



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA**

Gibbelly Cavalcante da Silva

***Cereus jamacaru* D.C. : PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO
CITOTÓXICA.**

Recife

2017

Gibbelly Cavalcante da Silva

***Cereus jamacaru* D.C. : PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO
CITOTÓXICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Área de Concentração: Morfotecnologia.

Orientadora: **Prof.^a Dr.^a Ivone Antônia de Souza**

Co-orientadora: **Prof.^a Dr.^a Sônia Pereira Leite**

Recife

2017

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Silva, Gibbelly Cavalcante da
Cereus jamacaru D.C.: perfil fotoquímico e avaliação citotóxica / Gibbelly
Cavalcante da Silva. – 2017.

52 f.: il.

Orientadoras: Ivone Antônia de Souza, Sônia pereira Leite
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro
de Biociências. Pós-graduação em Morfotecnologia, Recife, 2017.
Inclui referências e anexos

1. Plantas medicinais 2. Cactos 3. Toxicologia I. Souza Ivone Antônia
de (orientadora) II. Leite, Sônia Pereira (coorientadora) III. Título.

581.634

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-552

GIBBELLY CAVALCANTE DA SILVA

***Cereus jamacaru* D.C. : PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO
CITOTÓXICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Aprovado em: 31 / 07 / 2017

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Ivone Antônia de Souza (Orientadora)

Prof.^a Dr.^a Kenia Valença Correia (Interna)

Prof.^a Dr.^a Fernanda das Chagas Ângelo Mendes Tenório (Externa)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof.^a Dr.^a Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

CENTRO DE BIOCÊNCIAS

DIRETOR

Prof.^a Dr.^a Maria Eduarda Larrazábal

VICE-DIRETOR

Prof.^a Dr.^a Oliane Maria Correia Magalhães

Recife

2017



pósMorfotec

Programa de Pós-Graduação
em Morfotecnologia

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

COORDENADOR

Prof.^a Dr.^a Sônia Pereira Leite

VICE-COORDENADOR

Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

CORPO DOCENTE

Prof. Dr. Antonio Carlos de Freitas

Prof.^a Dr.^a Cláudia Sampaio de Andrade
Lima

Prof. Dr. Claudio Gabriel Rodrigues

Prof.^a Dr.^a Eliete Cavalcante da Silva

Prof. Dr. Gilberto Gonçalves Rodrigues

Prof.^a Dr.^a Ivone Antônia de Souza

Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto

Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso
Vieira

Prof.^a Dr.^a Juliana Pinto de Medeiros

Prof.^a Dr.^a Kenia Valenca Correia

Prof.^a Dr.^a Luciana Maria Silva de
Seixas Maia

Prof. Dr. Luiz Lucio Soares da Silva

Prof.^a Dr.^a Paloma Lys de Medeiros

Prof. Dr. Ricardo Yara

Prof.^a Dr.^a Rosa Valeria da Silva
Amorim

Prof.^a Dr.^a Sônia Pereira Leite

Recife

2017

Até aqui nos ajudou o Senhor.

I Samuel 7,12.

Aos meus pais Gilberto Amaro da Silva e
Maria Cavalcante da Silva, minha irmã
Gabriela Cavalcante da Silva.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus por me dar o dom da vida, a serenidade, saúde e fé para enfrentar as adversidades impostas.

Aos meus queridos pais, Gilberto Amaro da Silva e Maria Cavalcante da Silva, que apesar de todas as dificuldades sempre demonstraram seu amor e apoio incondicional em todas as etapas da minha vida, nunca permitindo que eu esmorecesse perante as dificuldades.

Minha irmã Gabriela Cavalcante da Silva, minha maior incentivadora, obrigada por sua orientação, e por me apresentar a pesquisa científica.

Aos meus familiares que direta ou indiretamente me ajudaram ao longo desses dois anos, entre Bezerros-Caruaru- Recife.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Ivone Antônia de Souza, por seus ensinamentos, paciência e amizade, pela oportunidade de trabalhar no desenvolvimento deste projeto.

Ao Laboratório de Biofísica Química da UFPE, ao Departamento de Antibióticos da UFPE, ao Centro Universitário Tabosa de Almeida ASCES – UNITA pelo apoio e disponibilidade dos equipamentos de seus laboratórios.

A primeira turma de Morfotecnologia da UFPE, que dividiram comigo os sabores e dissabores de ser uma primeira turma, e tornaram estes dois anos uma jornada incrível.

Aos meus “chegados” queridos que são parte da minha família, Emerson Xavier, Erivaldo Alves, Maria Eduarda e Jéssica Andrade, obrigada por serem muito mais que simples colegas de pós-graduação, por deixarem meu coração leve e nunca permitirem que eu desistisse.

As minhas amigas Sanielly Jonhara e Rhaysa Melynne sempre tão presentes na minha vida, amigas irmãs que a vida me deu, não apenas me ajudaram e sim me carregaram no colo, ouviram minhas angustias, enxugaram minhas lágrimas, me animaram, foram muletas que me ajudaram a andar e não me deixaram cair.

A todas as pessoas que colaboraram com a realização deste trabalho.

RESUMO

Com o decorrer dos anos as plantas medicinais constituíram a principal fonte de medicação para a maioria da população, mesma sem apropriada investigação científica para que comprovasse sua segurança e eficácia. O Mandacaru (*Cereus jamacaru* D.C) é um cacto colunar encontrado no Nordeste Brasileiro, é utilizado pelos sertanejos para inúmeros propósitos incluindo, tratamento de afecções. Este estudo tem como objetivo avaliar o perfil fitoquímico e a toxicidade do extrato hidroalcoólico de *Cereus jamacaru* D.C. O perfil fitoquímico foi avaliado por HPLC, FTIR, UV, onde observamos a absorbância de vários metabolitos com importantes propriedades terapêuticas tais como ácido gálico, ácido ferrúlico, cafeíco, quercitina e rutina. A avaliação da toxicidade foi realizada utilizando cistos de *Artemia salina*, resultando em uma CL₅₀ de 1,509,17 µg / ml, considerada não tóxica pois sua CL₅₀ foi superior a 1000 µg / ml, a atividade citotóxica foi analisada nas linhas celulares NCI- H292 (carcinoma mucoepidermoide pulmonar), HEp-2 (carcinoma epidermóide laríngeo), MCF-7 (humano Adenocarcinoma de mama) e HL-60 (célula de leucemia promielocítica), as células foram cultivadas no meio de Eagle modificado de Dubelcco (DMEM) e o extrato apresentou um percentual de inibição do crescimento celular maior frente a linhagem NCI-H292 com 24,1%. A atividade hemolítica mostrou uma porcentagem de hemólise de 3,33%, considerada baixa. O ensaio com *Allium cepa* se mostrou dose dependente com a redução das figuras mitóticas com o aumento da concentração do extrato. Este trabalho contribuiu na determinação segurança do uso medicinal do *Cereus jamacaru* D.C.

Palavras-chave: Fitoquímica. Toxicidade. Citotoxicidade. Fragilidade osmótica.

ABSTRACT

Over the years, medicinal plants were the main source of medication for the majority of the population, without adequate scientific research to prove their safety and efficacy. Mandacaru (*Cereus jamacaru* D.C) is a columnar cactus found in the Brazilian Northeast, is used by the people for innumerable purposes including, treatment of affections. The phytochemical profile was evaluated by HPLC, FTIR, UV, where we observed the absorbance of several metabolites with important therapeutic properties such as gallic acid, ferric acid, Caffeine, quercetin and rutin. The toxicity assessment was performed using *Artemia* saline cysts, resulting in an LC50 of 1,509.17 $\mu\text{g} / \text{ml}$, considered non-toxic because its LC50 was higher than 1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$, cytotoxic activity was analyzed in NCI-H292 cell lines (Human squamous cell carcinoma), HEp-2 (laryngeal squamous cell carcinoma), MCF-7 (human breast adenocarcinoma) and HL-60 (promyelocytic leukemia cell) cells were cultured in Dubelcco's Modified Eagle's medium (DMEM) and Extract presented a higher percent inhibition of cell growth compared to the NCI-H292 strain with 24.1%. The hemolytic activity showed a percentage of hemolysis of 3.33%, considered low. The *Allium cepa* assay was shown to be dose dependent with reduction of mitotic figures with increasing extract concentration. This work contributed to the determination of the medicinal use of *Cereus jamacaru* D.C.

Keywords: Phytochemistry. Toxicity. Cytotoxicity. Osmotic fragility.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Espécie *Cereus jamacaru* D.C. Fonte: Gibbelly Cavalcante da Silva, 19 2015.
- Figura 2 -** Distribuição das cactáceas pelo mundo Fonte: Daniel 2013 20
- Figura 3 -** Sistema de HPLC. Fonte: Gibbelly Cavalcante da Silva, 2017 22
- Figura 4 -** Preparação das hastes de *Cereus jamacaru* D.C. Fonte: Gibbelly 29 Cavalcante da Silva, 2015
- Figura 5 -** Extrato sendo submetido a rotaevaporação. Fonte: Gibbelly Cavalcante 30 da Silva,2015
- Figura 6 -** Cromatograma do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* D.C. 35
- Figura 7 -** Espectro de Infravermelho do extrato hidroalcolico de *Cereus 37 jamacaru* D.C.
- Figura 8 -** Espectro de UV- visível do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru 38* D.C.
- Figura 9 -** Gráfico da Toxicidade do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru 40* D.C. por *Artemia salina*.
- Figura 10-** Gráfico da fragilidade osmótica do extrato hidroalcolico de *Cereus 41 jamacaru* D.C.
- Figura 11-** Microfotografias de células de *Allium cepa*, representando as figuras de 44 mitose.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Percentual de hemólise do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* D.C. 40
- Tabela 2** - Avaliação da citotoxicidade do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* D.C. frente a linhagem de células tumorais humanas. 42

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Letra grega alfa
β	Letra grega beta
δ	Letra grega delta
p	Posição química para
M	Molar
μM	Micromolar
h	Hora
%	Por cento
”	Aspas
<	Menor que
=	Sinal de igual
\pm	Mais ou menos
°	Grau
cm	Centímetro
mm	Milímetro
g	Gramma
mg	Miligramma
μg	Microgramma
nm	Nanômetro
μL	Microlitro
mL	Mililitro

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
ASCES	Associação Caruaruense de Ensino Superior
ASD	Ágar Sabouraud Dextrose
CLAE	Cromatografia líquida e de alta eficiência
DMEM	Meio Dulbecco MEM
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
FBS	Soro fetal bovino
FT-IR	Infravermelho por Transformação de Fourier
Hep-2	Carcinoma de laringe humana
HL-60	Leucemia promielocítica aguda
INSA	Instituto Nacional do Semiárido
IPA	Instituto Agrônomo de Pesquisa
MCF-7	Adenocarcinoma de mama humana
MS	Espectrometria de massas
MTT	Brometo de 3-(4,5- dimetiltiazol-2- il)-2,5- difeniltetrazólio
NCI-H292	carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano
NEU	Ácido etilborilaminoéster
SUS	Sistema Único de Saúde
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV-Vis	Espectrometria na Região de Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1	<i>Cereus jamacaru</i> D.C.....	18
2.1.1	Considerações Botânicas.....	18
2.1.2	Distribuição Geográfica.....	20
2.1.3	Usos Populares.....	20
2.2	HPLC.....	21
2.3	FTIR.....	22
2.4	UV-VIS.....	23
2.5	<i>Artemia Salina</i>	24
2.6	FRAGILIDADE OSMÓTICA	25
2.7	CITOTOXICIDADE FRENTE A CÉLULAS TUMORAIS.....	25
2.8	MUTAGENICIDADE POR <i>Allium Cepa</i>	27
3	OBJETIVOS.....	28
3.1	OBJETIVO GERAL.....	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4	METODOLOGIA.....	29
4.1	MATERIAL BOTÂNICO.....	29
4.2	PREPARAÇÃO DO EXTRATO.....	29
4.3	ANÁLISE DO PERFIL FITOQUÍMICO	30
4.3.1	Perfil de Cromatografia Líquida de Alta Performance de <i>Cereus jamacaru</i> D.C. (HPLC).....	30
4.3.2	Técnica de Transformação de Fourier Infravermelha (FTIR)	31
4.3.3	Espectroscopia de absorção na região UV-vível	31
4.4	ANÁLISE DO PERFIL BIOLÓGICO.....	31
4.4.1	Determinação da CL ₅₀ Através do Bioensaio com <i>Artemia salina</i>	31
4.4.2	Fragilidade Osmótica.....	32
4.4.3	Citotoxicidade Frente a Células Tumorais.....	33
4.4.4	Mutagenicidade por <i>Allium cepa</i>	34
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1	ANÁLISE FITOQUÍMICA	35

5.1.1	Perfis de cromatografia líquida de alta performance de <i>C. jamaicaru</i> (HPLC)	35
5.1.2	Análise de espectroscopia de infravermelho de transformação de Fourier (FTIR)	37
5.1.3	Espectroscopia de Absorção na região UV-Vísivel.....	38
5.2	ANÁLISE DO PERFIL BIOLÓGICO.....	39
5.2.1	Toxicidade por <i>Artemia Salina</i>	39
5.2.2	Atividade Hemolítica.....	40
5.2.3	Citotoxicidade Frente a células tumorais.....	41
5.2.4	Mutagenicidade por <i>Allium cepa</i>	43
6	CONCLUSÕES.....	45
	REFERÊNCIAS.....	46
	ANEXO A – FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA.....	52

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos as plantas medicinais e seus extratos constituíram a principal fonte de medicamentos, mas só a partir do século XIX que pesquisadores começaram a questionar a veracidade das propriedades dos extratos oriundos de fontes vegetais (SCHENKEL et al., 2007; FÃO et al., 2012).

Grande parte da população utiliza-se de medicamentos tradicionais, mesmo sem investigação científica comprovando sua eficácia e segurança.

Várias espécies vegetais são consideradas principais fontes de moléculas que são utilizadas como protótipo para o desenvolvimento de novos medicamentos. O mercado atual busca por novos agentes terapêuticos, para produção de fitoterápicos e medicamentos de origem vegetal, o que é viabilizado pelo uso sustentável de fontes renováveis, propiciando medicamentos mais acessíveis à população. (MARIHT et al. 2009)

As cactáceas são amplamente distribuídas no continente americano e consistem de aproximadamente 1500 a 2000 espécies (ROJAS- AR CHIGA, VASQUEZ - YANEZ, 2000; ALENCAR et al.; 2012). São vegetais encontrados normalmente na região semi-árida nordestina (ANDRADE et al., 2006) e amplamente utilizada como fonte de substâncias de uso medicinal, cosmético e alimentício (DAVET et al., 2009).

O *Cereus jamacaru* é um cacto colunar, conhecido no nordeste brasileiro popularmente de mandacaru (ALENCAR et al., 2012; ABUD et al., 2013). Mas também pode ser chamado de jamacaru, jamaracurú, jumarucú, mandacaru-de-boi, cardeiro, cumbeba e urumbeba. É utilizado pelos sertanejos na alimentação dos ruminantes nos períodos de seca (MESSIAS et al., 2009).

Seu uso medicinal é pouco difundido, porém alguns autores citam suas propriedades terapêuticas. Suas raízes e caule possuem propriedades diuréticas, e que auxiliam nos tratamentos de distúrbios renais, digestivos, respiratórios como tosse, catarro, bronquite, e hepáticos (AGRA et al., 2007; DAVET et al., 2009). Outras indicações populares para o *Cereus jamacaru* são antiescorbútico, vermífugo, cicatrizante, e antitumoral de origem glandular (MESSIAS et al., 2009). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil fitoquímico e a toxicidade do extrato hidroalcoólico de *C. jamacaru*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O embasamento teórico referente ao perfil fitoquímico e toxicidade está descrito a seguir:

2.1 *Cereus jamacaru* D.C.

2.1.1 Considerações Botânicas

As Cactáceas são dicotiledôneas suculentas de diversos hábitos, podendo ser árvores, arbustos, trepadeiras, epífitas ou geófitas; suas hastes podem ser colunares, roliços, globulares, tuberculares, geralmente segmentados sem folhas e com espinhos. Sua família é composta de 100 gêneros e 1500 espécies, amplamente distribuídas quase nas regiões desérticas das Américas (BARTHLOTT; HUNT, 1993). As espécies desta família tem por característica a sobrevivência em meios adversos, e para que isto ocorra adaptações metabólicas e estruturais foram necessárias como: os sistemas radiculares superficiais e extensos, alta relação volume/superfície e células parenquimáticas especializadas em armazenar água (COSTA, 1997). Aspectos anatômicos, ecológicos e fisiológicos peculiares a família Cactaceae, são responsáveis pela adaptação desta ao clima semiárido.(SILVA et al.2009)

A família Cactaceae encontra-se representada por aproximadamente 58 espécies, sendo 42 endêmicas (TAYLOR; ZAPPI, 2002). Algumas espécies possuem valor econômico, como ornamental e forrageira (AGRA et al. 2007). Normalmente encontramos: *Cereus jamacaru* DC. (mandacaru), *Pilosocereus gounellei* (F.A.C.Weber) Byles & G.D. Rowley (xiquexique), *Pilosocereus pachycladus* F. Ritter (facheiro) e *Melocactus bahiensis* (BRITTON; ROSE, 1919) *Luetzelb.* (coroa de frade) (CAVALCANTI; RESENDE, 2007).

As cactáceas estão divididas em três subfamílias: Opuntiviae, Pereskioideae e Cactoideae, está última sendo a mais numerosas com 91 gêneros (BARTHLOTT e HUNT, 1993).

O *Cereus jamacaru* D.C. pertence a família cactoideae , grupo Ceroideae, compreendido por plantas do tipo árvore ou arbustos de hastes eretas. Estas espécies possuem flores, frutos e espinhos semelhantes. Sua etimologia vem da palavra grega

Keros, que significa tocha, o que remete ao seu formato de candelabro característico (SCHEINVAR, 1985). Esta espécie cresce em terreno pedregoso junto a outras de mesma família, constituindo a paisagem típica da Região Semiárida Nordestina (SILVA et al., 2009).

No Brasil esta espécie chega a alcançar dez metros de altura, com tronco lenhoso. Os espinhos são radiais e podem ter de nove a trinta centímetros com coloração que passa pelos tons de amarelo, vermelho e marrom (SCHEINVAR, 1985).

Figura 1: *Cereus jamacaru*

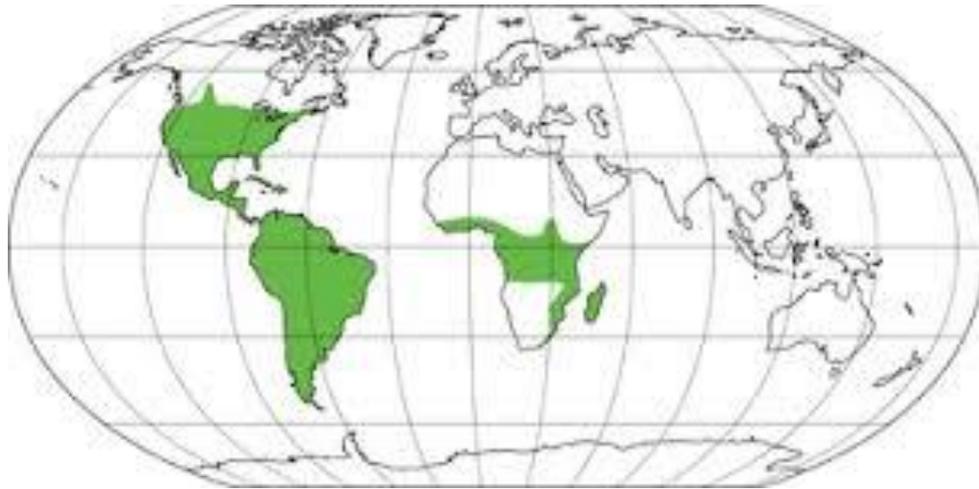


Fonte: Gibbelly Cavalcante da Silva, 2015.

2.1.2 Distribuição Geográfica

As cactáceas são amplamente distribuídas nas Américas. O *cereus jamacaru* D.C. é vastamente encontrado na região nordeste, desde o nível do mar até 900 metros de altitude. (SCHEINVAR,1985)

Figura 2: Distribuição das cactáceas pelo mundo.



Fonte: Daniel,2013

2.1.3 Usos populares

Várias espécies de cactáceas são utilizadas como recursos vivos na região do semiárido, sendo amplamente exploradas pela comunidade sertaneja, para suprir inúmeras necessidades tais como: vestimenta, medicamentos, energia e habitação (ANDRADE, 2006). Principalmente na época da estiagem são utilizadas como alimentos para os ruminantes, o que se justifica pela capacidade de grande armazenamento de água (BRITTON; ROSE, 1919).

Relatos populares apontam o extrato com potencial diurético, as cascas do caule maceradas com água são utilizadas para tratar distúrbios renais e controle do colesterol. (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002) Outras partes da planta como fruto servem de alimentos para os pássaros e animais silvestres da caatinga.(CAVALCANTI; RESENDI, 2007) Sua polpa é doce e comestível, podendo ser utilizada na alimentação humana (SILVA et al., 2005).

Seu uso medicinal é pouco difundido porém afirmam que suas raízes e caule servem para tratar afecções do aparelho respiratório e melhora dos males do coração (SCHEINVAR, 1985).

2.2 HPLC

Uma das técnicas usualmente empregadas para separação, identificação e quantificação de compostos em um extrato chama-se Cromatografia Líquida de Alta Pressão ou HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) a qual caracteriza-se pelo uso de colunas em aço inoxidável, que são empacotadas com partículas porosas esféricas que medem de 3 a 10 μm , a qual corresponde a fase estacionária (JICKELLS et. al., 2008)

A fase móvel passa continuamente pela coluna, a uma pressão elevada, com um fluxo controlado. A maior eficiência das análises se dá pela utilização de pressões elevadas, e o uso de colunas com micropartículas permite uma alta eficiência na separação dos compostos.(SIMPSON, 1978)

Seu desenvolvimento é atribuído ao Botânico Mikhael Tswett, que no início do século XX, separou pigmentos coloridos presentes em extratos de plantas. Ele foi o primeiro a interpretar e compreender o processo cromatográfico para então descrever o fenômeno responsável pelo movimento das zonas coloridas dentro do tubo de vidro. Um sistema de HPLC é caracterizado como o conjunto de componentes que estão num único aparelho e que permite a identificação e a quantificação dos compostos que estão presentes numa amostra, com um tempo e custo mais reduzidos. Um sistema de HPLC é, então, constituído por quatro componentes principais: uma bomba, um sistema de injeção, uma coluna de separação e um detector (JICKELLS et. al., 2008).

Figura 3: Sistema de HPLC.



Fonte: Gibbelly Cavalcante da Silva, 2017.

2.3 FTIR

A espectrofotometria compreende o estudo da interação da radiação magnética com a matéria cujo o principal objetivo é a determinação dos níveis de energia e transições e espécies atômicas e moleculares.

Os espectros de infravermelho podem ser obtidos a partir de amostras sólidas, líquidas e gasosas (SKOOG et al., 2002). Esta técnica apresentou um alto crescimento após o advento da Transformada de Fourier e a utilização do interferômetro de Michelson, o que tornou o método robusto e rápido (SALIBA et. al., 2003).

Como uma impressão digital, cada molécula tem um espectro característico na região do infravermelho, o que viabiliza a identificação de diferentes tipos de amostra (análise qualitativa). Os picos representados nos gráficos correspondem as frequências das vibrações entre os átomos que compõem cada amostra. A altura desses picos corresponde a quantidade de determinada amostra (MORGANO et al., 2005).

A espectrofotometria na região do infravermelho, constitui hoje um dos principais recursos para identificação e elucidação estrutural de substâncias orgânicas, e são de alta relevância na determinação da pureza e quantificação de substâncias orgânicas. É uma técnica de suma importância na análise orgânica qualitativa, sendo utilizada nas áreas químicas de produtos naturais, onde é amplamente utilizada em linhas de produção, no controle de processos industriais.(SKOOG et al. 2006).

2.4 UV-VIS

A técnica de espectrofotometria derivada no ultravioleta (UV), é uma das mais frequentemente empregadas nas análises farmacêuticas, uma vez que cumpre requisitos indispensáveis na rotina laboratorial como rapidez, baixo custo operacional e elevada confiabilidade de resultados (BORBA, 2013)

Esta análise envolve a medida da quantidade de radiação ultravioleta ou radiação visível (UV-VIS), absorvida pela substância em solução (BECKETT e STENLAKE, 1988). Essa energia absorvida pela substância a qual esta sob análise, provoca uma excitação dos elétrons do seu estado normal para um estado de maior energia (excitado), este fenômeno é conhecido como transição eletrônica (SILVERSTEIN et al., 1994).

As transições eletrônicas intra-atômicas ou moleculares são responsáveis pela absorção de radiação luminosa na região do ultravioleta (200-400 nm) e no visível (400-800 nm) (HARRIS,2006).

Os procedimentos envolvem medidas diretas de espécies que absorvem radiação, medidas após derivação química e acoplamento a diversas técnicas ou processos, como cromatografia, eletroforese e análises em fluxo (ROCHA et al., 2004). Os procedimentos espectrofotométricos são empregados para determinar a concentração das substâncias em condições bem definidas, por meio da razão entre a radiação incidente e a radiação transmitida. A radiação absorvida pela amostra é comparada com a radiação absorvida por uma substância com concentração conhecida. As determinações espectrofotométricas estão fundamentadas na lei de Lambert-Beer. Para medidas de absorção de radiação em determinado comprimento de onda, tem-se: $A = \log(I_0/I) = \epsilon \times b \times c$, onde A é a absorbância, I_0 é a intensidade da radiação monocromática que incide na amostra e I é a intensidade da radiação que emerge da amostra. A absorvidade molar (ϵ) é uma grandeza característica da espécie absorvente, cuja magnitude depende do comprimento de onda da radiação incidente e do tipo de solvente empregado na obtenção da medida. O termo c é a concentração da espécie absorvente e b, a distância percorrida pelo feixe através da amostra (ROCHA et al., 2004).

Inúmeros compostos tanto orgânicos como inorgânicos podem ser determinados quantitativamente através da absorção baseada na radiação UV-VIS (SKOOG et al., 2002).

2.5 *Artemia Salina*

Vários organismos são utilizados como possíveis bioindicadores em testes de toxicidade aguda, dentre os quais podemos listar: as bactérias bioluminescentes (*Vibrio fischeri*), micro crustáceos (*Daphia magna*, *Artemia salina*) e peixes (*Poecilia reticulata*). (BAPTISTA, 2001)

A toxicidade aguda tem por princípio expor organismos testes, a varias concentrações de uma ou mais substancias, durante um período de tempo. O efeito agudo corresponde a uma resposta severa e rápida dos organismos que foram expostos. A letalidade de organismos simples tem sido utilizada para monitoramento de respostas biológicas, onde dois parâmetros estão envolvidos: vida e morte. Para avaliação dos efeitos agudos de agentes tóxicos nesses testes, utiliza-se a concentração letal (CL_{50}) ou a concentração efetiva (CE_{50}) a 50% dos organismos testes (BERTOLETTI, 1990).

A *Artemia salina* é um micro crustáceo de água salgada o qual é utilizado para alimentação de peixes, e seus cistos são facilmente encontrados em lojas especializadas em aquários e criação de peixes. Seu ciclo de vida inicia-se com a eclosão dos cistos dormentes, que são embriões encapsulados metabolicamente inativos, que possuem a característica de permanecerem dormentes por muitos anos, desde que os mesmos sejam acondicionados em local sem umidade, pois quando estes cistos são expostos a água salgada, eles se hidratam e iniciam seu desenvolvimento (MEYER, 1982).

Nos últimos trinta anos bioensaios utilizando as larvas de *Artemia salina* tem sido empregados nos mais diversos teste, avaliando uma grande quantidade de compostos como; antibióticos e toxinas (BEATTIE, 2003).

Neste estudo determinamos a concentração que é letal para 50% dos animais que pertencem ao grupo de experimentações e depois de calcular estas concentrações terapêuticas e outras concentrações toxicas, com CL_{40} ou CL_{60} , dentre outras. Portanto, o estudo da CL_{50} é ponto de partida para qualquer substancia nova que se queira converter em medicamentos.

2.6 FRAGILIDADE OSMÓTICA

Para se obter informações sobre a composição e estrutura das membranas eritrocitárias, assim como averiguar os efeitos das substâncias em sua integridade, geralmente os pesquisadores utilizam várias abordagens bioquímicas, como impedância elétrica, calorimetria, além de técnicas morfológicas como microscopia óptica e eletrônica (WAGNER, 2002; MURRAY; GRANNER, 2002; ROSSI, 2006).

Uma análise normalmente utilizada, que é extremamente eficiente e de baixo custo, para avaliação da estabilidade da membrana é a Fragilidade Osmótica Eritrocitária (FOE)(NARENDRA et al., 2007)

A FOE expressa a habilidade das membranas de manterem sua integridade estrutural quando expostas a um estresse osmótico (ALDRICH, 2006). Neste tipo de teste faz-se necessário um monitoramento da lise eritrocitária mediante a leitura da absorbância da hemoglobina em um espectrofotômetro com comprimento de onda em 540nm (MOECKEL et al., 2002)

2.7 CITOTOXICIDADE FRENTE ÀS CÉLULAS TUMORAIS

A capacidade de estudar as células ao nível molecular relaciona-se com a forma como as células podem crescer e serem manipuladas em laboratório. A cultura de células *in vitro* permite estudar o crescimento, diferenciação, morte celular, além de efetuar manipulações genéticas necessárias (ALBERTS et al., 1997).

Com o desenvolvimento de soluções salinas no século XIX por Sydney Ringer, as quais eram capazes de assegurar as necessidades vitais dos órgãos isolados do organismo, foi o primórdio do que viria a ser futuramente a cultura de células. Porém quem efetivamente conseguiu pela primeira vez em 1885, manter por dias células embrionárias viáveis em solução salina aquecida foi Wilhelm Roux (HENRIKSSON et al., 2006).

As culturas celulares são derivadas de explantes primários de solução de células dispersas cultivadas em monocamadas aderentes em substrato sólido ou em suspensão em meio de cultura, quando as células não aderem ao substrato. A vantagem de sua utilização reside no controle físico-químico do pH, temperatura, pressão osmótica, e condições fisiológicas que podem ser mantidas e comparadas aos testes *in vivo*. É economicamente mais

vantajosa, além de reduzir o uso de animais evitando questões éticas e morais em ensaios in vivo (FRESHNEY, 2005).

Os testes de citotoxicidade utilizando cultura de células in vitro, são de fundamental importância para avaliar agentes anticancerígenos (CINGI et al; 1991).

Os quimioterápicos que são selecionados para terapêutica, são escolhidos de acordo com a sua capacidade de controlar a proliferação celular (DE ALMEIDA et al., 2005). Sendo assim o ensaio de citotoxicidade em linhagens de células neoplásicas é considerado um parâmetro consistente para detectar atividade antitumoral (HOUGHTON et al., 2007).

A citotoxicidade das drogas podem ser analisadas em cultura de células tumorais de varias linhagens através das variações da morfologia celular, viabilidade celular utilizando corantes como o azul de tripan e eosina, contagem celular, ensaios clonogenicos, medidas de incorporação de nucleotídeos radiotivos ou métodos colorimétricos, dentre os quais podemos citar: cristal de violeta, MTT (microtetrazolium); Alamar blue e SRB (sulforrodamida B) (HENRIKSSON et al., 2006).

Para avaliar atividade antitumoral, os ensaios citotóxicos utilizados para a rotina na triagem para drogas anticâncer são: testes do sal de tetrazolium – MTT e teste de Sulforrodamida B- SRB (MOSMANN, 1983; SKEHAN et al., 1990; FRESHNEY, 2005).

O MTT é um ensaio de proliferação celular que quantifica a habilidade das células viáveis de reduzirem o sal amarelo de tetrazolium a cristais púrpuros de formazam, usando uma enzima mitocondrial, a succinato desidrogenase, este ensaio detecta as células vivas e o sinal gerado é dependente da diminuição da ativação das células, e os resultados são lidos em espectrofotometro (MOSMANN, 1983).

2.8 MUTAGENICIDADE POR *Allium cepa*

O *Allium cepa* tem sido considerado um excelente bioindicador de efeitos genotóxicos e mutagênicos (GRANT, 1999).

Esta análise tem sido selecionada por pesquisadores por sua simplicidade, alta sensibilidade, baixo custo e alta correlação em comparação com outros bioensaios. (MA et al.; 1995) Como por exemplo existe uma correlação de 82% entre testes com *Allium cepa* e os ensaios de carcinogenicidade em roedores (GROVER et al., 1990).

Em bioensaios com *Allium cepa*, os bulbos das cebolas são expostos a solução teste, por tempo determinado, neste teste podemos avaliar efeitos citotóxicos (redução do crescimento de raízes e/ou diminuição do fuso mitótico), efeitos genotóxicos (através da análise de micronúcleos ou anormalidades da anafase –telofase) (FISKEJO; LEVAN, 1994).

O micronúcleo é o resultado da perda de fragmento cromossômico ou de cromossomos inteiros, podendo ser induzido por agentes que danificam diretamente o cromossomo, produzindo quebras, ou agentes que tenham capacidade de alterar o fuso mitótico. Estes fragmentos que não se orientam para os núcleos filhos de uma célula em divisão ficam perdidos em meio ao citoplasma e formam a própria membrana nuclear, dando origem aos micronúcleos. Portanto sua presença em células somáticas indica quebra cromossômica (clastogênese) e/ou distúrbio no fuso mitótico (aneugênese) (NATARAJAN, 2002)

A técnica de micronúcleos representa uma maneira simples e precisa, para estimar o dano genético induzido. É uma importante ferramenta para análise dos efeitos de compostos químicos sobre as células (EL-SHAHABY, 2003).

Com o aumento da utilização de vegetais em genotoxicologia e avaliação de riscos, o interesse por sistemas botânicos está fortalecido em meio à comunidade científica e autoridades políticas, pois proporcionam mais conhecimento da genotoxicidade e especialmente das anormalidades mitóticas em eucariontes (FISKESJÖ, 1993).

3 OBJETIVOS

Os objetivos que norteiam o presente trabalho foram classificados em geral e específicos e encontram-se descritos abaixo.

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinação do perfil fitoquímico e citotoxicidade do extrato hidroalcoólico de *Cereus jamacaru* D.C.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Obtenção do extrato hidroalcoólico de *Cereus jamacaru* D.C
- ✓ Investigar o perfil fitoquímico da espécie *Cereus jamacaru* D.C.
- ✓ Avaliar a toxicidade e determinar a CL_{50} , do extrato hidroalcoólico de *Cereus jamacaru* D.C.
- ✓ Avaliar a citotoxicidade frente a células tumorais
- ✓ Determinação do percentual de hemólise do *Cereus jamacaru* D.C frente a células sanguíneas de carneiro.
- ✓ Avaliar a mutagenicidade do extrato hidro alcóólico de *Cereus jamacaru* D.C por *Allium cepa*.

4 METODOLOGIA

Os materiais e métodos empregados na parte experimental do presente estudo estão descritos a seguir.

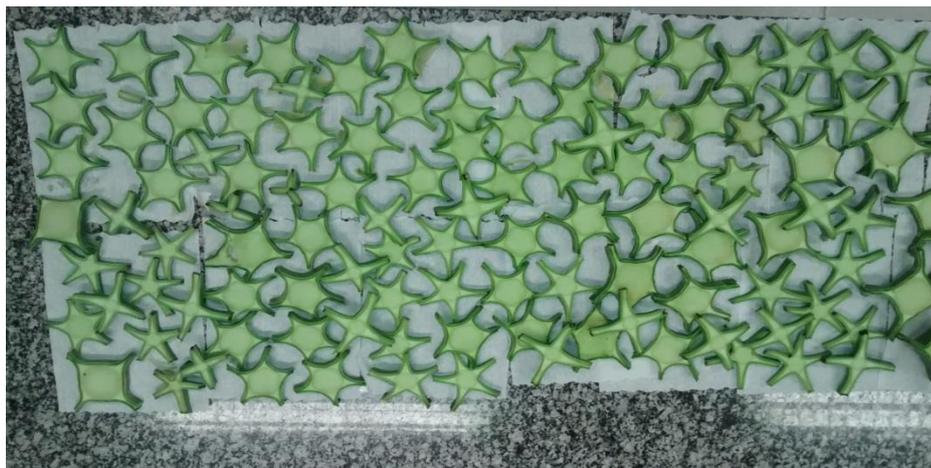
4.1 MATERIAL BOTÂNICO

Para o estudo foram utilizadas as hastes superiores de *Cereus jamacaru* D.C. coletadas em julho de 2015 na cidade de Bezerros (08 ° 14'33 "S e 35 ° 47'06" W) Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Foi produzida uma espécime de voucher (excicata), que foi identificado e depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima, do Instituto Agrônomo de Pernambuco, Recife, Brasil (IPA), sob o número 90915.

4.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

O vegetal obtido após lavagem com água destilada, foi separado em núcleo e revestimento. Após a moagem, o material foi submetido a extração em solução hidroalcolica a 80% (p / v) até o esgotamento do material, após a extração o extrato foi concentrado em um Evaporador rotativo até obtenção de um melão e armazenado em garrafa âmbar.

Figura 4: Preparação das hastes de *Cereus jamacaru* D.C ;



Fonte: Gibbelly Cavalcante da Silva.2015.

Figura 5: Extrato sendo submetido a rotaevaporação.;



Fonte: Gibbelly Cavalcante da Silva,2015.

4.3 ANÁLISE DO PERFIL FITOQUÍMICO

4.3.1 Perfil de cromatografia líquida de alta performance de *C. jamacaru* (HPLC)

O extrato hidroalcoólico de *Cereus jamacaru* D.C. foi submetido a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com um sistema de cromatografia Waters (Auto Purification System). A análise foi realizada na coluna XBridge C18 com dimensões de 10x100mm, tamanho de partícula de 5 μ m a uma taxa de fluxo de 9 mL / min. Acoplado a um detector de espectrofotômetro UV-visível modelo Waters 2998 fotodiodo matriz PDA (Photodiode Array Detector), por sua vez acoplado em série com um detector de espectrometria de massa (MS) Modelo Acquity Qda. Detecção por espectrometria de massa (MS) Modelo Acquity Qda. O sistema solvente utilizado foi (A) 94% de H₂O e 6% de acetonitrilo em 0 min, (B) 65% de H₂O e 35% de acetonitrilo em 8 min, (C) 94% de H₂O e

6% de acetonitrilo 9 min; Volume de injeção: 900 µL; E concentração da amostra: 25 mg / mL em MeOH a 50%.

4.3.2 Técnica de Transformação de Fourier Infravermelha (FTIR)

O perfil espectroscópico do extrato foi obtido a partir do espectrômetro da técnica de transformação de Fourier Infrared (FTIR) a 630. A amostra de semi-sólido Agilent foi pressionada contra o cristal de diamante usando o manguito de pressão preso ao dispositivo, seguido de leitura e gravação. O espectro FTIR foi adquirido em menos de 30 segundos e foi submetido a amostras de referência em sua biblioteca.

4.3.3 Espectroscopia de absorção na região visível UV

O espectro UV-visível do extrato foi obtido por adição de uma alíquota de 1 mg de extrato em 10 mL de metanol (100%) P. A. Os espectros de absorção foram determinados na faixa de comprimento de onda de 200 a 700 nm.

4.4 ANÁLISE DO PERFIL BIOLÓGICO

4.4.1 Determinação da CL_{50} através de bioensaio com *Artemia salina*

Foram colocados cerca de 20 mg de cistos de *Artemia salina* L. em um dos lados da incubadora, e este lado foi coberto com papel alumínio e submetidos a luz artificial por 24 horas. Pesou-se 50 mg da substancia em um vidro de penicilina e foi adicionado 1 mL de Tween 80 a 5% utilizando uma pipeta graduada de maneira que o solvente escorra pelas paredes do tubo. Homogeneizando a mistura e verificar se há material acumulado na espátula; Após este procedimento a solução foi transferida para um balão volumétrico de 5 mL utilizando um funil pequeno. Completar os 5 mL com agua salina. Em solução translucidas a curvatura do menisco deve coincidir com o traço da aferição já em substancias coloridas é a borda do menisco que deve coincidir com o traço de aferição. A fim de se evitar perdas de solução a agua salina utilizada para completar o volume de 5 mL deve ser antes utilizada para “lavar” o funil e o vidro de penicilina que continha a substancia. Ao retirar o funil verificar se há gotas de solução aderidas a ele; Tampar o balão agitar e transferir novamente a solução para o vidro de penicilina. Verificar se há gotas de solução aderidas ao balão.

O teste de toxicidade foi realizado em triplicata para cada concentração. As concentrações utilizadas no teste são: 1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL e 50 µg/mL obtidas, a partir de diluições da solução inicial em água do mar.

Utilizando pipetas automáticas, adicionou-se os volumes de 500 µL, 375 µL, 250 µL, 125 µL, 50 µL e 25 µL da solução inicial aos tubos de ensaio, sendo 3 tubos para cada concentração. Certificar-se de que não há bolhas na pipeta e de que a solução está sendo colocada na parte de baixo do tubo.

Com uma bureta adicionou-se 5 mL de água salina filtrada e com pH entre 8 e 9, com uma pipeta de pasteur adicionar de 10 a 13 naupílios de *Artemia salina* Leach em cada tubo de ensaio. Certificar-se de que nenhuma larva está aderida à parede da pipeta ou ao tubo de ensaio. Após adição das larvas aos tubos de ensaio, deixar o sistema sob a luz artificial por 24 horas.

4.4.2 Fragilidade Osmótica

O sangue utilizado para realização do teste é originário de carneiros, mamíferos ruminante da família caprinae. O sangue foi retirado do sistema arterial do mamífero e em seguida, transferido para um erlenmeyer, contendo dezenas de esferas de vidro que evitam o processo de coagulação. O sangue foi armazenado sob refrigeração e utilizado em um tempo máximo de 15 dias. Foi pesado 50mg da substância teste em um vidro relógio e transferido para uma cuba de porcelana para facilitar a dissolução. Com auxílio de uma pipeta graduada, adicionou-se 2mL de soro fisiológico 0,9% (solvente) para dissolver a substância teste. Com auxílio de um funil, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 5mL e ajustado o volume com soro fisiológico até 5mL. Por fim a solução foi homogeneizada e filtrada em papel filtro com espessura padrão.

O teste foi realizado em duplicata utilizando seis tubos de ensaio com 5mL de soro fisiológico cada; mais dois tubos de ensaio foram preparados como controle, apenas com os volumes de soro fisiológico 0,9% e sangue. Cada tubo de ensaio recebeu o volume de 500µL, 375µL, 250µL, 125µL, 50µL e 25µL da solução padrão da substância teste, desta forma cada tubo de ensaio continha respectivamente a concentração de 1000µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL ; Após essa etapa, foi adicionado 25 µL de sangue de carneiro, com auxílio de uma pipeta automática e ponteiras descartáveis. As amostras

foram mantidas em temperatura ambiente durante 15'. A amostra controle foi feita com soro fisiológico 0,9%. Para verificar a toxicidade dos extratos em contato com o sangue de carneiro, as amostras foram centrifugadas a uma força G de 3500rpm durante 30'; Após a centrifugação, o sobrenadante apresentou determinada quantidade de hemoglobina, proporcional a lise do número de hemácias que foi provocada. O sobrenadante foi lido em espectrofotômetro Bioplus, com filtro de 540nm e assim foram obtidos os valores de absorvância de cada amostra.

4.4.3 Citotoxicidade frente a células tumorais

A citotoxicidade do extrato foliar foi avaliada utilizando as linhas de células tumorais humanas NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide pulmonar), HEP-2 (carcinoma epidermoide de laringe), MCF-7 (adenocarcinoma de mama humano) e HL-60 (leucemia promielocítica aguda). As células NCI-H292 e HEP-2 foram mantidas no Meio de Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM), enquanto as células MCF-7 e HL-60 foram mantidas no meio do Instituto Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640. Ambos os meios de cultura foram suplementados com 10% (p / v) de soro bovino fetal e 1% (v / v) de solução antibiótica (100 U / mL de penicilina e 100 µg / mL de estreptomicina). As culturas foram mantidas a 37 ° C numa atmosfera com 5% de CO₂.

O NCI-H292, HEP-2, MCF-7 (10⁵ células / mL) e HL-60 (3 × 10⁵ células / mL) foram plaqueados separadamente em microplacas de 96 poços e incubados durante 24 h. Em seguida, o extracto foi dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,5% (v / v) e adicionado nos poços da placa até uma concentração final de 50 µg / mL. A doxorubicina (5 µg / mL) foi utilizada como medicamento padrão. Após 72 h de incubação, adicionou-se a cada poço 25 µL de solução de brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazólio (MTT) (5,0 mg / mL) e após 3 h, o meio de cultura contendo MTT foi removido e 100 µL de DMSO foram adicionados a cada poço. A absorvância a 560 nm foi registrada usando um leitor de microplacas (Alley et al., 1988; Mosmann, 1983). O efeito citotóxico foi classificado como segue: forte (91-100% de inibição), moderada (71-90% de inibição), fraca (51-70% de inibição) e sem efeito (inibição inferior ou igual a 50%) (RODRIGUES et al.2014)

4.4.4 Mutagenicidade por *Allium cepa*

As espécimes de *Allium cepa* que foram utilizadas são de pequeno tamanho, uniforme, mesma origem, não germinada e saudável, adquirida no mercado municipal da cidade de Recife, Pernambuco, Brasil. As lâmpadas foram colocadas para germinar durante seis dias a 25° C, em recipientes apropriados, com a parte inferior imersa em uma solução contendo concentrações de água destilada e extrato vegetais de 0,25 e 0,1 0, 5 mg / ml com 5 repetições, o único negativo O controle foi realizado com água destilada. Quando as raízes atingiram um comprimento de 0,5 a 3 cm, foram recolhidas, lavadas em água destilada, hidrolisadas com HCl a 1 mol / L durante 10 minutos. Após a lavagem os meristemas hidrolisados em água destilada foram feitos esfregaços em lâminas de vidro, todas as concentrações após 30 minutos de secagem, as lâminas foram coradas com 2% de carmim acético. A avaliação dos slides consistiu na observação da presença de micronúcleos e figuras mitóticas em microscópio óptico com uma ampliação de 400x.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A curva dose-resposta foi determinada com a porcentagem de hemólise e desvio padrão em todas as concentrações testadas. Para avaliar se houve variação significativa entre as concentrações testadas foi utilizado ANOVA com um nível de significância de $p < 0,05$. O software utilizado foi GraphPad Prism versão 6.0.

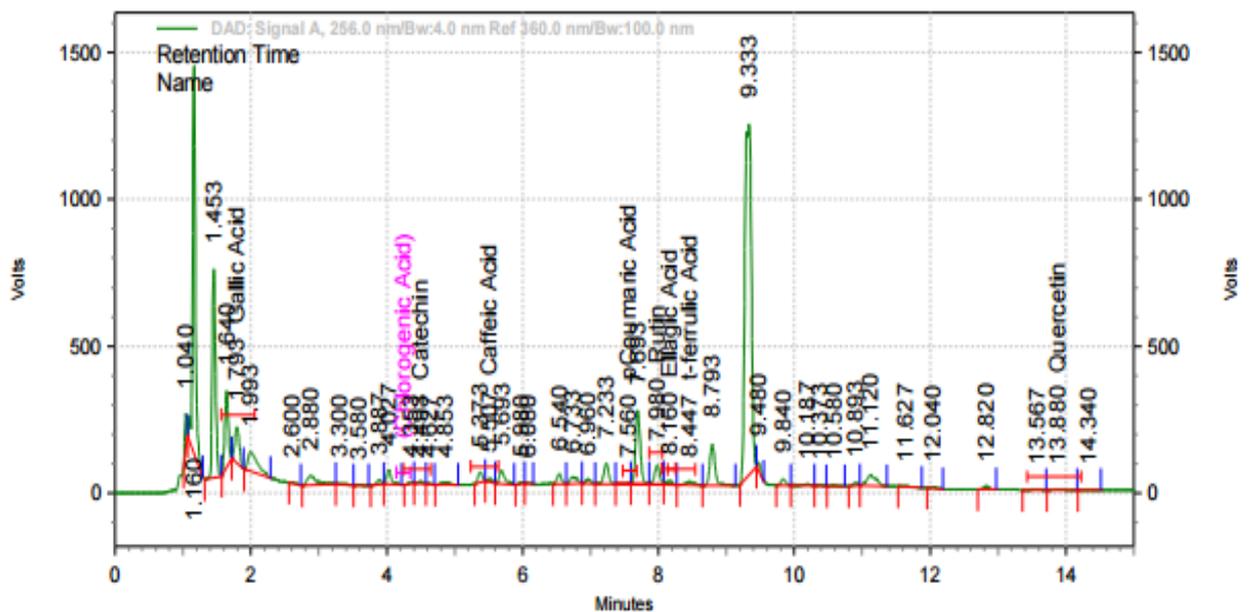
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA

5.1.1 Perfis de cromatografia líquida de alta performance de *C. jamacaru* (HPLC)

A Figura 6 mostra os perfis cromatográficos do extrato e dos padrões. A impressão digital de HPLC do extrato mostra a presença de ácido gálico, catequina, ácido cafeico, ácido p-coumarico, rutina, ácido ellagico, ácido ferrulico e quercetina no tempo de retenção 1.793, 4.493, 5.507, 7.560, 7.980, 8.160, 8.447 e 13.880 min. respectivamente.

Figura 6: Cromatograma do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* D.C.



Fonte: Gibbely Cavalcante, 2016.

O tratamento oral com ácido gálico e quercetina alivia a cardiotoxicidade induzida por lindano em ratos. O ácido gálico previne o dano lisossômico na cardiotoxicidade induzida por isoproterenol em ratos Wistar (HAMZA et al., 2008) e também protege a disfunção miocárdica induzida por diabetes em ratos. O efeito do ácido gálico sobre a dislipidemia e o estresse oxidativo induzidos por dieta com maior teor de gordura em ratos foi estudado (LEIRO et al., 2014).

Os compostos fenólicos (ácido ellágico, ácido cafeico e catequina) geralmente são considerados não tóxicos e freqüentemente são encontrados em muitas plantas medicinais tradicionais.

Alguns estudos revelam a presença de taninos e flavanóides em na espécie *Cereus jamacaru* (DAVET, 2005; NDHLALA et al., 2007). É sábio que componentes fenólicos, especialmente taninos e flavanóides possuem atividades terapêuticas como anti-inflamatória, antifúngica e antioxidante (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

O rendimento de extração de ácidos fenólicos a partir de materiais vegetais é influenciado pela sua natureza química (por exemplo, polaridade, acidez, capacidade de ligação de hidrogênio dos grupos hidroxilo no anel aromático) (HARBONE, 1998).

Rutina é um conjugado de glicósido pertencente à classe de flavonóis com propriedades antioxidantes, citoprotetoras, vasoprotetoras e cardioprotetoras, entre outras (ARAÚJO, 2012). Estudos com diferentes flavonóides, incluindo rutina, apontam para seu alto potencial antioxidante, mesmo quando comparados com a vitamina C (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Uma vez que o ácido ferúlico é um derivado de ácido cinâmico com instruções para o tratamento e prevenção de câncer e doenças cardiovasculares, entre outros (SOARES, 2002).

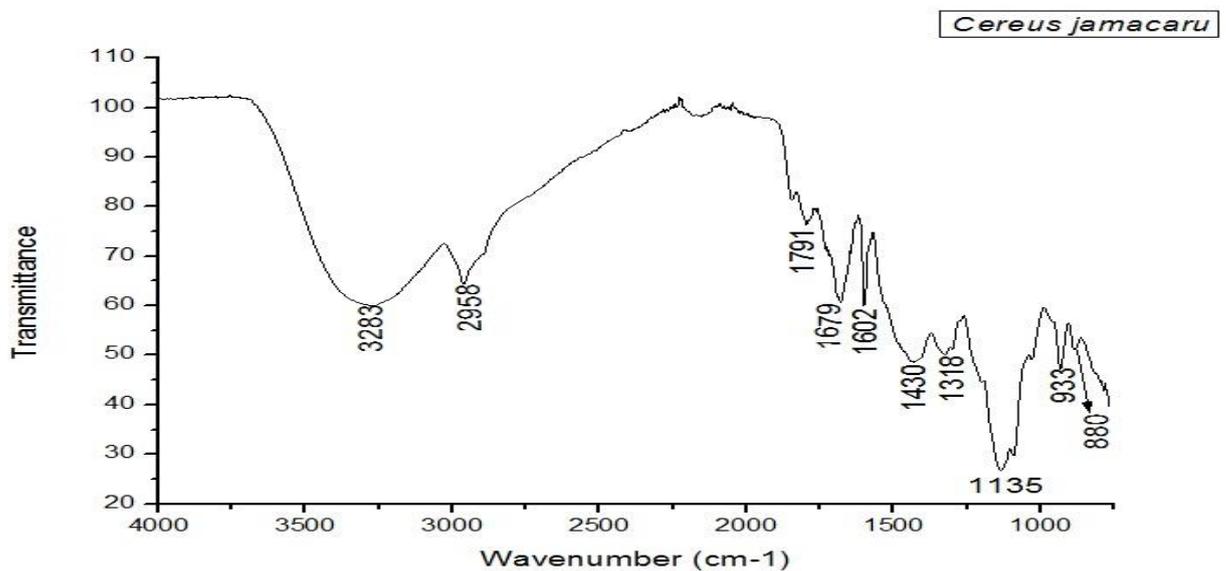
Em análises preliminares DAVET (2005) comprovou a presença de alcalóides em cladódios de *Cereus jamacaru* D.C.

5.1.2 Análise de espectroscopia de infravermelho de transformação de Fourier (FTIR)

De acordo com a Figura 7, mostramos os valores de absorção do espectro infravermelho de compostos no extrato hidroalcoólico de *Cereus jamacaru*. Uma banda foi identificada na região de 3283 cm⁻¹ que representa a presença do grupo funcional das amins com características de amina secundária ou um derivado da porção NH₃ substituindo dois radicais hidrocarbonetos derivados. A banda a 2958 cm⁻¹ é característica de um composto alifático (CH) e das bandas 1791, 1679, 1602, 1430, 1318, 933 e 880 cm⁻¹, correspondendo respectivamente ao C = O da estrutura do acil Cloreto C = O de amida C = O aromáticos, CH₂, CH₂ carbonilo, OH e H isolados a partir do anel aromático.

Nesta análise podemos correlacionar com os achados no HPLC, uma vez que os compostos fenólicos caracterizados na cromatografia de alta eficiência : ácido clorogênico, ácido cafeíco, ácido ferrúlico, p-cumarico e rutina possuem hidroxilas em sua composição química ligadas a um anel aromático., estas estruturas químicas que foram identificadas no FTIR.

Figura 7: Espectro de infravermelho do extrato hidroalcoólico de *Cereus Jamacaru D.C.*



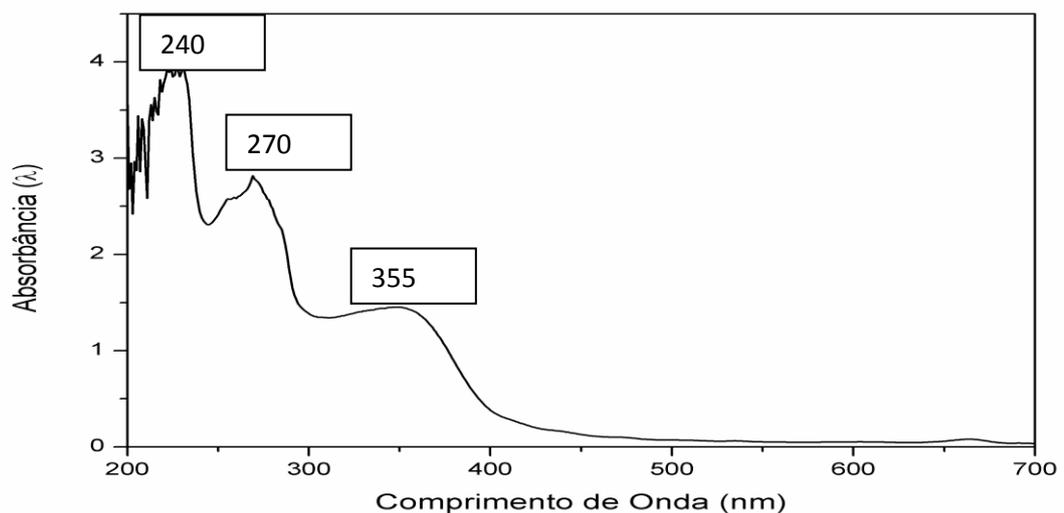
Fonte: Gibbelly Cavalcante, 2016.

5.1.3 Espectroscopia de Absorção na região UV - Visível

A espectroscopia ultravioleta-visível (UV-Vis) refere-se a espectroscopia de absorção na região espectral UV-Visível. Isso significa que ele usa luz nos intervalos visíveis e adjacentes (quase-UV e infravermelhos próximos). A absorção na faixa visível afeta diretamente a cor percebida dos produtos químicos envolvidos. Nesta região do espectro eletromagnético, as moléculas passam por transições eletrônicas. O espectro do extrato hidroalcoólico ultravioleta (UV-visível) de *C. jamacaru* (Figura 8) mostrou 3 dos máximos picos de absorção 240, 270 e 355 nm.

Os altos valores de absorção em torno de 220-290 indicam uma maior contribuição de ácido caféico, e valores de absorção acima de 300 nm indica a existência de um longo sistema conjugado, estas regiões são associadas aos ácidos clorogênicos. (SILVERSTEIN et. al 1991) Esses resultados vem a ratificar a análise da cromatografia de alta eficiência (HPLC), pois estes compostos fenólicos foram identificados por esta técnica.

Figure 8: Espectro de UV-visível do extrato hidroalcoólico de *Cereus Jamacaru* D.C



Fonte: Gibbelly Cavalcante.2016.

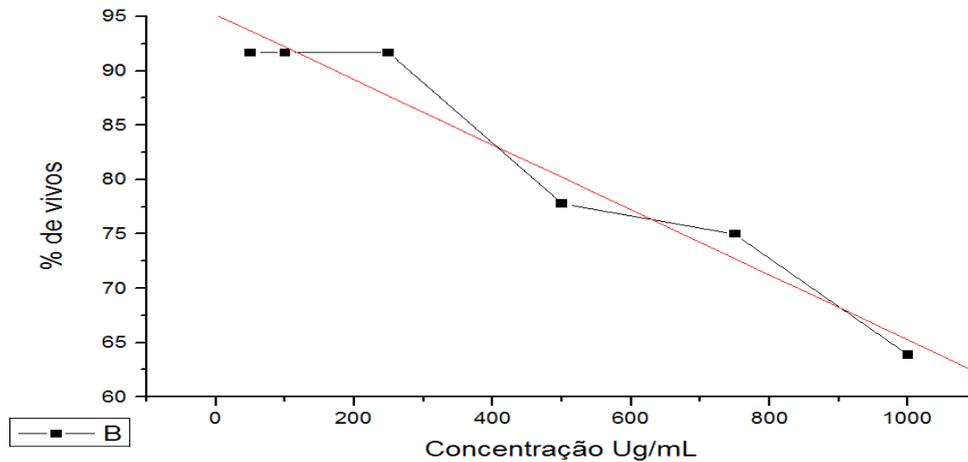
5.2 ANÁLISE BIOLÓGICA

5.2.1 Toxicidade por *Artemia Salina*

A toxicidade do extrato foi primeiramente avaliada utilizando o microcrustáceo *A. salina*, que é frequentemente usado como indicador preliminar de toxicidade geral de compostos de plantas; Além disso, é relatado que a toxicidade para *A. salina* tem correlação com possíveis atividades antitumorais (NAIDU et al., 2014) ou pesticidas (KHAFAGI et al., 2000). Os resultados (figura 9) mostram que o extrato hidroalcoólico de *Cereus jamaçaru* exibiu um baixo número de mortes em todas as concentrações testadas, produzindo uma $CL_{50} = 1,5509,17 \mu\text{g/mL}$ e sendo considerado de acordo com MEYER et al., (1982) como não tóxico uma vez que exibiu $CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$.

SCHWARZ et al. (2010), realizou um teste de toxicidade aguda com *Daphnia magna* em extrato aquoso de *Cereus jamaçaru* e causou 95% de mortes em diluição de 1:100, e não foi observado nenhum óbito na diluição de 1:1000. Em ensaio *in vivo* utilizando ratos de ambos sexos tratados com o extrato aquoso durante trinta dias, não houveram mortes, porém os machos apresentaram redução de sua massa corporal, consumo de alimentos e água, já as fêmeas apresentaram um maior consumo de água e alimento, mas sem alterações no ganho de peso corporal. A hipótese mais provável é que a perda de peso se deu pela presença de hordenina em *Cereus jamaçaru*, a qual é utilizada para perda de peso e não devido toxicidade em si.

Figura 9: Gráfico da toxicidade por *Artemia salina* do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* D.C.



Fonte: Gibbelly Cavalcante(2016)

5.2.2 Atividade Hemolítica

A amostra apresentou baixa toxicidade, enquanto a maior concentração mostrou lise em apenas 3,33% dos glóbulos vermelhos, e que a média de absorvância recomendada é de 1,32, como pode ser visto na Tabela 1.

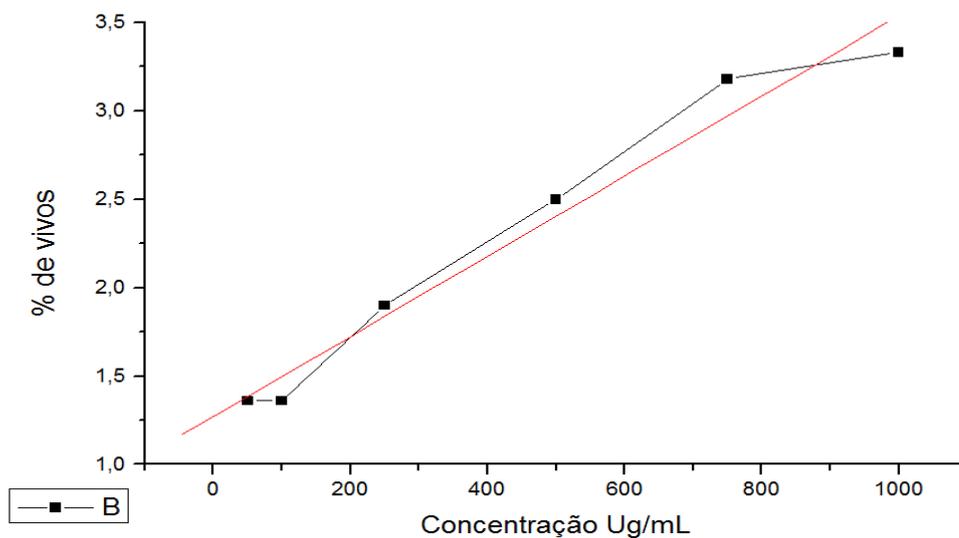
Tabela 1: Percentual de hemólise do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* D.C.

CONCENTRAÇÕES	ABSORVÂNCIA 1	ABSORVÂNCIA 2	ABSORVÂNCIA MÉDIA	PERCENTUAL DE HEMÓLISE (%)
1000 µg/mL	0,041	0,046	0,044	3,33
750 µg/mL	0,040	0,040	0,042	3,18
500 µg/mL	0,032	0,034	0,033	2,50
250 µg/mL	0,025	0,025	0,025	1,90
100 µg/mL	0,018	0,018	0,018	1,36
50 µg/mL	0,018	0,018	0,018	1,36

Fonte: Gibbelly Cavalcante(2016)

Na busca de novas substâncias que têm atividade farmacológica promissora e não causam efeitos deletérios para o corpo, os ensaios que investigam a capacidade de produtos sintéticos ou naturais para causar danos às membranas de eritrócitos são frequentemente utilizados (ROOPAN et al., 2009, KALAIIVANI et al., 2011). O teste hemolítico foi realizado para avaliar o potencial dos extratos da casca de *C. jamacaru* para causar lesão na membrana plasmática das células, seja pela formação de poros ou por causa do colapso total.

Figura 10: Gráfico da fragilidade osmótica do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* D.C.



Fonte: Gibbely Cavalcante(2016)

5.2.3 Citotoxicidade frente a células tumorais

Podemos avaliar os resultados observando a Tabela 2 .

Tabela 2: Avaliação da citotoxicidade do extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* D.C. frente a linhagens de células tumorais humanas.

Cell line	Inhibitory effect (%)	
	<i>C. jamacaru</i> extract	Doxorubicin
HEp-2	16.4 ± 5.4	79.4 ± 2.6
MCF-7	17.6 ± 3.1	74.8 ± 2.1
HL-60	9.8 ± 0.0	92.9 ± 0.6
NCI-H292	24.1 ± 3.4	94.1 ± 2.0

Fonte: Gibbelly Cavalcante(2016)

O extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* frente as linhagens tumorais humanas promoveu um efeito inibitório mais significativo em NCI-H292, com 24,1%, porém segundo a classificação de RODRIGUES et al., (2014), é considerado sem atividade , pois a inibição foi inferior a 50%.

MORAIS (2013) ao avaliar o extrato aquoso de *Cereus jamacaru* , frente a linhagem PC3(próstata), não observou nenhum percentual de inibição. Porém frente as linhagens HEK-293, HELA, 7860, apresentaram percentual de inibição de 30, 20 e 40% respectivamente; Apesar de obter um efeito citotóxico maior na linhagem renal (7860), segundo a classificação que norteia nosso trabalho ainda é considerada sem atividade.

Como o HPLC identificou o ácido gálico no extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* , e este metabólito já tem atividade antitumoral comprovada, podemos sugerir que talvez a taxa de inibição se deu pela presença deste composto. O percentual de inibição pouco expressivo faz levantar a hipótese que possivelmente este composto não esteja em uma quantidade suficiente para um efeito mais promissor.

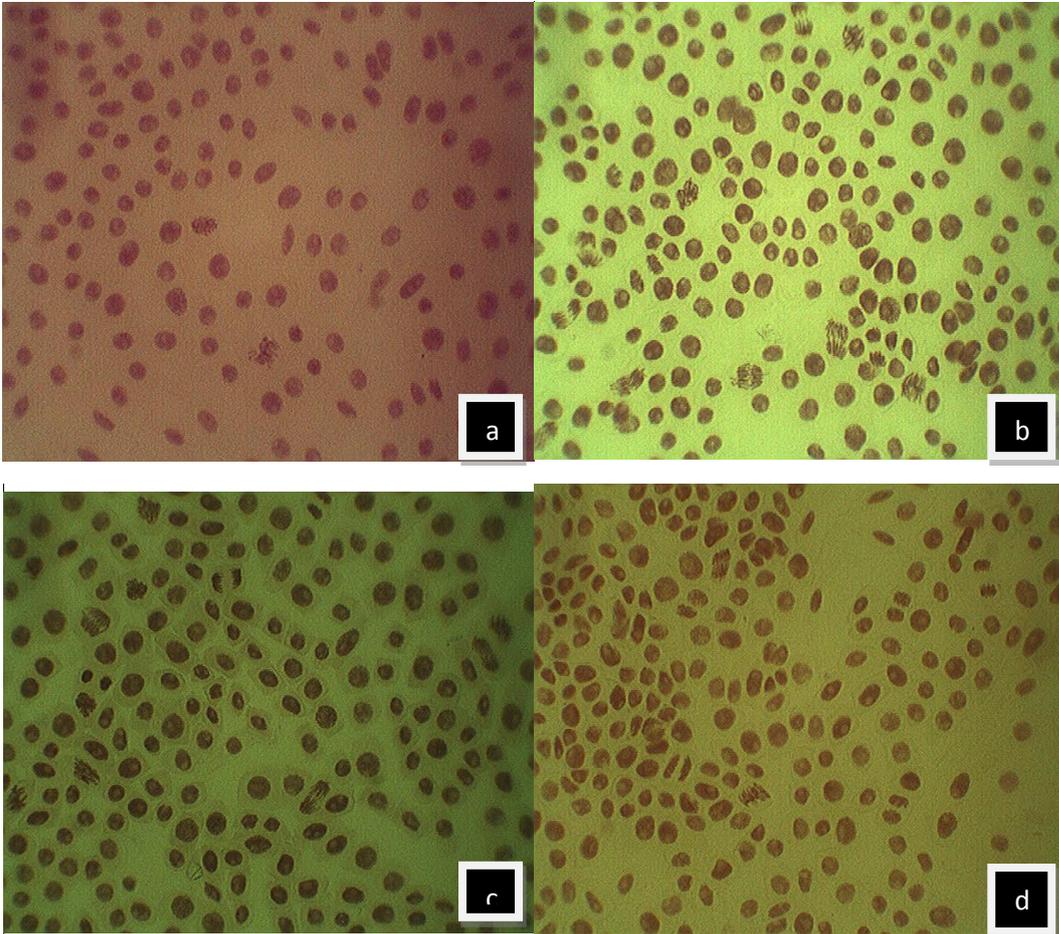
5.2.4 Mutagenicidade por *Allium Cepa*

O sistema de teste *Allium cepa* é recomendado para avaliação toxicológica e foi validado pela Organização Mundial de Saúde, pelo Programa Ambiental das Nações Unidas e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (MAURO et al., 2014). De acordo com LEME e MARIN-MORALES (2009), este sistema de teste permite a avaliação simultânea de efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de um determinado composto, amostras ambientais ou produtos naturais, sem a necessidade de realizar diferentes ensaios. Em contrapartida, outros sistemas de teste exigem a análise destes pontos finais separadamente, por diferentes técnicas e exposições. Além disso, enquanto as experiências de mamífero (teste *in vivo*) e de cultura de células (testes *in vitro*) também são sugeridas para avaliar a antimutagenicidade, o teste de *A. cepa* pode mostrar os efeitos primários de produtos naturais a baixo custo, pois tem alta sensibilidade e mostrava-se bem Correlação com outros sistemas de teste, como o teste de Ames (RANK; NIELSEN, 1994), um sistema de teste de mamífero (CHAUHAN et al., 1999), um sistema de teste de linfócitos humanos (FISKESJO, 1985) e testes de carcinogenicidade em roedores (RANK; NIELSEN, 1994), com a vantagem de excluir a necessidade de uso e sacrifício de animais (LEME; MARIN-MORALES, 2009). O resultado da capacidade citotóxica e mutagênica medida neste ensaio foi dado pela inibição do crescimento radicular, tamanho e forma nuclear. O extrato hidroalcoólico de *C. jamacaru* mostrou um comportamento citotóxico dependente da dose em concentrações, onde observamos uma redução de figuras mitóticas com concentrações crescentes, como mostrado na Figura 11. A mutagenicidade é obtida pela frequência de micronúcleos em células expostas a diferentes concentrações e anormalidades como pontes de anafase-telofase e células micronucleadas ou binucleadas na interfase, e não observamos a presença de tais anomalias nas concentrações testadas.

SILVA et al. (2015), analisou os efeitos citotóxicos do extrato aquoso de *Cereus jamacaru* em *Allium cepa* nas concentrações de 2 g/L, 1,5 g/L e 1 g/L, e constatou que na concentração de 2g/L não houve anormalidades celulares, porém nas demais concentrações o extrato expressou efeitos antiproliferativos no ciclo celular e anormalidades nas fases mitóticas, sua metodologia foi seguindo GUERRA e SOUZA (2002).

SOUZA et al. (2010) encontrou significativo efeito citotóxico em extrato hidroalcoólico em tumores celulares (Sarcoma 180) em ratos Wistar nas concentrações de 250 e 500 mg/Kg.

Figura 11: Microfotografias de células de *Allium cepa*, Controle (a), 0,1mg/ml (b), 0,25mg/ml (c), 0,5 mg/ml (d)



Fonte: Gibbelly Cavalcante, 2016.

6 CONCLUSÕES

- O potencial farmacológico dos metabólitos encontrados no screening fitoquímico, como os flavanóides e os ácidos fenólicos, dão viés para futuros testes de outras atividades biológicas, como por exemplo, antioxidante, antiinflamatório, antivaricoso, antialérgico.
- O extrato produzido no estudo não mostrou toxicidade expressiva nos testes pré-clínicos o que pode ser correlacionado com a baixo percentual de inibição das linhagens tumorais;
- Deve ser realizada outras avaliações de toxicidade variando o sistema de teste, concentrações e tempo de exposição, para estabelecer com propriedade a ação real desta planta a nível celular;
- Apesar do *Cereus jamacaru* D.C. ser utilizado pela população nordestina brasileira por um longo período, e alguns estudos terem demonstrado atividade medicinal, esta espécie ainda não foi catalogada pela Agência Brasileira de Vigilância Sanitária (ANVISA), como uma planta medicinal, por falta de estudos sobre toxicidade desta planta;

REFERÊNCIAS

- ABUD, H.F.; PEREIRA, M.S.; PEREIRA, M.S.; GONÇALVES, N.R.; BEZERRA, A.M.E.; Germination and morphology of fruits, seeds and plants of *Cereus jamacaru* DC. **Journal of Seed Science**, v.35, n.3, p.310-315, 2013.
- AGRA, M.J.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA- FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Rev. Bras. Farmacognosia**.v. 17, p.114-140, 2007.
- ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J. **Biologia molecular da célula**. 3 ed. Porto Alegre: Editora Artes Médicas; 1997
- ALBUQUERQUE, U.P.; ANDRADE, L.H.C. Uso de Recursos vegetais da caatinga: O caso do Agreste do Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **INCI** v.27, p. 336-346, 2002.
- ALDRICH, K.; SAUNDERS, D.K. . Comparison of erythrocyte os- Comparison of erythrocyte osmotic fragility among ectotherms and endotherms at three temperatures. **Journal of Thermal Biology**, v.26, p. 179 – 182, 2006.
- ALENCAR, N.L.M.; INNECCO, R.; GOMES – FILHO, E.; GALLÃO, M.I.; ALVAREZ – PIZARRO, J.C.; PRISCO, J.T.; OLIVEIRA, A.B.; Seed reserve composition and mobilization during germination and early seedling establishment of *Cereus jamacaru* D.C. ssp. *jamacaru* (Cactaceae). **An Acad. Bras. Cienc.** p. 823-832, 2012.
- ANDRADE, C.T.S.; MARQUES, J.G.W.; ZAPPI, D.C.; Utilização de cactáceas por sertanejos baianos. **Rev Bras. Pl**, Botucatu, v.8, n3, p.36-42, 2006.
- ARAÚJO, M.E.M.B. Avaliação da atividade antioxidante e antiproliferativa da rutina e seus produtos obtidos por hidrólise enzimática. **Dissertação (Mestrado –Ciências da Saúde)** Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Universidade São Francisco, São Paulo. 2012.
- BAPTISTA, I. E. Avaliação da toxicidade de efluentes gerados em uma indústria têxtil catarinense. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental)**, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2001. 133f
- BARTHLOTT, W; HUNT. DR; KUBIZTKI, K; ROHWER, JG; BITTRICH, V. Cactaceae. In: The families and genera of vascular plants, **Flowering Plants – Dicotyledons.**, Berlin: Springer-Verlag, v.2, p. 161-197, 1993.
- BEATTIE, K. A. et al. Comparative effects and metabolism of two microcystins and nodularin in the brine shrimp *Artemia salina*. **Aquatic Toxicology**, v. 62, p. 219-226, 2003.
- BECKETT, A.H., STENLAKE, J.B. The basis of spectrophotometry., **Practical Pharmaceutical Chemistry**, p. 274-278, 1988.
- BERTOLETTI, E. Toxicidade e concentração de agentes tóxicos em efluentes industriais. **Ciência e Cultura**, v. 42, p. 271-277, 1990.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n.2, p. 123-130, 1999.

BORBA, P. A. A. et al. Desenvolvimento e validação de um método analítico por espectrofotometria UV para quantificação de carvedilol. **Química Nova**, v. 36, p. 582-586, 2013.

BRITTON, N.; ROSE, J. The Cactaceae: descriptions and illustrations of plants of the cactus family. V. I e II. NY: **Dover Publications**. . p. 3-23; 197-209, 1919.

CARVALHO, J.L.S.; Contribuição ao estudo fitoquímico e analítico de *Nasturtium officinale* R. Curitiba. **Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas**-Universidade Federal do Paraná(2001)

CAVALCANTI, N.B., RESENDE, G.M. Consumo de mandacaru (*Cereus jamacaru* D.C.) por caprinos na época da seca no semi-árido de Pernambuco. **Caatinga**. v. 19, p.402- 408, 2006.

CHAUHAN, L.K.S., SAXENA, P.N., GUPTA, S.K. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Environ Exp Bot**, v.42,p.181-189,1999

CINGI, M.R., DE ANGELIS, I., FORTUNATI, E. Choice and standardization of test protocols in cytotoxicology: a multicentre approach. **Toxicology in vitro**. v.5, p.119-125, 1991.

COSTA, SC. Cacto *Cereus peruvianus*: características estruturais, reológicas e aplicações dos polissacarídeos. **Tese (Doutorado em Bioquímica)** – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.1997.

DAVET, A.; VIRTUOSO, S.; DIAS,J.F.G;MIGUEL,M.D.;OLIVEIRA,A.B.; MIGUEL, O.G.; Atividade antibacteriana de *Cereus jamacaru* DC, Cactaceae. **Rev Bras de Farmacognosia**. v. 19,p. 561-564, Abr/Jun 2009.

DE ALMEIDA, V.L., LEITÃO, A., REINA B, C.L., MONTARI, C.A, DONNICI, C.L., LOPES, M.T.P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-específicos e ciclo-celular não-específicos que interagem com DNA: uma introdução. **Química Nova**. v.28(1), p.118-129, 2005.

EL-SHAHABY, A. O. *et al.* Genotoxicity Screening of Industrial Wasterwater Using the *Allium Cepa* Chromosome Aberration Assay. **Pak. Journ. Biol. Sci.**, Baltimore, v.42, n. 6, p. 181-189, Dec. 2003.

FÃO, F., ZAN, R.A., BRONDANI, F.M.M., RAMOS, L.J., MENEGUETTI, D.U.O. Análise do Potencial Mutagênico da seiva da casca de *Croton lechiri*, no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental. **Rev. Saúde e Biol.**.v.7,n.1,p.91-98, jan/abr,2012.

FISKEJÖ, G. The *Allium cepa* test in a Wasterwater Monitoring. **Environmental Toxicology and Water Quality**, New York, v. 8, p.291 – 298, Aug. 1993.

FISKEJÖ, G.; LEVAN, A. Evaluation of the Firstten MeIC Chemicals in the *Allium cepa*. **Atlas**, New York, v. 21, p.139 – 149, Dec. 1994.

FRESHNEY, I.R. Culture of animal cells. **A manual of Basic Technique**. 5 ed. New York: Wiley-Liss; 2005.

GRANT, W. F. Higher Plant Assays for the Detection of Chromosomal Aberrations and Gene Mutations – a Brief Historical Background on Their Use for Screening and Monitoring Environmental Chemicals. **Mutation Research**, Orlando, v. 426, n.6, p.107 - 112, Oct. 1999.

GROVER, I. S. *et al.* Genotoxic Effects of Some Organophosphorous Pesticides – In vivo Chromosomal Aberration Bioassay in Root Meristems of *Allium* and *Hordeum*. **Citology**. Saint Louis, v. 53, n.9, p. 181 -191, Oct. 1990.

GUERRA, M., SOUZA, M.J. Como observar os cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: **FUNPEC**;p.201, 2002.

HAMZA, A., AMIM, A., DAOUD, S. The protective effect of a purified extract of *Withania somnifera* against doxorubicin-induced cardiac toxicity in rats. **Cell Biol Toxicol** .v. 24,p.63-73; 2008.

HARBONE, J.B. **Phytochemical Methods**. (3 ed.) Chapman & Hall, London (1998).

HARRIS, D. C. **ANÁLISE QUÍMICA QUANTITATIVA**. New York: LTC, 2006.

HENRIKSSON, E., KJELLEN, E., WAHLBERG, P., WENNERBERG, J., KJELLSTROM, J.H. Differences in estimates of cisplatin-induced cell kill in vitro between colorimetric and cell count/colony assays. **In Vitro Cell. Dev. Biol. - Animal**; v.42,p.320-323, 2006.

HOUGHTON, P., FANG, R., TECHATANAWAT, I., STEVENTON, G., HYLANDS, P.J., LEE, C.C. The sulphorhodamide (SRB) assay and other approaches to testing plant extracts and derived compounds for activities related to reputed anti cancer activity. **Methods**; v.42,p.377-387, 2007.

JICKELLS, S.; NEGRUSZ, A. – **Clark's Analytical Forensic Toxicology**. Cambridge: **Pharmaceutical Press** (2008);

KALAIVANI, T., RAJASEKARAN, C., SUTHINDHIRAN, K., MATHEW, L. Free Radical Scavenging, cytotoxic and hemolytic activities from leaves of *Acacia nilotica* (L.) **Wild**. ex. Delile subsp. 2011.

KHAFAGI ,I. . In vitro cytotoxicity and antimicrobial activities of some common essential oils. **Egyptian Journal of Biology**, v. 2, p. 20-27, 2000.

LANDI, M.A.; SILVA, G.H.; Estudo da Ação Hepatoprotetora do *Lycopodium Clavatum* 30 CH em modelo experimental de lesão hepática por paracetamol. **Anais XVIII In. Cient.** (2013).

LEIRO, J.M., ALVAREZ, E., ARRANZ, J.A., SISO, I.G., ORALLO, F. *In vitro* effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric oxide synthase, tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta genes. **Biochem Pharmacology**. v. 9,p.90137, 2014.

LEME, D.M., MARIN-MORALES, M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Rev Mutat Res** v.682p.71-81,2009.

MARIATH, I.R.; FALCÃO, H.S.; BARBOSA- FILHO, J.M.; SOUSA, L.C.F.; TOMAZ, A.C.A.; BATISTA, L.M.; DINIZ, M.F.F.M.; ATHAYDE – FILHO, P.F.;

TAVARES, J.F.; SILVA, M.S.; CUNHA, E.V.L.; Plants of the American Continent with antimalarial activity. **Rev Bras Farmacognosia**. v. 19,p.158 – 192, 2009.

MAURO, M.O., PESARINI, J.R., MARIN-MORALES, M.A., MONREAL, M.T.F.D., MONREAL, A.C.D., MANTOVANI, M.S., OLIVEIRA, R.J. Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of the fructooligosaccharide inulin in the meristematic cells of *Allium cepa* culture. **Genet Mol Res** . v.13,p.4808-4819,2014.

MESSIAS,J.;CARACIOLO,M.C.M;OLIVEIRA,I.M.;MONTARROYOS,U.R; BASTOS, I.V.G.A;GUERRA, M.O; SOUZA, I.A.; Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratas no segundo terço da gestação submetidas à ação do extrato metanólico de *Cereus jamacaru* DC.,Cacataceae. **Rev Bras. Farmacognosia**. v.20,n.04, p.478-483, Agost/Set 2010.

MEYER, B.N. Brine Shrimp: A conveniente general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**. v.45,p. 31, 1982.

MOECKEL, G. W.; SHADMAN, R.; FOGEL, J. M.; SADRZADEH, S. M. H. Organic osmolytes betaine, sorbitol and inositol are potent inhibitors of erythrocytes membrane ATPase. **Life Sciences**. v.71, n 20,p. 2413-2424, 2002

MORAIS, D.S.C. **Avaliação das Atividades Antioxidantes e Citotóxicas de extratos ricos em polissacarídeos extraídos das hastes de Mandacaru(*Cereus jamacaru* de Candolle, cacatacea)**. UFRN, 2013.

MORGANO, M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F. Determination of protein in raw coffee for NIR spectroscopy and regression PLS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p.25-31, 2005.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**. v. 65, p.55-63, 1983.

MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K. Membranas: estrutura, montagem e função. In: Granner, D. K.; Mayes, P. A. & Rodwell, V. W. (Eds). **Harper: Bioquímica**. 9ª ed. Atheneu Editora, São Paulo, Brasil, p.505-533, 2002.

NAIDU,,J. R., ISMAIL, R., SASIDHARAN, S. “Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of methanol extract of *Mentha Spicata* L. (Lamiaceae),” **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, no. 1, p. 101–107, 2014.

NARENDRA, M.; BHATRACHARY, N. C., PADMAVATHI, P.; VADACHARYULU, N. C. Prallethrin induced biochemical changes in erythrocyte membrane and red cell osmotic haemolysis in human volunteers. **Chemosphere**, v.67, n 6,p. 1065-1071, 2007.

NATARAJAN, A. T. Chromosome Aberration: Past, Present And Future. **Mutation Research**, Orlando, v. 504, n.6, p. 3 -16, Oct. 2002.

RANK, J., NIELSEN, M.H. Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. **Mutat Res**. v. 312,p.17-24,1994.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, p. 807-812, 2004.

RODRIGUES, F. A. R. Mefloquine-oxazolidine derivatives: a new class of anticancer agents. **Chem Biol Drug Des**, v. 83, p. 126-131, 2014.

ROJAS-AR CHIGA, M.; VASQUEZ-YANEZ, C.; Cactus seed germination : a review. **J Arid Environ.** v.44, p.85-104,2000.

ROOPAN, S.M., KHAN, F.R.N. Synthesis, antioxidant, hemolytic and cytotoxicity activity of AB ring core of mappicine. **Arkivoc** . p. 161-169, 2009.

ROSSI, R.; GIUSTARINI, D.; MILZANI, A.; DALLE-DONNE, I. Membrane skeletal protein S-glutathionylation and hemolysis in human red blood cells. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**. v.37,p. 180- 187, 2006.

SALIBA, E. O. S.; GONTIJO NETO, M. M; RODRIGUES, N. M. Predição da Composição Química do Sorgo pela Técnica de Espectroscopia de Refletância no Infravermelho Próximo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.55, n.3, 2003.

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

SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., PETROVICK, P.R. **Produtos de Origem Vegetal e o Desenvolvimento de Medicamentos . Farmacognosia : da Planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS.p.371-400, 2007.

SCHWARZ, A., MEDEIROS, I., MOURÃO, C., QUEIROZ, F., PELUGMACHER, S. Phytochemical and Toxic analysis of na etanol extract from *Cereus jamacaru*. **Toxicology Letters**. v. 196, n 210, p..344,2010.

SILVA, A.S., FIGUEIREDO, R.M.F., QUEIROZ, A.J.M., LIMA, E.E. Avaliação da composição físico-químico da Coroa-de -frade. **Bioterra**. V.s:p.1-8, 2005.

SILVA, D.M., CARVALHO, F.R.S., MOURA, A.G., MARTINS, L., FERREIRA, P.M.T., PERON, A.P. Acción Citotóxica del extracto acuoso deel tallo de *Cereus jamacaru* D.C. (mandacaru). **Revista Cubana de plantas medicinales**. v. 19, n 2, p. 226-234, 2015.

SILVA, L. R. da; ALVES, R. E. Caracterização físico-química de frutos de “mandacaru”. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba,v. 7, n. 2, p. 199-205, 2009.

SILVERSTEIN, R.M., BASSLER, G.C., MORRIL, T.C. **Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 203-223, 1994.

SIMPSON CF- **Practical High Performance Liquid Chromatography**. Edited by Simpson CF. London: Heyden & Son; 1978;

SKEHAN, P., STORENG, R., SCUDIERO, D., MONKS, A., MCMAHON, J., VISTICA, D., WARREN, J.T., BOKESCH, H., KENNEY, S., BOYD, M.R. New Colorimetric Cytotoxicity Assay For Anticancer-Drug Screening. **Journal of The National Cancer Institute**.v. 82, n 13, p.1107-1112, 1990.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de química analítica**. Pioneira Thomson Learning, 2006.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5.ed. Porto Alegre: Editora Bookman. p. 836, 2002.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOUZA, I.A., LIMA, M.C.A., MELO, U.B.C., HIGINO, J.S. Antitumour properties of *Cereus jamacaru* on a experimental model of cancer in: **Fundamental & Clinical Pharmacology**. 3rd Meeting of the federation of the European Pharmacological Societies, Lyon, France.v.15,p.400, 2001.

TAYLOR, N., ZAPPI, D. Cacti of Eastern Brazil. **Kew: Royal Botanic Gardens**, Kew XII , p.499 , 2004.

WAGNER, C. T.; MARTOWICZ, M. L.; LIVESEY, S. A.; CONNOR, J. **Biochemical stabilization enhances red blood cell recovery and stability following cryopreservation**. *Cryobiology*. V. 45,p.153-166, 2002.

ANEXO A – FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA


 Secretaria de
Agricultura e
Reforma Agrária

 PERNAMBUCO
ESTADO DO BRASIL

 HERBÁRIO IPA – DÁRDANO DE ANDRADE LIMA
FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

FIB Nº 08/2016

	Nº de Tombo	Nome popular	Família	Nome Científico	Identificada por
01	90915	Mandacari	Cactaceae	<i>Cereus jamacaru</i> DC.	R. Pereira

 Dr.^a Rita de Cássia Pereira
Curadora do Herbário IPA

 Consulta: *Gibbelly* Cavalcante da Silva - Cel.: 81 - 996752881

Procedência: PE - Bezerros - Bairro Santo Amaro - em área descampada, próximo à residência da coletora.

Determinada em: 18/02/2016

 Obs.: Material botânico em estudo pela aluna *Gibbelly* Cavalcante da Silva no curso de Pós Graduação da UFPE, Centro de Biociências, Dept.^a de Histologia, para fim de dissertação de Mestrado sob orientação da Prof.^a Dr.^a Ivone Souza.

 Resultado enviado por e-mail: gibbellysilva@asces.edu.br

 Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA
 Vinculado à Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária
 Av. Gal. San Martin, 1371 - *Gongol* - 50761-000 - Recife - PE - C.P. 1022
 CNPJ 10.912.292/0001-27 - RAEX: (81) 3154-7200 - Fax: (81) 3154-7211
 Home Page: www.ipa.br / E-mail: ipa@ipa.br

IPA – 77 anos semeando conhecimento