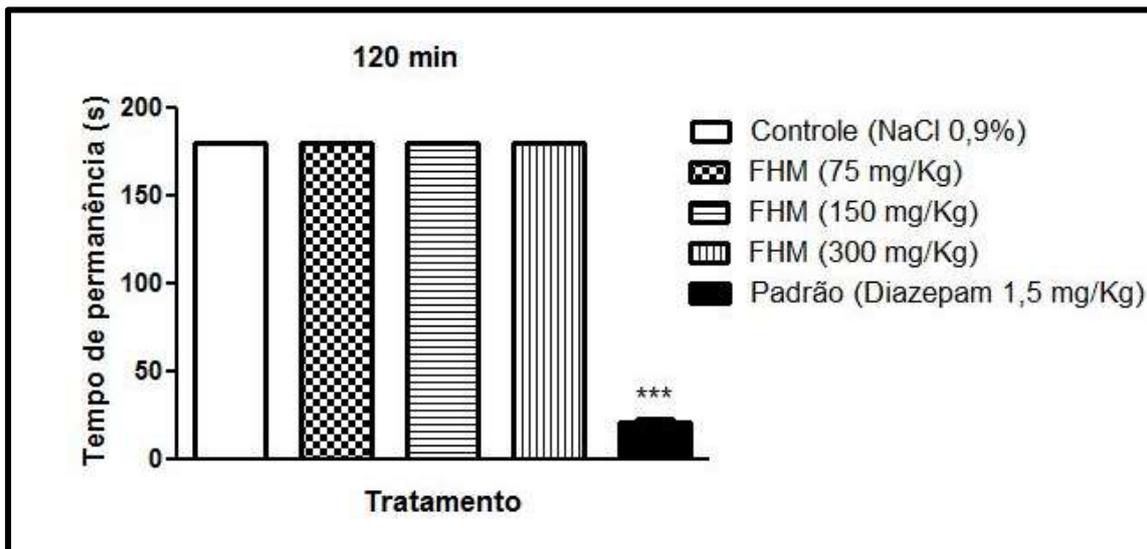


Figura 8B. Efeito da fração hidrometanólica (75, 150, 300 mg/kg, v.o. T120min) no teste da coordenação motora em camundongos. Resultados expressos como média \pm e.p.m. *** $p < 0,001$. (ANOVA seguido de Dunnet)

5.3 TESTE DAS CONTORÇÕES ABDOMINAIS INDUZIDAS PELO ÁCIDO ACÉTICO

Após o tratamento com as frações FC e FHM nas doses de 75, 150 ou 300 mg/kg, a FC apresentou redução significativa ($p < 0,001$) das contorções abdominais em todas as doses: 75 mg/Kg ($18,75 \pm 0,25$), 150 mg/Kg ($12,88 \pm 0,55$) e 300 mg/Kg ($6,12 \pm 0,48$) quando comparadas aos animais do grupo controle ($30,88 \pm 0,99$). A droga padrão utilizada (indometacina 10 mg/Kg) demonstrou uma redução significativa ($p < 0,001$) no número de contorções de $1,25 \pm 0,62$, como esperado (Figura 9).

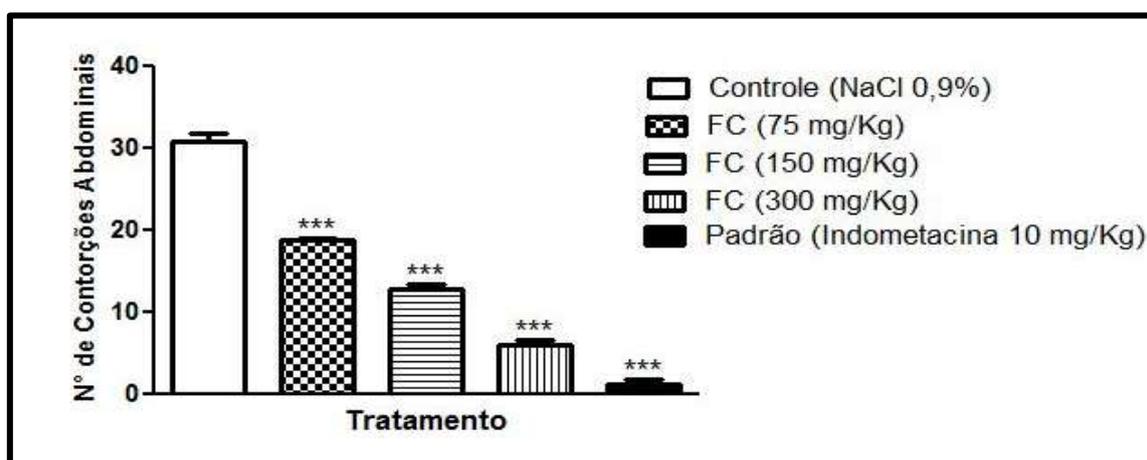


Figura 9. Efeito da fração clorofórmica (75, 150, 300 mg/kg, v.o.) nas contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos. Valores expressos como média \pm e.p.m. (n=8). *** $p < 0,001$ vs controle. (ANOVA – seguido de Dunnet)

A FHM apresentou redução bastante significativa ($p < 0,001$) das contorções abdominais em todas as doses: 75 mg/Kg ($13,50 \pm 0,70$), 150 mg/Kg ($8,63 \pm 0,33$) e 300mg/Kg ($3,88 \pm 0,40$); quando comparadas aos animais do grupo controle ($30,88 \pm 0,99$). A Indometacina demonstrou inibição de $1,25 \pm 0,62$ no número de contorções, como esperado (Figura 10).

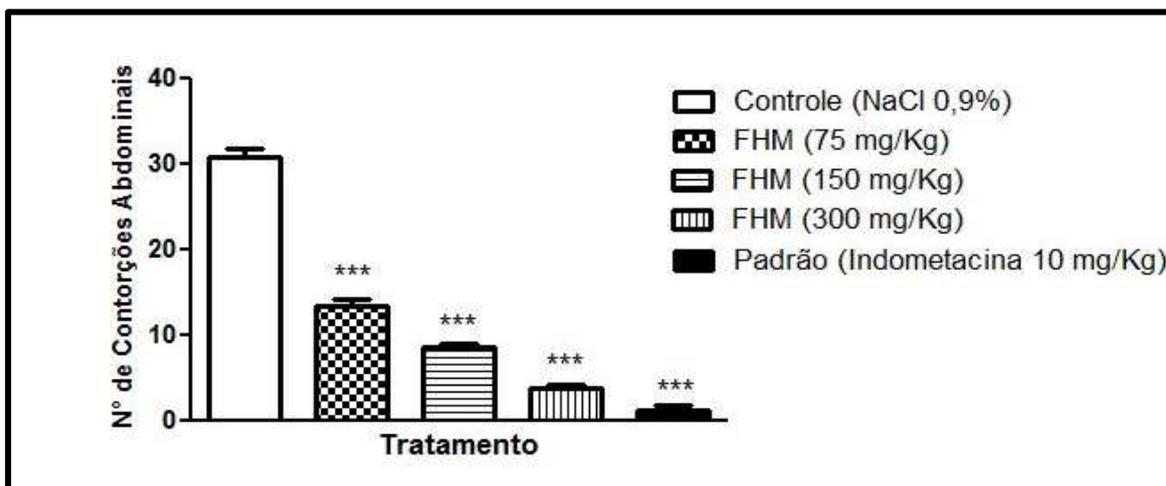


Figura 10. Efeito da fração hidrometanólica (75, 150, 300 mg/kg, v.o.) nas contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos. Valores expressos como média \pm e.p.m. (n=8). *** $p < 0,001$ vs controle. (ANOVA – seguido de Dunnet).

5.4 TESTE DA FORMALINA

A FC nas doses de 75, 150 ou 300 mg/kg reduziu de forma significativa o tempo de lambidas e mordidas na pata tanto na fase 1 (neurogênica - Figura 11A) com valores de $20,13 \pm 2,40$ s; $17,63 \pm 1,35$ s; $14,38 \pm 0,90$ s, respectivamente, quanto na fase 2 (inflamatória - Figura 11B) com valores de $33,13 \pm 1,49$ s; $25,38 \pm 1,83$ s; $15,63 \pm 1,02$ s, respectivamente, quando comparadas ao grupo controle (fase 1: $58,25 \pm 2,53$ s e fase 2: fase 2: $203,00 \pm 15,20$ s). Essa redução foi similar ao padrão (indometacina) fase 1: $12,25 \pm 1,01$ s e fase 2: $11,63 \pm 1,38$ s.

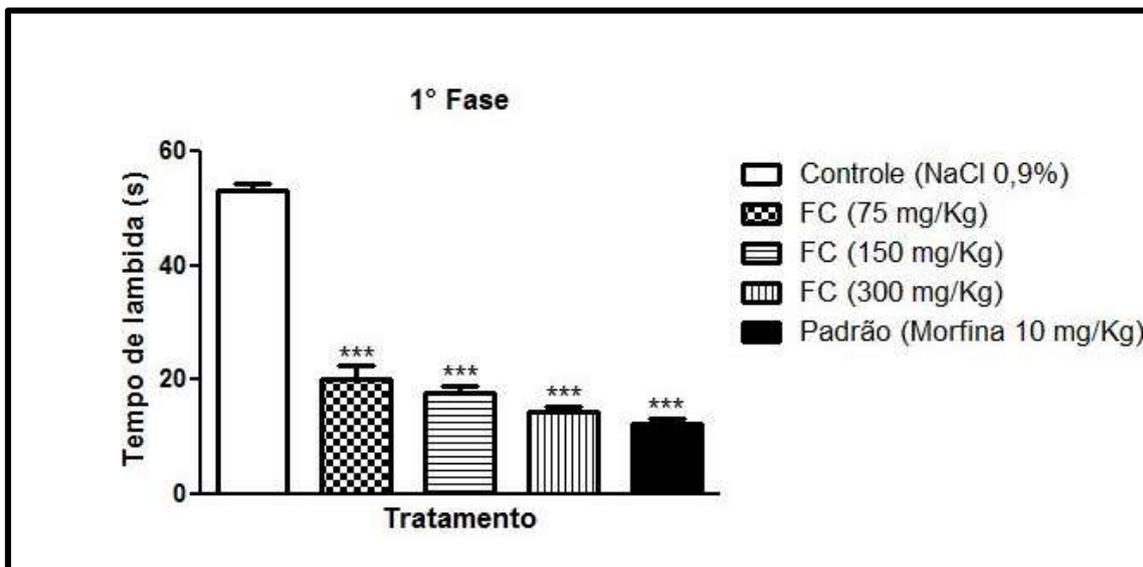


Figura 11A. Efeito da fração clorofórmica (75, 150, 300 mg/kg, v.o.) na primeira fase do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm e.p.m.(n=8). ***p<0,001 vs controle (ANOVA – seguido de Dunnet)

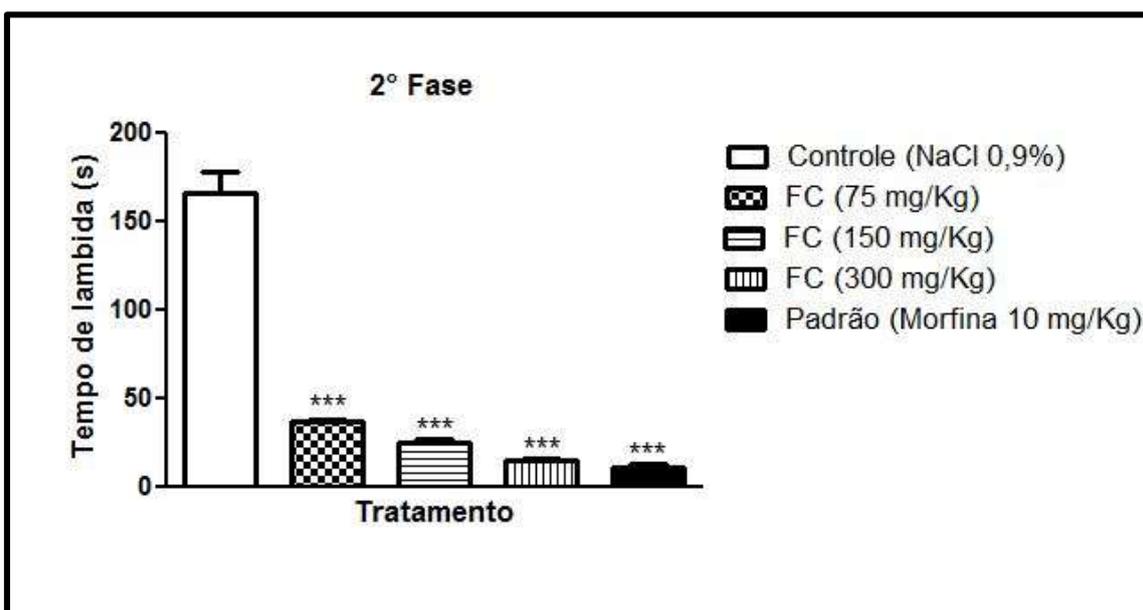


Figura 11B. Efeito da fração clorofórmica (75, 150, 300 mg/kg, v.o.) na segunda fase do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm e.p.m.(n=8). ***p<0,001 vs controle (ANOVA – seguido de Dunnet)

Como ilustrado na figura 12A, os camundongos administrados com a FHM em todas as doses testadas apresentaram redução bastante significativa no tempo de lambidas e mordidas na pata tanto na fase 1 com valores de $16,63 \pm 2,28$ s; $15,25 \pm 1,37$ s; $10,00 \pm 0,65$ s, respectivamente, quanto na fase 2,

quando comparados ao grupo controle (fase 1: $58,25 \pm 2,53s$). Na fase 2 (Figura 12B) os valores foram de $39,63 \pm 2,07s$; $35,50 \pm 1,82s$; $14,25 \pm 0,73s$, respectivamente, quando comparadas ao grupo controle (fase 2: $203,00 \pm 15,20s$). Redução similar ao padrão (indometacina) em ambas as fases (fase 1: $12,25 \pm 1,01s$ e fase 2: $11,63 \pm 1,38s$).

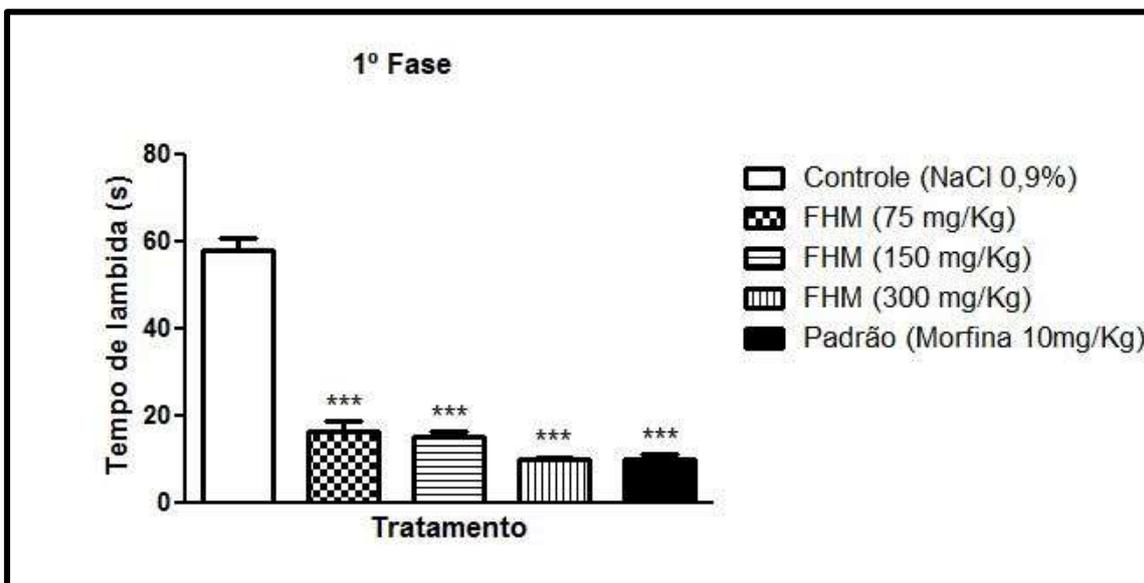


Figura 12A. Efeito da fração hidrometanólica (75, 150, 300 mg/kg, v.o.) na primeira fase do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm e.p.m.(n=8). *** $p < 0,001$ vs controle (ANOVA – seguido de Dunnet)

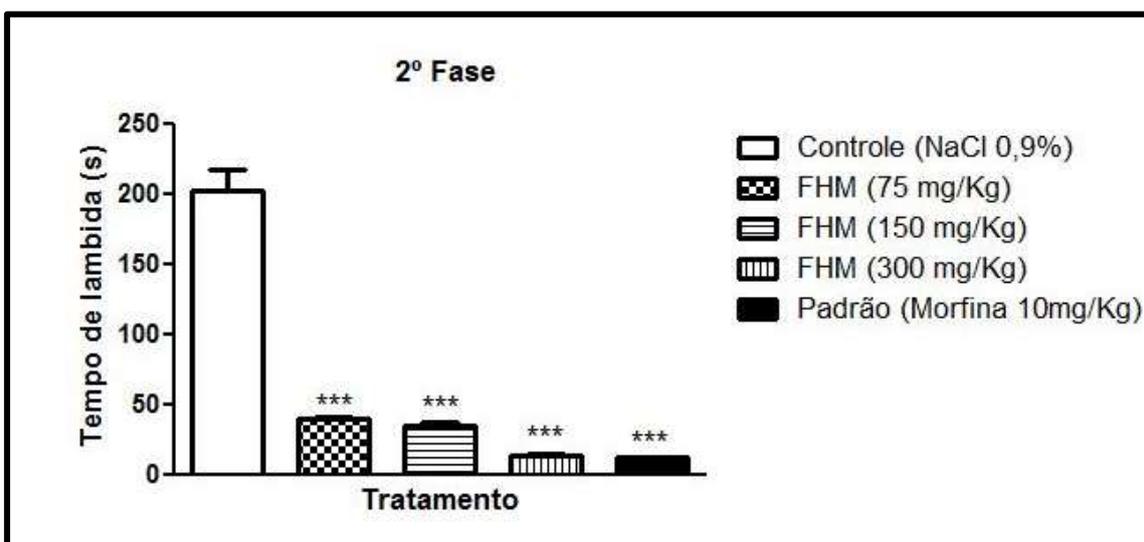


Figura 12B. Efeito da fração hidrometanólica (75, 150, 300 mg/kg, v.o.) na segunda fase do teste da formalina em camundongos. Valores expressos como média \pm e.p.m.(n=8). *** $p < 0,001$ vs controle (ANOVA – seguido de Dunnet)

5.5 TESTE DA PLACA QUENTE

A Figura 13 apresenta o efeito antinociceptivo induzido pela FC nas doses 75, 150 e 300mg/kg sobre os camundongos, no teste da placa quente. Como pode-se observar em todas as doses testadas a FC apresentou aumento significativo da latência ao estímulo térmico no teste da placa quente nos tempos de observação de 30, 60 e 120 minutos com valores de (75mg/kg, T₃₀: 15,5±0,2; T₆₀: 14,9±0,3; T₁₂₀: 13,8±0,5); (150mg/kg, T₃₀: 17,9±0,4; T₆₀: 17,0±0,3; T₁₂₀: 16,5±0,2); (300 mg/kg, T₃₀: 21,1±0,5; T₆₀: 20,0±0,3; T₁₂₀: 18,5±0,2) em relação ao controle (T₃₀: 8,1±0,4; T₆₀: 8,6±0,8; T₁₂₀: 9,1±0,5). O grupo administrado com morfina (10mg/kg) foi significativamente diferente do controle em todos os tempos de observação (T₃₀: 28,8±0,6; T₆₀: 25,8±1,2; T₁₂₀: 21,5±0,4).

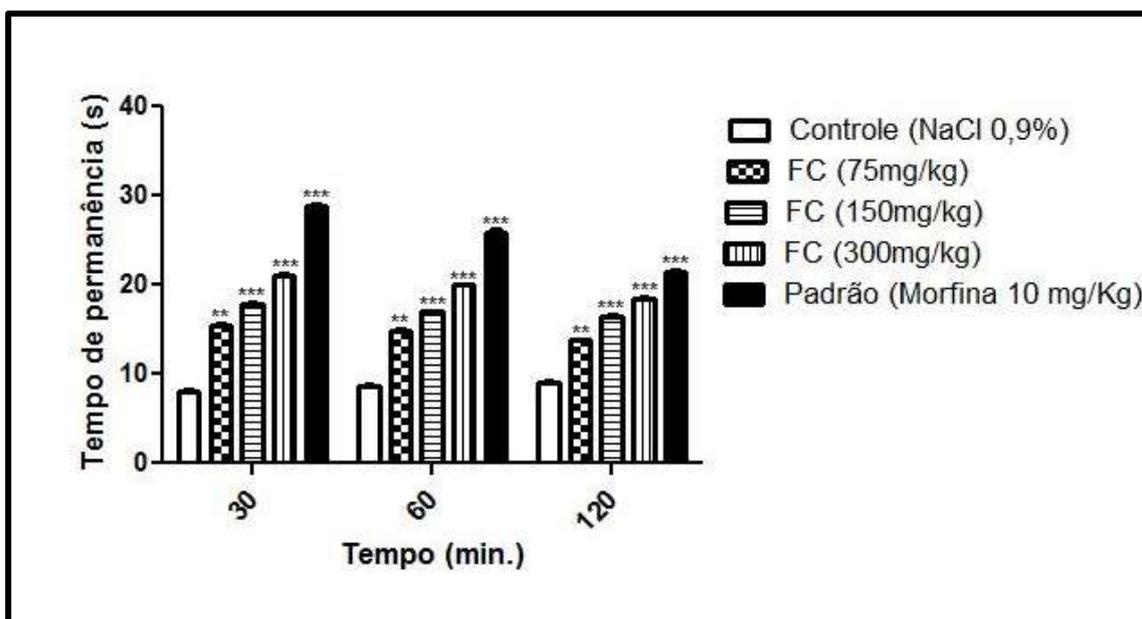


Figura 13. Efeito da fração clorofórmica (75, 150, 300 mg/kg, v.o.) na latência da dor avaliada pelo teste da placa quente em camundongos. Valores expressos como média ± e.p.m. (n=8). **p<0,01 e ***p<0,001 vs controle. (ANOVA – seguido de Dunnet)

Como pode-se observar na Figura 14, as doses de 75, 150 e 300 mg/kg da FHM apresentaram aumento significativo da latência ao estímulo térmico no teste da placa quente nos tempos de observação de 30, 60 e 120 minutos com valores de (75mg/kg, T₃₀: 17,3±0,8s; T₆₀: 17,0±0,6s; T₁₂₀: 16,4±0,3s); (150mg/kg, T₃₀: 21,0±0,8s; T₆₀: 19,6±0,5s; T₁₂₀: 17,8±0,3s); (300 mg/kg, T₃₀: 24,4±0,9s; T₆₀: 23,5±1,3s; T₁₂₀: 21,0±0,6s) em relação ao controle (T₃₀: 8,0±0,5s; T₆₀: 7,1±0,9s; T₁₂₀: 7,0±0,9s). O grupo administrado com morfina (10mg/kg) foi

significativamente diferente do controle em todos os tempos de observação (T_{30} : $28,2 \pm 0,8$ s; T_{60} : $25,4 \pm 1,1$ s; T_{120} : $23,4 \pm 1,3$ s).

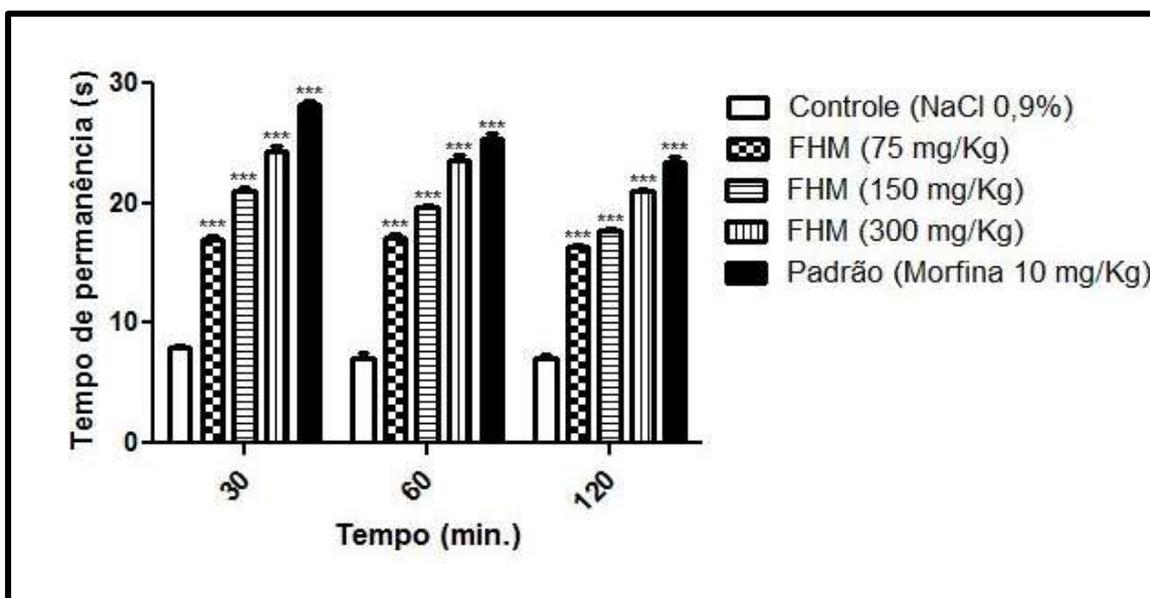


Figura 14. Efeito da fração hidrometanólica (75, 150, 300 mg/kg, v.o.) na latência da dor avaliada pelo teste da placa quente em camundongos. Valores expressos como média \pm e.p.m. ($n=8$). *** $p<0,001$ vs controle. (ANOVA – seguido de Dunnet)

5.6 TESTE DO EDEMA DE PATA EM CAMUNDONGOS INDUZIDO POR CARRAGENINA

A FC nas doses de 75, 150 e 300 mg/Kg reduziu significativamente o edema das patas nos tempos de observação de 30, 60, 120, 180 e 240 minutos, com valores de: (75mg/kg, T_{30} : $0,095 \pm 0,0094$; T_{60} : $0,073 \pm 0,0070$; T_{120} : $0,056 \pm 0,0038$; T_{180} : $0,11 \pm 0,0031$ e T_{240} : $0,14 \pm 0,0037$); (150mg/kg, T_{30} : $0,076 \pm 0,0071$; T_{60} : $0,06 \pm 0,0038$; T_{120} : $0,043 \pm 0,0031$; T_{180} : $0,084 \pm 0,0032$ e T_{240} : $0,11 \pm 0,0030$); (300 mg/kg, T_{30} : $0,068 \pm 0,0053$; T_{60} : $0,051 \pm 0,0048$; T_{120} : $0,038 \pm 0,0025$; T_{180} : $0,063 \pm 0,0031$ e T_{240} : $0,10 \pm 0,0026$) em relação ao controle (T_{30} : $0,17 \pm 0,016$; T_{60} : $0,21 \pm 0,016$; T_{120} : $0,25 \pm 0,017$; T_{180} : $0,28 \pm 0,015$ e T_{240} : $0,33 \pm 0,022$) (Figura 15).

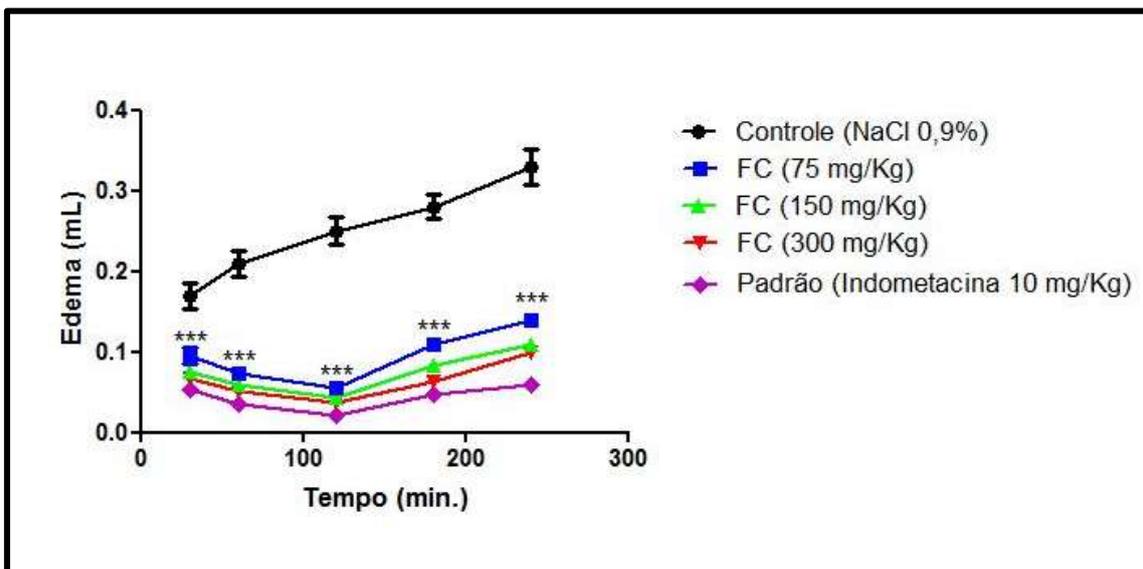


Figura 15. Efeito da fração clorofórmica (75,150 e 300mg/kg) sobre o edema de pata induzido por carragenina em camundongos. Os asteriscos representam o nível de significância em relação ao controle. *** $p < 0,001$. (ANOVA two-way-Bonferroni)

A FHM também reduziu significativamente o edema das patas dos camundongos em todos os tempos de observação (75mg/kg, T_{30} : $0,074 \pm 0,0063$; T_{60} : $0,05 \pm 0,0042$; T_{120} : $0,025 \pm 0,0027$; T_{180} : $0,07 \pm 0,0057$ e T_{240} : $0,081 \pm 0,0052$); (150mg/kg, T_{30} : $0,07 \pm 0,0071$; T_{60} : $0,055 \pm 0,0057$; T_{120} : $0,03 \pm 0,0060$; T_{180} : $0,065 \pm 0,0071$ e T_{240} : $0,08 \pm 0,0042$); (300 mg/kg, T_{30} : $0,066 \pm 0,0053$; T_{60} : $0,043 \pm 0,0053$; T_{120} : $0,023 \pm 0,0031$; T_{180} : $0,054 \pm 0,0042$ e T_{240} : $0,081 \pm 0,0030$) após a administração da carragenina quando comparados ao grupo controle (T_{30} : $0,17 \pm 0,016$; T_{60} : $0,21 \pm 0,016$; T_{120} : $0,25 \pm 0,017$; T_{180} : $0,28 \pm 0,015$ e T_{240} : $0,33 \pm 0,022$) (Figura 16). O grupo tratado com o padrão (indometacina) apresentou os seguintes resultados: (T_{30} : $0,053 \pm 0,0053$; T_{60} : $0,035 \pm 0,0050$; T_{120} : $0,021 \pm 0,0044$; T_{180} : $0,048 \pm 0,0045$ e T_{240} : $0,06 \pm 0,0042$). Ambas as frações apresentaram resultados semelhantes ao padrão.

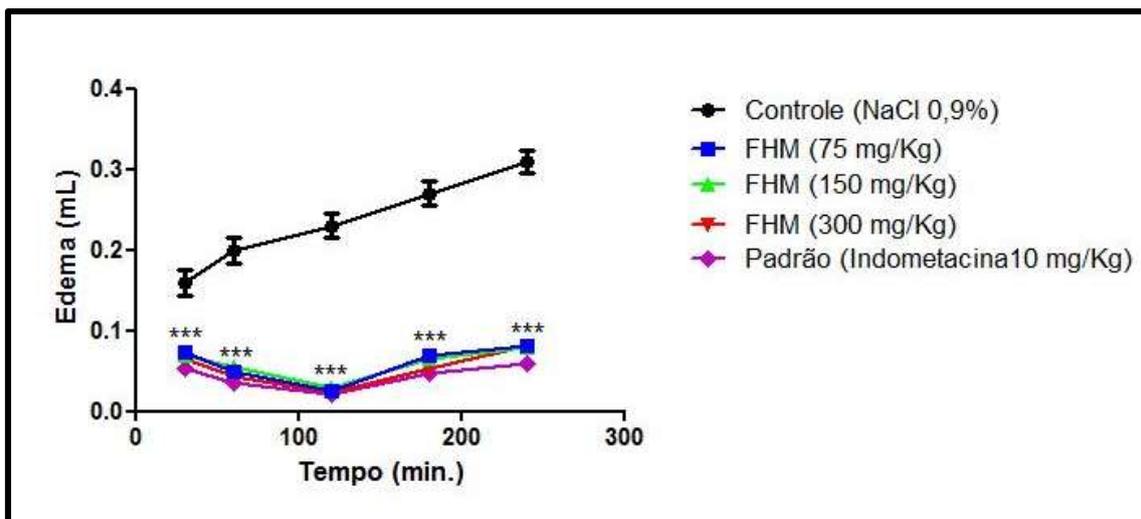


Figura 16. Efeito da fração hidrometanólica (75,150 e 300mg/kg) sobre o edema de pata induzido por carragenina em camundongos. Os asteriscos representam o nível de significância em relação ao controle. *** $p < 0,001$. (ANOVA two-way-Bonferroni)

6. DISCUSSÃO

No estudo de toxicidade aguda os animais são tratados uma única vez com o produto em teste ou, eventualmente, com doses parceladas em período não superior a 24h (LAPA et al., 2004). Pode-se observar que as frações FC e FHM não apresentaram sinais de toxicidade evidente. Exames histopatológicos não se fizeram necessários, já que não foram observadas alterações na análise macroscópica dos órgãos. Como não houve indícios de toxicidade aguda, a realização de testes que avaliem a toxicidade crônica deverá ser o próximo passo no estudo toxicológico da espécie, assim como estudos farmacocinéticos.

Não foi possível determinar a dose letal mediana (DL_{50}), pois a dose de 2000mg/kg não provocou morte em nenhum dos animais estudados durante o período de observação. Este fato classifica esta substância como pertencente aos agentes xenobióticos de classe 5 (pouco tóxica), visto que a OECD 425 (2001) preconiza que agentes xenobióticos administrados pela via oral que apresentem DL_{50} entre 2000-5000mg/Kg sejam considerados de baixa toxicidade.

Estudos de toxicidade aguda em camundongos realizados por Silveira et al., (2006) verificaram que o extrato etanólico do caule de *C. jamacaru* não

produziu alterações hematológicas em camundongos (fêmeas) quando administrados nos quatro primeiros dias de gestação. Já os estudos desenvolvidos por Messias et al., (2010) constataram que o extrato bruto da parte interna do caule de *C. jamacaru* não produziu efeitos tóxicos e nem alterações sobre a maioria dos parâmetros bioquímicos e hematológicos estudados em ratas Wistar grávidas.

O teste da barra giratória (rota-rod) avalia a influência das drogas na coordenação motora em roedores. Trata-se de um método eficiente para avaliar a integridade do sistema motor, possibilitando detectar enfraquecimento neurológico, incluindo ataxia, relaxamento muscular e efeitos característicos de neurotoxicidade provocados pelas drogas depressoras sobre o SNC (PULTRINI et al., 2006). As frações em estudo não promoveram nenhuma alteração na coordenação motora dos animais submetidos ao teste, sugerindo ausência de atividade miorrelaxante.

Apesar dos principais avanços no conhecimento dos mecanismos moleculares envolvidos no processo de dor e investimento considerável na pesquisa farmacêutica, ainda existem poucas classes de drogas analgésicas, principalmente para o controle da dor crônica (WOODCOCK et al., 2007).

Neste sentido, alguns modelos de estudos de nocicepção em modelo animal podem ser utilizados para verificar a atividade analgésica de compostos que, de uma maneira geral, apresentam características próprias e principalmente, a possibilidade de serem correlacionados com estudos clínicos (ROCHA, 2010).

Baseado nos resultados apresentados neste estudo, as frações (FC e FHM) das raízes de mandacaru (*C. jamacaru*), demonstraram ação antinociceptiva e anti-inflamatória quando testadas em modelos de nocicepção química, induzidos por ácido acético, formalina e carragenina, e em um modelo térmico, o teste da placa quente.

Entre os modelos de nocicepção química realizados, o teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético é descrito como típico modelo de dor inflamatória, sendo uma ferramenta de triagem para avaliação da atividade analgésica e anti-inflamatória de novos agentes (VINEGAR et al., 1979; TJOLSEN; HOLE, 1997). A irritação local promovida pelo ácido acético induz a liberação de vários mediadores endógenos como bradicinina, prostaglandinas e

citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-8) que estimulam os neurônios nociceptivos (COLLIER et al., 1968; RIBEIRO et al., 2000; IKEDA et al., 2001). Além de ser influenciada por esses mediadores inflamatórios, a nocicepção promovida pelo ácido acético também pode ser mediada pela dissociação dos prótons presentes no ácido acético, que estimulam os canais TRPV1 e ASICs localizados nos neurônios aferentes primários (IKEDA et al., 2001; JULIUS, BASBAUM, 2001; COUTAUX et al., 2005). Porém, este teste não é um modelo específico, pois é sensível tanto para aferição da analgesia induzida por opióides quanto por analgésicos de ação periférica (HAYES et al., 1987).

Os resultados obtidos no modelo de contorções abdominais demonstraram que as frações FC e FHM da raiz de *C. jamacaru* provocaram uma redução dose-dependente significativa no número de contorções em todas as doses analisadas. Estes resultados são similares aos observados na presença da indometacina, um fármaco anti-inflamatório não-esteroidal (AINES) que foi utilizado como controle positivo neste teste.

Na literatura, estudos realizados recentemente por Andrade (2013), evidenciaram resultados significativos no teste das contorções abdominais com o extrato bruto da raiz de *C. jamacaru*. A dose de 50 mg/Kg do extrato produziu maior inibição no número de contorções quando comparada com as outras doses (100, 200 e 400 mg/Kg) e o grupo controle.

As atividades das frações (FC e FHM) neste teste não é conclusiva, apenas indica que o mesmo possui atividade antinociceptiva de origem anti-inflamatória. Então, a especificidade de ação do mesmo foi reforçada através da realização de outros testes: o teste da formalina e o da placa quente.

O teste da formalina é constituído por duas fases distintas. A nocicepção neurogênica (fase inicial) resulta do efeito irritante direto sobre os nociceptores ativando as fibras aferentes primárias, acarretando na liberação de neuropeptídeos como SP e CGRP em terminais periféricos e centrais. Já a nocicepção inflamatória (fase tardia) é mediada pela combinação de estímulos periféricos e sensibilização da medula espinhal (HUNSKAAR; HOLE, 1987; TJOLSEN et al., 1992; MCCALL et al., 1996; PUIG; SORKIN,1996). Considerando as propriedades diferentes das fases inicial e tardia, esse teste além de avaliar substâncias antinociceptivas, também pode indicar possíveis mecanismos envolvidos (SHIBATA et al. 1989). Analgésicos opióides inibem

ambas as fases, embora a segunda fase seja mais sensível. Por outro lado, AINES suprimem apenas segunda fase do teste (HUNSKAAR; HOLE, 1987; SHIBATA et al., 1989; MALMBERG; YAKSH, 1992; JOURDAN et al., 1997). Estudos anteriores demonstraram que formalina libera vários mediadores inflamatórios (HUNSKAAR; HOLE, 1987; SANTOS; CALIXTO 1997) como a serotonina, histamina, bradicinina e prostaglandinas, que, pelo menos até certo ponto podem causar a sensibilização dos neurônios nociceptivos centrais (VERMA et al., 2005).

As frações (FC e FHM) reduziram de maneira significativa o tempo de lambida e mordida da pata em todas as doses, resultando em um efeito antinociceptivo significativo dependente da dose em ambas as fases. Estes resultados são similares aos observados na presença da morfina, que foi utilizada como controle positivo em ambas as fases.

Os estudos realizados por Andrade (2013), também evidenciaram resultados significativos no teste da formalina, em ambas as fases, com o extrato bruto da raiz de *C. jamacaru*.

É citado na medicina popular, doenças como gastrite, úlceras (AGRA et al., 2008) hemorroidas (ANDRADE, 2008) e inflamações no útero (LUCENA et al., 2012) relacionadas ao processo inflamatório, que são tratadas com chás de raízes de mandacaru (*C. jamacaru*). Os resultados obtidos no teste da formalina convalidam o conhecimento popular.

No teste da placa quente, os animais são expostos ao estímulo térmico e em geral a resposta pode envolver estruturas neurais superiores, dessa forma tais métodos identificam principalmente analgésicos centrais (JENSEN; YAKSH, 1986; LE BARS et al. 2001) provocando uma resposta aguda nociceptiva não-inflamatória (ZAKARIA et al, 2008).

Por meio deste teste, foi possível verificar que as frações (FC e FHM) em todas as doses, provocaram um aumento dose-dependente de maneira significativa, no tempo de latência dos camundongos sobre a placa quente em todos os tempos avaliados. Estes resultados são similares aos observados na presença da morfina, um agente opióide que promove analgesia central, que foi utilizada como controle positivo. O que sugere que ambas as frações possuem compostos com atividade analgésica.

A morfina exerce seus efeitos supraespinhais através de receptores expressos no SNC (cérebro e medula espinhal) e na periferia (CROFFORD, 2010). Estes receptores são associados com uma gama de eventos psicológicos e fisiológicos que são diretamente relacionados à abertura de canais de potássio, visto que, a condutância aumentada a íons K⁺ leva à hiperpolarização da membrana, o que reduz a excitabilidade neuronal (HAESELER et al., 2006).

Assim, os resultados obtidos sugerem que o efeito antinociceptivo das frações envolve um mecanismo de ação central.

Para confirmar a possível atividade anti-inflamatória demonstrada no teste da formalina, foi realizado o teste do edema da pata induzido por carragenina, um modelo para avaliação de fase aguda inflamatória.

A carragenina é um polissacarídeo obtido a partir de diferentes algas marinhas. A injeção da carragenina acarreta um processo inflamatório localizado, sensibilizando os nociceptores aferentes primários. A indução de inflamação com carragenina é um modelo clássico e tem sido amplamente utilizado para o desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios (URBAN; GEBHART, 1999; CHATTOPADHYAY et al., 2012).

É na fase aguda do processo inflamatório que há liberação de mediadores químicos, tais como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, em resposta à cascata do ácido aracdônico (KUMMER; COELHO, 2002).

A formação do edema ocorre no período de 1-2 h (fase inicial) que corresponde aos eventos da fase aguda do processo inflamatório envolvida por mediadores como histamina e bradicinina; e no período de 3-4 h (fase tardia) é mantida principalmente pela liberação das prostaglandinas (NSONDE NTANDOU et al., 2010). Seu mecanismo de ação envolve a produção de óxido nítrico, bem como a ativação e aumento da expressão de várias enzimas, como a COX-2 e óxido nítrico sintase indutível (POSADAS et al., 2004).

Por meio deste teste, foi possível verificar que as frações (FC e FHM) em todas as doses e em todos os tempos, provocaram diminuição significativa do volume do edema. As doses que apresentaram melhores resultados foram as de 300 mg/Kg de ambas as frações. Estes resultados são similares aos observados na presença da indometacina, que foi utilizada como controle positivo.

Anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES), como a indometacina, inibem a acumulação do exsudato e mobilização de leucócito entre 3 e 6 horas após a

injeção de carragenina (VINEGAR et al., 1973; ALMEIDA et al., 1980), o que demonstra neste trabalho, a ação anti-inflamatória das frações de *C. jamacaru* em todas as doses e todos os tempos de observação.

Segundo Andrade (2013) o extrato bruto de *C. jamacaru* também apresentou resultado significativo (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) na redução do volume do edema de pata induzido por carragenina nas doses de 50, 100, 200 e 400 mg/Kg. A autora também cita outras espécies de Cactacéas que apresentaram resultados significativos para as atividades antinociceptiva e anti-inflamatória. São elas: *Harrisia adscendens*, *Opuntia ficus-indica* e *Tacinga palmadora*.

Em síntese, a avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória das FC e FHM reforça os resultados obtidos em estudos preliminares.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da avaliação toxicológica realizada, sugere-se que as ambas as frações são atóxicas por via oral, sendo necessário posterior confirmação através do teste de toxicidade crônica.

As avaliações farmacológicas demonstraram que as ambas as frações não afetaram a coordenação motora dos animais, além de possuírem propriedades antinociceptivas e anti-inflamatória em todas as doses experimentais, com indícios de mecanismo de ação central, além de também apresentar efeito na redução dos processos inflamatórios agudos. Faz-se necessário a realização de mais testes para identificar o mecanismo de ação envolvido.

Esses resultados corroboram os dados da literatura que descrevem o uso etnobotânico de raízes de *Cereus jamacaru* para tratamento de doenças inflamatórias, sugerindo que as substâncias naturais presentes nas frações constituem perspectivas para a obtenção de anti-inflamatórios naturais.

8. REFERÊNCIAS

- 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**. v.18: 472-508. 2008.
- ALMEIDA, A. P.; BAYER, B. M.; HORAKOVA, Z.; BEAVEN, M. A. Influence of indomethacin and other anti-inflammatory drugs on mobilization and production of neutrophils: studies with carrageenan-induced inflammation in rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 214: 74-79.1980.
- ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**, v. 1000, p. 40-56, 2004.
- ALMEIDA, R. N. Psicofarmacologia: fundamentos práticos. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2006.
- ANDRADE, C. T. da S. Cactos úteis na Bahia: ênfase no semiárido. Pelotas: Ed. **USEB**. 2008.
- ANDRADE, C. T. da S. Atividade biológica do extrato metanólico bruto das raízes de cactáceas usadas na medicina popular. **Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Feira de Santana**, Feira de Santana. 2013.
- ARRUDA, V. M. Avaliação farmacológica das atividades anti-inflamatória, analgésica e anti-ucrogênica do fitoterápico Sanativo®. 2008. 82f. **Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Pernambuco**, Pernambuco. 2008.
- BESSON, J. M. The complexity of physiopharmacologic aspects of pain. **Drugs**, v. 53, p. 1-9, 1997.
- BEVAN, S. Nociceptive peripheral neurons: cellular properties. In: WALL, P. D.; MELZACK, R. **Textbook of pain**. Churchill Livingstone: Londres. p. 85-103. 1999.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta a banco de dados**. Disponível em:< http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/ConsultaProduto/comsulta_medicamento.asp>. Acesso em: 26/09/2013.
- BRAUN, P.; MACHADO, M.; TAYLOR, N. P. *Cereus jamacaru*. In: IUCN 2013. **IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>. 2013. Acesso em: 22 de novembro de 2013.
- BRITO, A.S. Manual de ensaios toxicológicos in vivo. Campinas: **Editora da Unicamp**. 15-30 p. 1994.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latino America. A personal view. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

CARVALHO A. C. B. et al. Regulation of herbal medicines in Brazil: advances and perspectives. Brazilian: **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, 467-473, 2011.

CHAPMAN, C.R.; GAVRIN, J. Suffering: the contributions of persistent pain. **The Lancet**, v.353, n.9171, p.2233-2237, Jun. 1999.

CHATTOPADHYAY, P. et al. Vitex negundo inhibits cyclooxygenase-2 inflammatory cytokine-mediated inflammation on carrageenan-induced rat hind paw edema. **Pharmacognosy Research**, v.4, n.3. p 134-137, 2012.

COLLIER, H. O.; DINNEEN, L. C.; JOHNSON, C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br: **J Pharmacol Chemother**, v. 32, n. 2, p. 295-310, 1968.

COUTAUX, A.; ADAM, F.; WILLER, J. C.; LE BARS, D. Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. **Joint Bone Spine**, v. 72, n. 5, p. 359-371, 2005.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonóides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 1, 2008. Disponível em: <<http://www.uff.br/RVQ>>. Acesso em: 19 set. 2013.

CROFFORD, L. J. Adverse Effects of Chronic Opioid Therapy for Chronic Musculoskeletal Pain. **Nature Reviews Rheumatology**, vol 6, p.191-197, 2010.

DHIKAV, V.; SINGH, S.; ANAND, K.S. Newer non-steroidal anti-inflammatory drugs—a review of their therapeutic potential and adverse drug reactions. **J Indian Acad Chem Med**; 3(4):332-8. 2002.

DROZDOVA, I.L.; BUBENCHIKOV, R.A. Composition and anti-inflammatory activity of polysaccharide complexes extracted from sweet violet and low mallow. **Journal Pharm. Chem.**;39(4):197-200. 2005.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T.A.; ALBUQUERQUE, R. R.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. C. T. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 48, p. 77-83, 1995.

FURST, S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. **Brain Res Bull**, v. 48, n. 2, p. 129-41, 1999.

GHIRALDINI, M. A. Curso: Animais de experimentação. **JPB**. São Paulo. 70 p. 1995.

GILROY, D. W.; LAWRENCE, T.; PERETTI, M.; ROSSI, A. G. Inflammatory resolution: new opportunities for drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 5, p. 401- 416, 2004.

GOZZANI, J.L. Fisiopatologia da dor. In: TURAZZI, J.C. et al. Curso de Educação à distância em Anestesiologia (SBA). São Paulo: Office **Editora e Publicidade LTDA**, 115-131, 2002.

HAESELER, G.; FOADI, N. A.; AHRENS, J. A.; DENGLER, R. B.; HECKER, H. C.; LEUWER, M. D. Tramadol, fentanyl and sufentanil but not morphine block voltageoperated sodium channels. **Pain**, vol 126, p.234–244, 2006.

HAYES, A. G.; SHEEHAN, M. J.; TYERS, M. B. Differential sensitivity of models of antinociception in the rat, mouse and guinea-pig to mu-and kappa-opioid receptor agonist. **British Journal of Pharmacology**, v.91, n.4, 823-832, ago. 1987.

HOCHEBERG, M. C. et al. Rheumatology. 5ª edição - Philadelphia: **Elsevier**, 183-198. 2010.

HUNSKAAR S.; HOLE, K. The formalin test in mice-dissociation between inflammatory and noninflammatory pain. **Pain 30**: 103-114, 1987.

IKEDA, Y.; UENO, A.; NARABA, H.; OH-ISHI, S. Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice. **Life Sci**, v.69, n. 24, p. 2911-9, 2001.

JENSEN, T. S. ; YAKSH, T. L. Comparison of antinociceptive action of morphine in the periaqueductal gray, medial and paramedial medulla in rat. **Brain Res.** v.363, n.1, 11427 p., 1986.

JOURDAN, D. et al. A new automated method of pain scoring in the formalin test in rats. **Pain**, v.71, p. 265270, 1997.

JULIUS, D., BASBAUM, A.I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, 413: 203-210, 2001.

KALISCH, P. A. An overview of research on the history of leprosy. **International Journal of Leprosy**, v. 43, n. 2, p. 129-144, 1975.

KIM, Y.; SO, H. S.; YOUN, M. J.; KIM, H. J.; WOO, W. H.; SHIN, S. H.; LEE, I.; MOON, B. S.; CHO, K. H.; PARK, R. Anti-inflammatory effect of sasim extracts in PHA-stimulated THP-1 and peripheral blood mononuclear cells from cerebral infarction patients. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 32-39, 2007.

KONTINEN, V. K.; STANFA, L. C.; BASU, A.; DICKENSON, A. H. Electrophysiological evidence for increased endogenous GABAergic but not glycinergic inhibitory tone in the rat spinal nerve ligation model of neuropathy. **Anesthesiology**, v. 94, p. 333-339, 2001.

KUMARI, K.D.K.P. et al. Anti-inflammatory activity of dried flower extracts of *Aegle marmelos* in Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, p.1202-1208, 2014.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Anti-inflamatórios não esteroides inibidores da ciclo-oxigenase-2 (COX-2): Aspectos atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.52, p. 498-512, 2002.

LAPA, A.J. et al. Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. In: SIMÕES, et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: **UFRGS**, 247-262 p. 2004.

LE BARS, D. et al. Animal models of nociception. **Pharmacol Rev.** v.53, n.4, p. 597652, 2001.

LUCENA, C. M. de; COSTA, G. M.; SOUZA, R. F.; CARVALHO, T. K. N.; MARREIROS, N. A.; ALVES, C. A. B.; PEREIRA, D. D.; LUCENA, R. F. P. Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil). **Biotemas**, 25 (3), 281-291, 2012.

MALMBERG, A. B; YAKSH, T. L. Antinociceptive actions of spinal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. **J. Pharmacol. Experim. Ther.**, v. 263, p.136146, 1992.

MATTEI, R.; FRANCA, C. I. F. Testes gerais para confirmar a ação central. In: ALMEIDA, R. N. Psicofarmacologia: fundamentos práticos. 1. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, cap. 12, p. 138-142, 2006.

MCCALL, W. D.; TANNER, K. D.; LEVINE, J. D. Formalin induces biphasic activity in C-fibers in the rat. **Neurosci Lett**, v. 208, n. 1, p. 45-8, 1996.

MENDES, F. R.; MATTEI, R.; CARLINI, E. A. Activity of *Hypericum brasiliense* and *Hypericum cordatum* on the central nervous system in rodents. **Fitoterapia**, v. 73, p. 462-471, 2002.

MERUSSE, J. L. B.; LAPICHICK, V. B. V. Instalações e equipamentos. In: LUCA, R. R. et al. **Manual para técnicos em bioterismo**. 2. ed. São Paulo: Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação animal, cap. 3, p. 15-25. 1996.

MESSIAS, B. J., CARACIOLO, M. C. M., OLIVEIRA, I. M. de, MONTARROYOS, U. R., BASTOS, I. V. G. A., GUERRA, M. de O., SOUZA, I. A. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratas no segundo terço da gestação submetidas à ação do extrato metanólico de *C. jamaicarum* DC., Cactaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20(4):478-483, 2010.

MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in Neurobiology**, v. 57, p. 161-164, 1999.

NAPIMOGA, M. H.; YATSUDA, R. Scientific evidence for *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata* as a pharmacological tool. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 62, p. 809-820, 2010.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 7, p. 1022-1037, 2003.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs over the last 30 years. **Journal of Natural Products**. v. 70, p. 461-477, 2012.

NSONDE NTANDOU, G. F.; BANZOUZI, J. T.; MBATCHI, B.; ELION-ITOU, R. D. G.; ETOUSSIBI, A. W.; RAMOS, S.; BENOIT-VICAL, F.; ABENA, A. A.; OUAMBA, J. M. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Cassia siamea* Lam. Stem bark extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p.108–111, 2010.

ORGANIZATION OF ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). Guidelines for the Testing of Chemecals, OECD 420. Acute oral Toxicity-Fixed Dose Procedure. Paris: **OECD**, 2001.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Pautas para lãs metodologias de investigación de La medicina tradicional. **OMS**. Ginebra. 2000. Disponível em: <<http://www.who.it/em>>. Acesso em: 21 ago de 2013.

PIETROVSKI, E. F.; ROSA, K. A.; FACUNDO, V. A.; RIOS, K.; MARQUES, M. C. A.; SANTOS, A. R. S. Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the triterpene 3 β , 6 β , 16 β -trihidroxilup-20(29)-ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 83, p. 90-99, 2006.

POSADAS, I.; BUCCI, M.; ROVIEZZO, F.; ROSSI, A.; PARENTE, L.; SAUTEBIN, L.; CIRINO, G. Carrageenan-induced mouse paw edema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. **British Journal of Pharmacology**, v. 142, 2004

PUIG, S.; SORKIN, L. S. Formalin-evoked activity in identified primary afferent fibers: systemic lidocaine suppresses phase-2 activity. **Pain**, v. 64, n. 2, p. 345-55, 1996.

PULTRINI, A. M.; GALINDO, L. A.; COSTA, M. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. **Life Sciences**, v. 78, p. 1720-1725, 2006.

RAJA, S.N.; MEYER, R.A.; RINGKAMP, M.; CAMPBELL, J.N. WALL, P. D.; MELZACK, R. Textbook of pain. **Pain**. Churchill Livingstone: Londres. p.11-57. 1999.

RIBEIRO, R. A.; VALE, M. L.; THOMAZZI, S. M.; PASCHOALATO, A. B.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by

zymosan and acetic acid in mice. Eur. **J. Pharmacol.**, v. 387, n. 1, p. 111-8, 2000.

ROCHA, M.L. Estudo da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do monoterpeno α,β -Epoxi-carvona e seu efeito sobre a neurotransmissão glutamatérgica. **Tese (Doutorado). Universidade Federal da Paraíba.** 11p. 2010.

ROCK, K. L.; KONO, H. The Inflammatory Response to Cell Death. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, vol 3, p.99-126, 2008.

SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice. **Neuropeptides**, v. 31, 381-389 p., 1997.

SHIBATA, M. T. et al. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. **Pain**, v.38, n.3 p. 347-352, 1989.

SILVA, M. G.; OLIVEIRA, F. S.; QUINTANS-JUNIOR, L. J.; OLIVEIRA, T. M. L.; DINIZ, M. F. F. M. Investigação do efeito analgésico central e antiinflamatório de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R. M. King & H. Robinson em roedores. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, p. 533-537, 2005.

SILVEIRA, S. M. C. et al. Perfil hematológico de ratas prenhes tratadas com *Cereus jamacaru*. In: REUNIÃO ATUAL DA FEBES. Águas de Lindóia. **Anais.** 2006.

TING, E.; ROVERONI, R. C.; FERRARI, L. F.; LOTUFO, C. M.; VEIGA, M. C.; PARADA, C. A.; TAMBELI, C. H. Indirect mechanism of histamine-induced nociception in temporomandibular joint of rats. **Life Science**, v. 81, n. 9, p. 765-771, 2006.

TJOLSEN, A.; BERGE, O. G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J. H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, n. 1, p. 5-17, 1992.

TJOLSEN, A.; HOLE, K. in The Pharmacology of Pain, A. Dickenson and J.-M. Besson, Ed. **Springer-Verlag**, Berlin, p. 1-20, 1997.

URBAN, M. O.; GEBHART, G. F. Supraspinal contributions to hyperalgesia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 14, p. 7687-7692, 6 jul. 1999.

VERMA, P. R.; JOHARAPURKAR, A. A.; CHATPALLIWAR, V. A.; ASNANI, A. Antinociceptive activity of alcoholic extract of *Hemidesmus indicus* R.Br. in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 298-301, 2005.

VINEGAR, R.; TRAU, J. F.; SELPH, J. L. Some quantitative temporal characteristics of carrageenin-induced pleurisy in the rat. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 143: 711-714. 1973.

VINEGAR, R.; TRUAX, J. F.; SELPH, J. L.; JOHNSTON, P. R. Antagonism of pain and hyperalgesia. Antiinflammatory drugs. In: VANE, J. R.; FERREIRA, S. H. (Ed.). **Handbook of experimental pharmacology**. Berlin: Springer-Verlag. 208-222 p. 1979.

WINER, B. J.; BROWN, D. R.; MICHELIS K. M. Statistical principles in experimental design. 3rd.ed. New York: **McGraw Hill**; p.100-65. 1991.

WOODCOCK, J.; WITTER, J.; DIONNE, R. A. Stimulating the development of mechanism-based, individualized pain therapies. **Nat. Rev. Drug. Discov.**, v. 6, n. 9, p. 703-10, 2007.

WOOLF, C. J., SALTER, M. W. Neuronal plasticity: Increasing the gain in pain. **Science**, 288, 1765-1769, 2000.

ZAKARIA, Z. A. et al. Antinociceptive, anti-inflammatory, and antipyretic properties of an aqueous extract of *Dicranopteris linearis* leaves in experimental animal models. **Journal of Natural Medicines**, v. 62, p.179-187, 2008.

9. ANEXO 1



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Ofício: 008/2014

Feira de Santana, 06 de junho de 2014.

DE: Iraci Gomes Bonfim
CEUA/UEFS

PARA: Professora Dr^a Angélica Maria Lucchese

Prezada Senhora,

Comunicamos a V.Sa, que o projeto submetido nesta instituição sob protocolo de número 003/2014, intitulado "Composição química e atividade biológica das frações clorofórmica e metanólica do extrato da raiz de *Cereus jamacaru* DC. (Cactaceae)" sob vossa coordenação, de autoria da mestrandia Amanda Ferreira Santana, obteve parecer **FAVORÁVEL** *ad referendum*, conforme parecer em anexo, de forma que a pesquisa poderá ser iniciada. Os relatórios parciais e final da pesquisa deverão ser entregues na CEUA, para que possam ser encaminhados ao CONCEA, conforme o Decreto 6999/2009, Artigo 44º, parágrafo VII e Artigo 9º, parágrafos de I a X, em obediência à Lei 11.794/2008.

Atenciosamente,

Iraci Gomes Bonfim
Coordenadora em exercício da CEUA-UEFS
Portaria nº 878/2012

10. ANEXO 2

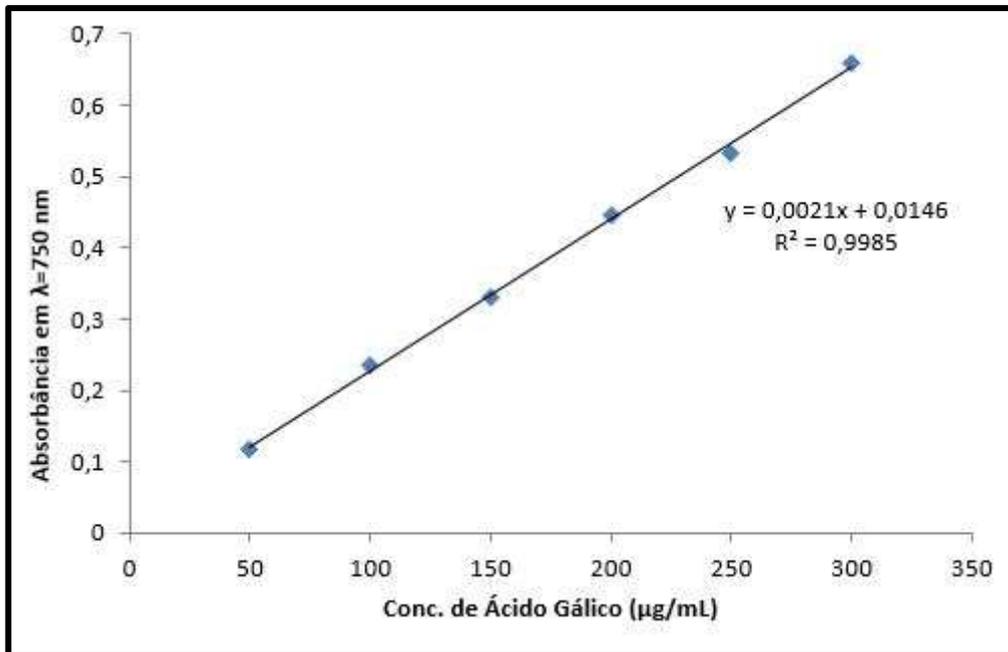


Figura 7. Curva de calibração de Ácido Gálico.

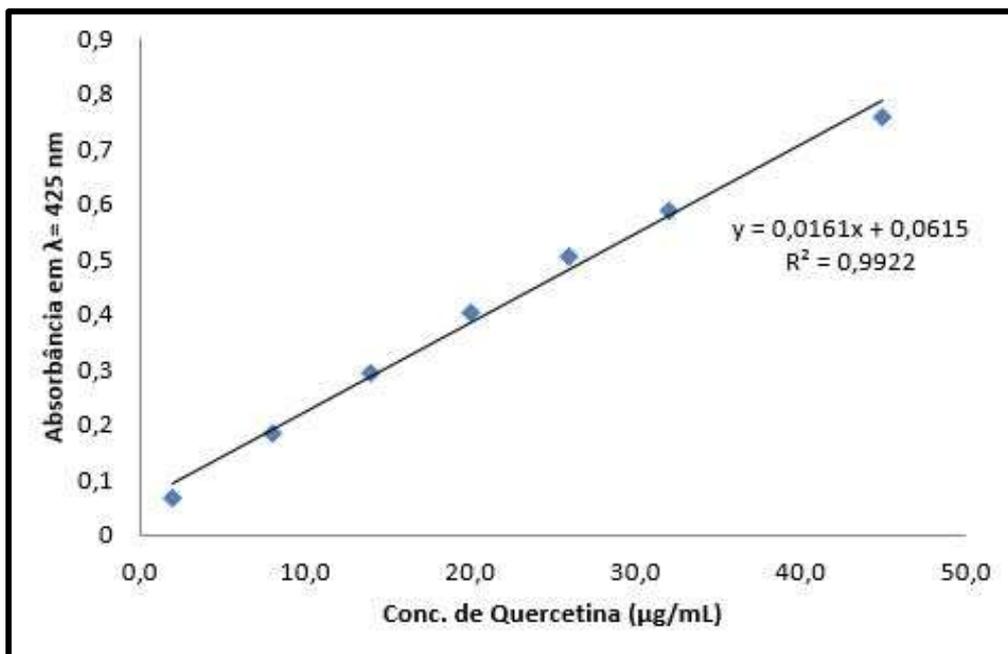


Figura 8. Curva de calibração de Quercetina.

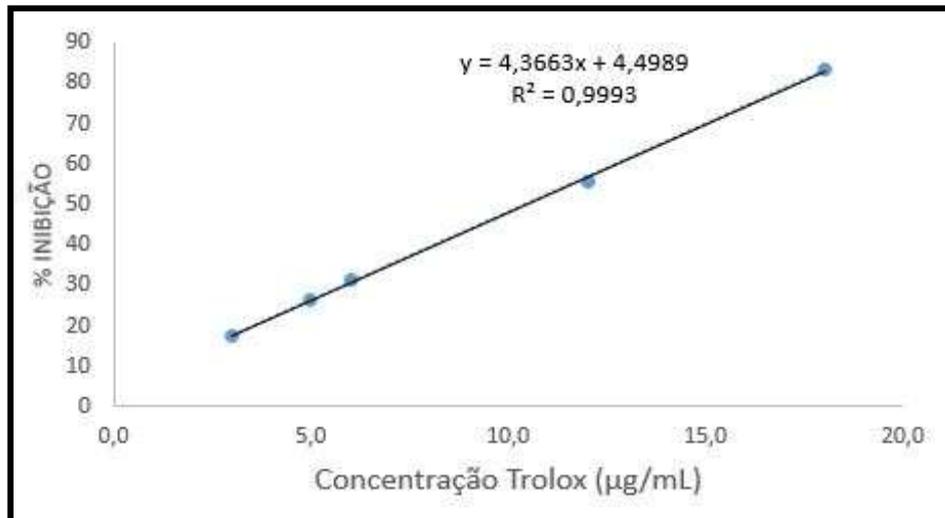


Figura 10 – Curva de Calibração de Trolox 1

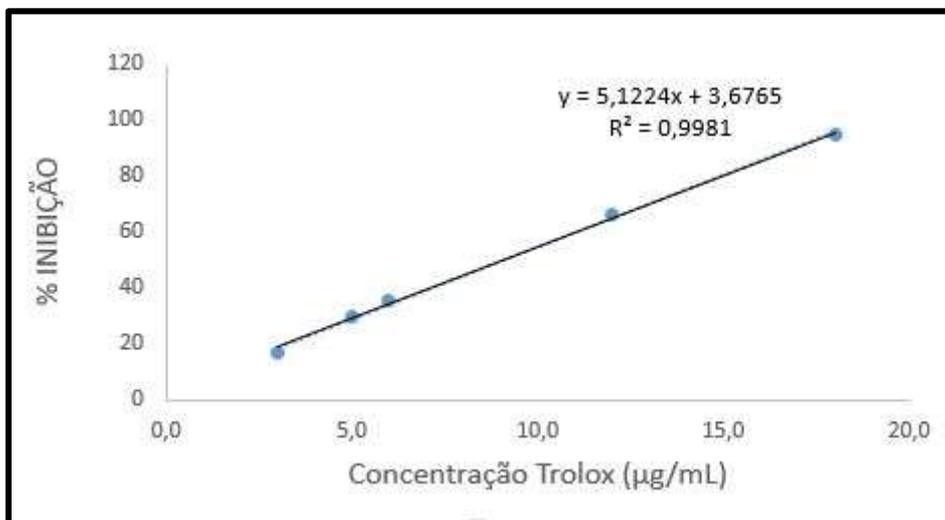


Figura 11 – Curva de Calibração de Trolox 2

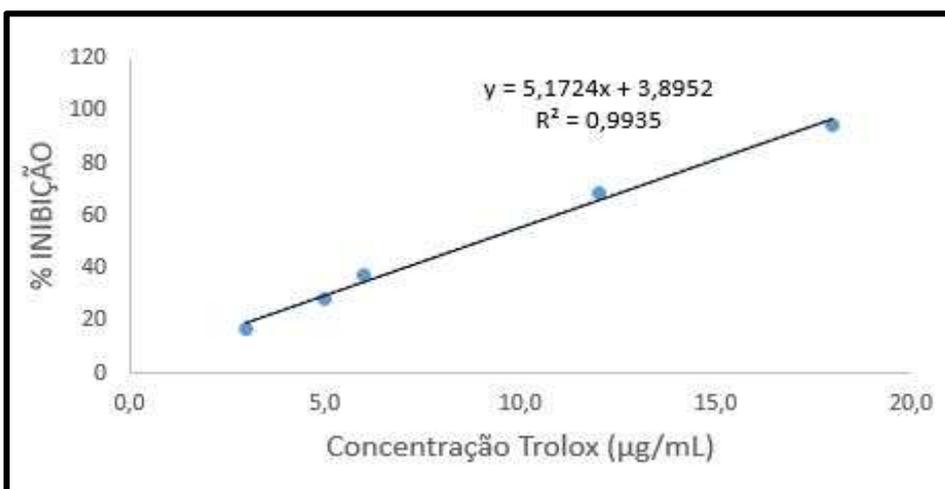


Figura 12 – Curva de Calibração de Trolox 3

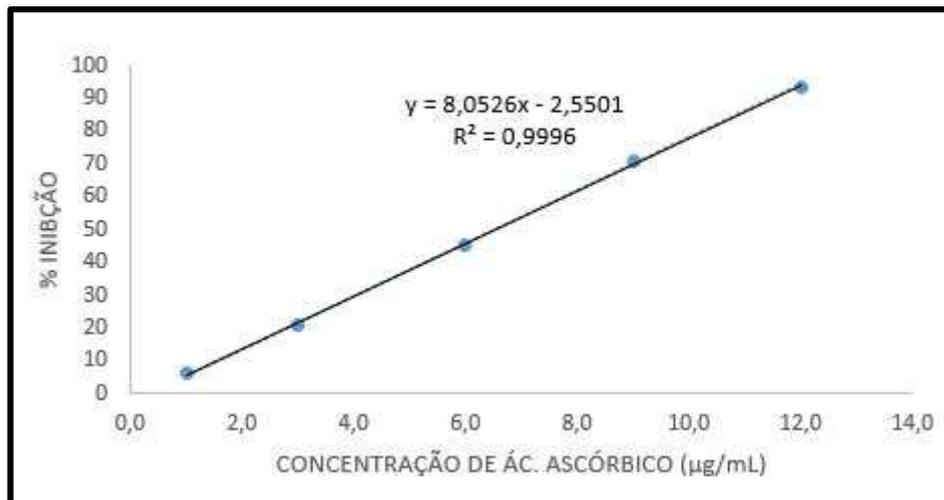


Figura 13. Curva de calibração de Ácido Ascórbico 1.

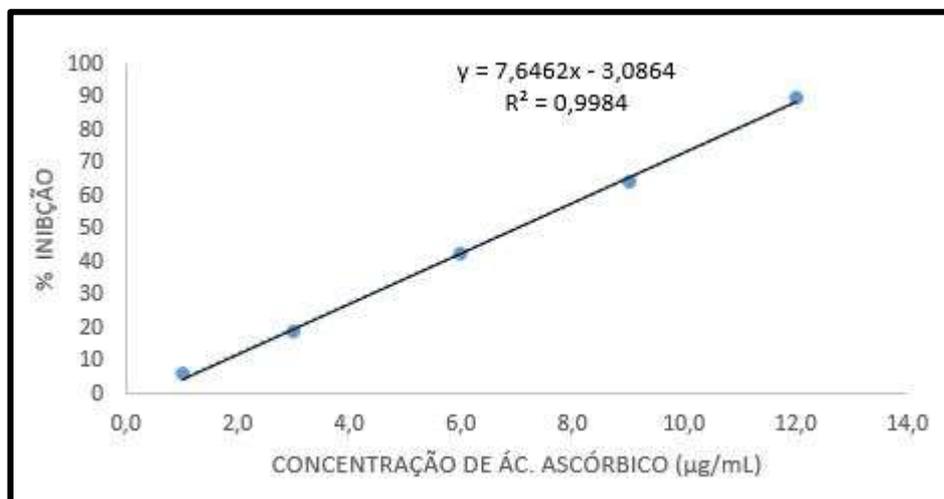


Figura 14. Curva de calibração de Ácido Ascórbico 2.

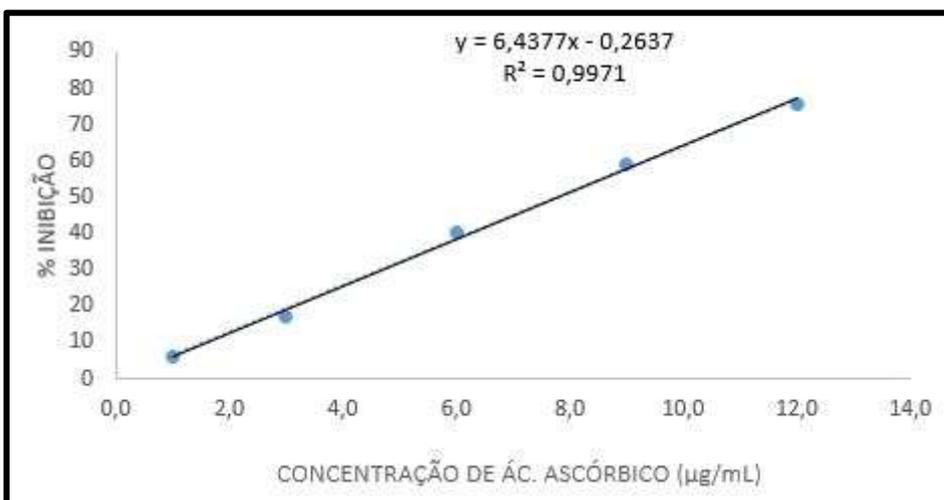


Figura 15. Curva de calibração de Ácido Ascórbico 3.

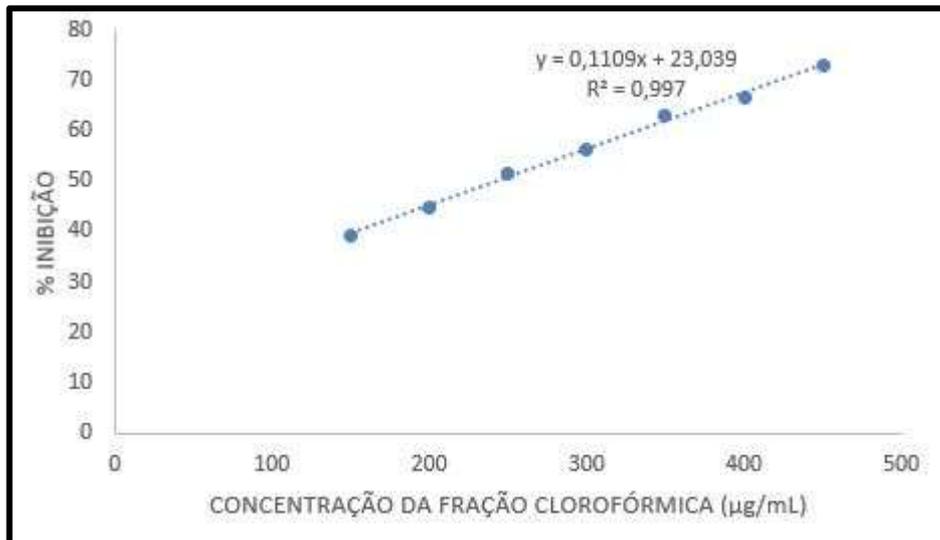


Figura 16. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FC (amostra1).

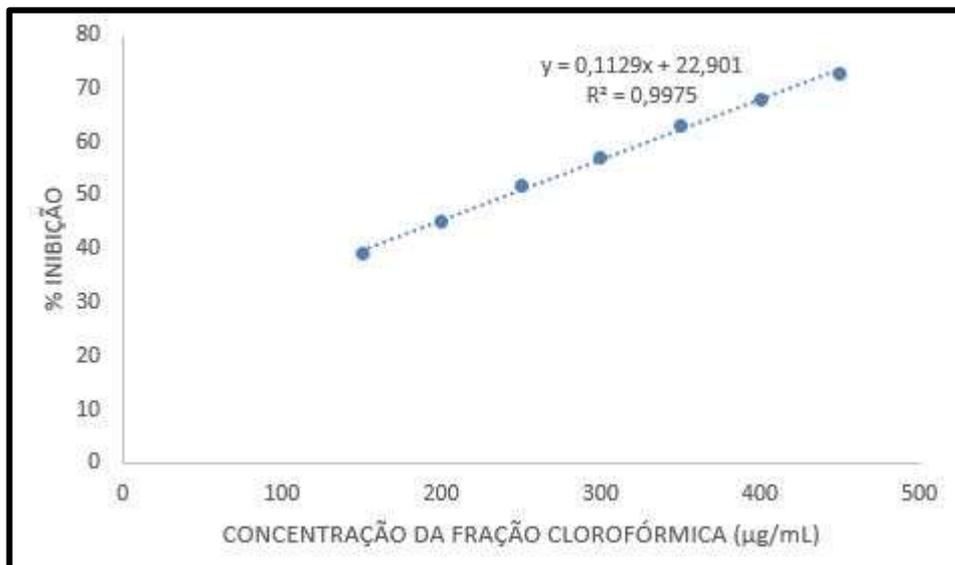


Figura 17. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FC (amostra2).

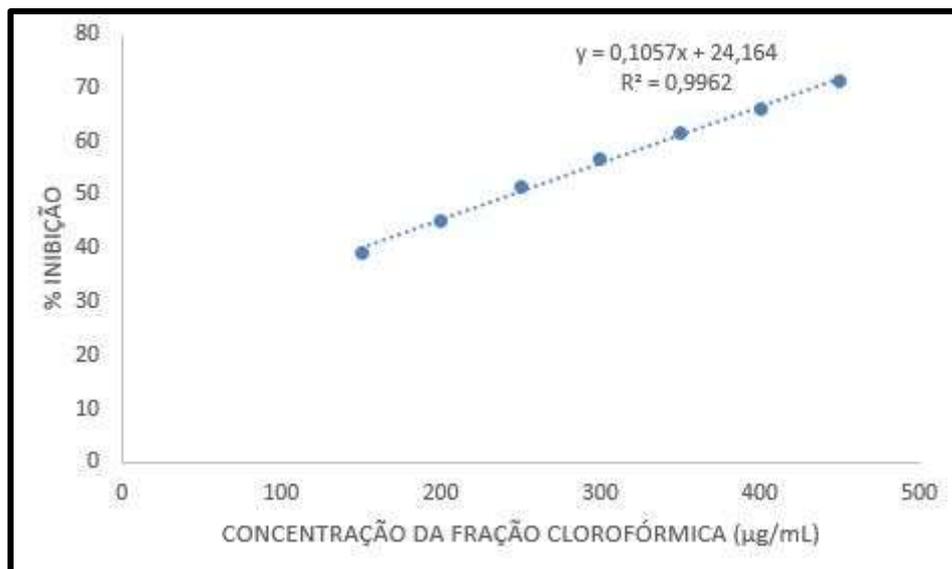


Figura 18. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FC (amostra3).

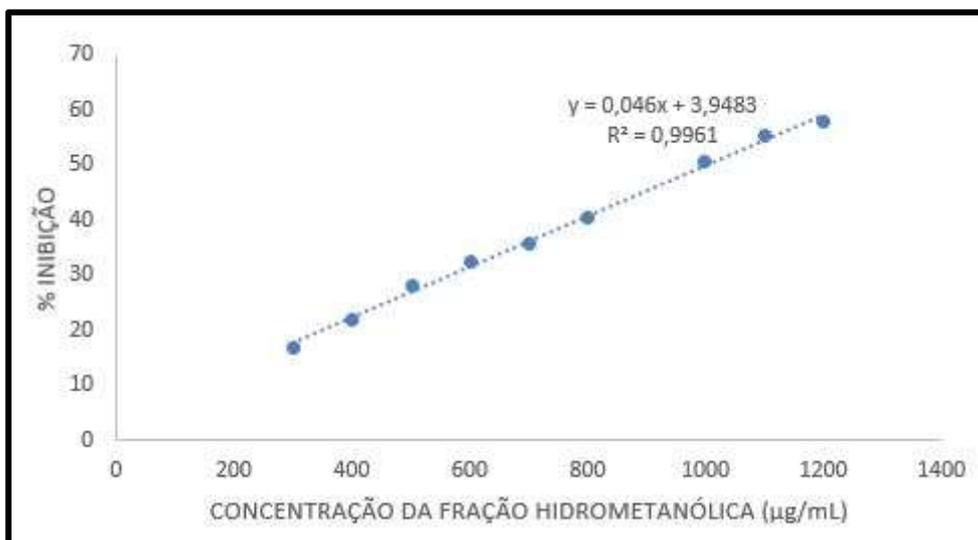


Figura 19. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FHM (amostra1).

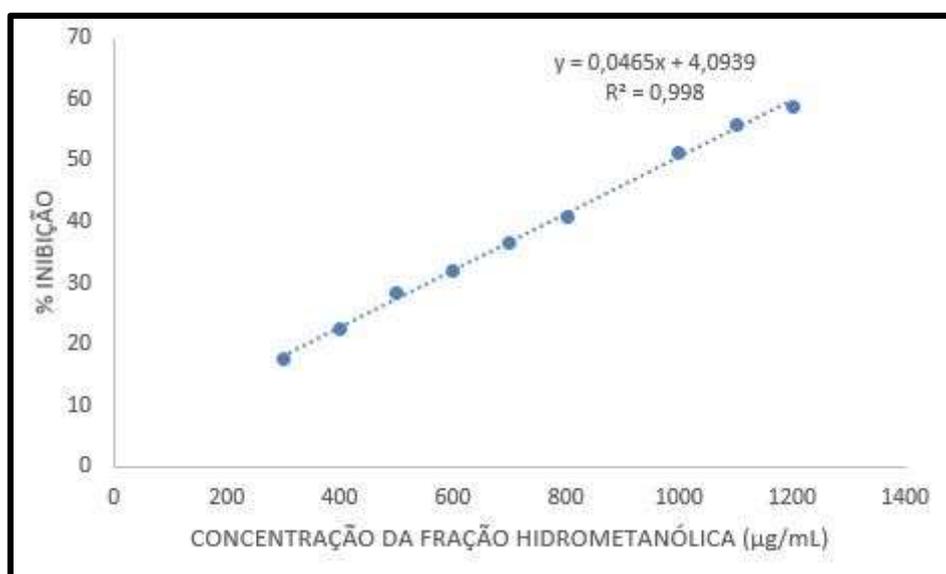


Figura 20. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FHM (amostra2).

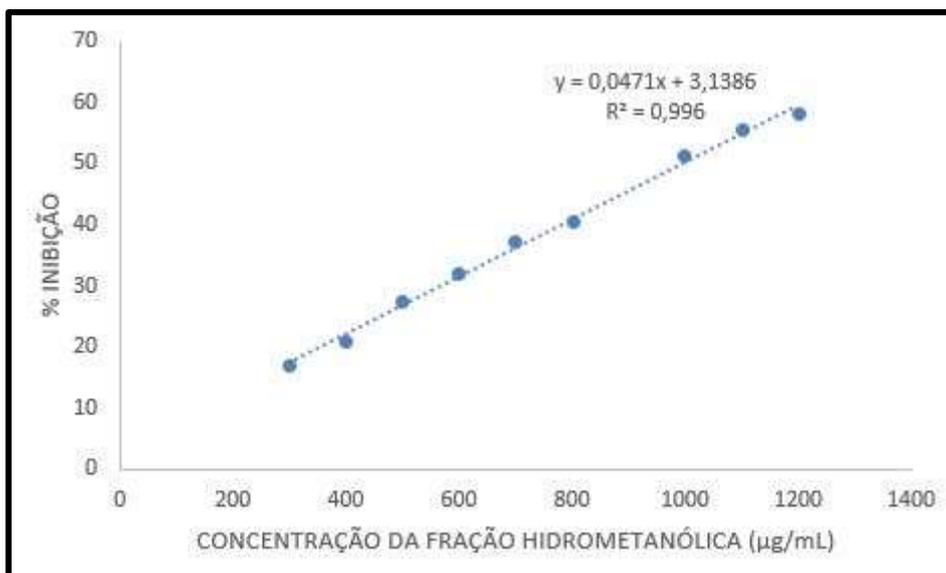


Figura 21. Atividade antioxidante pelo método DPPH da FHM (amostra3).

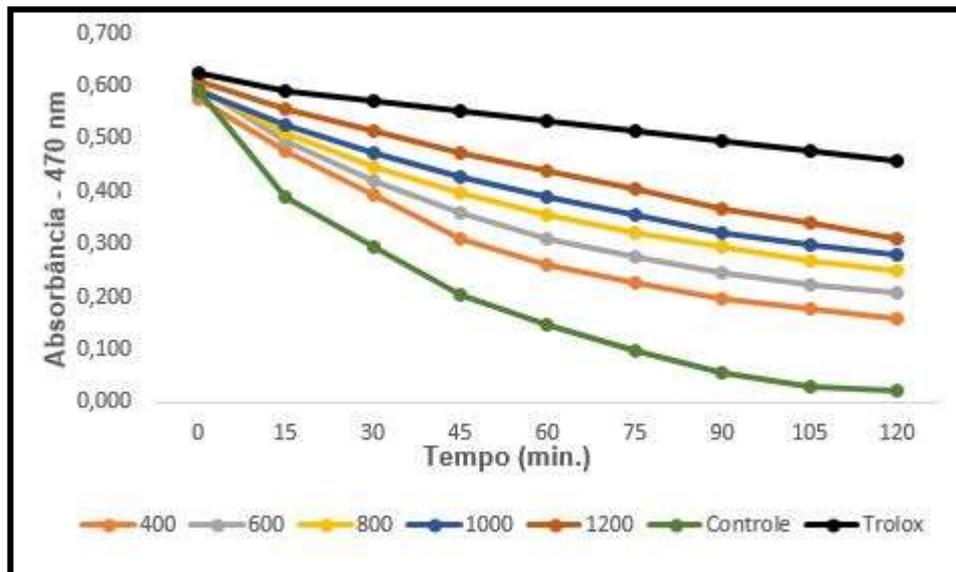


Figura 22. Curva cinética de degradação do β -caroteno da FC.

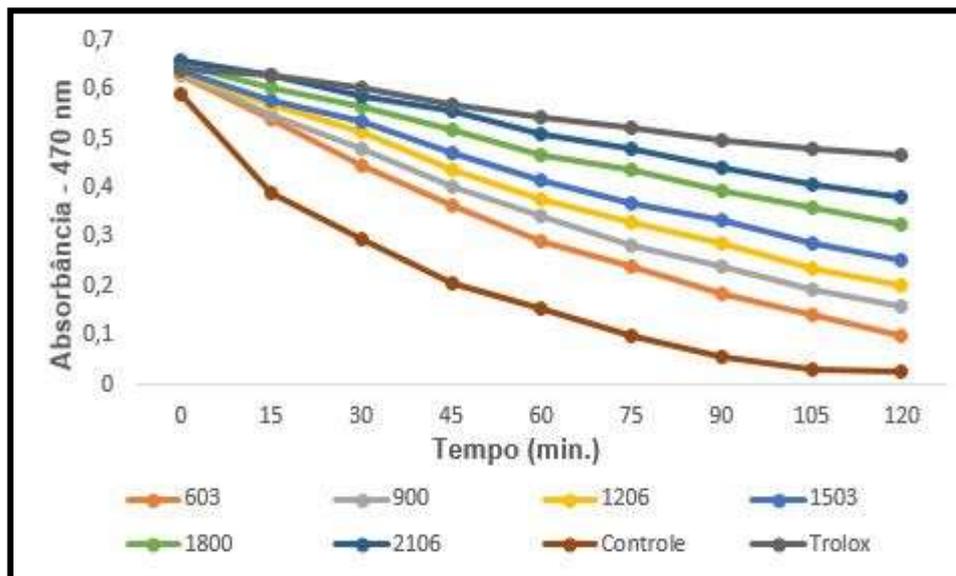


Figura 23. Curva cinética de degradação do β -caroteno da FHM.

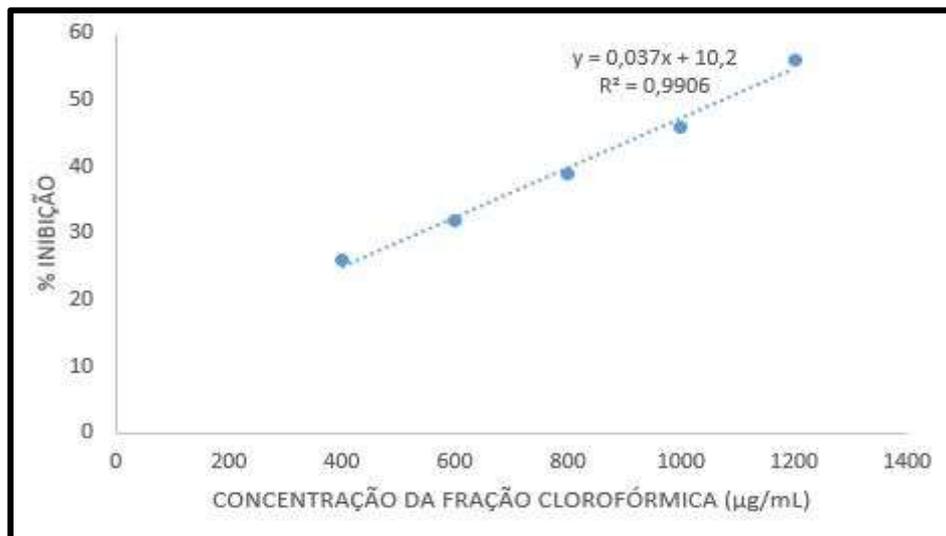


Figura 25. Atividade antioxidante pelo método Betacaroteno da FC (amostra1).

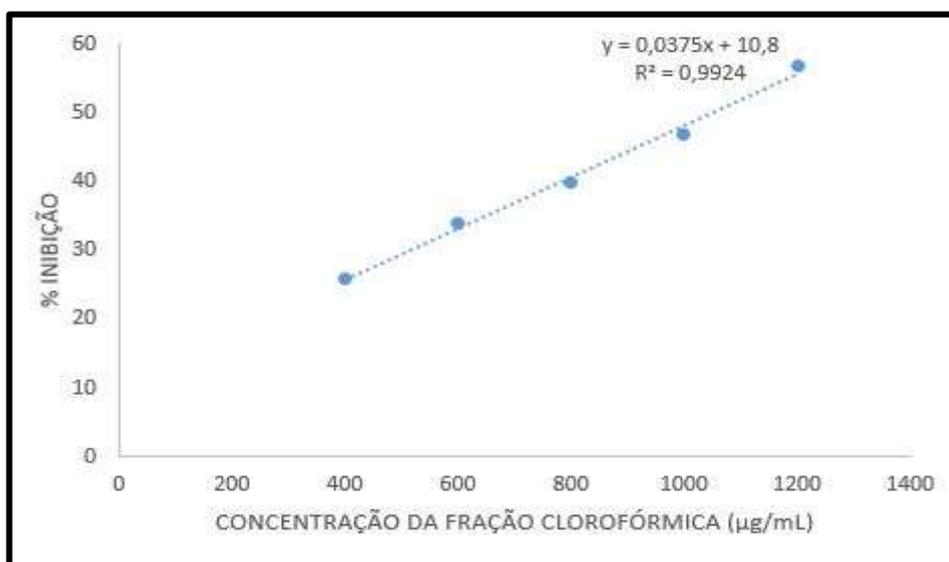


Figura 26. Atividade antioxidante pelo método Betacaroteno da FC (amostra2).

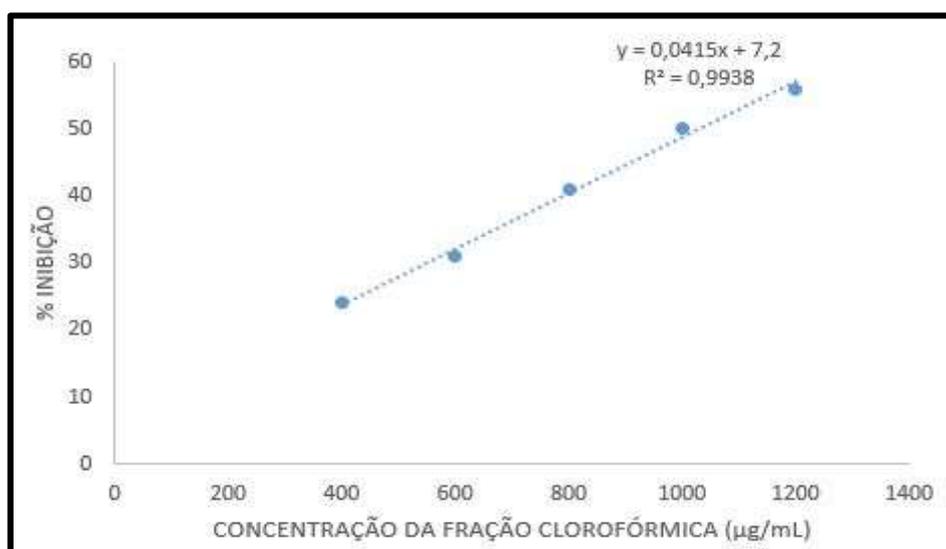


Figura 27. Atividade antioxidante pelo método Betacaroteno da FC (amostra3).

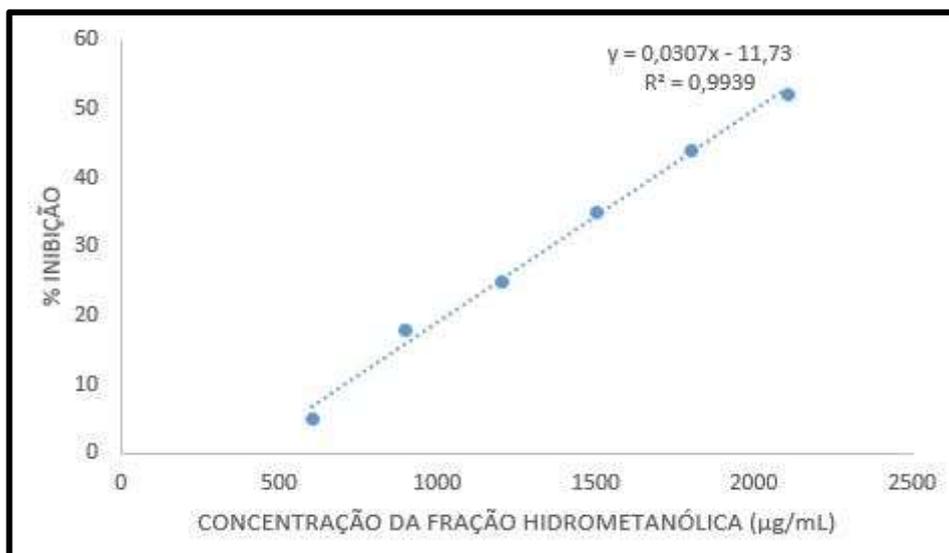


Figura 28. Atividade antioxidante pelo método Betacaroteno da FHM (amostra1).

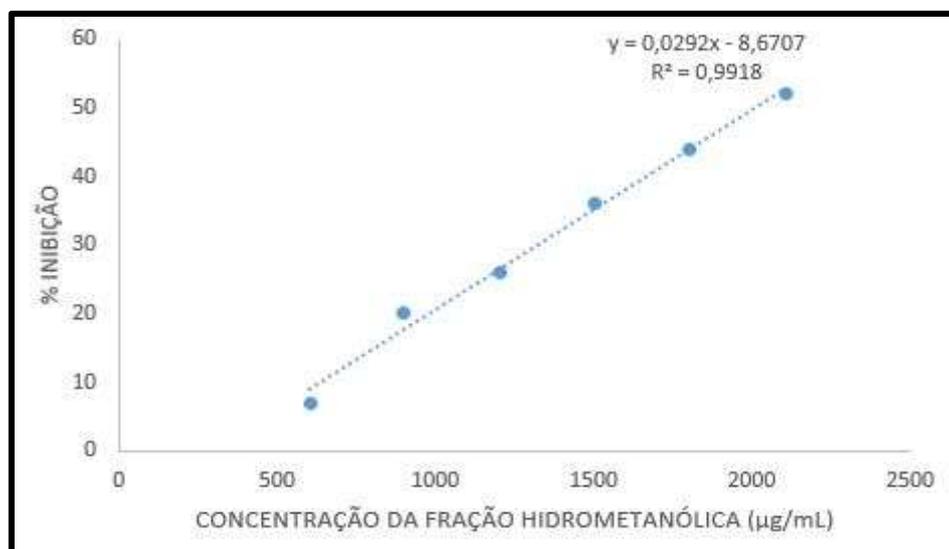


Figura 29. Atividade antioxidante pelo método Betacaroteno da FHM (amostra2).

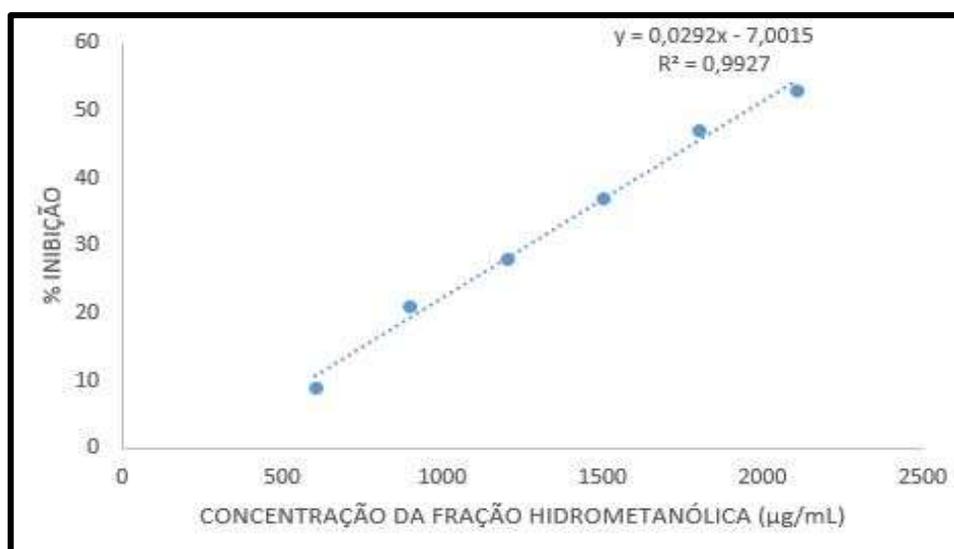


Figura 30. Atividade antioxidante pelo método Betacaroteno da FHM (amostra3).

11. ANEXO 3

Protocolo de toxicidade aguda descrito por BRITO (1994).

Frações	Controle					Fração Hidrometanólica					Fração Clorofórmica				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
nº dos animais															
Atividade Geral**															
Frêmito vocal*															
Irritabilidade*															
Resposta ao Toque**															
Aperto de cauda*															
Contorção*															
Trem posterior*															
Endireitamento**															
Tônus Corporal**															
Força de agarrar**															
Ataxia*															
Reflexo auricular**															
Reflexo corneal**															
Tremores*															
Convulsões*															
Estimulações**															
Straub*															
Hipnose*															
Anestesia*															
Lacrimação*															
Ptoses*															
Micção**															
Defecação**															
Piloereção*															
Hipotermia*															
Respiração**															
Cianose*															
nº de mortos															

*Escala unipolar **Escala bipolar

12. ANEXO 4

Resultados dos sinais clínicos de caráter geral e tóxico dos diferentes grupos de tratamento, na dose de 2000mg/kg.

Frações	Controle					Fração Hidrometanólica					Fração Clorofórmica				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
nº dos animais															
Atividade Geral**	4	4	4	4	4	6	6	6	6	6	4	6	4	6	4
Frêmito vocal*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Irritabilidade*	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Resposta ao Toque**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Aperto de cauda*	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Contorção*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Trem posterior*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Endireitamento**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Tônus Corporal**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Força de agarrar**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Ataxia*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reflexo auricular**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Reflexo corneal**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Tremores*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Convulsões*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Estimulações**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Straub*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hipnose*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Anestesia*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lacrimação*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ptoses*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Micção**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Defecação**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Piloereção*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hipotermia*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Respiração**	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	6	4	6	4
Cianose*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
nº de mortos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*Escala unipolar **Escala bipolar