

RESSALVA

Atendendo solicitação do (a) autor (a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 15/10/2019.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE
MESQUITA FILHO"**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Estudo fitoquímico e potencial biológico de cactos
da Mata Atlântica do gênero *Rhipsalis* Gärtner
(Cactaceae)**

Renan Canute Kamikawachi

Orientador: Prof. Dr. Wagner Vilegas

Araraquara

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE
MESQUITA FILHO"**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**Estudo fitoquímico e potencial biológico de cactos
da Mata Atlântica do gênero *Rhipsalis* Gärtner
(Cactaceae)**

Renan Canute Kamikawachi

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Wagner Vilegas

Araraquara

2018

Ficha Catalográfica

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação Faculdade de
Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

K15e
gênero

Kamikawachi, Renan Canute.
Estudo fitoquímico e potencial biológico de cactos da Mata Atlântica do

Rhipsalis Gärtner (Cactaceae) / Renan Canute Kamikawachi. – Araraquara,
2019.

90 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de
Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós
Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa em
Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Wagner Vilegas.

1. Espectrometria de massas. 2. Saponinas. 3. Fingerprints. 4. Anti-
inflamatória.

I. Vilegas, Wagner, orient. II. Título.

CAPES: 33004030078P6

Sumário

1. Introdução.....	1
2. Revisão da Literatura.....	6
3. Objetivo.....	10
3.1. Objetivo Geral.....	10
3.2. Objetivos Específicos.....	10
4. Material e Método.....	11
<i>Coleta</i>	11
<i>Secagem e moagem</i>	12
<i>Obtenção do extrato</i>	12
<i>Percolação</i>	13
<i>Maceração</i>	14
<i>Clean-up dos extratos</i>	14
<i>Perfil químico de Rhipsalis teres</i>	17
<i>Isolamento</i>	17
<i>Identificação</i>	18
<i>Panorama químico do gênero Rhipsalis</i>	19
<i>Análise de componentes principais (PCA)</i>	20
<i>Avaliação das Atividades Biológicas</i>	21
<i>Avaliação da Atividade Antioxidante</i>	21
<i>Avaliação do potencial antifúngico in vitro</i>	22
<u><i>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)</i></u>	22
<u><i>Determinação da concentração fungicida mínima (CFM)</i></u>	23
<u><i>Identificação das atividades</i></u>	23

<i>Edema de orelha induzido por xilol</i>	23
5. Resultados e Discussão	24
6. Conclusão	62
Perspectivas	65
Referências	66

Lista de Figuras

Figura 1: 1. Vitexina; 2. Mescalina; 3. Pachanol I; 4. Ácido Oleanólico; 5. Gummosogenina

Figura 2: A – *Rhipsalis cereuscula*; B – *Rhipsalis clavata*; C – *Rhipsalis elliptica*; D – *Rhipsalis floccosa* ssp *floccosa*; E – *Rhipsalis floccosa* ssp *hohenauensis*; F – *Rhipsalis floccosa* ssp *pulvinigera*; G – *Rhipsalis paradoxa*; H – *Rhipsalis teres*

Figura 3: Fluxograma da extração pelo método de percolação exaustiva

Figura 4: Espectro de massas *full-scan* do extrato EtOH 70% de *R. teres*

Figura 5: Espectro de absorvância UV-Vis da substância 1

Figura 6: Espectro de absorvância UV-Vis da substância 1

Figura 7: Cromatograma da análise por *UPLC-MS* com as substâncias 1 e 2

Figura 8: padrão de fragmentação em *MSⁿ* das saponinas de *R. teres* (molécula exemplificada pelo calendulaglicosídeo C)

Figura 9: Substâncias identificadas no extrato EtOH 70% de *Rhipsalis teres*

Figura 10: Cromatograma da análise por HPLC das espécies do gênero *Rhipsalis* (λ 254 nm)

Figura 11: Cromatograma da análise por HPLC das espécies do gênero *Rhipsalis* (λ 360 nm)

Figura 12: Cromatograma da análise por HPLC das espécies do gênero *Rhipsalis* (detector ELSD)

Figura 13: Gráfico 3D da distribuição das espécies do gênero *Rhipsalis* por análise de componentes principais dos dados semi-quantitativos

Figura 14: Gráfico 3D da distribuição das espécies do gênero *Rhipsalis* por análise de componentes principais dos dados qualitativos

Figura 15: Dendrograma obtido por HCA dos dados qualitativos dos extratos MeOH das espécies do gênero *Rhipsalis*

Figura 16: Dendrograma obtido por HCA dos dados qualitativos dos extratos MeOH de *Rhipsalis* com os valores exatos da distância observada entre cada agrupamento

Figura 17: Dendrograma obtido por HCA dos dados quantitativos dos extratos MeOH de *Rhipsalis*

Figura 18: Dendrograma obtido por HCA dos dados quantitativos dos extratos MeOH de *Rhipsalis* com os valores exatos da distância observada entre cada agrupamento

Figura 19: Proposta filogenética para o gênero *Rhipsalis* com base em marcadores moleculares (Korotkova et al. 2011)

Figura 20: Cromatograma da análise por HPLC dos extratos EtOH 70% de *R. cereuscula*, *R. paradoxa* e *R. teres* (detector ELSD)

Figura 21: Cromatograma da análise por HPLC dos extratos EtOH 70% de *R. cereuscula*, *R. paradoxa* e *R. teres* (λ 254 nm)

Figura 22: Cromatograma da análise por HPLC nm dos extratos EtOH 70% de *R. cereuscula*, *R. paradoxa* e *R. teres* (λ 360 nm)

Figura 23: Curva da atividade antioxidante observada para o extrato EtOH 70% de *R. paradoxa*

Figura 24: Atividade anti-inflamatória dos extratos EtOH 70% de *Rhipsalis* spp.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Espécies do gênero *Rhipsalis* estudadas seguidas das siglas referentes a cada espécie, voucher ou número de coletor e cadastro nº de acesso a patrimônio genético.

Tabela 2: Quantidades (g) de material vegetal fresco e úmido, volume de solventes utilizados e rendimento (%) para cada espécie de *Rhipsalis* submetida às duas extrações.

Tabela 3: Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C da aglicona da substância 5.

Tabela 4: Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C dos açúcares da substância 5.

Tabela 5: Substâncias sugeridas presentes em espécies do gênero *Rhipsalis*.

Tabela 6: *Fingerprint* sugerido para cada espécie do gênero *Rhipsalis* avaliada.

Tabela 7: A atividade antifúngica de extratos de *Rhipsalis* spp frente às espécies de *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. parapsislosis*

Lista de Abreviaturas

TLC – Cromatografia em Camada Delgada

CC – Cromatografia em Coluna

MPLC – Cromatografia Líquida de Media Eficiência

HPLC-DAD-ELSD – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Fotodiodo e Detector de Espalhamento de Luz

HPLC-IR - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Índice de Refração

FIA-ESI-IT-MSⁿ - Infusão Direta com ionização por Electrospray e analisador de Íon Trap

UPLC-ESI-IT-MS - Cromatografia Líquida de ULtra Eficiência acoplada a espectrômetro de massas com ionização por Electrospray e analisador de Íon Trap

UPLC-DAD - Cromatografia Líquida de ULtra Eficiência com Detector de Fotodiodo

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

HMBC - Correlação Heteronuclear de Múltiplas Ligações

HMQC – Coerência Quântica Heteronuclear Múltipla

RCE – *Rhipsalis cereuscula* Haw.

RCL – *Rhipsalis clavata* F.A.C.Weber

RE – *Rhipsalis ellpitica* G.Lindb

RFF – *Rhipsalis floccosa* subsp. *floccosa* Salm-Dyck

RFH – *Rhipsalis floccosa* subsp. *hohenauensis* Barthlott & N.P.Taylor

RFP – *Rhipsalis floccosa* subsp. *pulvinigera* Barthlott & N.P.Taylor

RP – *Rhipsalis paradoxa* Salm-Dyck

RT – *Rhipsalis teres* (Vell.) Steud

rt – tempo de retenção

Gli - Glicose

Gal - Galactose

GlcA – Ácido Glicurônico

Xil – Xilose

Resumo

Apesar dos diversos relatos do uso de *Rhipsalis* Gaërtn (Cactaceae) por populações tradicionais no tratamento de uma gama de enfermidades, há pouquíssimos estudos fitoquímicos com esse grupo de cactos e por vezes estes são superficiais, apenas indicando a possível presença de algumas classes de produtos naturais. Ademais, estudos avaliando a atividade biológica de *Rhipsalis* são escassos. Neste viés, este trabalho objetivou investigar a composição química do gênero *Rhipsalis* e avaliar possíveis atividades ligadas à sua composição, subsidiando desta forma seu uso popular. Esta dissertação foi dividida e organizada da seguinte forma: a primeira parte apresenta uma introdução geral sobre plantas medicinais e sua importância, assim como uma revisão sobre estudos fitoquímicos em Cactaceae. Em seguida, foram redigidas três seções: na primeira, investigamos a composição química de *Rhipsalis teres* (Vell.) Steud identificando 5 saponinas derivadas do ácido oleanólico, 2 flavonoides C-glicosilados derivados da apigenina e 2 ácidos fenólicos; na segunda, investigamos a composição química do gênero *Rhipsalis* identificando 28 saponinas cujo core é o ácido oleanólico e 8 flavonoides, também sugerimos *fingerprints* para cada espécie avaliada com base nas substâncias majoritárias, os resultados quantitativos obtidos por *UPLC-MS* foram eficientes na identificação das espécies com base na filogenia; na terceira, avaliamos as atividades antioxidante, antifúngica e anti-inflamatória de espécies de *Rhipsalis* destacando-se como espécies mais promissoras a *R. paradoxa* no ensaio antioxidante e *R. cereuscula* no ensaio de atividade anti-inflamatória.

Palavras-chave: **espectrometria de massas, saponinas, fingerprints, anti-inflamatória**

Abstract

Despite the several reports of the use of *Rhipsalis* Gaërtn (Cactaceae) by traditional populations in the treatment of a range of diseases, there are very few phytochemical studies with this group and sometimes these are superficial, only indicating the possible presence of some classes of natural products. In addition, there are very few studies evaluating the biological activity of *Rhipsalis*. Therefore, this work aimed to investigate the chemical composition of the genus *Rhipsalis* and to evaluate possible activities related to its composition, thus subsidizing its popular use. This dissertation was divided and organized as follows: the first part presents a general introduction on medicinal plants and their importance as well as a review on phytochemical studies in Cactaceae. Then, three sections were written: in the first one, we investigated the chemical composition of *Rhipsalis teres*, identifying 5 saponins derived from oleanolic acid, 2 C-glycosylated flavonoids derived from apigenin and 2 phenolic acids; in the second section, we investigate the chemical composition of the genus *Rhipsalis* identifying 28 saponins whose core is oleanolic acid and 8 flavonoids, we also suggested fingerprints for each species evaluated on the basis of the majority compounds, the quantitative results obtained by UPLC-MS were efficient in the identification of the species based on the phylogeny; in the third, we evaluated the antioxidant, antifungal and anti-inflammatory activities of *Rhipsalis* species, with *R. paradoxa* being the most promising species in the antioxidant assay and *R. cereuscula* in the anti-inflammatory assay.

Keywords: mass spectrometry, saponins, fingerprint, anti-inflammatory

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, Carmen Canute Kamikawachi e Fausto Koichi Kamikawachi, por sempre me apoiarem e incentivarem meus estudos.

À Virginia Carrara por me acompanhar e dar suporte durante toda trajetória deste trabalho e nos momentos mais árduos.

Aos meus amigos de academia os quais levarei para a vida toda: Alexandre Luiz Arvigo, Juan Carlos Farias Pardo, Caio Akira Miyai e Murilo Zanetti Marochi.

Ao meu orientador Wagner Vilegas por todos os ensinamentos fitoquímicos e paciência ao transferir os conhecimentos químicos a um biólogo.

Ao Prof. Odair José Garcia de Almeida, por todo o acompanhamento botânico neste trabalho.

À Profa. Thais Maria Baub e à Profa. Clélia Akiko Hiruma-Lima, pela contribuição e realização das atividades biológicas.

Aos colegas do Laboratório de Bioprospecção de Produtos Naturais.

Ao Prof. Francisco Seikiguchi de Carvalho e Buchmann e ao Laboratório de Estratigrafia e Paleontologia, pela ajuda nas coletas.

À CAPES, pelo auxílio financeiro e pela bolsa concedida **88882.180443/2018-01**.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP.

1. Introdução

Plantas medicinais e seus usos no tratamento de enfermidades têm acompanhado a humanidade desde suas civilizações mais antigas até a Idade Contemporânea. Populações sumérias descreviam receitas para o preparo de medicamentos à base de plantas há mais de 5000 anos. O livro chinês "Pen T'Sao" datado de 2500 anos A.C. relata a utilização de mais de 350 espécies vegetais. As civilizações egípcias, gregas, assírias, árabes, romanas e da Idade Médias descreviam diversas espécies e a preparação de drogas vegetais aos quais recorriam para tratamento das mais diversas enfermidades. No decorrer do tempo, a utilização de plantas para cura de enfermidades se tornou ampla e intrínseca à cultura tradicional de cada povo (PETROVSKA, 2012).

A cultura tradicional de diversos povos faz uso de plantas medicinais para tratar suas moléstias. Segundo a Organização Mundial de Saúde, em 1995 nos países em desenvolvimento, cerca de 70% da população dependia exclusivamente dos fitoterápicos como forma de tratamento e prevenção de suas enfermidades. A Fitoterapia representa uma forma de terapia medicinal alternativa à medicina alopática, uma vez que esta última apresenta diversos obstáculos no acesso de populações carentes, seja por distância dos centros hospitalares ou pela dificuldade na realização de exames e na aquisição de medicamentos (AGRA et al, 2008).

O mercado mundial de fitoterápicos tem crescido significativamente nos últimos anos. Com base nestas informações era de se esperar que o Brasil, detentor de aproximadamente um terço da flora mundial, estivesse na vanguarda do desenvolvimento e uso de fitoterápicos. Entretanto, não é isto que ocorre apenas 5% do mercado de medicamentos brasileiros são derivados de origem natural. Isso acaba influenciando diretamente na pesquisa de diversos táxons da flora brasileira, como é o caso da família Cactaceae. Embora o Brasil represente o país com a terceira maior diversidade de cactos do mundo, pouco tem se aproveitado dessa grande diversidade vegetal (DUTRA et al, 2016; MEIADO, 2012).

Os cactos compreendem cerca de 1866 espécies e 139 gêneros (Stevens, 2001) as quais em sua maioria são encontradas apenas nas Américas, com exceção de *Rhipsalis baccifera* (Sol.) Stearn, que ocorre naturalmente na África e

Ásia (ANDERSON, 2001; BARTHLOTT; HUNT, 1993) são plantas com folhas modificadas em espinhos ou ausentes, caule suculento e geralmente habitam ambientes áridos ou semi-áridos (OCAMPO; COLUMBUS, 2010). Entretanto, mais ou menos 10% de sua diversidade está composta por linhagens epífitas e semi-epífitas que habitam o dossel das árvores em florestas neotropicais (BENZING, 2008; WALLACE; GIBSON, 2002) pertencendo às tribos Hylocereeae e Rhipsalideae (subfamília Cactoideae). A Mata Atlântica brasileira, um dos *hotspots* mundiais para conservação da biodiversidade (MYERS *et al.*, 2000; Amorim *et al.*, 2009), é o centro de diversidade para a tribo Rhipsalideae (BARTHLOTT; HUNT, 1993; ANDERSON, 2001). Entretanto, conforme discutido em Ramos *et al.* (*in press*) estudos de biodiversidade em comunidades vegetais tropicais estão, principalmente, voltados para estudo das árvores e outras formas de vida como lianas, ervas, arbustos e epífitas são frequentemente ignorados ou subestimados; contudo essas plantas são responsáveis pela riqueza de espécies e pela complexidade ecológica nos ambientes em que ocorrem (GENTRY; DOBSON, 1987 a,b). No Brasil, os membros desta família são principalmente utilizados como plantas ornamentais e com menor frequência como alimento e medicamento (XAVIER, 2010; VALENTE *et al.*, 2007). Apesar de os cactos estarem distribuídos por todo o território brasileiro, são pouco estudados do ponto de vista integrado, ou seja, que abranja suas composições químicas e atividades biológicas.

Família Cactaceae: aspectos químicos, etnobotânicos e farmacológicos

A família Cactaceae é classificada em cinco subfamílias de acordo com sua morfologia: Pereskioideae (cactos mais basais da América do Sul), Leuenbergioideae (cactos mais basais da América Central), Mahuenioideae (subfamília relativamente nova com apenas duas espécies que ocorrem no extremo sul da Argentina), Opuntioideae (cactos globulares) e Cactoideae (cactos em formas de arbusto ou colunares) (STEVEN, 2001; ANDERSON, 2001). Apesar da divisão entre Pereskioideae e Leuenbergioideae, neste trabalho iremos utilizar a classificação antiga em que as subfamílias eram agrupadas em Pereskioideae, pois os trabalhos citados utilizavam esta classificação e, portanto, as espécies eram citadas com a nomenclatura antiga.

A subfamília Pereskioideae (Pereskioideae e Leuenbergioideae) considerada o grupo mais basal por apresentar o maior número de caracteres primitivos da

família Cactaceae. Esse grupo tem sua incidência restrita a regiões de transição ou levemente áridas e apresentam como morfologia geral caules finos, sublenhosos ou lenhosos, dos quais emergem folhas largas com poucos espinhos na base e originam flores terminais solitárias ou em cimeiras curtas (DUARTE; HAYASHI 2005). Pereskioideae possui indivíduos com propriedades medicinais, dentre elas *Pereskia bleo* (Kunth) DC. Essa espécie nativa da América Central foi introduzida na Malásia, onde lhe são atribuídas atividades antitumoral, antirreumática, antiúlcera e anti-inflamatória (TURRA et al, 2007). Em estudo realizado por Tan et al (2005) observou-se a atividade citotóxica sobre células mamárias cancerígenas. Essa atividade foi conferida à presença de glicosídeos complexos e saponinas que ocorrem no gênero *Pereskia* e estão presentes no extrato metanólico de *P. bleo*. Em outro estudo foi constatada a atividade antinociceptiva moderada do extrato etanólico, além da presença de vitexina (Figura 1) (ABDUL-WAHAB et al, 2012). Outra espécie dessa subfamília com potencial medicinal é *P. grandifolia* Haw, nativa da América Latina e com ampla distribuição no Brasil. Popularmente, as folhas são utilizadas no tratamento de erupções cutâneas e aos frutos são atribuídas propriedades expectorante e antissifilítica (CORREA, 1984). Diversas pesquisas têm sido realizadas com essa espécie, a fim de elucidar seu potencial fitoterápico. Observou-se efeito sedativo, atividades analgésica e ansiolítica do extrato etanólico (TURRA et al, 2007). Ademais, estudos químicos utilizando diversas espécies de *Pereskia* constataram a presença de diferentes alcaloides, dentre eles a mescalina (alucinógeno) (DOESTCH et al, 1980).

Opuntideae é conhecida por seu caule achatado, frutos comestíveis, pequenos espinhos destacáveis em sua auréola (gloquídios), folhas rudimentares nos brotos e sementes com cobertura opaca. Apresenta significativa importância como recurso alimentar humano e animal, e está distribuída por diversas regiões áridas, semiáridas e temperadas do mundo (RUSSEL; FELKER, 1987). O gênero *Opuntia*, responsável pelo nome desta subfamília, é o mais amplamente distribuído e estudado do ponto de vista medicinal, além de também possuir um amplo uso na medicina tradicional de diversos países no tratamento de doenças do pulmão, pele e circulação sanguínea (CHEN et al, 2011), inflamação e dor (ZOU et al, 2005), gastrite, hiperglicemia, arteriosclerose, diabetes, hipertrofia da próstata (AGOZZINO et al, 2005) e como cicatrizante (SHEDBALKAR et al, 2010). Em revisão realizada por FEUGANG et al (2006) sobre as aplicações e usos de

Opuntia, foi relatado, além do alto valor nutritivo, diversas atividades biológicas importantes tais como: anticancerígena, antioxidante, antiviral (*Herpes simplex* tipo 2, vírus da pseudorraiva, *influenza*, HIV-1), anti-inflamatória, antidiabética tipo 2, e hipocolesterolêmica (redução dos níveis de colesterol no sangue e modificação da composição do LDL). Outros estudos mostraram propriedades cicatrizantes em sinergia dos extratos aquoso e etanólico de *O. dillenii* (Ker awl.) Haw. (CHEN et al, 2011), hepatoprotetoras do extrato aquoso de *O. ficus-india* (L.) Mill (BRAHMI et al, 2011) e atividade contra a hiperplasia da próstata do extrato das flores de *Opuntia* sp. (JONAS et al, 1998).

Os cactos pertencentes à subfamília Cactoideae possuem grande variabilidade morfológica, apresentando-se em formas arbustivas, arborícolas, epífitas e cespitosas. A grande variabilidade estende-se quanto à sua distribuição, ocupando desde regiões áridas (*Carnegiea gigantea* (Engelm.) Britton; Rose) até florestas tropicais úmidas (*Rhipsalis teres* (Vell.) Steud) (ZAPPI et al, 2007; ANDERSON, 2001). Além disto, Cactoideae contém a maior diversidade de organismos, assim como a maior ocorrência de endemismo (ORTEGA-BAES et al, 2010). Devido a esse amplo espectro de formas e habitat, essa subfamília é menos delimitada por sinapomorfias, provavelmente ocorre uma única característica compartilhada por todos os *taxa* deste grupo. Virtualmente, o caule é suculento e possui uma diminuta folha sustentando cada aréola (NOBEL, 2002). Essa grande diversidade é refletida na utilização de diversas espécies na medicina tradicional. Populações indígenas das Américas utilizam o extrato etanólico de *Ariocarpus bravoanus* H.M.Hern.; E.F.Anderson para tratar reumatismo e outros tipos de dores (ANDERSON, 2001), o cacto *Echinocereus coccineus* Engelm. como estimulante cardíaco (MOERMAN, 1998), a decocção de *Echinopsis pachanoi* (Britton; Rose) Friedich; G.D.Rowley contra a calvície (DUKE; VASQUEZ, 1994), o fruto e a semente de *Escobaria vivípara* (Nutt.) Buxb. no tratamento de disenteria e doenças oculares (MOERMAN, 1998), a decocção de *Mammillaria grahamii* Engelm. no tratamento de enfermidades auriculares (MOERMAN, 1998), o cacto *Pachycereus pringlei* (S.Watson) Britton; Rose como analgésico (ASHMANN, 1966), as raízes e caules de *Peniocereus greggii* (Engelm.) Britton; Rose como estimulante cardíaco, cura do diabetes e tristeza (MOERMAN, 1998) e *Selenicereus grandiflorus* (L.) Britton; Rose é utilizada na América Latina como remédio para doenças cardíacas, edema e dores (MOERMAN, 1998; MOORE, 1989; CURTIN, 1949). Além disso,

foram reportados os usos religiosos ligados principalmente ao peiote (*Lophophora williamsii* (Lem. Ex Salm-Dick) J.M.Coult.) e cacto São Pedro (*Echinopsis pachanoi* (Britton; Rose) Friedrich; G.D.Rowley) por possuírem um alcaloide alucinógeno denominado mescalina (Figura 1) (OGUNBODEDE et al, 2010; ANDERSON, 2001; SCHULTES, 1938). Estudos químicos com diversos cactos demonstraram a presença de uma variedade de saponinas, dentre elas, algumas que ainda não eram conhecidas (KATUTA et al, 2012). No mesmo estudo ainda foi observada atividade antialérgica do tipo I para algumas saponinas isoladas de cactos (Figura 1).

Inserida na subfamília Cactoideae, a tribo Rhipsalideae chama atenção por suas características fugirem do estereótipo de cactos. Suas particularidades consistem em serem indivíduos epífitos, sem espinhos e que habitam regiões úmidas de florestas. Sua morfologia versa em caules segmentados, aréolas emersas no caule, flores diurnas e laterais ao caule. Possuem ocorrência em sua grande maioria na América do Sul, porém, algumas espécies distribuem-se até a América do Norte, e uma única espécie (*Rhipsalis bacífera* (J.S.Muell.) Stearn) possui distribuição natural em outros continentes. Ademais este grupo possui alta taxa de endemismo e tem na Mata Atlântica um dos maiores centros de diversidade (KOROTKOVA et al, 2011; ORTEGA-BAES et al, 2010; ANDERSON, 2001).

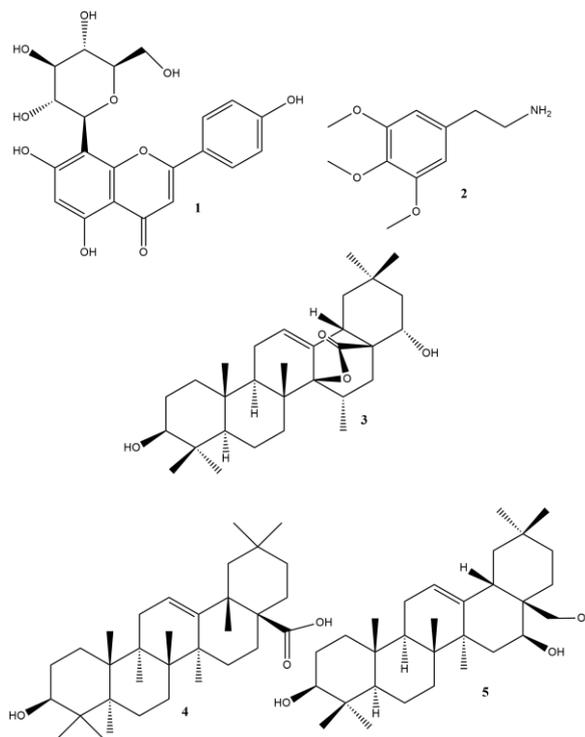


Figura 1: 1. Vitexina; 2. Mescalina; 3. Pachanol I; 4. Ácido Oleanólico; 5. Gummosogenina

2. Revisão da Literatura

Utilização na medicina popular

No gênero *Rhipsalis* ocorrem diversas espécies com uso medicinal por populações tradicionais em toda a América Latina. Estudos etnobotânicos relataram o uso de *Rhipsalis teres* (Vell.) Steud como medicamento para coração e pneumonia (VENDRUSCULO; MENTZ, 2006A; VENDRUSCULO; MENTZ, 2006B; VENDRUSCULO et al, 2005), a propriedade sedativa de *R. myosurus* (Salm.-Dyck) K.Schum. (MENTZ et al, 1997), o uso do emplastro de *Rhipsalis sp* no tratamento de ferimentos e queimaduras (STANISKI et al, 2014), o uso da infusão do caule e frutos de *R. lumbricoides* (Lem.) Lem. no tratamento de pressão alta e o uso da decocção dos caules para dores relacionadas ao músculo coronário, além do emprego do cataplasma do caule para tumores e inflamações (LUCENA et al, 2014; CARBONÓ-DELAHOZ; DIB-DIAZGRANADOS, 2013; CHIFA; RICCIARDI,

2002). Os estudos etnobotânicos relatam ainda o uso de *R. baccifera* para aliviar dores nos ossos e para varizes, sua cataplasma como anti-inflamatório, e da infusão para o tratamento de diabetes e pressão alta e da água do macerado no tratamento de hepatite (DOMÍNGUEZ-BARRADAS, et al, 2015; FUENTES, 2005).

Há poucos estudos que avaliem as atividades relatadas e a composição química de *Rhipsalis*. Akunne et al (2016) observaram atividade anti-inflamatória e anticancerígena do extrato metanólico de *R. neves-armondii* K. Schum. Do ponto de vista químico, foi observada a presença de alcaloides em *R. lumbricoides* através da reação de Dragendorff (CHIFA; RICCIARDI, 2002) e TURSCH et al (1965) e identificaram um triterpeno derivado do ácido oleanólico em *R. mesembryanthemoides* Haw.

Dificuldade de identificação taxônomica de plantas medicinais e do gênero *Rhipsalis*

O número de plantas medicinais e como usá-las aumentou significativamente ao longo dos anos. Das 250 espécies utilizadas pelos sumérios há 5.000 anos, atualmente apenas na medicina chinesa são reportadas mais de 5.000 espécies; globalmente este número sobe para aproximadamente 70.000 espécies utilizadas no tratamento e prevenção de enfermidades (CHEN et al, 2014; PETROVSKA 2012; HEUBL, 2010). Como consequência deste aumento de espécies, a identificação e modo correto de utilização de cada espécie apresenta uma importante preocupação para saúde pública uma vez que o uso incorreto pode causar quadros severos de intoxicação incluindo morte (HEUBL, 2010). No EUA aproximadamente 5% dos casos de envenenamento são atribuídos ao uso de plantas medicinais e 12% na África do Sul; este problema é mais significativo em

países em desenvolvimento onde a população é mais dependente da medicina tradicional e o uso de plantas medicinais não é bem regulamentado (KHARCHOUFA et al, 2018).

A identificação de plantas medicinais geralmente baseia-se em características morfológicas, anatômicas e químicas. No Brasil, o órgão regulamentador ANVISA na resolução RDC nº 10 de 9 de março de 2010 exige para identificação de drogas vegetais métodos cromatográficos, um laudo emitido por profissional habilitado e exsicatas que possam ser acessadas e comparadas com banco de dados. Uma grande deficiência apresentada por estas técnicas é falta de conhecimento e/ou ausência de características chaves na identificação de cada espécie e a necessidade de um *expert* para cada grupo, tendo em vista que espécies próximas tendem a apresentar características similares, o que torna certos táxons de plantas medicinais propensos à menor precisão em suas identificações (CHEN et al, 2014).

Apesar do uso popular difundido, a identificação taxonômica do gênero *Rhipsalis* está em constante debate entre os especialistas. A classificação de *Rhipsalis* tem sido constantemente alterada desde sua primeira descrição em 1753 até os dias atuais. (KOROTKOVA et al, 2011; CALVENTE 2012; CALVENTE et al, 2011). A dificuldade na definição de características chaves deste gênero está principalmente relacionada à intergradação da parte vegetativa (i.e. espécies diferentes compartilham as mesmas características), à plasticidade fenotípica e à uniformidade da parte reprodutiva (KOROTKOVA et al, 2011). Desta forma, as características morfológicas e anatômicas se tornam uma ferramenta de baixa precisão sendo necessárias outras abordagens para a identificação dessas espécies. Entretanto, ponto de vista químico, o gênero *Rhipsalis* é pouquíssimo

explorado havendo apenas alguns trabalhos que identificaram superficialmente algumas classes de produtos naturais (BAUTISTA-SAN et al, 2017; AKUNNE et al, 2016).

3. Objetivos

3.1. Objetivo Geral

✓ Investigar a composição química de 8 táxons (6 espécies e 2 subespécies) da Mata Atlântica pertencentes ao gênero *Rhipsalis* Gaërtn, através de análises por *TLC*, *HPLC-DAD-ELSD*, *FIA-ESI-IT-MSⁿ* e *UPLC-ESI-IT-MS* de forma a obter um panorama de sua composição química e avaliar seu potencial biológico.

3.2. Objetivos Específicos

3.2.1. Investigar o extrato *EtOH 70%* de *R. teres* por meio de análises por *TLC*, *HPLC-DAD-ELSD*, *FIA-ESI-IT-MSⁿ* e *UPLC-ESI-IT-MS*.

3.2.2. Isolar e identificar metabólitos secundários de *R. teres*

3.2.3. Avaliar a composição química de *Rhipsalis* spp. por *TLC*, *HPLC-DAD-ELSD*, *FIA-ESI-IT-MSⁿ* e *UPLC-ESI-IT-MS*.

3.2.4. Avaliar quimiotaxonomicamente a relação entre as composições químicas de cada espécie

3.2.5. Avaliar as atividades antioxidante, antifúngica e anti-inflamatória de *Rhipsalis cereuscula*, *Rhipsalis paradoxa* e *Rhipsalis teres*

4. Conclusão

A composição química de *Rhipsalis teres* consiste principalmente em saponinas triterpênicas derivadas do ácido oleanólico, as quais possuem unidades sacarídicas ligadas tanto no carbono 3, quanto no carbono 28. Também há a ocorrência, em menor quantidade, de ácidos fenólicos e flavonoides. Essas classes de substâncias, geralmente, apresentam atividades anti-inflamatória e hipocolesterômica, as quais que podem estar relacionadas ao uso popular no tratamento de pneumonia e doenças coronárias.

Os cactos do gênero *Rhipsalis* apresentaram três classes principais de metabólitos secundários: compostos fenólicos, flavonoides e saponinas. Os flavonoides apresentaram diferentes agliconas como apigenina, luteolina e quercetina quase sempre ligadas a unidades de desoxiexose, hexose ou ácido glicurônico. As ligações entre o açúcar e a aglicona eram majoritariamente O-ligadas. Entretanto, na espécie *Rhipsalis teres* ocorreram duas substâncias C-glicosiladas. As saponinas consistiram em substâncias derivadas do ácido oleanólico associadas a uma ou até cinco unidades sacarídicas. Os açúcares apresentaram-se ligados tanto ao C-3 quanto ao C-28 e variavam entre pentose, desoxiexose, hexose e ácido glicurônico. Esse último, quando presente, sempre estava ligado diretamente à aglicona. Estas moléculas, ao serem analisadas por PCA e HCA, mostraram-se importantes na identificação das espécies, quando avaliadas quantitativamente.

As atividades biológicas apresentadas pelas espécies *R. cereuscula*, *R. paradoxa* e *R. teres*, condizem com seus perfis químicos. *Rhipsalis paradoxa* foi a única que apresentou atividade antioxidante dentre as espécies testadas, refletindo seu teor mais elevado de composto fenólicos. Por outro lado, *R. cereuscula*

apresentou maior atividade anti-inflamatória condizendo com o teor mais elevado de saponinas. Quanto à atividade antifúngica, todos os extratos apresentaram atividade baixa a moderada, porém *R. teres* foi a única espécie que demonstrou atividade contra todas as cepas testadas. De forma geral, as espécies testadas apresentaram potencial terapêutico, entretanto, é necessária uma filtração dos extratos para que se reduza a quantidade de açúcar oriunda da mucilagem e aumente o teor de substâncias bioativas resultando em valores mais representativos do potencial biológico destas substâncias.

Este foi o primeiro trabalho a investigar estruturalmente os metabólitos secundários do gênero *Rhipsalis* e a identificar o *core* de ácido oleanólico presente em todas saponinas desse gênero.

Referências

1. ABDUL-WAHAB, I. R.; GUILHON, C. C.; FERNANDES, P. D.; BOYLAN, F. Anti-nociceptive activity of *Pereskia bleo* Kunth. (Cactaceae) leaves extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n. 3, p. 741-746, 2012.
2. AGOZZINO, P.; AVELLONE, G.; CERAULO, L.; FERRUGIA, M.; FILIZZOLA, F. Volatile profiles of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) by SPME-GC/MS analysis. **Italian Journal of Food Science**, v. 17, n. 3, p. 341-348, 2005.
3. AGRA M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants use in the region of Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.
4. AKUNNE, T.C.; AKAH, P. A.; NWABUNIKE, I. A.; NWORU, C. S.; OKEREKE, E. K.; OKEREKE, N. C.; OKEREKE, F. C. Anti-inflammatory and anticancer activities of extract and fractions of *Rhipsalis neves-armondii* (Cactaceae) aerial parts. **Cogent Biology**, v. 2, 2016.
5. ALIGIANNIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINOU, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168–4170, 2001.

6. AMORIM, A. M., JARDIM, J. G., LOPES, M. M. M., FIASCHI, P, BORGES, R. A. X. PERDIZ, R. O.; THOMAS, W. W. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 3, p. 313-348, (2009). Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v9n3/pt/fullpaper?bn02909032009+pt>>.
7. ANDERSON, F. E. **The Cactus family**. Portland, Oregon: Timber Press, 2001.
8. ANDRADE, F. D. P.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; VILEGAS, W. Studies in constituents of brazilian folk infusion, isolation and structure elucidation of new triterpene saponins from *Ilex amara* leaves. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 255-261, 2002.
9. ARRUDA, E.; MELO-DE-PINNA, G. F.; ALVES, M. Anatomia dos órgãos vegetativos de Cactaceae da caatinga pernambucana. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 3, p. 589-601, 2005.
10. ASHMANN, H. (Ed.) **The natural & human history of Baja California from manuscripts by jesuit missionaries**. Los Angeles: Dawson's Book Shop, 1966. (Baja California travels series, 7).
11. BAUTISTA-SAN, A. J.; CIBRIÁN-TOVAR, J.; SALOMÉ-ABARCA, L.; SOTO-HERNÁNDEZ, R. M.; MARCOS, DE LA CRUZ-DE LA CRUZ, E. Composición química del aroma de tallos y frutos de *Rhipsalis baccifera* (J. Miller) Stearn. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 40, n. 1, p. 45-54, 2017.
12. BENZING D. H. **Vascular Epiphytes: General Biology and Related Biota**. Nova York: Cambridge University Press, 2008.
13. BRAHMI, D.; AYED, C.; BOUAZIZ, C.; ZOURGUI, L.; HASSEN, W. Hepatoprotective effect of cactus extract against carcinogenicity of

- benzo(a)pyrene on live of Balb/C mice. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 18, p. 4627-4639, 2011.
14. BRAUCH, D.; PROZEL, A.; SCHUMANN, E.; PILLEN, K.; MOCK, H. Changes in isovitexin-O-glycosilation during the development of young barley plants. **Phytochemistry**, v. 148, p. 11-20, 2018.
15. BUJOR, O.; GINIES, C.; POPA, V. I.; DUFOUR, C. Phenolic compounds and antioxidant activity of lignonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods. **Food Chemistry**, v. 252, p. 356-365, 2018.
16. CALVENTE, A. A new subgeneric classification of *Rhipsalis* (Cactoideae, Cactaceae). **Systematic Botany**, v. 37, n. 4, p. 983-988, 2012.
17. CALVENTE, A.; ZAPPI, D. C.; FOREST, F.; LOHMANN, L. G. Molecular phylogeny of tribe Rhipsalideae (Cactaceae) and taxonomic implications for *Schlumbergera* and *Hatiora*. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 58, p. 456-468, 2011.
18. CARBONÓ-DELAHOZ, E.; DIB-DIAZGRANADOS, J. C. Plantas medicinales usadas por los Cogui en el río Palomino, Sierra Nevada de Santa Marta (Colombia). **Caldasia**, n. 35, p. 333-350, 2013.
19. CAO, D.; WANG, Q.; JIN, J.; QIU, M.; ZHOU, L.; ZHOU, X.; LI, H.; ZHAO, Z. Simultaneous qualitative and quantitative analyses of triterpenoids in *Ilex pubescens* by ULtra-High-Performance Liquid Chromatography couple with Quadrupole Time-of-Flight mass spectrometry. **Phytochemical Analysis**, 2017.
20. CHEN, S.; PANG, X.; SONG, J.; SHI, L.; YAO, H.; HAN, J.; LEON, C. A renaissance in herbal medicine identification: From morphology to DNA. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 1237- 1244, 2014.

21. CHEN, S.; SUN, M.; WANG, B; HAO, L.; ZHANG, C.; XIN, Y. Wound healing effects of cactus extracts on second degree superficial burned mice. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 6, p. 973-978, 2011.
22. CHIFA, C.; RICCIARDI, A. Cactáceas medicinales en la flora chaqueña de Argentina usadas por las comunidades aborígenes Toba y Wichi. In: **Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la UNNE**, 8., 2002, Corrientes. Anais. Chaco, Corrientes, Argentina: Universidad Nacional del Nordeste, 2002. Disponível em: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/cyt.htm>. Acesso em: 20 set. 2016.
23. CLSI. **Manual Clinical and Laboratory Standards Institute**. Reference methods for broth dilution antifungal susceptibility tests for yeasts; approved standards, CLSI document M27-A3, Wayne, PA.: CLSI, 2008.
24. CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1984, v. 1, p. 379.
25. CURTIN, L. S. M. **By the prophet of the earth: ethnobotany of the Pina**. Santa Fe, New Mexico: San Vicente Foundation, 1949.
26. DUARTE, M.R.; HAYASHI, S.S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.2, p.103-109, 2005.
27. DUKE, J. A.; VASQUEZ, R. **Amazonian Ethnobotanical dictionary**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1994.
28. DOETSCH, P.W.; CASSADY, J. M.; McLAUGHLIN, J. L. Identification of mescaline and other betafenethylamines in *Pereskia*, *Pereskopsis* and *Islaya* by use of fluorescamine conjugates. **Journal of Chromatography**, v.

189, n. 1, p. 79-85, 1980.

29. DOMINGUEZ-BARRADAS, C.; CRUZ-MORALES, G. E.; GONZALEZ-GANDARA, C. Medicinal plants of the Ecological Reserve "Sierra of Otontepec" Township Chontla, Veracruz, Mexico. **CienciaUAT**, v. 9, n. 2, p.41-52.
30. DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELENA, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, v. 97, n. 2, p. 305-311, 2005.
31. DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological research**, v. 112, p. 4-29, 2016.
32. FERRERES, F.; GOMES, N. G. M.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, D. M.; GIL-IZQUIERDO, A.; ARAÚJO, L.; SILVA, T. C.; ANDRADE, P. B. Leaves and stem bark from *Allophylus africanus* P. Beauv.: An approach to anti-inflammatory properties and characterization of their flavonoid profile. **Food and Chemical Toxicology**, 2018.
33. FERRERES, F.; SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Approach to the study of C-glycosyl flavones by Ion Trap HPLC-PAD-ESI/MS/MS: Application to seeds of quince (*Cydonia oblonga*). **Phytochemical Analysis**, v. 14, p. 352-359, 2003.
34. FEUGANG, J. M.; KONARSKI, P.; ZOU, D.; STINTZING, F. C.; ZOU, C. Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. **Frontiers in Bioscience**, v. 11, p. 2574-2589, 2006.
35. FRANCIS, G.; KEREM, Z.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition**,

v. 88, p. 587-605, 2002.

36. FUENTES, V. R. **Etnobotánica de cactaceae en Cuba**. In: GONZÁLEZ TORRES, L. R.; PALMADORA, A.; RODRÍGUEZ, A. (Ed.). *Memorias del taller conservación de cactus Cubanos*. La Habana: Jardim Botánico Nacional, Universidad de La Habana, p. 15-24, 2005.
37. GALLUCCI, M. N.; CAREZZANO, M. E.; OLIVA, M. M.; DEMO, M. S.; PIZZOLITTO, R. P.; ZUNINO, M. P.; ZYGADLO, J. A.; DAMBOLENA, J. S. In vitro activity of natural phenolic compounds against fluconazole-resistant *Candida* species: A quantitative structure-activity relationship analysis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 116, n. 4, p. 795–804, 2014.
38. GENTRY, A. H., AND C. DODSON. Contribution of Nontrees to Species Richness of a Tropical Rain Forest. **Biotropica**, v. 19, p. 149, 1987a.
39. GENTRY, A. H., AND C. H. DODSON. Diversity and Biogeography of Neotropical Vascular Epiphytes. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 74, p. 205 1987b.
40. HERNANDEZ, J.; MULLER, A.; JAISWAL, R.; DAVALOS, J. Z.; KUHNERT, N. Energy resolved mass spectrometry of chlorogenic acids and its application to isomer quantification by direct infusion tandem mass spectrometry. **Phytochemical Analysis**, p. 1-7, 2018.
41. HEUBL, G. New aspects of DNA-based authentication of chinese medicinal plants by molecular biological techniques. **Planta Medica**, v. 76, p. 1963-1974, 2010.
42. IBRAHIM, S. R. M.; MOHAMED, G. A.; KHEDR, A. I. M.; ZAYED, M. F.; EL-KHOLY, A. A. S. Genus *Hylocereus*: beneficial phytochemicals, nutritional importance, and biological relevance-A review. **Journal of Food**

- Biochemistry**, n. 42, p. 1-29, 2018.
43. JONAS, A.; ROSENBLAT, G.; KRAPP, D.; BITTERMAN, W.; NEEMAN, I. Cactus flower extracts may prove beneficial in benign prostatic hyperplasia due to inhibition of 5 α reductase activity, aromatase activity and lipid peroxidation. **Urology Research**, n. 26, p. 265-270, 1998.
44. JUNIOR, V. F. V. & PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
45. KAKUTA, K.; BABA, M.; ITO, S.; KINOSHITA, K.; KOYAMA, K.; TAKAHASHI, K. New triterpenoid saponin from cacti and anti-type I allergy activity of saponins from cactus. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.22, p. 4793-4800, 2012.
46. KHARCHOUFA, L.; MERROUNI, I. A.; YAMANI, A.; ELACHOURI, M. Profile on medicinal plants used by people of North Eastern Morocco: Toxicity concern. **Toxicon**, v. 154, p. 90-113, 2018.
47. KROTKOVA, N.; BORSCH, T.; QUANDT, D.; TAYLOR, N. P.; MULLER, K. F.; BARTHLOT, W. What does it takes to resolve relationships and identify species with molecular markers? An example from the epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). **American Journal of Botany**, v. 98, n. 9, p. 1549-1572, 2011.
48. KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. **Scientific World Journal**, v. 2013, 2012.
49. LEBLOT, V.; MALAPA, R.; MOLISALÉ, T. Development of HP-TLC method for rapid quantification of sugars, catechins, phenolic acids and saponins to asses Yam (*Dioscorea* spp.) tuber flour quality. **Plant Genetic Resources**, p. 1-11, 2018.

50. LOPEZ-ROMERO, J. C.; AYALA-ZAVALA, J. F.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; PEÑA-RAMOS, E. A.; GONZÁLEZ-RIOS, H. Biological activities of *Agave* by-products and their possible applications in food and pharmaceuticals. **Science of Food and Agriculture**, v. 55, n. 11, p. 4413-4423, 2018.
51. LUCENA, C. M.; CARVALHO, T. K. N.; MARIN, E. A.; NUNES, E. N.; OLIVEIRA, R. S.; MELO, J. G.; CASAS, A.; LUCENA, R. F. P. Medicinal potential of cacti in the semiarid region of Northeastern Brazil. **Gaia Scientia**, n. 36, 2014.
52. MANIHURUK, F. M.; SURYATI, T.; ARIEF, I. I. Effectiveness of the red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel extract as the colorant, antioxidant, and antimicrobial on beef sausage. **Media Peternakan**, v. 40, n. 1, p. 47-54, 2016.
53. MARINA, C.A. B.; MOREIRA, R. F. A. Método para análise de ácido clorogênico. **Quimica Nova**, v. 27, n. 4, p. 586-592, 2004.
54. MEIADO, M. V. Germinação de sementes de cactos do Brasil: fotoblastismo e temperaturas cardeais. **Abrates**, v. 22, n. 3, p. 20-23, 2012.
55. MÉNDEZ, R.; MENÉNDEZ, R.; CILLÓNIZ, C.; AMARA-ELORI, I.; AMARO, R.; GONZÁLEZ, P.; POSADAS, T.; GIMENO, A.; ESPAÑA, P. P.; ALMIRALL, J.; TORRES, A. Initial inflammatory profile in community-acquired pneumonia depends on time since onset of symptoms. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 198, n. 3, 2018.
56. MENTZ, L. A.; LUTZEMBERGER, L. C.; SCHENKEL, E. P. Da Flora Medicinal do Rio Grande do Sul: Notas Sobre a Obra de D'Ávilla (1910). **Caderno de Farmácia**, v. 13, n. 1, p. 25-48, 1997.
57. MOERMAN, D. E. **Native american ethnobotany**. Portland, Oregon: Timber

- Press, 1998.
58. MOORE, M. **Medicinal plants of the desert and canyon west**. Santa Fé, New Mexico: Museum of New Mexico Press, 1989.
59. MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** v. 403, p. 853-858, 2000.
60. MULEY, B.P.; KHADABADI, S. S.; BANARASE, N. B. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): A review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 5, p. 455-465, 2009.
61. NOBEL, P. S. **Cacti: biology and uses**. London, England: University of California Press, 2002.
62. NERD, A. & NOBEL, P. S. Effects of drought on water relations and non structural carbohydrates in cladodes of *Opuntia ficus-indica*. **Physiologia Plantarum**, v. 81, p. 495-500, 1991.
63. NETO, M.L.; AGRA, K. L.; FILHO, J. S.; JORGE, F.E. TDDFT calculations and photoacoustic spectroscopy experiments used to identify phenolic acid functional biomolecules in Brazilian tropical fruits *in natura*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 193, p. 249-257, 2018.
64. NIJVELDT, R. J.; NOOD, E.; HOORN, D. E. C.; BOELEN, P. G.; NORREN, K.; LEEUWEN, P. A. M. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 418-425, 2001.
65. NURLIYANA, R.; ZAHIR, I. S.; SULEIMAN, K. M.; AISYAH, M. R.; RAHIM, K. K. Antioxidant study of pulps and peels of dragon fruits: a comparative study.

- International Food Research Journal**, v. 17, p. 367-375, 2010.
66. OCAMPO, G.; COLUMBUS, J. T. Molecular phylogenetics of suborder Cactineae (Caryophyllales), including insights into photosynthetic diversification and historical biogeography. **American Journal of Botany**, v. 97, n. 11, p.1827-1847, 2010.
67. OGUNBODEDE, O.; MCCOMBS, D.; TROUT, K.; DALEY, TERRY, M. New mescaline concentrations from 14 taxa/cultivars of *Echinopsis* spp. (Cactaceae) (“San Pedro”) and their relevance to shamanic practice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, p. 356-362, 2010.
68. ORTEGA-BAES, P.; SUHRING, S.; SAJAMA, J.; SOTOLA, E.; ALONSO-PEDANO, M.; BRAVO, S.; GODÍNEZ-ALVAREZ, H. Diversity and conservation in the cactus family. In: RAMAWAT, K. G. **Desert plants**. Berlin: Springer, 2010.
69. OSBOURN, A.; GOSS, R. J. M.; FIELD, R. A. The saponins – polar isoprenoids with important and diverse biological activities. **Natural Product Reports**, v. 28, n. 9, p. 1261-1268.
70. PEREIRA, S. R. et al. Avaliação da atividade ansiolítica do extrato hidoroalcoólico da *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 20, 2005, Águas de Lindóia (SP). **Resumos...** Águas de Lindóia: FESBE, 2005. p. 44.202.
71. PETROVSKA, B. B. Historical review of medicinal plants’ usage. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, n 11, p. 1-5, 2012.
72. RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology**

- & Medicine**, v. 20, n. 7, p. 993-956, 1996.
73. ROY, S.; MALLICK, S.; CHAKRABORTY, T.; GOSH, N.; SINGH, A. K.; MANNA, S.; MAJUMDAR, S. Synthesis, characterization and antioxidant activity of luteolin-vanadium (II) complex. **Food Chemistry**, v. 173, p. 1172-1178, 2015.
74. RUFINO, M. S. M.; ALVES, R; E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Metodologia Científica**, EMBRAPA, 2017.
75. RUSSEL, C. E.; FELKER, P. The Prickly-pears (*Opuntia* spp., Cactaceae): A Source of Human and Animal Food in Semiarid Regions. **Economic Botany**, v.41, n. 3, p. 433-455, 1987.
76. SALIM, V.; JONES, A. D.; DELLAPENNA, D. *Camptotheca acuminata* 10-hydroxycamptothecin O-methyltransferase: an alkaloid biosynthetic enzyme coopted from flavonoid metabolism. **Plant Journal**, v. 95,n. 1, p. 112-125, 2018.
77. SCHULTES, R. E. The appeal of peyote (*Lophophora williamsii*) as a medicine. **American Anthropologist**, n. 40, p. 698-715, 1938.
78. SHEDBALKAR, U.U.; ADKI, V. S.; JADHAV, J. P.; BAPAT, V. A. *Opuntia* and Other Cacti: Applications and Biotechnological Insights. **Tropical Plants Biology**, v. 3, p. 136-150, 2010.
79. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A., PETROVICK, P. R. chap. 27. In: SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. eds. **Farmacognosia da planta ao**

- medicamento**. Porto Alegre: Editora da FURGS; Editora da UFSC, 2010.
80. STANISKI, A.; FLORIANI, N.; STRACHULSKI, J. Ethnobotanical study of medicinal plants in the *faxinal* community Sete Saltos de Baixo, Ponta Grossa, PR. **Terr@ Plural**, v. 8, n. 2, p. 321-340, 2014.
81. STEVENS P. F. Angiosperm Phylogeny Website 2001. In: Version 14. July 2017. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/welcome.html>>. Acesso em: 18 dez 18
82. SUBIRANA, I.; FITÓ, M.; DIAZ, O.; VILA, J.; FRANCÉS, A.; DELPON, E.; SANCHIS, J.; ELOSUA, R.; MUÑOS-AGUAYO, D.; DÉGANO, I. R.; MARRUGAT, J. Prediction of coronary disease incidence by biomarkers of inflammation, oxidation, and metabolism. **Scientific Reports**, n. 8, p. 3191, 2018.
83. SUTTON, B. G.; TING, I. P.; SUTTON, R. Carbohydrate metabolism of cactus in a desert environment. **Plant Physiology**, v. 68, pp. 784-787, 1981.
84. SWINGLE, K.F.; REITER, M.J.; SCHWARTZMILLER, D.H.; Comparison of croton oil and cantharidin induced inflammations of the mouse ear and their modification by topically applied drugs., **Arch. Int. Pharmacodyn.**, v.254, p.168-76, 1981.
85. TAN, M.L.; SULAIMAN, S.F.; SAMIAN, M. R.; MUHAMMAD, T. S. T. Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47- D cell line. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n. 1-2, p. 297-294, 2005.
86. TURRA, A. F.; MARÇAL, F. J. B.; BARETTA, I. P.; TAKEMURA, O. S.; JUNIOR, A. L. Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae). **Arquivos de**

Ciências da Saúde da Unipar, v.11, n.1, p.9-14, 2007.

87. TURSCH, S.; LECLERQ, J.; CHIOURDOGLU, G. Structure de l'acide mesembryanthemoidigénique, triterpène nouveau des cactacées. **Tetrahedron Letters**, n. 47, pp. 4161-4166, 1965.
88. UKIYA, M.; AKIHISA, T.; YASUKAWA, K.; TOKUDA, H.; SUZUKI, T.; KIMURA, Y. Anti-inflammatory, anti-tumor-promoting and cytotoxic activities of constituents of Margigold (*Calendula officinalis*) flowers. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 1692-1696, 2006.
89. VALENTE, L. M. M.; SCHEINVAR, L. A.; DA SILVA, G. C.; ANTUNES, A. P.; DOS SANTOS, F. A. L.; OLIVEIRA, T. F.; TAPPIN, M. R. R.; AQUINO NETO, F. R.; PEREIRA, A. S.; CARVALHAES, S. F.; SIANI, A. C.; DOS SANTOS, R. R.; SOARES, R. O. A.; FERREIRA, E. F.; BOZZA, M.; STUTZ, C.; GIBALDI, D. Evaluation of the antitumor and trypanocidal activities and alkaloid profile in species of Brazilian Cactaceae. **Pharmacognosy Magazine**, v. 3, n. 11, p. 167-172, 2007.
90. XAVIER, P. B. **Germinação e aclimatização de *Hamatocactus setispinus* (CACTACEAE)**. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Brasil, 2010.
91. VENDRUSCULO, G. S.; MENTZ, L. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia**, v. 61, n. 1-2. pp. 83-103, 2006a.
92. VENDRUSCULO, G. S.; MENTZ, L. A. Estudo da concordância de citações de uso e importância das espécies e famílias utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, RS, Brasil. **Acta**

- Botânica Brasilica**, v. 20, n. 2. p. 367-382, 2006b.
93. VENDRUSCULO, G. S.; SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A. Etnobotânica no Rio Grande do Sul: comparativa entre o conhecimento original e atual sobre as plantas medicinais nativas. **Botânica**, n. 56, p. 285-321, 2005.
94. WALLACE R. S., GIBSON C. **Evolution and Systematics**. In: Cacti: Biology and Uses. Berkeley: University of California Press, p 1–21, 2002.
95. WANG, R.; YANG, M.; WANG, M.; LIU, X.; XU, H.; XU, X.; SUN, G.; SUN, X. Total saponins of *Aralia elata* (Miq) seem alleviate calcium homeostasis imbalance and endoplasmic reticulum stress-related apoptosis induced by myocardial ischemia/reperfusion injury. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 50, p. 28-40, 2018.
96. WANG, M.; TIAN, Y.; DU, Y.; SUN, G.; XU, X.; JIANG, H.; XU, H.; MENG, X.; ZHANG, J.; DING, S.; ZHANG, M.; YANG, M.; SUN, X. Protective effects of Araloside C against myocardial ischaemia/reperfusion injury: potential involvement of heat shock protein 90. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 21, n. 9, p. 1870-1880, 2017.
97. YANG, H.; ZHAI, B.; FAN, Y. WANG, J.; SUN, J.; SHI, Y.; GUO, D. Intestinal absorption mechanisms of araloside A in situ single-pass intestinal perfusion and in vitro Caco-2 cell model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1563-1569, 2018.
98. ZAPPI, D., AONA, L. Y. S.; TAYLOR, N. CACTACEAE IN: MELHEM, T. S., WANDERLEY, M. G. L., MARTIS, S. E., JUNG-MENDAÇOLI, S. L., SHEPHERD, G. J., KIRIZAWA, M. (eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. São Paulo: Instituto de Botânica**, v. 5, p. 189, 2007.
99. ZHANG, L.; LIU, Y.; WANG, Y.; XU, M.; HU, X. UV-Vis spectroscopy

combined with chemometric study on the interactions of three dietary flavonoids with copper ions. **Food Chemistry**, v. 263, p. 208-215, 2018.

100. ZOU, D.M.; BREWER, M.; GARCIA, F.; FEUGANG, J. M.; WANG, J.; ZANG, R.; LIU, H.; ZOU, C. Cactus Pear: A Natural Product in Cancer Chemoprevention. **Nutrition Journal**, v.4, n. 25, 2005.