

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas

LOUISE MELO DE SOUZA OLIVEIRA

**ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE METABÓLITOS DE CACTACEAE
E *Micrococcus luteus***

RECIFE
2017

LOUISE MELO DE SOUZA OLIVEIRA

**ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE METABÓLITOS DE CACTACEAE
E *Micrococcus luteus***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração Biotecnologia, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Ciências Biológicas.

Orientador: Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia
Co-orientadora: Márcia Vanusa da Silva

RECIFE
2017

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Oliveira, Louise Melo de Souza

Atividades biológicas de metabólitos de Cactaceae e *Micrococcus luteus* / Louise Melo de Souza Oliveira- Recife: O Autor, 2017.

95 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Maria Teresa dos Santos Correia

Coorientadora: Márcia Vanusa da Silva

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Ciências Biológicas, 2017.

Inclui referências

1. Fitoquímica 2. Metabólitos 3. Cacto 4. *Micrococcus* I. Correia, Maria Teresa dos Santos (orient.) II. Silva, Márcia Vanusa da (coorient.) III. Título

572.2

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017- 417

LOUISE MELO DE SOUZA OLIVEIRA

**ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE METABÓLITOS DE CACTACEAE
E *Micrococcus luteus***

Tese apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, área de concentração: Biotecnologia.

Data de Aprovação: 29/05/2017

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a **Maria Tereza dos Santos Correia** - (Orientador/UFPE)

Prof.^a Dr.^a - **Márcia Vanusa da Silva** (UFPE)

Prof. Dr. **Thiago Henrique Napoleão** - (UFPE)

Prof.^a Dr.^a **Clébia Maria Alves de Almeida** (UFPE)

Prof.^a Dr.^a **Maria Luiza Ribeiro Bastos da Silva** (Faculdade São Miguel)

Dedico este trabalho aos meus pais,
meu irmão, minha avó, em especial
ao meu esposo Jadson Antunes e
minha filha Ana Clara. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me iluminar e permitir que esta etapa fosse concluída.

Aos meus pais Carlos Haroldo Oliveira e Eliane Oliveira por toda educação e ensinamento durante minha vida. A toda minha família Clarisse Souza, Alexandre Souza, Rosana Souza, Bárbara Souza e Lucas Oliveira por sempre acreditarem que sou capaz e que posso lutar pelos meus sonhos.

Ao meu esposo Jadson Antunes que está sempre ao meu lado me incentivando mesmo quando digo que não vou conseguir. Ana Clara minha filha a quem tenho um amor incondicional. Espero que um dia você se orgulhe de mim.

A minha orientadora Professora Maria Tereza dos Santos Correia, pela oportunidade, estímulo, compreensão, apoio e disposição.

A Marcia Vanusa da Silva por me acompanhar desde a graduação sempre acreditando no meu potencial, sempre conversando, me aconselhando. Nunca desistiu de mim.

Ao professor Antonio Jesús Meldendez Martinez por todo apoio e conhecimento durante minha estadia em Sevilla/ Espanha. Muchas Gracias.

A professora Thaíza Christina Montenegro Stamford pela parceria, compreensão e conhecimento durante a execução do projeto, no laboratório de microbiologia/ Departamento de Nutrição/UFPE.

Ao professor Ademir Araújo do Laboratório de análise de solo/LASO/UFPI, por gentilmente ceder o espaço do laboratório, para a conclusão dos experimentos. A todos os amigos do laboratório obrigado por me ajudarem nessa fase de adaptação.

Aos amigos de laboratório, Ana Paula Sant'Anna, Barbara Ramos, Bruno Souza, Cibele Alves, Clarissa França, Clovis Macêdo, Daniel Araújo, Isabelly

Bianca, Karine Schmidt, Sarah Romine, Tayane Mendes e Tulio Diego que fizeram parte do meu dia a dia durante esses quatro anos .Meu muito obrigado

À FACEPE pelo apoio financeiro, na tese e na mobilidade acadêmica para a Espanha.

A todos os funcionários, em especial ao técnico João Antonio, aos professores e amigos do Departamento de Bioquímica que ajudaram de certa forma no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os amigos que de alguma forma me apoiaram e contribuíram na realização e conclusão desse trabalho.

“A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios. Por isso, cante, chore, dance, ria e viva intensamente, antes que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos.”

(Charlie Chaplin)

RESUMO

Caatinga é um bioma com características distintas, encontrada apenas no território brasileiro, onde são encontradas muitas espécies endêmicas. A busca por novas moléculas biotivas é crescente, e os produtos naturais desempenham um papel significativo na procura por novos agentes terapêuticos. As Cactaceas que sobrevivem no ambiente da caatinga possuem adaptações anatômicas, fisiológicas e conseqüentemente modificações no metabolismo secundário. *Micrococcus luteus* é uma actinobactéria produtora do carotenoide amarelo, sarcinaxantina, esses pigmentos têm importantes funções biológicas, principalmente antioxidante. Neste contexto esse trabalho teve o objetivo de realizar uma revisão bibliográfica da família Cactaceae, analisar a atividade antimicrobiana e antioxidante de *Cereus jamacaru*, e identificar o pigmento carotenoide de *M. luteus*. Realizou-se um levantamento das espécies das cactaceas encontradas na região de Caatinga do Brasil, através de uma análise fitoquímica e farmacológica, evidenciando as principais atividades biológicas já descritas para essa família. Apesar do número reduzido de trabalhos observou-se que este grupo possui atividade antimicrobiana, antiviral, antiparasitária e antioxidante. *Cereus jamacaru* (mandacaru) é uma espécie pouco estudada do ponto de vista químico e farmacológico. Neste trabalho foi encontrado, em extrato metanólico, a presença de flavonoídes, fenilpropanoídes, monoterpênos, triterpeno e esteroides, possuindo atividade bactericida contra: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Apresentou também atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e ABTS(2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico). Duas cepas de *M. luteus* foram isoladas do solo e identificadas por análises bioquímicas e moleculares. O pigmento foi caracterizado através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e identificado como sarcinaxantina. Verificou-se também que este carotenoide possui atividade antioxidante, antimicrobiana e fator de proteção solar.

Palavras chaves: Caatinga, *Cereus jamacaru*, Actinobactéria, Antimicrobiano, Antioxidante, Carotenoide, Sarcinaxantina.

ABSTRACT

Caatinga is a biome with distinct characteristics, found only in Brazilian territory, and many endemic species are found. The search for new bioactive molecules is increasing, and natural products play a significant role in the search for new therapeutic agents. Cactaceae that survive in the caatinga environment have anatomical, physiological and consequent modifications in secondary metabolism. *Micrococcus luteus* is an actinobacterium producing the yellow carotenoid, sarcinaxanthin, these pigments have important biological functions, mainly antioxidant. In this context, the objective of this work was to carry out a bibliographic review of the Cactaceae family, to analyze the antimicrobial and antioxidant activity of *Cereus jamacaru*, and to identify the carotenoid pigment of *M. luteus*. A survey of the species of cactaceae found in the Caatinga region of Brazil was carried out through a phytochemical and pharmacological analysis, evidencing the main biological activities already described for this family. Despite the small number of studies, it was observed that this group has antimicrobial, antiviral, antiparasitic and antioxidant activity. *Cereus jamacaru* (mandacaru) is a species little studied from the chemical and pharmacological point of view. In this work, the presence of flavonoids, phenylpropanoids, monoterpenes, triterpenes and steroids was found in methanolic extract, having bactericidal activity against: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. It also showed antioxidant activity by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) and ABTS (2,2-azino-bis- (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) method). Two strains of *M. luteus* were isolated from the soil and identified by biochemical and molecular analyzes. The pigment was characterized by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and identified as sarcinaxanthin. This carotenoid was also found to have antioxidant, antimicrobial and sun protection factor.

Keyword: Caatinga, *Cereus jamacaru*, Actinobacteria, Antimicrobial, Antioxidant Carotenoid, Sarcinaxanthin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema mostrando a diversidade de Cactáceas no Brasil.....	15
Figura 2: Desenho esquemático de planta da família Cactaceae, evidenciando as flores laterais e as aréolas (espinhos).....	16
Figura 3: <i>Cereus jamacaru</i> em período chuvoso (A) e de seca (B).	17
Figura 4 : Partes anatômicas de <i>Cereus jamacaru</i> A- tronco verde; B- fruto imaturo; C- areólas; D- aréola aproximada; E- flores laterais fechadas; F- Vista superior do tronco com seis costelas; G- Corte transversal do tronco; H- Raiz	18
Figura 5: Forma radicalar (1) e não radicalar (2) do DPPH	23
Figura 6: Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio	23
Figura 7: Redução do complexo Fe ³⁺ a Fe ²⁺	24
Figura 8: Mecanismo de ação dos filtros inorgânicos (A), barreiras físicas que refletem a luz; e orgânicos(B) barreiras químicas que vão absorver e dissipar o calor.....	25

CAPÍTULO 1

Figura 1 Etapas da purificação de lectina a partir do Cactaceas.	51
---	----

CAPÍTULO 2

Figura 1: Perfil da síntese de estafiloxantina por cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> na presença do extrato metanólico <i>Cereus jamacaru</i> em diferentes concentrações: CIM (12,5mg/ml) ; CIM/2; CIM/4; CIM/8; CIM/16, do extrato metanólico de	80
Figura 2: Efeito da atividade antioxidante durante um período de incubação de 60 minutos do extrato metanólico de <i>C. jamacaru</i> em concentrações 1000,500 e 250µg/ml, no ensaio ABTS.....	81

CAPÍTULO 3

Figura 1: Perfil do cromatograma do extrato de FT 9.12 exibindo pico a 3.9 minutos (a). Espectro UV de absorção com pico 3.9 minutos (b):	89
Figura 2: Perfil do cromatograma do isolado FT 5.10 exibindo pico a 4.0 minutos (a). Espectro UV de absorção do isolado FT5.10 com pico 4.0 minutos (b):.....	89
Figura 3: Percentagem de sequestro de radical livre DPPH• do extrato metanólico dos isolados FT 9.12 e FT 5.10.....	90

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Lista das espécies de Cactaceas encontradas na região de Caatinga de acordo com Flora do Brasil (2016).....	38
Tabela 2: Espécies da família Cactaceae e os compostos já identificados	46
Tabela 3: Espécies da família cactaceae que já foram estudadas com atividade antimicrobiana contra os micro-organismos listados.	54

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Sistemas e reveladores para screening fitoquímico utilizado na técnica de cromatografia em camada fina (TLC).	79
Tabela 2: Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) expressas em mg.mL ⁻¹ , do extrato metanólico de <i>Cereus jamacaru</i> e a razão CBM/CIM, onde se a razão for ≤ 2 é Bactericida e se for > 2 é bacteriostático	80
Tabela 3: Atividade antioxidante do extrato metanólico de <i>C. jamacaru</i> em diferentes concentrações.....	81

CAPÍTULO 3

Tabela 1: Resultado das provas para identificação bioquímica para os isolados bacterianos.....	88
Tabela 2 Resultados de CIM (mg.mL ⁻¹) do extrato metanólico do isolado FT5.10 e FT9.12	91
Tabela 3: : Resultados de CBM (mg.mL ⁻¹) do extrato metanólico do isolado FT5.10 e FT9.12	91

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 BIOMA CAATINGA.....	13
1.2 CACTACEAE	14
1.3 MANDACARU (<i>Cereus jamacaru</i>)	16
1.4 MICRO-ORGANISMOS DA CAATINGA.....	19
1.4.1 Actnobactérias	19
1.5 CAROTENOIDES	20
1.6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	21
1.6.1 Atividade Antioxidante	22
1.6.2 Atividade Fotoprotetora	24
1.6.3 Atividade antimicrobiana	25
2 OBJETIVO	27
2.1 OBJETIVO GERAL	27
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
REFERÊNCIAS	28
CAPÍTULO 1	36
Cactaceae da Caatinga: uma revisão fitoquímica e farmacológica	37
CAPÍTULO 2	67
Atividades antimicrobiana e antioxidante de extrato metanólico de <i>Cereus jamacaru</i> DC. (Cactaceae	67
CAPÍTULO 3	82
Avaliação da produção de carotenoides e de suas atividades biológicas por <i>Micrococcus luteus</i> isolados do Semiárido brasileiro.....	82
CONSIDERAÇÕES FINAIS	95

1 INTRODUÇÃO

1.1 BIOMA CAATINGA

A Caatinga é um bioma com características distintas, encontrada apenas no território brasileiro, ocupando uma área de aproximadamente de 850.000 km², cerca de 11% do território nacional, que compreende a maior parte da Região Nordeste e norte do estado de Minas Gerais (DA SILVA, 2016). O clima predominante é o semiárido, o qual é marcado por irregularidade das chuvas, com grandes períodos de seca, deficiência hídrica, com temperaturas médias anuais elevadas e ecossistemas xerófilos (GIULIETTI; QUEIROZ, 2006)

Devido às suas particularidades, podem ser encontradas muitas espécies endêmicas que ao longo da evolução adquiriram modificações anatômicas, morfológicas e fisiológicas, como aprofundamento das raízes, expansão do caule, perda de folhas e ajuste do metabolismo osmótico (TROVÃO et al., 2007).

Uma adaptação característica da vegetação do bioma Caatinga é a perda das folhas durante o período de estiagem evitando a perda de água por transpiração. Por causa desta característica os índios tupi-guarani atribuíram o nome Caatinga que significa “mata branca”, em referência ao aspecto acinzentado que apresenta a vegetação no período de estiagem (BARBOSA et al., 2012). Além da perda de folhas, algumas espécies possuem a capacidade de armazenamento de substâncias nutritivas em suas raízes e caules. Outras possuem, em suas folhas, um revestimento lipídico, o que evita a perda de água para o ambiente, além de possuírem raízes profundas, que chegam a alcançar lençóis freáticos, o que permite manter partes das folhas durante o período de estiagem (DA SILVA, 2016).

Por apresentar uma paisagem de arbustos e árvores com folhas decíduas, o bioma é erroneamente considerado por muitos como frágil e com pouca biodiversidade. (ALVES; ARAÚJO; NASCIMENTO, 2009). Riegelhaupt e Pareyn (2010) apontam que a degradação do bioma é decorrente da necessidade energética da população e do crescimento populacional. Os recursos da Caatinga são utilizados por indústrias de gesso, cimento e siderúrgicas; para a pecuária extensiva; para a agricultura de baixa tecnologia; forragem animal (SOUZA, 2006). Com isso a Caatinga vem sendo

explorada de forma não sustentável, acelerando seu processo de degradação (SILVA, 2013).

A vegetação da Caatinga é bastante diversificada sendo representada por aproximadamente 5000 espécies de plantas, sendo 991 endêmicas deste bioma, o que corresponde a 20% do total de táxons registrados (FLORA DO BRASIL, 2016). As principais famílias da Caatinga são Fabaceae, Convolvulaceae, Euphorbiaceae, Malpighiaceae, Poaceae e Cactaceae (GIULIETTI; CONCEIÇÃO; QUEIROZ, 2006)

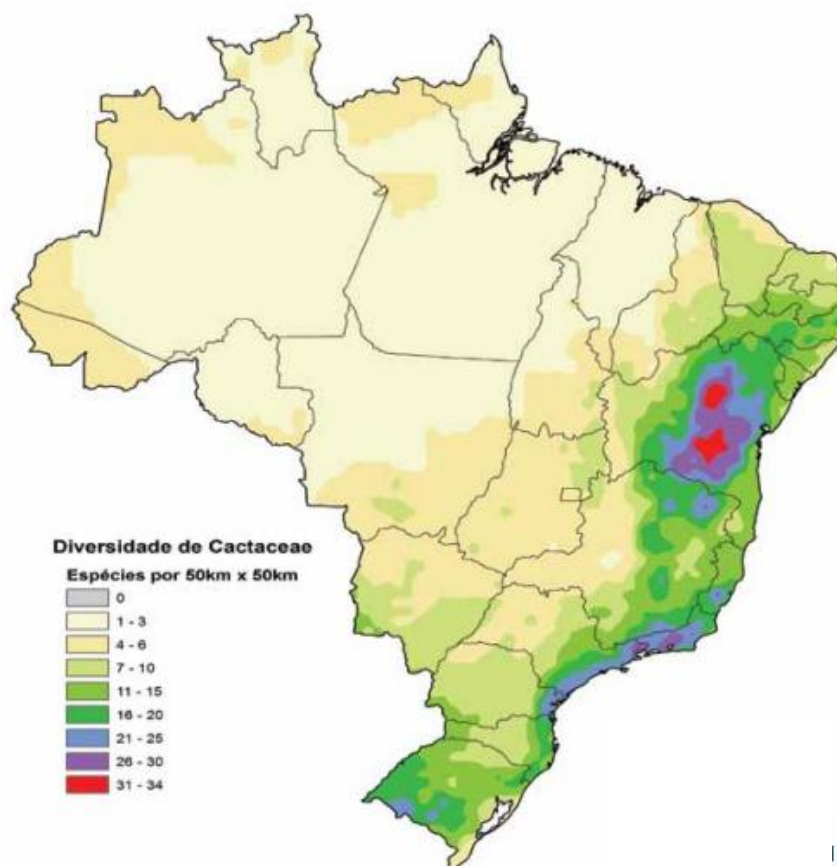
O solo sob a vegetação da Caatinga possui características próprias. É considerado um ambiente hostil para o desenvolvimento da maioria dos microrganismos, de forma que as espécies que conseguem sobreviver são bem adaptadas (SILVA; MARTINS; MARTINS, 2015; DUARTE et al., 2012).

Os microrganismos do solo são influenciados por vários fatores físicos e químicos, incluindo a disponibilidade de nutrientes, matéria orgânica, umidade do solo e temperatura (BLOEM et al., 1992; WARDLE, 1998). Em ambientes do semiárido todos esses fatores são geralmente desfavoráveis para o crescimento microbiano no solo e os que conseguem se adaptar são chamados extremófilos. Eles desenvolvem mecanismos bioquímicos para sobreviver e produzem moléculas com potencial biotecnológico de interesse, farmacêutico, cosméticos e de alimentício (MOROZKINA et al., 2010).

1.2 CACTACEAE

A família Cactaceae é constituída de 124 gêneros e aproximadamente 1.400 espécies (HUNT et al., 2006). No Brasil, estão registradas 200 espécies, e no bioma Caatinga cerca de 24 gêneros, com destaque aos gêneros *Cereus*, *Opuntia* e *Pilosocereus*, (ORTEGA-BAES; GODÍNEZ-ÁLVAREZ, 2006; ICMBio, 2011). Na figura 1 observa-se a distribuição da família no país.

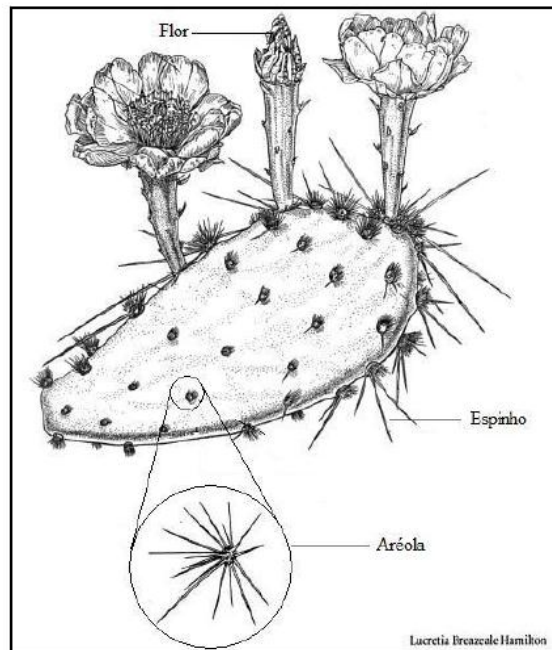
Figura 1: Esquema mostrando a diversidade de Cactáceas no Brasil



Fonte: ICMBIO (2011)

As cactáceas apresentam especializações anatômicas, morfológicas e funcionais. Conseguem rápida absorção, grande retenção e mínimo consumo de água, captada das chuvas ou do ar (RIZZINI, 1979). São perenes, suculentas, presente em vários habitats. Observam-se as seguintes modificações nas estruturas vegetativas: perda ou redução das folhas; o córtex e a medula são transformados em um tecido para armazenamento de água; os ramos laterais são transformados em grupos de espinhos centrais e radiais denominados aréolas (Figura 2) (ZAPPI; TAYLOR, 2008; ANDERSON, 2001).

Figura 2: Desenho esquemático de planta da família Cactaceae, evidenciando as flores laterais e as aréolas (espinhos).



Fonte: ANDERSON (2001)

Têm sido utilizadas para fins alimentícios (BOUAMAMA et al., 2011; LANGER; MERGENER, 2013; EL FINTI et al., 2013), terapêuticos (KARIMI et al., 2010; KARIMI et al., 2012; ASTELLO-GARCIA et al., 2013), místicos (ANDRADE, 2008), ecológicos, (COSTA et al., 2001; EL FINTI et al., 2013), como fonte de pigmentos (ELIAS et al., 2014), e ornamentação (CAVALCANTE et al., 2013).

1.3 MANDACARU (*Cereus jamacaru*)

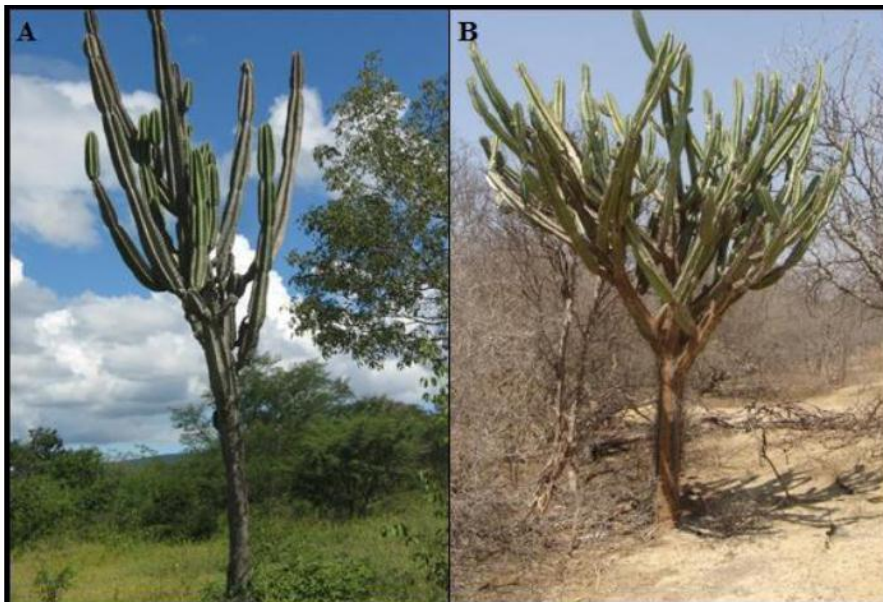
A palavra *Cereus* em latim significa “tocha”, uma alusão ao formato dos ramos desta espécie (DAVET, 2005). Pertencente à tribo Cereeae, o gênero *Cereus* (subfamília Cactoideae) compreende quatro subgêneros distribuídos na América do Sul, dentre os quais, o subgênero *Cereus* é encontrado em vários biomas, como Caatinga, Cerrado, Campos rupestres e Mata Atlântica (TAYLOR; ZAPPI, 2004).

Caracteriza-se por apresentar caule (cladódio) verde, alongado com gomos longitudinais, flores isoladas grandes e de colorido vistoso. Os frutos são basiformes e, em geral, grandes e vermelhos, de polpa adocicada, que são consumidos por animais. (ANDERSON, 2001; LANDGRAF; PAIVA, 2009).

Foi primeiramente descrito em 1628 por Hermann, logo depois em 1754 por Miller (BRITTON; ROSE, 1937). De acordo com Davet (2005), as suas espécies mais conhecidas e utilizadas pela população são: *Cereus adeemani*, *Cereus bicolor*, *Cereus comarapanus*, *Cereus friccie*, *Cereus jamacaru*, *Cereus hildmannianus*, *Cereus repandus*, *Cereus trigonodendron* e *Cereus vargasianus*.

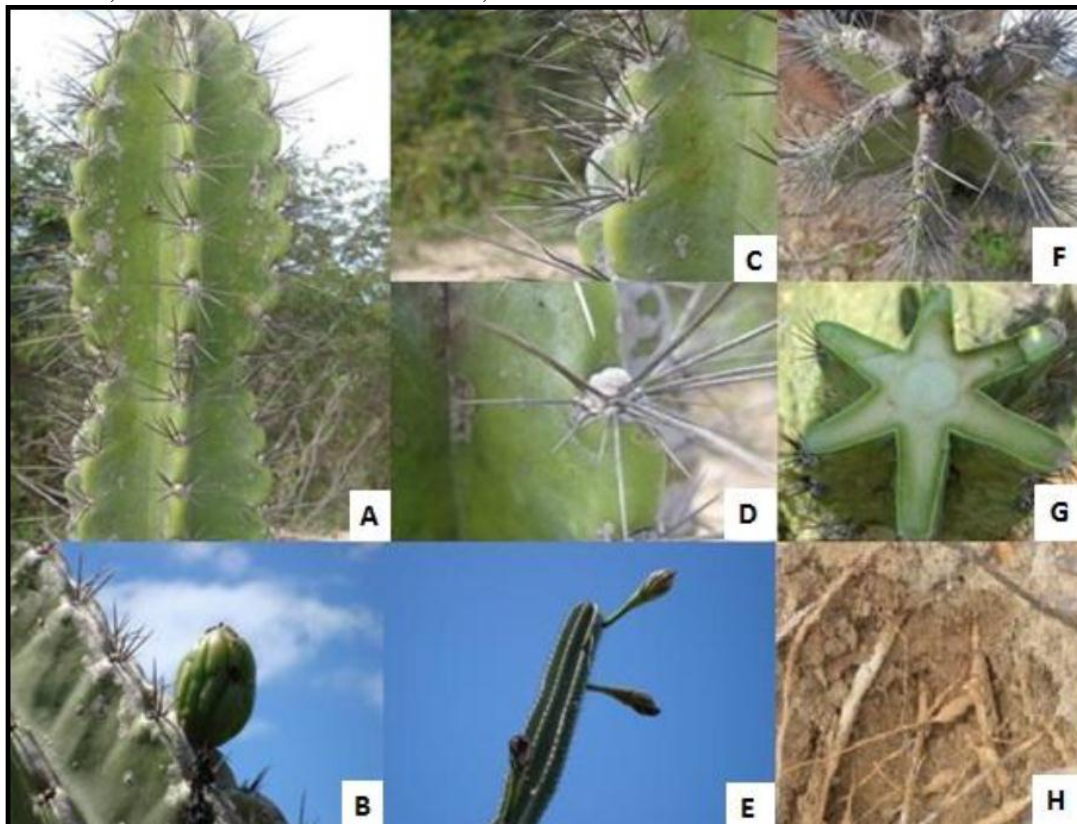
O cacto *C. jamacaru*, espécie nativa da Caatinga (Figura 3), cresce em solos pobres em nutrientes e pedregosos. Pode chegar a 10 metros de altura, com tronco lenhoso e muitos ramos eretos, dando ao topo do cacto um aspecto compacto. As aréolas são circulares, distantes de 2 cm a 5 cm entre si, sendo maiores no tronco principal. Os espinhos, de coloração amarela, vermelha ou marrom, são radiais, medindo de 9 a 30 cm de comprimento (DAVET, 2005). As flores são solitárias, noturnas, laterais e subapicais, brancas, de 20 cm a 30 cm de comprimento, 1,5 cm de diâmetro, recobertas de escamas largas e oblongas de cor verde-escura. Os frutos, nos quais se encontram inúmeras sementes de cor preta e bem pequenas, são elipsoides, de 05 cm a 12 cm de diâmetro, alaranjados ou vermelhos, com polpa mucilagínosa branca, de aroma suave, comestível e doce (MEIADO et al., 2010). Pode-se observar as principais características citadas na Figura 4.

Figura 3: *Cereus jamacaru* em período chuvoso (A) e de seca (B).



Fonte: Kavamura (2012)

Figura 4 : Partes anatômicas de *Cereus jamacaru* A- tronco verde; B- fruto imaturo; C- areólas; D- aréola aproximada; E- flores laterais fechadas; F- Vista superior do tronco com seis costelas; G- Corte transversal do tronco; H- Raiz



Fonte: Kavamura (2012)

A população do Nordeste utiliza as raízes do mandacaru em infusão (chá), como diuréticos e no tratamento de problemas renais, como anticonstipante, anti-hipertensivo, antirreumático e antiemético, no controle de diabetes, problema de vesícula, bronquite e ainda o tratamento de úlceras e combate ao escorbuto. (GONZÁLES-HERNÁNDEZ; VILLARREAL 2007; GUEDES et al., 2009 ; PAULINO et al., 2011).

Trabalhos científicos relatam a ação antimicrobiana e vasodilatadora (MESSIAS et al., 2010), anti-inflamatória, antinoceptiva (ANDRADE et al., 2006), antitumoral (OLIVEIRA; MACHADO 2003). Devido o mandacaru possuir atividade biológica comprovada cientificamente, Davet et al. (2009) sugerem que os pesquisadores olhem com mais atenção para esta espécie, valorizando sua constituição fitoquímica.

1.4 MICRO-ORGANISMOS DA CAATINGA

Os micro-organismos desempenham diversas funções ecológicas na manutenção da qualidade do ecossistema (MARSCHNER; CROWLEY; YANG, 2004). Dentre essas funções, podem facilitar a absorção de nutrientes pelas plantas (GYANESHWAR et al., 2002); auxiliar a fixação de nitrogênio (VITOUSEK et al., 2002); alterar a disponibilidade e a toxicidade de metais às plantas (BURD et al., 2000); e promover o crescimento de plantas (GLICK, 1995).

A composição da microbiota na rizosfera pode ser influenciada por fatores como a quantidade e o tipo de exsudatos radiculares, a espécie e a idade da planta, as condições do solo e do ambiente (MARSCHNER; CROWLEY; YANG, 2004). Há poucos estudos relacionando os micro-organismos existentes em locais de clima semiárido, mas vem crescendo o interesse por este tema nos últimos anos. Os principais encontrados neste tipo de ambiente pertencem aos filos Proteobacteria, Actinobacteria e Acidobacteria (CHANAL et al. 2006; BACHAR et al. 2010; NEILSON et al. 2012).

Entre os micro-organismos, as actinobactérias constituem um grupo representativo em termos de riqueza e diversidade. Este filo foi encontrado com grande abundância em amostras de rizosfera obtidas de cactáceas do semiárido mexicano em período de seca (AGUIRRE-GARRIDO et al., 2012). Estas bactérias crescem em condições extremas e possuem um tipo de adaptação que é a produção de pigmentos, os quais tem a função de proteger o microrganismo do dano oxidativo (CANGANELLA; WIEGEL, 2011; MANDELLI et al., 2012; SILVA; MARTINS; MARTINS, 2015).

1.4.1 Actinobactérias

O termo Actinobacteria é derivado do grego “aktis” (traço) e “mykes” (fungo), e designa um grupo de bactérias constituídas de micélios, com organização filamentosa, muitas vezes ramificada denominadas hifas, semelhantes às dos fungos, porém mais estreitas (OLIVEIRA et al., 2014).

São bactérias Gram positivas amplamente distribuídas nos ecossistemas terrestres e aquáticos. Este grupo apresenta ampla diversidade morfológica, podendo ser em forma de cocos (*Micrococcus*), coco-bacilo (*Arthrobacter*), outros em formas de hifas curtas e

rudimentares (*Nocardia spp.*) e micélio ramificado (*Streptomyces spp.*) (VENTURA et al., 2007). São microrganismos aeróbios e quimioautotróficos capazes de utilizar uma grande variedade de fontes nutricionais, inclusive polissacarídeos complexos (GOODFELLOW; WILLIAMS, 1983, BARKA et al., 2016)

As actinobactérias possuem importância para a ecologia do solo, participando dos processos de ciclagem de nutrientes, biorremediação e de compostagem, processos decorrentes da degradação enzimática de substratos orgânicos complexos, tóxicos e de resíduos de materiais utilizáveis na agricultura. (SILVA et al., 2015)

São produtores de compostos biologicamente ativos, tornando a pesquisa por novos produtos naturais altamente promissoras. A indústria farmacêutica possui interesse no estudo desses compostos, pois são metabólitos secundários com diversas estruturas químicas e atividades biológicas, dentre os quais se destacam os antibióticos. Também produzem diferentes tipos de compostos com atividades antitumoral, anti-inflamatória, antibacteriana e antioxidante (JANARDHAN et al., 2014; BÉRDY, 2012).

Dentre os produtores de compostos antioxidantes podemos destacar *Micrococcus luteus*, a qual é capaz de sobreviver sob condições de estresse de temperatura e pouca quantidade de nutrientes (UMADEVI; KRISHNAVENI, 2013). Esta espécie produz pigmentos carotenoides que apresentam características estruturais muito diferentes daquelas comumente encontrada em alimentos, tais como um maior número de átomos de carbono, de ligações duplas conjugadas e de grupos hidroxila, o que confere uma maior atividade antioxidante (NETZER et al., 2010; ALBRECHT et al., 2000; KLASSEN; FOGHT, 2011).

1.5 CAROTENOIDES

Os carotenoides são pigmentos originados da via biossintética dos terpenos, cuja coloração varia do amarelo ao vermelho e são encontrados em plantas, animais e microrganismos. Estes compostos têm atraído o interesse das indústrias farmacêuticas, cosmética, de alimentos e rações não só devido a sua coloração, mas também por serem precursores da vitamina A, por suas atividades antioxidantes e possíveis atividades anticancerígenas (KOPEC et al., 2012).

Os carotenoides são classificados em carotenos e as xantofilas. Os carotenos são compostos somente por átomos de carbono e hidrogênio, como o beta-caroteno e o licopeno. As xantofilas, por sua vez, são derivados oxigenados dos carotenos como a

zeaxantina, a cantaxantina, a espiriloxantina, a torularodina e a violaxantina (RIVERA; CANELAGARAYOA, 2012; MATA-GÓMEZ et al., 2014). Os carotenos são apolares e as xantofilas são mais polares, mas ainda insolúveis em água. Por isso, os carotenos são solúveis em solventes apolares como éter de petróleo, hexano, tolueno, enquanto as xantofilas são melhor solubilizadas em solventes polares como o metanol e etanol (RODRIGUES-AMAYA, 1999).

A grande maioria dos carotenoides possui 40 carbonos e são encontrados nos alimentos e uma pequena quantidade de carotenoides possui 50 carbonos e são produzidos por um número restrito de bactérias. Os carotenoides C50 são sintetizados por bactérias da ordem Actinomycetales (NETZER et al., 2010) e por bactérias Gram-negativas *Pseudomonas* (MIKI et al., 1994). Entre os carotenoides C50 conhecidos atualmente encontra-se a sarcinaxantina (NETZER et al., 2010).

Os carotenoides sintetizados por microrganismos têm a função de proteger as células contra as ações letais de radiação ionizante, radiação UV e de peróxido de hidrogênio. Ou seja, eles podem desempenhar um papel tanto na estabilização da membrana como também na proteção contra agentes oxidantes, e por isso estes compostos são essenciais para a sobrevivência dos microrganismos principalmente quando se localizam em ambientes hostis como o da Caatinga (MANDELI et al., 2012). Os carotenoides apresentam a capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio estabilizando o elétron desemparelhado do radical por ressonância, atuando dessa forma, como um composto capaz de inibir a oxidação de biomoléculas e protegendo os sistemas biológicos contra o dano oxidativo (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

1.6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

O metabolismo da planta pode ser dividido em duas fases. O metabolismo primário geram substâncias responsáveis por fazer com que os organismos sejam capazes de viver, crescer e se reproduzir. Dentre eles, estão as proteínas, os carboidratos, os lipídios e os ácidos nucleicos. Já as substâncias oriundas do metabolismo secundário expressam a individualidade das espécies e compreendem os compostos que desempenham algum papel importante para o bem-estar da espécie que o

produz, como a atuação na defesa contra predadores (DEWICK, 2002). As aplicações desses metabólitos para o ser humano são variadas, pois podem agir como agentes antimicrobianos ou antifúngicos, redutores do colesterol, imunossupressores, antiparasitários, herbicidas, entre outros (VAISHNAV; DEMAIN, 2010).

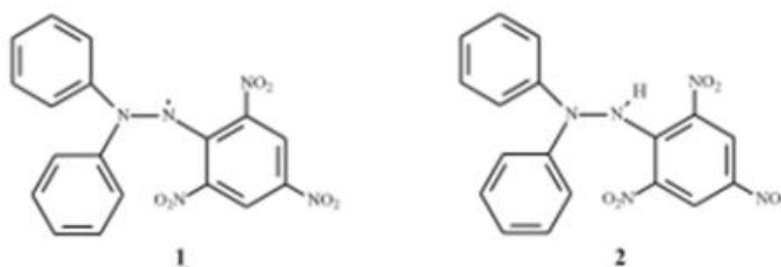
1.6.1 Atividade Antioxidante

De forma geral, denominam-se antioxidantes as substâncias que, quando presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato. A ação dos antioxidantes impede a propagação de radicais através de reação em cadeia, sendo neutralizados, formando produtos estáveis (SOARES, 2002; FLORA, 2009).

Enzimas antioxidantes intracelulares e ingestão de antioxidantes na dieta podem ajudar a manter uma adequada capacidade antioxidante no organismo (LÜ et al., 2010). Os antioxidantes naturais podem ser divididos em: enzimáticos e não enzimáticos. O primeiro grupo inclui as enzimas catalase, glutathione peroxidase e superóxido dismutase; o segundo inclui a glutathione, tióis, algumas vitaminas e metais, carotenoides, isoflavonas, polifenóis e flavonoides (SEIFRIED et al., 2007; CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Existem vários métodos para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas. Eles diferem entre si quanto ao mecanismo de reação, ou seja, podem neutralizar os radicais livres de diferentes formas, por isso, é necessário avaliar a capacidade antioxidante através de vários ensaios (ALVES et al., 2010). Um dos mais usados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2- difenil-1-picril-hidrazila – DPPH (Figura 5), de coloração púrpura, que ao ser oxidado modifica-se para amarelo. (ROGINSKY; LISSI, 2005).

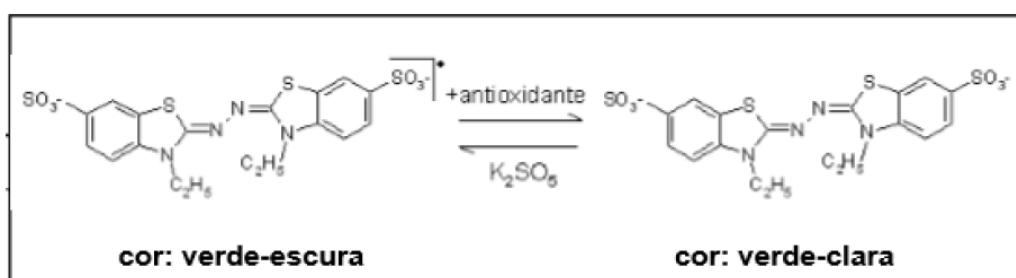
Figura 5: Forma radicalar (1) e não radicalar (2) do DPPH



Fonte: Alves et al. (2010)

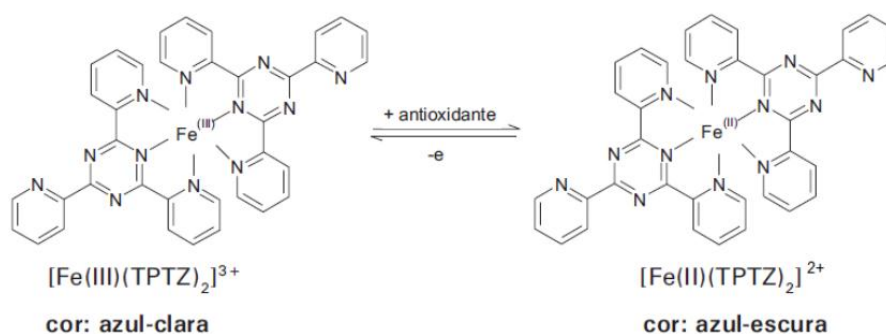
O método ABTS (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico) determina a atividade antioxidante total pela captura do radical $ABTS^{\bullet+}$ (Figura 6) . O princípio de reação é semelhante ao anterior. A diferença entre os dois radicais é que o DPPH é solúvel em solventes orgânicos, enquanto o $ABTS^{\bullet+}$ é solúvel tanto em água como em solventes orgânicos (RUFINO et al., 2007).

Figura 6: Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio



Fonte:Rufino et al (2007)

O método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) é baseado na capacidade de uma substância antioxidante reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} (Figura 7). Essa reação ocorre na presença de 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5- triazina (TPTZ) em condições ácidas, onde ocorre a formação de um complexo corado. Assim este complexo férrico-tripiridiltriazina (Fe^{3+} -TPZ) é reduzido ao complexo ferroso (Fe^{2+} -TPZ) na presença de um antioxidante (RUFINO et al., 2006).

Figura 7: Redução do complexo Fe³⁺ a Fe²⁺

Fonte: Rufino et al. (2006)

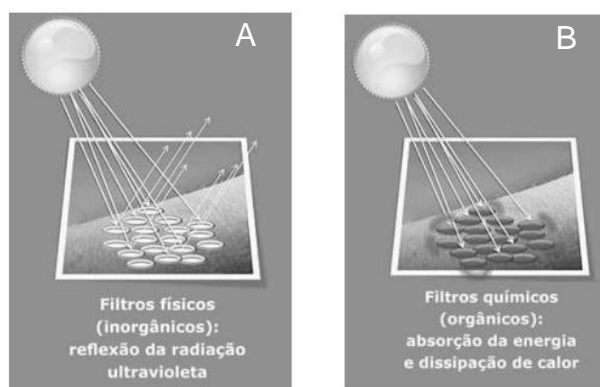
Por último, o método de descoloramento através de um sistema de co-oxidação do β -caroteno com ácido linoleico, é avaliado pela adição de uma amostra antioxidante que reage com o radical peroxil. O resultado é a peroxidação do ácido linoleico o que previne que esse radical abstraia o hidrogênio da molécula instaurada do β -caroteno, contribuindo para retardar o decaimento da coloração do β -caroteno. Sendo assim, quanto menor for a diferença de coloração maior será a atividade antioxidante da amostra analisada (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

1.6.2 Atividade Fotoprotetora

A proteção da pele dos efeitos ocasionados pela radiação solar é realizada por cuidados que vão desde a proteção física por meio do uso de roupas, até o uso de formulações cosméticas contendo filtro solar (MALBASA; BARON, 2010; GHAZI et al., 2011).

Os filtros solares são substâncias capazes de reduzir os efeitos da radiação sobre a pele por mecanismos específicos tais como: absorção, reflexão ou espalhamento da luz incidente (SAMBANDAN; RATNER, 2011). Estão classificados em físicos ou inorgânicos e químicos ou orgânicos, e tem relação com o mecanismo de ação envolvido no processo de fotoproteção (Figura 8).

Figura 8: Mecanismo de ação dos filtros inorgânicos (A), barreiras físicas que refletem a luz; e orgânicos(B) barreiras químicas que vão absorver e dissipar o calor.



Fonte Criado et al. (2012)

Gilabert e González (2010) mostram os avanços na área de fotoproteção, com o uso crescente de antioxidantes (quercetina, resveratrol) e extratos de plantas como agentes fotoprotetores. A eficácia da proteção usando substâncias extraídas de plantas e microorganismos vem sendo estudada por metodologias *in vitro* e *in vivo* (VELASCO et al., 2011; PETROVA et al., 2011; MENAA; MENAA, 2014).

1.6.3 Atividade antimicrobiana

O crescente uso indiscriminado de fármacos antimicrobianos é uma das causas do aparecimento de cepas bacterianas resistentes em escala mundial (VENTURA et al., 2016). Essa preocupação gera a necessidade de estudos para encontrar novas substâncias com propriedades antimicrobianas (MIKOLASCH et al., 2016).

Desde a antiguidade verifica-se que os produtos naturais exercem uma influência benéfica sobre a saúde humana e assim são utilizados como adjuvantes terapêuticos (CHING et al., 2006; HENDRICH, 2006). Por isso, o uso de plantas com propriedades farmacêuticas tem recebido crescente interesse na terapêutica homeopática e alopática (MOSSI et al., 2009).

O termo antibiótico, definido em 1942 por Selman A. Waksman, originalmente referia-se a qualquer produto microbiano antagônico ao crescimento do microorganismo (HUGHES; FENICAL, 2010). Um aspecto relevante na determinação da atividade antimicrobiana de uma substância, é a preocupação em relação aos aspectos toxicológicos, microbiológicos e legais pertinentes aos compostos naturais ou suas

combinações. Atualmente, no entanto, uma distinção comum utilizada entre os agentes antibacterianos é a de agentes bactericidas e bacteriostáticos. Substâncias bactericidas causam a morte e a desagregação da célula bacteriana e os agentes bacteriostáticos inibem a replicação bacteriana sem matar o microrganismo (PINTO et al., 2003). A distinção não é absoluta, e alguns agentes que são bactericidas contra determinados micro-organismos podem ser bacteriostáticos contra outros e vice-versa (LEEKHA et al., 2011).

Atualmente, existem vários métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos vegetais. Dentre eles destaca-se o teste de difusão em ágar, por ser de simples execução e baixo custo. A técnica de difusão em disco, aceita pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e estabelecida como padrão pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), consiste em impregnar pequenos discos de papel filtro com a solução em estudo, os quais são colocados sobre o meio de cultura sólido previamente inoculado em placas de Petri com diferentes cargas microbianas. Para analisar a atividade antimicrobiana em extratos vegetais também é feita a determinação da mínima quantidade da substância necessária para inibir o crescimento de um microrganismo, sendo este valor conhecido por Concentração Inibitória Mínima (CIM). Este método apresenta alta sensibilidade e demanda uma quantidade mínima da substância teste, possibilitando um maior número de réplicas e, então, um aumento na confiabilidade dos resultados (OSTROSKY et al., 2008)

Apesar dessas técnicas já estarem bem estabelecidas alguns fatores podem influenciar na determinação da CIM de extratos de plantas são eles: técnica aplicada na preparação da substância teste, o microrganismo e a cepa utilizada, à origem da planta, a época da coleta, se os extratos foram preparados a partir de plantas frescas ou secas e a quantidade de extrato testada (FENNEL et al., 2004).

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Contribuir com os estudos de bioprospecção do bioma Caatinga, propondo-se, realizar uma revisão ampla sobre a família Cactaceae e a atividade biológica de seus metabólitos, avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante do extrato metanólico de *Cereus jamacaru* e realizar uma análise química e biológica dos pigmentos encontrados em *Micrococcus luteus*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão bibliográfica da família Cactaceae com ênfase na composição química e atividades biológicas.
- Avaliar a atividade antibacteriana do extrato metanólico de *Cereus jamacarus*, através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM).
- Determinar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato metanólico de *C.jamacaru*.
- Realizar a identificação bioquímica e molecular do *Microoccus luteus* produtor de pigmento amarelo.
- Realizar a extração e caracterização dos carotenoides de *Micrococcus luteus* por técnica cromatográfica;
- Avaliar as atividades antioxidante, antimicrobiana e fotoprotetora *in vitro* dos carotenoides de *Micrococcus luteus*.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE-GARRIDO, J.F.; MONTIEL-LUGO, D.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, CC.; TORRES-CORTES, G.; MILLÁN, V.; TORO, N.; MARTÍNEZ-ABARCA, F.; RAMÍREZSAAD, H.C. Bacterial community structure in the rhizosphere of three cactus species from semi-arid highlands in central Mexico. **Antonie van Leeuwenhoek**, Wageningen, v. 101, n. 4, p. 891-904, 2012.
- ALBRECHT M, TAKAICHI S, STEIGER S, WANG Z, SANDMANN G. Novel hydroxycarotenoids with improved antioxidative properties produced by gene combination in *Escherichia coli*. **Nature Biotechnology**, v.18, p. 843–846, 2000.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ALVES, J. J. A.; ARAÚJO, M. A.; NASCIMENTO, S. S. Degradação da Caatinga: Uma Investigação Ecogeográfica. **REV. CAATINGA** v.22, n3, julho/setembro, Mossoró-RN: 2009. p. 126-135.
- ANDERSON, E.F. **The cactus family**. Oregon: Timber Press, 2001. 776p. Bouamama, B., Salem, A. B., Zoghلامي, N., Zemni, H., Mliki, A., Ghorbel, A. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from immature anthers of *Opuntia ficus-indica*. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, v.86, n. 4, p. 313–318, 2011.
- ANDRADE, C. T.S.; MARQUES, J. G. W., ZAPPI, D. C. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Campinas, 8, n. 3, p. 36-42, 2006.
- ANDRADE, T., S., A. Cactos úteis na Bahia: ênfase no semi-árido. Pelotas: Ed. UESB.. 128p 2008
- ASTELLO-GARCÍA, M. G., ROBLES-MARTÍNEZ, M., ROSA, A. P. B. SANTOS-DÍAZ, M. S. Establishment of callus from *Opuntia robusta* Wendl., a wild and medicinal cactus, for phenolic compounds production. *African Journal of Biotechnology*. v.12, n.21, p.3204-3207, 2013.
- BACHAR, A.; AL-ASHHAB, A.; SOARES, M.I.M.; SKLARZ, M.Y.; ANGEL, R.; UNGAR, E. D.; GILLOR, O. Soil microbial abundance and diversity along a low precipitation gradient. **Microbial Ecology**, New York, v. 60, p. 453-461, 2010.
- BARBOSA, D. C. A.; BARBOSA, M. C. A.; LIMA, L. C. M. Fenologia de Espécies Lenhosas da Caatinga. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Org.). **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: Ed. Universitária da UFPE., p. 657- 694. 2012
- BARKA EA, VATSA P, SANCHEZ L, GAVEAU-VAILLANT N, JACQUARD C, KLENK H-P, CLÉMENT C, OUHDOUCH Y, VAN WEZEL GP. Taxonomy, Physiology and Natural Products of *Actinobacteria*. **Microbiol Mol Bio Rev.** 80:1-43 2016.

BÉRDY J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. **J Antibiot.** 65:385-95.2012.

BLOEM, J., DE RUITTER, P.C., KOOPMAN, G.J., LEBBINK, G., BRUSSARD, L. Microbial numbers and activity in dried and rewetted arable soil under integrated and conventional management. **Soil Biology Biochemistry**, v. 24, p.655-665, 1992.

BRITTON, N. L.; ROSE, J. The Cactaceae: Descriptions and Illustrations of Plants of the Cactus Family. 1nd edn. **Dover Publications**, New York. 1937.

BURD, G.I.; DIXON, D.G.; GLICK, B.R. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 46, n. 3, p. 237-245, 2000.

CANGANELLA, F.; WIEGEL, J. Extremophiles: from abyssal to terrestrial ecosystems and possibly beyond. **Naturwissenschaften**, v.98, p. 253–279, 2011.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I.C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v 51, p. 15-25, 2013.

CAVALCANTE, A., TELES, M., MACHADO, M. Cactos do semiárido do Brasil: guia ilustrado. Campina Grande: Instituto Nacional do Semiárido, INSA, 2013. 103p.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHANAL, A.; CHAPON, V.; BENZERARA, K.; CHRISTEN, R.; ACHOUAK, W.; BARRAS, F.; HEULIN, T. The desert of Tataouine: an extreme environment that hosts a wide diversity of microorganisms and radiotolerant bacteria. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 514-525, 2006.

CHING, Y.W.; BALUNAS, M. J.; CHAI, H. B.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from natural sources. **AAPS J**, v. 8, n° 2, p. 239-253, 2006.

COSTA, S. P., SOARES, A. A., ARNHOLDT-SCHMITT, B. Studies on the Induction of Embryogenic Globular Structures in *Opuntia ficus-indica*. **J. PACD**, p. 66-74, 2001.

CRIADO, P. R.; MELO, J. N.; OLIVEIRA, Z. N. Topical photoprotection in childhood and adolescence. **J Pediatr.** 88(3):203-10, 2012.

DA SILVA, MAGNO FERREIRA. **Uma análise do bioma caatinga no município de gado bravo-pb através do índice de vegetação por diferença normalizada.** Campina Grande: UEPB, 2016 51p. Dissertação (Mestrado)- Programa de pós-graduação em ciência e tecnologia ambiental, Centro de ciências e tecnologia. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande 2016

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

DAVET, A.; CARVALHO, J. L. S.; DADALT, R. C.; VITUOSO, S., DIAS, J. F.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. *Cereus jamacaru*: a non buffered LC quantification method to nitrogen compounds. **Chromatographia**, v. 69, n. 2, p. 245-247, 2009.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. 2 ed. Chichester: **John Wiley & Sons Ltd.** 2002. 507 p.

DUARTE, R.T.D.; NÓBREGA, F.; NAKAYAMA, C.R.; PELLIZARI, V.H. Brazilian research on extremophiles in the context of astrobiology. **International Journal of Astrobiology**, v. 11, n.4, p.325–333, 2012.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno / ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH • **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446–452, 2006.

EL FINI, A., EL BOULLANI, R., AABD, A. N., MSANDA, F., SERGHINI, M. A. EL MOUSADIK, A. *In Vitro* Propagation of Three Moroccan Prickly Pear Cactus *Opuntia* and Plant Establishment in Soil. **Notulae Scientia Biologicae**. v.5, n.1, p.39-44, 2013.

ELIAS, H. TAHA, R. M., HASBULLAH, N. A., MOHAMED, N. MANAN, A. A., MAHMAD, N., MOHAJER, S. The effects of plant growth regulators on shoot formation, regeneration and coloured callus production in *Echinocereus cinerascens* in vitro. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v. 120, p.729-739, 2014.

FENNEL CW, LINDSEY KL, MC GAW LJ, SPARG SG, STAFFORD GI, ELGORASHI EE, GRACE OM, VAN STADEN J. Review: Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacological screening and toxicology. **J. Ethnopharmacol** 94: 205-217.2004

FIRÁKOVÁ, S.; ŠTURDIKOVA, M.; MUCKOVA, M. Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. **Biologia Bratislava**, Bratislava, v. 62, n. 3, p. 251-257, 2007.

FLORA, S.J.S. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 4, p. 191-206, 2009.

GHAZI, S.; COUTEAU, C.; PAPARIS, E.; COIFFARD, L. J. Interest of external photoprotection by means of clothing and sunscreen products in young children. **J Eur Acad Dermatol Venereol**. 26:1026-30, 2011.

GILABERT, Y.; GONZÁLEZ, S. Update on Photoprotection. *Actas Dermosifiliogr*. 101(8):659–672, 2010.

GIULIETTI, A. M.; CONCEICAO, A.; QUEIROZ, L. P. **Diversidade e caracterização das fanerógamas do semi-árido brasileiro**. Recife: Associação Plantas do Nordeste,. 488 p 2006.

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

GLICK, B.R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 41, p. 109-117, 1995.

GOODFELLOW M, WILLIAMS, ST. Ecology of Actinomycetes. **Ann Rev Microbiol.** 37:189-216 1983.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; BRUNO, R. D. L. A.; BRAGA-JÚNIOR, J. M.; MEDEIROS, M. S. D. Germinação de sementes de *Cereus jamacaru* D.C. em diferentes substratos e temperaturas. **Acta Scientiarum. Biological Sciences** v. 31, n. 2, 159-164, 2009.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G.N.; PAREKH, L.J.; POOLE, P.S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 245, p. 83- 93, 2002.

HENDRICH, A. B. Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. **Acta. Pharmacol. Sin.**, v. 27, n. 1, p. 27-40, 2006.

HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, O.; VILLARREAL, O. B. Crassulacean acid metabolism photosynthesis in columnar cactus seedlings during ontogeny: the effect of light on nocturnal acidity accumulation and chlorophyll fluorescence. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 8, 2007.

HUGHES, C. C.; FENICAL, W. Antibacterials from the sea. **Chemistry**, v. 16, n. 42, p. 12512-12525, 2010

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

ICMBIO-INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE-. **PORTARIA MMA/ICMBIO N° 316/2009**: Plano de ação nacional para conservação das cactáceas. Brasília, Brasil: Brasil,. 113 p. 2011

JANARDHAN, A., KUMAR A.P., VISWANATH, B., SAIGOPAL, D.V.R., NARASIMHA, G. Production of Bioactive Compounds by Actinomycetes and Their Antioxidant Properties. **Biotechnology Research International**, p. 1-8, 2014

KARIMI, N., KIANAMIRI, S., MOUSAVI, E., BARKHORDAR, M. 2012. Study of genotype effect, different media and time of explanting on callus induction in *Cereus peruvianus* Mill.(Cactaceae). **Trakia Journal of Sciences**. v.10, p.19-22, 2012.

KARIMI, O., SAIDI, A. The molecular basis for stress-induced acquisition of somatic Embryogenesis. **Molecular Biology Reports**. v.37, p.2493–2507, 2010.

KAVAMURA, VANESSA NESSNER. **Bactérias associadas às cactáceas da Caatinga: promoção de crescimento de plantas sob estresse hídrico**. Piracicaba: USP,2012 246 p. Tese(Doutorado)- Programa de pós-graduação em ciências. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo. Piracicaba 2012

KLASSEN, J.L., FOGHT, J.M. Characterization of *Hymenobacter* isolates from Victoria Upper Glacier, Antarctica reveals five new species and substantial non-vertical evolution within this genus. **Extremophiles**, v, 15, p. 45–57, 2011.

KOPEC, R.E.; COOPERSTONE, J.L.; CICHON, M. J.; SCHWARTZ, S.J. Analysis Methods of Carotenoids. Analysis of Antioxidant-Rich Phytochemicals, First Edition. **Published by John Wiley & Sons, Ltd.**, capítulo 4, pag 105-148, 2012.

LANDGRAF, P. R. C.; PAIVA, P. D. O. Produção de mudas para jardim no estado de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 127-131, 2009.

LANGER, D. F. E MERGENER, R.A. Cultivo *in vitro* de *Cereus hildmannianus* K. Shum. **Unoesc & Ciência – ACBS**. v.4, n.1, p.7-14, 2013.

LEEKHA, S.; TERRELL, C. L.; EDSON, R. S. General principles of antimicrobial therapy. **Mayo Clin. Proc.**, v. 86, n. 2, p. 156-167, 2011.

LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 20 dez. 2016.

LÜ, J.; LIN, P. H.; YAO, Q.; CHEN, C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **Molecular Medicine** v.14, n. 4, p. 840-860, 2010.

MALBASA, C.; BARON, E. D. Photoprotection with clothing and sunscreens. **G Ital Dermatol Venereol**. 145:509-14, 2010.

MANDELLI, F.; MIRANDA, V.S; RODRIGUES, E; MERCADANTE, A.Z. Identification of carotenoids with high antioxidant capacity produced by extremophile microorganisms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p.1781–1790, 2012.

MARSCHNER, P.; CROWLEY, D.; YANG, C.H. Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type. **Plant and Soil**, The Hague, v. 261, n. 1/2, p. 199-208, 2004.

MATA-GÓMEZ, L.C.; MONTAÑEZ, J.C.; MÉNDEZ-ZAVALA, A; AGUILAR, C.N. Biotechnological production of carotenoids by yeasts na overview. **Microbial cell factories**, v.13, n.12, p.1-11, 2014.

MEIADO, M.V.; ALBUQUERQUE, L.S.C.; ROCHA, E.A.; ROJAS-ARECHIGA, M. & LEAL, I.R.. Seed germination responses of *Cereus jamacaru* DC. ssp. *jamacaru* (Cactaceae) to environmental factors. **Plant Species Biology** 25: 120-128. 2010

MEIADO, MARCOS VINICIUS. **Germinação de cactos do Nordeste do Brasil**. Recife-UFPE,2012 142p. Tese (doutorado). Programa de pós-graduação em Biologia Vegetal. Centro de Ciências biológicas. Universidade Federal de Pernambuco, Recife 2012.

MENAA, F., MENAA, A. Chapter 64 – Skin Photoprotection by Polyphenols in Animal Models and Humans. **Polyphenols in Human Health and Disease**. 1:831–838, 2014.

MESSIAS, J. B.; CARACIOLO, M. C.; OLIVEIRA, I. M. D.; MONTARROYOS, U. R.; BASTOS, I. V. G. A.; GUERRA, M. D. O.; SOUZA, I. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratas no segundo terço da gestação submetidas à ação de extrato metanólico de *Cereus jamacaru* D.C., Cactaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 478-483, 2010.

MIKI W, OTAKI N, YOKOYAMA A, IZUMIDA H, SHIMIDZU N. Okadaxanthin, a novel C50-narotenoid from a bacterium, *Pseudomonas* sp. KK10206c associated with marine sponge, *Halichondria okadai*. *Experientia*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 50, n.7, p.684–686, 1994.

MIKOLASCH A.; HILDEBRANDT, O; SCHLÜTER, R.; HAMMER, E.; WITT, S.; LINDEQUIST, U. Targeted synthesis of novel β -lactam antibiotics by laccase-catalyzed reaction of aromatic substrates selected by pre-testing for their antimicrobial and cytotoxic activity. **Applied Microbiology and Biotechnology**, p.1-15 2016.

MOSSI, A. J.; MAZUTTI, M.; PAROU, L N.; CORAZZA, M. L.; DARIVA, C.; CANSIAN, R. L.; OLIVEIRA, J. V. Chemical variation of tannins and triterpenes in Brazilian populations of *Maytenus ilicifolia* Mart. *Ex Reiss. Braz. J. Biol.*, v. 69, n. 2, p. 339-345, 2009.

MOROZKINA EV, SLUTSKAYA ES, FEDOROVA TV, TUGAY TI, GOLUBEVA LI, KOROLEVA OV. Extremophilic microorganisms: biochemical adaptation and biotechnological application. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 46: p. 1–14, 2010.

NEILSON, J.W.; QAUDE, J.; ORTIZ, M.; NELSON, W.M.; LEGATZKI, A.; TIAN, F.; LACOMB, M.; BETANCOURT, J.L.; WING, R.A.; SODERLUND, C.A.; MAIER, R.M. Life at the hyperarid margin: novel bacterial diversity in arid soils of the Atacama Desert, Chile. **Extremophiles**, Tokyo, v. 16, n. 3, p. 553-566, 2012.

NETZER, R.; STAFSNES, M. H; ANDREASSEN, T.; GOKSØYR, A.; BRUHEIM P.; TRYGVE B. Biosynthetic Pathway for -Cyclic Sarcinaxanthin in *Micrococcus luteus*: Heterologous Expression and Evidence for Diverse and Multiple Catalytic Functions of C50 Carotenoid Cyclases. **Journal of Bacteriology**, v, 192, N 21, p. 5688–5699, 2010.

OLIVEIRA, A. J. B.; MACHADO, M. F. P. S. Alkaloid production by callous tissue cultures of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). **Applied Biochemical and Biotechnology**, v. 104, n. 2, p. 149-155, 2003.

OLIVEIRA, A.P.G., SABINO, S.M., GANDINE, S.M., MOULIN, T., AMARAL, A.A. Importância das actinobactérias em processos ecológicos, industriais e econômicos. **Enciclopédia Biosfera**, v.18, p.3938-3952, 2014.

ORTEGA-BAES, P.; GODÍNEZ-ÁLVAREZ, H. Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. **Biodiversity & Conservation**, v. 15, n. 3, p. 817-827, 2006.

OSTROSKY, ELISSA A.; MIZUMOTO, MIRIAM K.; LIMA, MARCOS E. L.; KANEKO, TELMA M.; NISHIKAWA, SUZANA O.; FREITAS, BEATRIZ R.. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301- 307, 2008.

PAULINO, R. C.; HENRIQUES, G. P. D. S. A.; COELHO, M. D. F. B.; NASCIMENTO-ARAÚJO, P. V. Riqueza e importância das plantas medicinais do Rio Grande do Norte. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, p. 157-168, 2011.

PETROVA, A.; DAVIDS, L. M.; RAUTENBACH; F.; JEANINE, L. Marnewick. Photoprotection by honeybush extracts, hesperidin and mangiferin against UVB-induced skin damage in SKH-1 mice. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. 103:126–139, 2011.

PINTO TJA, KANEKO TM, OHARA MT Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 325 p.2003.

RIEGELHAUPT, E. M.; PAREYN, F. G. C. **A Questão Energética**. In: **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da caatinga**. Serviço Florestal Brasileiro, Brasília: 2010

RIVERA, S.M.; CANELA-GARAYOA, R. Analytical tools for the analysis of carotenoids in diverse materials. **Journal of Chromatography A**, v.1224, p.1-10, 2012.

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

RODRIGUES-AMAYA, B. D. A Guide to Carotenoids Analysis in Foods. Washington, D.C.: **International Life Science Institute** Prece, p. 2-14, 1999.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+. **Comunicado Técnico 128**, Embrapa - Fortaleza, CE, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Comunicado Técnico 125**, Embrapa - Fortaleza, CE, 2006.

SAMBANDAN, D. R.; RATNER, D. Sunscreens: an overview and update. **J Am Acad Dermatol**. 64(4):748-58, 2011.

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

SEIFRIED, H. E. *et al.* A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v 18, n. 9, p.567-579, 2007.

SILVA, B. B. Aplicações Ambientais Brasileiras com Geoprocessamento e Sensoriamento Remoto. **ADUFCG**. Campina Grande: 2013

SILVA, V.M.A.; MARTINS, C.M.; MARTINS, S.C.S. Atividade celulolítica de actinobactérias de região semiárida do Ceará. **Enciclopédia biosfera**, v.11 n.21, p. 2026, 2015.

SILVA, V.M.A.S.; BRITO, F. A. E., RAMOS, K.A., SILVA R. M., MARTINS, C.M., MARTINS, S.C.S. Atividade Enzimática de Actinobactérias do Semiárido. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.08, p. 560-572, 2015.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.**, Campinas. v.15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUZA, M. J. N. A problemática ambiental: cenários para o Bioma Caatinga no Nordeste do Brasil. In: SILVA, J. B.; LIMA, L. C.; DANTAS, E. W. C. (Org.). **Panorama da geografia brasileira**. São Paulo: Annablume, 2006. v. 2, p. 119-13.

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

TROVÃO, D. M. B. M.; FERNANDES, P. D.; ANDRADE, L. A.; DANTAS NETO, J. Variações Sazonais de Aspectos Fisiológicos de Espécies da Caatinga. **REV. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.11, n.3. Campina Grande: p.307–311,2007.

UMADEVI, K.; KRISHNAVENI, M. Antibacterial activity of pigment produced from *Micrococcus luteus* KF532949. **International Journal of Chemical and Analytical Science**, v.4, p. 149-152, 2013

VAISHNAV, PREETI; DEMAIN, ARNOLD L. Unexpected applications of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 223 – 229, 2010.

VELASCO, M.V.R; BALOGH, T.S; PEDRIALI, C.A. *et al.* Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (in vitro) – revisão. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n.1, p. 27-34, 2011

VENTURA, M., CANCHAYA, C., CHANDRA, G., FITZGERALD, G. F., CHATER, K.F., SINDEREN, D. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.71, p. 495-548, 2007.

VENTURA,P.A.O.; JESUS, J.P.O., NOGUEIRA, J.R.S; GALDOS-RIVEROS, A.C. Análise fitoquímica e avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de diferentes tipos de extratos de *Plantago major* L. (Plantaginaceae).v.28 p 33-39. **Infarma ciências farmacêuticas** 2016.

VITOUSEK, P.M.; CASSMAN, K.; CLEVELAND, C.; CREWS, T.; FIELD, C.B.; GRIMM, N.B.; HOWARTH, R.W.; MARINO, R.; MARTINELLI, L.; RASTETTER, E.B.; SPRENT, J.I. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. **Biogeochemistry**, Dordrecht, v. 57/58, p. 1-45, 2002.

WARDLE, D.A. Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: a global -scale synthesis. **Soil Biology Biochemistry**, v.30, p.1627-1637, 1998.

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

CAPÍTULO 1

Cactaceae da Caatinga: uma revisão fitoquímica e farmacológica
Manuscrito a ser passado para o inglês e submetido ao Periódico: Journal
of Ethnopharmacology

Normas para submissão no periódico disponível em: <https://www.elsevier.com/journals/journal-of-ethnopharmacology/0378-8741/guide-for-authors>

Cactaceae da Caatinga: uma revisão fitoquímica e farmacológica

Resumo

A busca por novas moléculas biotivas é crescente, e os produtos naturais desempenham um papel significativo na procura por novos agentes terapêuticos. As Cactaceas que sobrevivem no ambiente da Caatinga possuem adaptações anatômicas, fisiológicas e conseqüentemente modificações no metabolismo secundário. Neste contexto esse trabalho teve o objetivo de realizar uma revisão bibliográfica da família Cactaceae. Realizou-se um levantamento das espécies encontradas na região de Caatinga do Brasil. Diversos trabalhos conseguiram isolar compostos importantes e vários autores relataram atividade antimicrobiana, antiviral, antiparasitária e antioxidante. No entanto várias espécies não possuem registros de atividade biológica, mostrando que é necessário estimular estudos químicos e biológicos da família.

Palavra chave: Produtos naturais, Cactos, Antimicrobiano, Antiviral, Antioxidante, Antiparasitário

1 Cactaceae

A família Cactaceae compreende 127 gêneros e cerca de 1.438 espécies distribuídas quase exclusivamente na América tropical e subtropical, do Canadá à Patagônia. Apenas *Rhipsalis baccifera* (J.M. Muell.) ocorre apenas na região Paleotropical que compreende a região da África tropical (Hunt et al., 2006). Existem quatro centros de diversidade para as Cactaceae (Taylor & Zappi, 2004). A primeira área está no centro do México e sudoeste dos Estados Unidos da América. O segundo centro encontram-se aproximadamente 18% dos gêneros e está nos Andes, incluindo partes do Peru, Bolívia, sul do Equador e nordeste do Chile. O terceiro centro de diversidade está localizado na área central e sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentinam (Hunt 1992). No Nordeste do Brasil, domínio fitogeográfico de Caatinga, são registrados 25 gêneros e 125 táxons (95 espécies e 30 subespécies) (Flora do Brasil 2016). Na tabela 1 estão listadas as espécies de Cactaceas encontradas na Caatinga.

Tabela 1: Lista das espécies de Cactaceas encontradas na região de Caatinga de acordo com Flora do Brasil (2016).

Espécies	Sinônimos
<i>Arrojadoa albiflora</i> Buining & Brederoo	
<i>Arrojadoa bahiensis</i> (P.J.Braun & Esteves) N.P.Taylor & Egli	
<i>Arrojadoa dinae</i> Buining & Brederoo	
<i>Arrojadoa marylandiae</i> Soares Filho & M.Machado	
<i>Arrojadoa multiflora</i> Ritter	
<i>Arrojadoa penicillata</i> (Gürke) Britton & Rose	
<i>Arrojadoa rhodantha</i> (Gürke) Britton & Rose	
<i>Brasilicereus markgrafii</i> Backeb. & Voll	
<i>Brasilicereus phaeacanthus</i> (Gürke) Backeb.	
<i>Brasilopuntia brasiliensis</i> (Willd.) A.Berger	<i>Opuntia brasiliensis</i> (Willd.) Haw.
	<i>Brasilopuntia subacarpa</i> Rizzini & A.Mattos
	<i>Brasilopuntia brasiliensis</i> (Willd.) A.Berger
<i>Cereus albicaulis</i> (Britton & Rose) Luetzelb.	
<i>Cereus jamacaru</i> DC.	
<i>Cereus jamacaru</i> DC. subsp. <i>jamacaru</i>	
<i>Cereus jamacaru</i> subsp. <i>calcirupicola</i> (F.Ritter) N.P.Taylor & Zappi	
<i>Cipocereus pusilliflorus</i> (Ritter) Zappi & N.P.Taylor	
<i>Coleocephalocereus aureus</i> Ritter	

Coleocephalocereus decumbens Ritter

Coleocephalocereus goebelianus (Vaupel) Buining

Coleocephalocereus purpureus (Buining & Brederoo) Ritter

Discocactus bahiensis Britton & Rose

Discocactus catingicola Buining & Brederoo

Discocactus zehntneri Britton & Rose

Discocactus zehntneri Britton & Rose subsp. *Zehntneri*

Discocactus zehntneri subsp. *boomianus* (Buining & Brederoo) N.P.Taylor & Zappi

Epiphyllum phyllanthus (L.) Haw.

Epiphyllum phyllanthus (L.) Haw. subsp. *Phyllanthus*

Espositoopsis dybowskii (Rol.Goss.) Buxb.

Facheiroa cephaliomelana Buining & Brederoo

Facheiroa cephaliomelana Buining & Brederoo subsp. *Cephaliomelana*

Facheiroa cephaliomelana subsp. *estevesii* (P.J.Braun) N.P.Taylor & Zappi

Facheiroa squamosa (Gürke) P.J.Braun & Esteves

Facheiroa ulei (Gürke) Werderm.

Coleocephalocereus fluminensis subsp. *decumbens* (Ritter) N.P.Taylor & Zappi

Discocactus pachythele Buining & Brederoo

Discocactus silicicola Buining & Brederoo

Discocactus piauiensis P.J.Braun & Esteves

Discocactus heptacanthus subsp. *catingicola* (Buining & Brederoo) N.P.Taylor & Zappi

Discocactus boomianus Buining & Brederoo

Phyllocactus phyllanthus (L.) Link

Epiphyllum phyllanthus (L.) Haw. var. *phyllanthus*

Facheiroa tenebrosa P.J.Braun & Esteves

Harrisia adscendens (Gürke) Britton & Rose

Hatiora salicornioides (Haw.) Britton & Rose

Hylocereus setaceus (SalmDyck)

R.Bauer

Leocereus bahiensis Britton & Rose

Melocactus azureus Buining & Brederoo

Melocactus bahiensis (Britton & Rose) Luetzelb.

Melocactus bahiensis (Britton & Rose) Luetzelb. subsp. *bahiensis*

Melocactus bahiensis subsp. *amethystinus* (Buining & Brederoo) N.P.Taylor

Melocactus braunii Esteves

Melocactus brederooianus Buining

Melocactus concinnus Buining & Brederoo

Melocactus conoideus Buining & Brederoo

Melocactus deinacanthus Buining & Brederoo

Melocactus ernestii Vaupel

Hariota salicornioides DC.

Hariota villigera K.Schum.

Cereus setaceus SalmDyck

Selenicereus setaceus (SalmDyck)

Berg

Selenicereus rizzinni Scheinvar

Cereus triangularis K.Schum.

Heliocereus coccineus (DC.)Scheinvar

Melocactus azureus Buining & Brederoo subsp. *Azureus*

Melocactus longispinus Buining & Brederoo

Melocactus erythracanthus Buining & Brederoo

Melocactus interpositus Ritter

Melocactus ernestii subsp. *longicarpus* (Buining & Brederoo) N.P.Taylor

Melocactus ernestii Vaupel subsp. *Ernestii*

Melocactus ferreophilus Buining & Brederoo

Melocactus glaucescens Buining & Brederoo

Melocactus inconcinnus Buining & Brederoo

Melocactus lanssensianus P.J.Braun

Melocactus levitestatus Buining & Brederoo

Melocactus oreas Miq.

Melocactus oreas Miq. subsp. *Oreas*

Melocactus oreas subsp. *cremnophilus* (Buining & Brederoo) P.J.Braun

Melocactus pachyacanthus Buining & Brederoo

Melocactus pachyacanthus Buining & Brederoo subsp. *pachyacanthus*

Melocactus pachyacanthus subsp. *viridis* N.P.Taylor

Melocactus paucispinus Heimen & R.J.Paul

Melocactus salvadorensis Werderm.

Melocactus sergipensis N.P.Taylor & M.V.Meiado

Melocactus violaceus Pfeiff.

Melocactus violaceus subsp. *ritteri* N.P.Taylor

Melocactus zehntneri (Britton & Rose) Luetzelb.

Micranthocereus dolichospermaticus (Buining & Brederoo) F.Ritter

Micranthocereus flaviflorus Buining & Brederoo

Melocactus azureus subsp. *ferreophilus* (Buining & Brederoo)
N.P.Taylor

Melocactus lanssensianus P.J.Braun

Melocactus saxicola Diers & Esteves

Micranthocereus polyanthus (Werderm.) Backeb.

Micranthocereus polyanthus subsp. *alvini* M.Machado & Hofacker

Micranthocereus polyanthus (Werderm.) Backeb. subsp. *Polyanthus*

Micranthocereus purpureus (Gürke) F.Ritter

Micranthocereus streckeri Van Heek & Van Criek.

Nopalea cochenillifera (L.) SalmDyck

Opuntia ficusindica(L.) Mill.

Pereskia aculeata Mill.

Pereskia aureiflora Ritter

Pereskia bahiensis Gürke

Pereskia bleo (Kunth) DC.

Pereskia grandifolia Haw.

Pereskia grandifolia Haw. subsp. *grandifolia*

Pereskia stenantha Ritter

Pilosocereus azulensis N.P.Taylor & Zappi

Pilosocereus brasiliensis (Britton & Rose) Backeb.

Pilosocereus catingicola (Gürke) Byles & Rowley

Pilosocereus catingicola (Gürke) Byles & Rowley subsp. *catingicola*

Pilosocereus catingicola subsp. *salvadorensis* (Werderm.) Zappi

Pilosocereus chrysostele (Vaupel) Byles & G.D.Rowley

Pilosocereus densiareolatus F.Ritter

Peireskia aculeata Plum.

Pereskia grandiflora Haw.

Peireskia grandifolia Haw.

Pilosocereus flavipulvinatus (Buining & Brederoo) Ritter

Pilosocereus flexibilispinus P.J.Braun & Esteves

Pilosocereus floccosus Byles & Rowley

Pilosocereus floccosus subsp. *quadricostatus* (Ritter) Zappi

Pilosocereus glaucochrous (Werderm.) Byles & G.D.Rowley

Pilosocereus gounellei (F.A.C.Weber) Byles & Rowley

Pilosocereus gounellei (F.A.C.Weber) Byles & Rowley subsp. *gounellei*

Pilosocereus magnificus (Buining & Brederoo) Ritter

Pilosocereus multicostratus Ritter

Pilosocereus pachycladus F.Ritter

Pilosocereus pachycladus F.Ritter subsp. *Pachycladus*

Pilosocereus pachycladus subsp. *pernambucoensis* (Ritter) Zappi

Pilosocereus pentaedrophorus (Cels) Byles & Rowley

Pilosocereus pentaedrophorus (Cels) Byles & Rowley subsp.
Pentaedrophorus

Pilosocereus pentaedrophorus subsp. *robustus* Zappi

Pilosocereus piauhyensis (Gürke) Byles & G.D.Rowley

Pilosocereus splendidus Ritter

Pilosocereus tuberculatus (Werderm.) Byles & G.D.Rowley

Pseudoacanthocereus brasiliensis (Britton & Rose) Ritter

Quiabentia zehntneri (Britton & Rose) Britton & Rose

Pilocereus floccosus Backeb. & Voll

Pilosocereus cenepequei Rizzini & A.Mattos

Pilosocereus subsimilis Rizzini & A.Mattos

Pilosocereus pentaedrophorus subsp. *robustus* Zappi

Pseudoacanthocereus boreominarum Rizzini & A.Mattos

Rhipsalis floccosa SalmDyck ex Pfeiff.

Rhipsalis floccosa subsp. *oreophila* N.P.Taylor & Zappi

Rhipsalis hileiabaiana N. Korotkova & Barthlott

Rhipsalis lindbergiana K.Schum.

Rhipsalis paradoxa (SalmDyck ex Pfeiff.) SalmDyck

Rhipsalis paradoxa subsp. *septentrionalis* N.P.Taylor & Barthlott

Rhipsalis russellii Britton & Rose

Stephanocereus leucostele (Gürke) A.Berger

Stephanocereus luetzelburgii (Vaupel) N.P.Taylor & Egli

Tacinga braunii Esteves

Tacinga funalis Britton & Rose

Tacinga inamoena (K.Schum.) N.P.Taylor & Stuppy

Tacinga palmadora (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy

Tacinga saxatilis (Ritter) N.P.Taylor & Stuppy

Tacinga saxatilis subsp. *estesvii* (P.J.Braun) N.P.Taylor & Stuppy

Tacinga subcylindrica M.Machado & N.P.Taylor

Tacinga weneri (Eggl) N.P.Taylor & Stuppy

Rhipsalis baccifera subsp. *hileiabaiana* N.P.Taylor & Barthlott

Opuntia rubescens K.Schum.

Tacinga inamoena (K.Schum.) N.P.Taylor & Stuppy subsp. *Inamoena*

Opuntia inamoena K.Schum.

Opuntia palmadora Britton & Rose

Tacinga inamoena subsp. *subcylindrica* M.Machado & N.P.Taylor

Opuntia weneri Eggl

2 Perfil Fitoquímico das Cactaceas

Com relação ao perfil fitoquímico das cactáceas, dentre as espécies citadas na Tabela 2, duas se sobressaem como as mais estudadas *Opuntia ficus-indica* e *Pereskia bleo*. A espécie *O. ficus-indica* se evidencia como uma boa fonte natural de energia, nutrientes e antioxidantes como a vitamina C (El-Samahy et al., 2006), valores significativos de vitaminas A, B1, B6 e E também foram relatados (Hassan et al., 2011).

A baixa acidez aliada ao alto teor de açúcar faz desta espécie um adequado aditivo na produção de diversos alimentos (açúcares 88%; proteínas 4,5%, fibras 1,4%, pectinas 2,3%) (El-Samahy et al., 2006; Salim et al., 2009), e alguns de seus compostos podem vir a ser usados também como corantes alimentares, dentre eles estão os pigmentos como betanina foram relatados e isolados (Butera et al., 2002; Salim et al., 2009; Kaur et al., 2012)

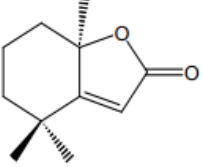
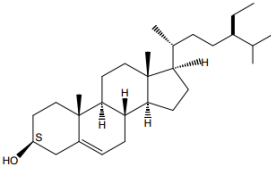
Butera et al. (2002) afirmam que betanina é responsável pela cor vermelha dos frutos e que associado a pigmentos polifenólicos oferecem uma cor amarelada. Os pigmentos betanina e indicaxantina foram isolados e se mostraram mais promissores que o Trolox na atividade antioxidante.

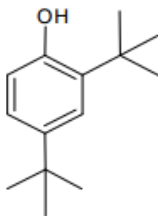
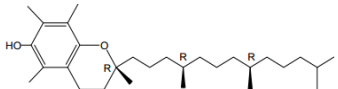
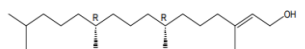
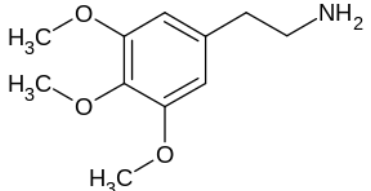
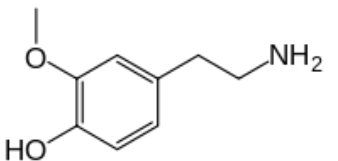
Kim et al. (2016) concentraram-se em apenas isolar compostos de interesse (Tabela 2) mas não relataram ensaios biológicos. Hassan et al. (2011) relataram que o suco do fruto de *O. ficus-indica* possui potencial de restaurar tecidos do fígado, pâncreas e rim após danos. Através de estudos com ratos foi possível evidenciar que valores de superóxido dismutase, glutatona reduzida, colesterol HDL, proteína e glicogênio hepático voltaram aos seus níveis normais após o tratamento com *O. ficus-indica*. Os compostos registrados são altos níveis de fenóis, flavonoides, carotenoides, vitaminas e aminoácidos livres, no entanto não se provou quais grupos de compostos são os responsáveis pelas atividades citadas (Hassan et al., 2011).

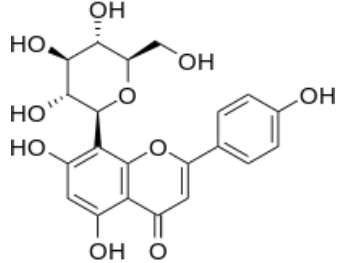
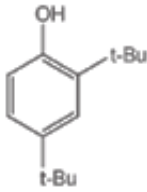
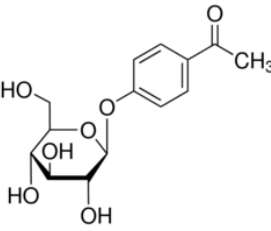
Extrato em acetato de etila e compostos isolados das folhas de *Pereskia bleo* tiveram sua atividade citotóxica analisada frente a diferentes linhagens celulares (KB, MCF7, Caski, HCT 116, A549 e MRC-5). O composto 2,4-di-terc-butifenol (Tabela 2) mostrou-se como o mais promissor, apresentou baixa citotoxicidade frente a células normais (Malek et al. 2009). Já Guilhon et al. (2015) trabalharam com folhas e isolaram sitosterol e vitexina, ambos mostraram atividade antinociceptiva.

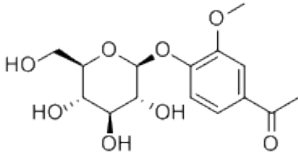
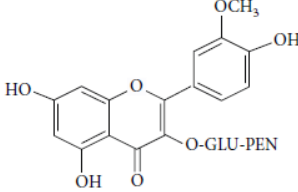
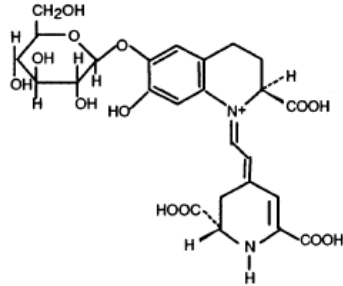
Antunes-Ricardo et al. (2015) avaliaram o extrato do cladódio *P. bleo* e seus respectivos compostos isolados em atividades *in vitro* e *in vivo*. A produção de óxido nítrico foi testado em células RAW 264.7 e estimulado com lipopolissacarídeo, e os estudos *in vivo* foram realizadas pelo modelo de edema de ouvido induzido por óleo de cróton. O extrato e o isolado isorhametina-glucosil-rhamonoida (IGR) suprimiram a produção de óxido nítrico *in vitro* (125ng/mL) sem afetar a viabilidade celular, da mesma forma IGR inibiu o edema de ouvido ($77 \pm 5,7\%$) igualando aos efeitos da indometacina ($69 \pm 5,3\%$). Tanto o IGR como o extrato inibiram também a produção de Cox-2, TNF α e IL-6. Desta forma o composto isolado IGR se mostrou um potencial anti-inflamatório.

Tabela 2: Espécies da família Cactaceae e os compostos já identificados

Espécie	Composto isolado	Estrutura	Tecido	Referência
<i>Pereskia bleo</i>	Dihydroactini-diolida		Folhas	Malek et al. (2009)
<i>Pereskia bleo</i>	β -sitosterol		Folhas	Malek et al. (2009) Abdul-Wahab et al.(2012)

<i>Pereskia bleo</i>	2,4-di-terc-butilfenol		Folhas	Malek et al. (2009)
<i>Pereskia bleo</i>	α -Tocoferol		Folhas	Malek et al. (2009)
<i>Pereskia bleo</i>	Phytol		Folhas	Malek et al. (2009)
<i>Pereskia bleo</i>	3,4-dimetoxi-Beta-fenetilamina			Doetsch et al. (1980)
<i>Pereskia bleo</i>	Mescalina			Doetsch et al. (1980)
<i>Pereskia bleo</i>	3-metoxitiramina			Doetsch et al. (1980)

<i>Pereskia bleo</i>	Vitexina		Folhas	Abdul-Wahab et al. (2012) Guilhon et al.(2015)
<i>Pereskia bleo</i> <i>Pereskia grandifolia</i>	Sitosterol 2,4-di-tert-butilfenol			Guilhon et. al. (2015) Malek et al. (2009)
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Isorhamnetina 3-O-β-D-glucopiranósido		Frutos	Kim et al. (2016)
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Narcissin		Frutos	Kim et al.(2016)
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Benzil-O-β-D-glucopiranósido		Frutos	Kim et al. (2016)
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Picein		Frutos	Kim et al. (2016)

<i>Opuntia ficus-indica</i>	Androsin		Frutos	Kim et al.(2016)
<i>Opuntia ficus-indica</i>	1-O-feruloil-β-D-glucopiranosido		Frutos	Kim et al.(2016)
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Isorhamnetina-glucosil-pentosida (IGP)		Cladódio	Antunes-Ricardo et. al (2014)
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Betanina		Frutos	Sreekanth et al.(2007) Butera et al.(2002)

3 Lectinas de Cactaceas

Lectinas são proteínas ou glicoproteínas de origem não-imunológica que possuem pelo menos um domínio não-catalítico que se liga reversivelmente a monossacarídeos ou oligossacarídeos específicos (Lam; Ng, 2011). O domínio de reconhecimento a carboidrato (CRD) nas lectinas forma uma estrutura “double-loop” estabilizada por duas pontes dissulfeto altamente conservadas, localizadas na base dos loops; propiciando a ligação das lectinas aos carboidratos solúveis ou à uma porção glicídica presente em uma glicoproteína ou glicolípido, fazendo com que as mesmas normalmente aglutinem certas células animais e/ou precipitem glicoconjugados (Movafagh et al., 2013; Gasmi et al., 2017).

As lectinas são amplamente distribuídas na natureza, podendo ser encontradas como monômeros, homo- e heterodímeros, bem como moléculas homo- e heterotetraméricas; já foram isoladas de vírus, fungos, bactérias, invertebrados, organismos unicelulares, animais e plantas (Dias et al., 2015). As lectinas de plantas constituem proteínas importantes para sua defesa, pois essas moléculas bioativas são capazes de reconhecer e interagir com carboidratos específicos oriundos de organismos invasores ou de estruturas da parede de células vegetais danificadas (Lannoo; Van Damme, 2014). Essas lectinas de plantas têm se apresentado como valiosas ferramentas nas pesquisas biomédicas, devido à sua capacidade de ligar-se aos glicanos de receptores nas superfícies celulares podendo desencadear sinalização celular e respostas bioquímicas (Souza et al., 2013).

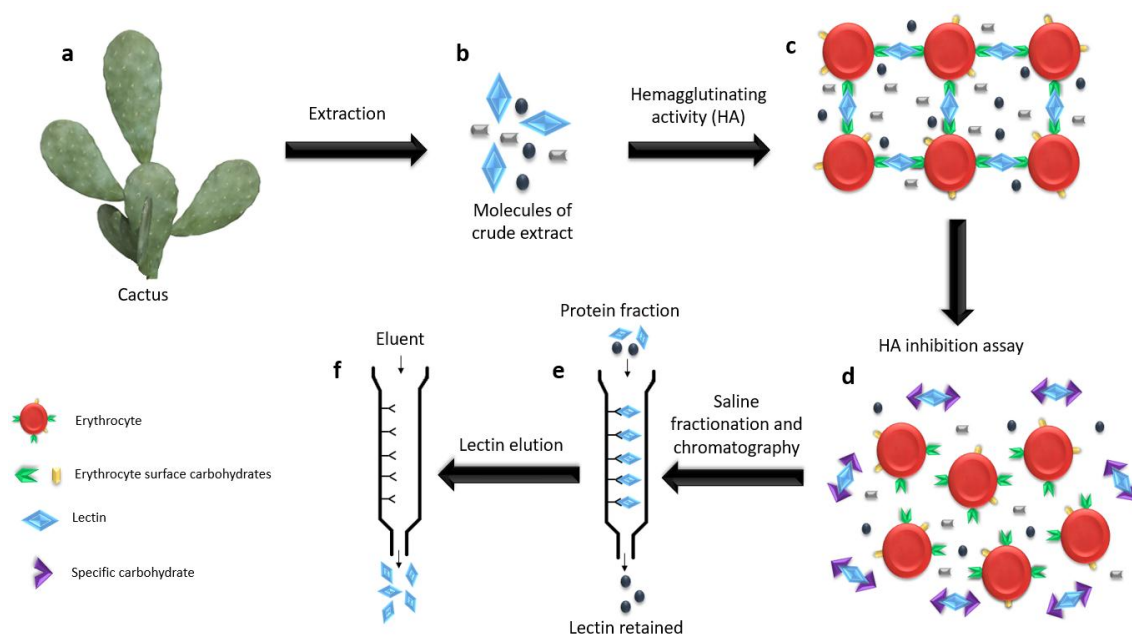
A maioria das lectinas de plantas é encontrada como proteínas de armazenamento nas sementes, mas também já foram purificadas de outros órgãos incluindo bulbo, tubérculo, cascas, folhas e frutos (Ingale; Hivrale, 2013). Essas proteínas ligadoras de carboidratos estão presentes em muitas famílias de plantas e são mais abundantes na família Fabaceae (John et al., 2013).

A Figura. 1 ilustra o processo de purificação de lectina a partir de uma planta pertencente à família Cactaceae (Figura 1a). Na investigação da presença de lectinas no extrato da planta (Figura 1b) deve-se fazer o ensaio da hemaglutinação, conhecido como atividade hemaglutinante (HA), como ilustra a Figura 1c. As lectinas interagem com porções de açúcar na superfície dos eritrócitos interligando-os (aglutinação) formando uma rede ou malha de hemácias. Para indicar a especificidade da lectina a ser purificada se faz necessário realizar um ensaio chamado de inibição da HA conforme é mostrado

na Figura 1d. Neste ensaio de inibição, utiliza-se carboidratos em diferentes concentrações capazes de impedir a aglutinação e, assim, determinar a afinidade e especificidade da lectina de interesse (Adamová et al., 2014).

Geralmente o extrato bruto contendo a lectina passa por um fracionamento preliminar, por exemplo por precipitação com sulfato de amônio, com o intuito de obter um fração proteica desprovida de componentes indesejáveis como polissacarídeos. A purificação final é realizada por meio da cromatografia (Figura 1e), sendo usualmente utilizada a cromatografia de afinidade em adsorventes constituídos por sistemas poliméricos e os mais usuais são à base de polissacarídeos tal como a Sephadex (Karnchanatat, 2012). Depois adiciona-se um eluente específico para obter a lectina pura (Figura 1f).

Figura 1 Etapas da purificação de lectina a partir do Cactaceas. O processo inicia-se pela obtenção do órgão ou tecido do Cactus (a) que passa pelo processo de extração até obter um extrato bruto que contém a lectina juntamente com outras moléculas (b). O ensaio de HA é realizado para a identificação de lectina no extrato que consegue se ligar aos carboidratos na superfície dos eritrócitos promovendo a interligação dessas células (c). A inibição de HA ocorre quando um carboidrato específico passa a se ligar à lectina e esta deixa o sítio de ligação nos eritrócitos (d). A purificação final ocorre geralmente após um fracionamento do extrato bruto e a fração proteica é submetida à coluna cromatográfica (e) para depois a lectina pura ser eluída da coluna através de um eluente específico (f)



Poucas lectinas têm sido extraídas das cactáceas, as primeiras foram duas isolectinas obtidas do caule de *Machaerocereus eruca*, denominadas de MEA_I e MEA_{II}, através da cromatografia de afinidade mucina-Sepharose 4B, ambas com especificidade

pela galactose com alta afinidade por O-glicanos (Zenteno et al. 1988; Zenteno et al., 1995). A combinação da cromatografia de interação hidrofóbica com a cromatografia de afinidade numa coluna com eritrócitos humanos imobilizados levou ao isolamento e purificação de quatro isolectinas (ME-C2, -D2, -E2 e -F2) do caule de *M. eruca*, as quais promoveram uma supressão da resposta imune humoral nesses animais em resposta aos antígenos particulados (Zenteno et al., 1991).

Outra lectina que também foi isolada de uma espécie pertencente à família Cactaceae é a OfiL, purificada dos cladódios de *Opuntia ficus indica* pela cromatografia em coluna de quitina e Sephadex G-25, sendo um único polipetídeo com massa molecular de 8,4 KDa. OfiL apresentou atividade antifúngica frente a *Colletotrichum gloeosporioides*, *Candida albicans*, *Fusarium decemcelulare*, *F. lateritium*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum* e *F. solani* (Santana et al., 2009). OfiL também apresentou atividade termiticida contra operários e soldados *Nasutitermes corniger*, mostrando-se como uma nova ferramenta para o controle dessa espécie de cupim (Paiva et al., 2011).

Uma grande diversidade de aplicações biológicas é atribuída para as lectinas de plantas, como por exemplo, sendo mediadores da resposta inflamatória e imune; possuindo ação cicatrizante, antimicrobiana e antitumoral; atuando como marcadores histoquímicos e em biossensores de doenças (Coelho et al., 2017). Diante desta gama de aplicações e do ínfimo número de investigações sobre lectinas em cactáceas, é necessário mais pesquisas para tentar identificar e isolar essas proteínas bioativas em espécies de cactos que podem ter um potencial uso biotecnológico.

4 Atividade Biológica

4.1 Atividade Antimicrobiana

O homem já utiliza produtos naturais como adjuvantes terapêuticos, desde a antiguidade (Ching et al., 2006; Hendrich, 2006). O termo antimicrobiano engloba uma grande variedade de agentes farmacêuticos que incluem drogas antibacterianas, antifúngicas, antivirais e antiparasitárias. Destes, os agentes antibacterianos e antifúngicos são os mais comumente utilizados e, portanto, é o foco de diversos trabalhos científicos (Leekha et al., 2011).

Dos métodos utilizados para determinação da atividade antimicrobiana destaca-se o teste de difusão em ágar, por ser de simples execução e baixo custo. Consiste em impregnar pequenos discos de papel filtro com a solução em estudo, os quais são

colocados sobre o meio de cultura sólido previamente inoculado em placas de Petri com diferentes cargas microbianas. Para analisar a atividade antimicrobiana em extratos vegetais também é feita a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), a qual é definida pela quantidade da substância teste necessária para inibir o crescimento de um microrganismo, além deste determina-se a Concentração Bactericida Mínima (CBM), que define a concentração mínima utilizada da substância teste que causa morte bacteriana. Estes métodos apresentam alta sensibilidade e demanda uma quantidade mínima de substância teste, possibilitando um maior número de réplicas e, então, um aumento na confiabilidade dos resultados (Ostrosky et al., 2008). Existem diversos estudos que mostram a eficácia antimicrobiana da família Cactaceae. Na tabela 3 podemos observar os estudos realizados com Cactaceas e sua ação frente a microorganismos patogênicos.

Tabela 3: Espécies da família cactaceae que já foram estudadas com atividade antimicrobiana contra os micro-organismos listados.

Cactaceae	Microrganismo	Referências
<i>Cereus jamacaru</i>	<i>Streptococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i>	Davet et al. (2009)
<i>Epiphyllum oxypetalum</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Klebsiella pneumonia</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Upendra and Khandelwal (2012)
<i>Hylocereus monacanthus</i>	<i>Salmonella typhi</i>	Escobar et al. (2010)
<i>Hylocereus sp.</i>	<i>Escherichia. coli,</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Streptococcus epidermidis,</i> <i>Salmonella enterica,</i> <i>Klebsiella pneumoniae,</i> <i>Candida albicans,</i> <i>Aspergillus niger,</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Torres- Olvera et al. (2014)
<i>Hylocereus polyrhizus</i> <i>Hylocereus undatus</i>	<i>Bacillus cereus</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Listeria monocytogenes ,</i> <i>Enterococcus faecalis,</i> <i>Salmonella typhimurium,</i> <i>Escherichia coli ,</i> <i>Klebsiella pneumoniae,</i> <i>Yersinia enterocolitica,</i> <i>Campylobacter jejuni</i>	Nurmahani et al. (2012)

<i>Nopalea cochenillifera</i>	<p><i>Escherichia coli</i>, <i>Salmonella enterica</i>, <i>Candida albicans</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Staphylococcus epidermidis</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Salmonella typhi</i> , <i>Micrococcus sp.</i>, <i>Candida glabrata</i> , <i>Prototheca zopffi</i>, <i>Cryptococcus neoformans</i>, <i>Saccharomyces cervisiae</i> <i>Malassezia furfur</i>.</p>	<p>Gomez- Flores et al. (2006); Háúad- Marroquin (2008) Necchi et al.(2012)</p>
<i>Opuntia dillenii</i>	<p><i>Bacillus lichenformis</i>, <i>Brevibacterium leuteum</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Flavobacterium devorans</i>, <i>Klebsiella pneumonia</i>, <i>Micrococcus flavum</i>, <i>Micrococcus leuteum</i>, <i>Rhodococcus terrae</i>, <i>Salmonella typhi</i>, <i>Shigella boydi</i>, <i>Shigella flexneri</i>, <i>Shigella sonnei</i>, <i>Staphylococcus faecalis</i>, <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Kumaar et al. (2013)</p>

<i>Opuntia ficus-indica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Dhaouadi et al. (2013) Ramírez-Moreno et al. (2017)
<i>Opuntia stricta</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Shafiei et al. (2013) Moosazadeh et al. (2014)
<i>Opuntia matudae</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Candida albicans</i>	Hayek and Ibrahim (2012)
<i>Opuntia albicarpa</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ramírez-Moreno et al. (2017)
<i>Pereskia grandifolia</i> <i>Pereskia aculeata</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Vicente et al. (2016) Santos et al. (2010)
<i>Pilosocereus gounellei</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Oliveira (2011)

4.2 Atividade Antiviral

Devido ao aumento na demanda de pesquisas que envolvem o controle e tratamento de patologias que são causadas por vírus, ocorreu um aumento significativo na investigação a respeito do uso de plantas que possuem atividades antivirais (Di Stasi et al., 1996; Yunes; Calixto, 2001; Maciel et al., 2002).

Dentre as Cactaceae presentes no semiárido brasileiro existem poucos relatos a respeito da atividade antiviral, sendo o gênero *Opuntia* foi o único que apresentou testes relacionados a essa atividade. Inicialmente foi encontrado o efeito antiviral através do extrato bruto de *Opuntia streptacantha* por Ahmad et al. (1996). Após a publicação desse trabalho outras espécies de *Opuntia* foram investigados e também foram encontrados relatos de atividade viral, como na *Opuntia ficus-indica*, a qual foi isolada uma proteína do cladóide que inibiu o vírus do mosaico do pepino (CMV), o vírus do mosaico amarelo de Zucchini e o vírus do mosaico do Tabaco. Essa proteína interagiu com o ácido nucléico viral, na análise Western blot (Rasoulpour et al., 2017).

Esse relato foi bastante significativo para comunidade científica porque mostrou o efeito inibitório do extrato bruto da *O. ficus-indica* contra diversos vírus: *Tobamovirus*, *Potyvirus* e *Cucumovirus*. *Opuntia ficus-indica* é uma fonte de atividade antiviral e o encorajamento para que novas pesquisas sejam feitas não apenas com o gênero *Opuntia*, mas também com todas as Cactaceae é de grande importância para a comunidade científica.

4.3 Atividade Antiparasitas

Os seres humanos são atingidos por uma série de doenças causadas por protozoários parasitas e vermes helmintos. O número notável de espécies que podem infectar o ser humano é de cerca de 300 vermes helmintos e 100 protozoários. Nem todos esses organismos são patogênicos, mas alguns são responsáveis pelas doenças mais importantes do mundo, principalmente nos trópicos (Cox, 2004). Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), quase metade da população mundial está em risco de infecções parasitárias graves, como a malária, com centenas de milhões de pessoas sendo infectadas a cada ano. Em 2015, foram estimados 214 milhões de casos de malária em todo o mundo e 438.000 mortes, principalmente crianças na Região Africana (CDC, 2017).

Os produtos naturais fornecem uma alternativa eficiente para tratamento da infecção por parasitas. Como demonstrado por Newman e Cragg (2016), de 1981 a 2014, 65% por cento dos novos medicamentos aprovados para tratamento antiparasitário foram produtos naturais ou derivados, demonstrando seu potencial como uma nova estratégia.

Melocactus zehntneri, *M. bahiensis* e *Opuntia palmadora* são usados para tratar a helmintíase e a amebíase por comunidades locais (Almeida et al., 2005; Lucena et al., 2013; Silva et al., 2014). No entanto, há uma enorme lacuna na atividade anti-parasitária de plantas da família Cactaceae. Poucos estudos foram encontrados na literatura, além disso estes estudos demonstraram atividade anti-parasitária de extratos brutos, sem identificação dos compostos responsáveis.

O estudo realizado por Vatta et al. (2011) demonstrou o efeito de *Cereus jamacaru* contra *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*, helmintos de gado. Infectaram experimentalmente as ovelhas com larvas de terceiro estágio (L3) de uma população de *H. contortus* e *T. colubriformis* susceptíveis a antihelmintico. Após administração de *C. jamacaru*, as amostras foram submetidas a um método de contagem experimental fecal utilizando uma técnica McMaster modificada. Com base neste ensaio *in vivo*, *C. jamacaru* foi eficaz na redução da contagem de ovos em 18 a 65% durante 49 dias da experimentação.

Em outro estudo, um grande número de plantas (281 plantas) foram testadas *in vitro* para atividade anti-esquistossomico. Foram utilizadas diversas partes das plantas de *C. jamacaru*, *O. leucotricha*, *O. tomentosa* e *Pereskia aculeata*. As folhas de *C. jamacaru* tiveram atividade IC50 e IC90 foram 45 e 70 ppm, respectivamente (Yousif et al., 2007). Além disso, Singh et al. (2011) demonstraram que o extrato de *O. dillenii* afetou a proliferação de promastigotas de *Leishmania donovani*, mostrando o potencial deste gênero como leishmanicida.

Plantas da família Cactaceae, apresentam alcalóides e esteróis e / ou triterpenos na sua composição. Estes compostos apresentam atividade contra *Trichomonas vaginalis* (Innocente et al., 2014; Vieira et al., 2016), agente etiológico da tricomoníase, a doença sexualmente transmissível não viral mais prevalente. Os alcaloides de *Melocactus zehntneri* foram ativos contra *T. vaginalis*, entretanto, neste estudo, o alcalóide responsável pela atividade antiparasitária não foi identificado (Brandão et al., 2016)

O β -sitosterol é um composto que foi identificado em *O. ficus-indica* (Park; Chun, 2001). Este composto possui importante atividade contra *Leishmania sp.*, *P. falciparum*, *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani* (Kirmizibekmez et al., 2011, Graziose et al., 2012).

4.4 Atividade Antioxidante

A família Cactaceae tem sido objeto de pesquisas científicas com objetivo de rastrear substâncias bioativas (Dantas et al., 2016; Smida et al., 2017), extratos de diferentes partes de plantas tem apontado um alto potencial antioxidante proveniente dos mais variados grupos de metabólitos secundários, assim como outras atividades biológicas, como a ação citotóxica, atreladas a produção e ao combate de radicais livres, como por exemplo atividade anti-tumoral e anti-inflamatório (Rahman, 2008). Estudos antioxidantes apontam esta família como uma das mais relevantes fontes de classes de compostos secundários como fenóis e polifenóis (Jiménez-Aspee, et al 2014; Dantas et al., 2016;) e apresentam substâncias conhecidas já envolvidas em atividades antioxidantes como ácido ascórbico, licopeno, beta caroneto e quercetina (Sim et al. 2010 ; Hassanbaglou et al. 2012)

Segundo Allai, et al 2016, espécies como *Opuntia ficus-indica* podem ser utilizadas para impedir o estresse oxidativo em sêmen de animais como carneiros e ovelhas. O acúmulo de ácidos graxos no citoplasma celular desses animais faz do espermatozoide mais sensível ao estresse oxidativo. (Alvarez et al 1987), agindo também para impedir a fragmentação do DNA e preservando outras estruturas células que envolvem o combate aos radicais livres e também em adição ao efeito de outros conservantes já utilizados no processo de conservação. (Allai, et al 2016).

A família Cactaceae apresenta substancial importância na ação antioxidante de compostos presentes na dieta. O consumo de frutos ou produtos derivados deles trazem benefícios quando associados aos vegetais da dieta, trazendo diversos benefícios a saúde humana (Kuti, 2004). As análises dos constituintes com atividade antioxidante presentes em frutos de cacto determinou que o ácido ascórbico, fenóis, carotenóides e flavonóides como a quercetina estão entre os principais compostos presentes nessas espécies com importância nutricional (Fernández-López, et al 2010). Adicionalmente, os antioxidantes presentes em algumas espécies em sinergismo com pigmentos e outras substâncias químicas podem estar associados a outras atividades biológicas interligadas ao combate dos ROS (Zampini et al.2011).

5 Conclusão

Com este trabalho pode-se observar que são poucos os relatos na literatura quando comparado o número de espécies da família Cactaceae. Contudo os dados encontrados sugerem que este grupo pode ser de grande interesse para novos estudos com objetivo de encontrar novas biomoléculas Assim espera-se que este trabalho estimule novos estudos sobre a família Cactaceae.

Referências

- Abdul-Wahab IR¹, Guilhon CC, Fernandes PD, Boylan F 2012. Anti-nociceptive activity of *Pereskia bleo* Kunth. (Cactaceae) leaves extracts. J Ethnopharmacol. 144(3):741-6.
- Adamová, L.; Malinovská, L.; Wimmerová, M. 2014. New sensitive detection method for lectin hemagglutination using microscopy. Microscopy Research and Technique, 77, 841–849,
- Ahmad, A., Davies, J., Randall, S., Skinner, G.R.B., 1996. Antiviral properties of extract of *Opuntia streptacantha*. Antivir. Res. 30, 75-85
- Allai, L., Druart, X., Öztürk, M., BenMoula, A., Nasser, B., & El Amiri, B. 2016. Protective effects of *Opuntia ficus-indica* extract on ram sperm quality, lipid peroxidation and DNA fragmentation during liquid storage. Animal Reproduction Science, 175, 1-9.
- Almeida C.F.C.B.R., Silva T.C.L., Amorim E.L.C., Maia M.B.S., Albuquerque U.P. 2005. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). Journal of Arid Environments 62, 127–142
- Alvarez, J.G., Touchstone, J.C , Blasco, L., Storey B.T.1987. Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa. Superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity J. Androl., 8, 338–348
- Antunes-Ricardo, M., Moreno-García, B. E., Gutiérrez-Uribe, J.A. Aráiz-Hernández, D., Alvarez, M.M., Serna-Saldivar, S.O. 2014. Induction of Apoptosis in Colon Cancer Cells Treated with Isorhamnetin Glycosides from *Opuntia ficus-indica* Pads. Plant Foods Hum Nutr .69, 331–336
- Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Uribe, J.A., Martínez-Vitela, J., Serna-Saldivar S.O. 2015. Topical Anti-Inflammatory Effects of Isorhamnetin Glycosides Isolated from *Opuntia ficus-indica* BioMed Research International v.2015 9
- Brandão G.H.A., Rigo G., Roque A.A., Souza A.C.D., Scopel M., Nascimento C.A.O., Tasca T., Pereira C.G., Giordani R.B. (2016). Extraction of bioactive alkaloids from *Melocactus zehntneri* using supercritical fluid. The Journal of Supercritical Fluids.

- Butera, D, Tesoriere, L., Di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, A.M., Kohen, R. Livrea M.A. 2002 Antioxidant Activities of Sicilian Prickly Pear (*Opuntia ficus indica*) Fruit Extracts and Reducing Properties of Its Betalains: Betanin and Indicaxanthin. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6895-6901
- CDC. Center of Disease Control and Prevention. Disponível em: <https://www.cdc.gov/malaria/index.html>. Acesso em: 25 Março. 2017.
- Ching, Y.W.; Balunas, M. J.; Chai, H. B.; Kinghorn, A. D. 2006. Drug discovery from natural sources. *AAPS J*, 8, 239-253.
- Coelho, L. C. B. B. et al. 2017. Lectins, interconnecting proteins with biotechnological/pharmacological and therapeutic applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 1–38.
- Cox F. E.G. 2004. History of human parasitic diseases. *Infection Diseases Clinics of North America* 18, 171–188.
- Dantas, R. L., de Melo Silva, S., Dantas, A. L., Guimarães, G. H. C., Lima, R. P., de Sousa Nascimento, R., Mendonça, R. M. N. 2016. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Tacinga inamoena* (K. Schum.) [NP Taylor Stuppy] fruit during maturation. *African Journal of Agricultural Research*, 11(17), 1511-1518.
- Davet, A.; Virtuoso, S.; Dias, J. F. G.; Miguel, M. D.; Oliveira, A. B.; Miguel, O. G. 2009. Atividade antimicrobiana de *Cereus jamacaru* DC, Cactaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19 (2B): 561-564,
- Dhaouadi, K., Raboudi, F., Funez-Gomez, L., Pamies, D., Estevan, C., Hamdaoui, M., Fattouch, S. 2013. Polyphenolic Extract of Barbary-Fig (*Opuntia ficus-indica*) Syrup: RP–HPLC–ESI–MS Analysis and Determination of Antioxidant, Antimicrobial and Cancer-Cells Cytotoxic Potentials. *Food Analytical Methods*. 6, 45–53.
- Di Stasi, L.C. et al. 1996. *Plantas medicinais: arte e ciência, um guia de estudo interdisciplinar*. 1.ed. São Paulo: Universidade Estadual Paulista., 231p.
- Dias, R.O., Machado, L.S., Migliolo, L., Franco, O.L. 2015 Insights into animal and plant lectins with antimicrobial activities. *Molecules*, 20(1), 519–541.
- Doetsch PW, Cassady JM, McLaughlin JL 1980. Cactus alkaloids. XL. Identification of mescaline and other b-phenethylamines in *Pereskia*, *Pereskiaopsis* and *Islaya* by use of fluorescamine conjugates. *J Chromatogr* 189: 79-85.
- El-Samahy, S. K., Abd El-Hady, E. A., Habiba, R. A., Moussa T. E. 2006. Chemical and Rheological Characteristics of Orange-Yellow Cactus-Pear Pulp from Egypt. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*
- Escobar, B.A., Gómez, G.Y., Bautista, R.E., Pérez, G.R.S. 2010. Evaluación de la actividad antimicrobiana de cactáceas mexicanas *Hylocereus* sp. y *Opuntia ficus*. In: *Memorias del VII. Encuentro Nacional de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional*. Mazatlán, México. p. 12.

Fernández-López, J. A., Almela, L., Obón, J. M., & Castellar, R. 2010. Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), 253-259

Flora do Brasil 2016. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 16 Dez. 2016

Gasmi, L.; Ferré, J.; Herrero, S. 2017. High bacterial agglutination activity in a single-CRD C-type lectin from *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biosensors*, 7 (12), 1-9.

Gomes-Flores, R.; Tamez-Guerra P.; Tamez-Guerra, R.; Rodriguezpadilha, C.; Monreal-Cuevas, E.; Hauad-Marroquim, L.A.; Cordovapunte, C.; Range-Llanas, A. 2006. In vitro antibacterial and antifungal activities of *Nopalea cochenillifera* pad extracts. *American journal of infectious diseases*, 1, 1- 8.

Graziose R¹, Rojas-Silva P, Rathinasabapathy T, Dekock C, Grace MH, Poulev A, Ann Lila M, Smith P, Raskin I. Carmen Dekock, Mary H. Grace, Alexander Poulev, Mary Ann Lila, Peter Smith, Ilya Raskin. 2012. Antiparasitic compounds from *Cornus florida* L. with activities against *Plasmodium falciparum* and *Leishmania tarentolae* *Journal of Ethnopharmacology* 142, 456–461.

Griveau, J.F , Dumont,E., Renard,P., Callegari,J.P., Le Lannou, D. 1995 Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defence systems in human spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 103. 17–26

Guilhon,C.C., AbdulWahab, I.R., Boylan,F., Fernandes , P.D. 2015. Central Antinociceptive and Mechanism of Action of *Pereskia bleo* Kunth Leaves Crude Extract, Fractions, and Isolated Compounds *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* v. 2015, 12

Hassan, F., El-Razek, A., Hassan A.A. 2011 Nutritional Value and Hypoglycemic Effect of Prickly Cactus Pear (*Opuntia Ficus-Indica*) Fruit Juice in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(10): 356-377

Hassanbaglou, B., Hamid, A. A., Roheeyati, A. M., Saleh, N. M., Abdulmir, A., Khatib, A., & Sabu, M. C. 2012. Antioxidant activity of different extracts from leaves of *Pereskia bleo* (Cactaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(15), 2932-2937.

Háud-Marroquin, L.A; Cordova-Puente C.; Rangel-Llanas A; García-González S.; González L.R.; Rodríguez-Padilla C. 2008. Evolucion de los efectos del extracto de *Nopalea cochenillifera* en la actividad antimicrobiana in vitro. *Revista salud Pública y Nutrición* 2, 123-134.

Hayek S.A. ; Ibrahim, S.A. 2012. Antimicrobial Activity of Xoconostle Pears (*Opuntiamatuda*) against *Escherichia coli* O157:H7 in Laboratory Medium *International Journal of Microbiology* 2012, 1-6

Hendrich, A. B. 2006. Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta. Pharmacol. Sin.*, 27 27-40.

- Hunt, D.; Taylor, N. & Charles, G. 2006. The new cactus lexicon. DH books, Milborne Port. 900p.
- Hunt, D.R. (comp.) 1992. CITES Cactaceae Checklist. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Ingale, A. G.; Hivrale, A. U. 2013 Plant as a plenteous reserve of lectin. *Plant Signaling & Behavior*, 8,26595.
- Innocente AM¹, Silva GN, Cruz LN, Moraes MS, Nakabashi M, Sonnet P, Gosmann G, Garcia CR, Gnoatto SC.2014. Synthesis and antiplasmodial activity of betulinic acid and ursolic acid analogues. *Molecules* 17, 12003-12014.
- Jiménez-Aspee, Felipe, et al. 2014: Antioxidant activity and characterization of constituents in copao fruits (*Eulychnia acida* Phil., Cactaceae) by HPLC–DAD–MS/MS n. *Food Research International* 62 286-298.
- John, F. C.; Tabbasum, K.; Rao, C. P. 2013. Chemico-biological aspects of plant lectins with a preference to legume lectins. 1^a ed. Elsevier, v. 40.
- Karnchanatat, A. 2012. Antimicrobial Activity of Lectins from Plants. *Antimicrobial Agents*, 145–178.
- Kaur, M., Kaur, A., Sharma, R. 2012. Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica*: A Review *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 02 (07); 15-18
- Kim, J.W., Kim, T.B., Yang, H., Sung, S.H. 2016. Phenolic Compounds Isolated from *Opuntia ficus-indica* Fruits. *Natural Product Sciences*. 22(2), 117-121
- Kirmizibekmez H¹, Atay I, Kaiser M, Brun R, Cartagena MM, Carballeira NM, Yesilada E, Tasdemir D. 2011. Antiprotozoal Activity of *Melampyrum arvense* and its Metabolites. *Phytother. Res.* 25, 142–146.
- Kumaar A. P.S.; Vanitha, J.; Venkateshwaran K., Reddy K.S.; Karthikeyan D. 2013. Antibacterial and Antifungal Activity of *Opuntia dillenii* (Cactaceae) Fruit Extract. 2, 16-19.
- Kuti, J. O. 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties. *Food chemistry*, 85(4), 527-533.
- Lam, S. K.; Ng, T. B. 2011. Lectins: Production and practical applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(1), 45–55.
- Lannoo, N.; Van Damme, E. J. 2014. Lectin domains at the frontiers of plant defense. *Frontiers in Plant Science*, 5 (397), 1-16.
- Leekha, S.; Terrell, C. L.; Edson, R. S. 2011. General principles of antimicrobial therapy. *Mayo Clin. Proc.*, 86, 156-167.
- Lucena, C.M., Lucena, R.F.P., Costa, G.M., Carvalho, T.K.N., Costa, G.G.S., Alves, R.R.N. Pereira, D.D., Ribeiro, J.E.S., Alves, C.A.B. Zelma, Quirino, G.M., Nunes, E.N. 2013. Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9, 62.

- Maciel, M.A.M. et al. 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*,25,429-38,
- Malek, S.N.A., Shin, S.K., Wahab, N.A., Yaacob H. 2009. Cytotoxic Components of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) Leaves. *Molecules* 14, 1713-1724;
- Moosazadeh,E.; Akhgar M.R.;Kariminik A. 2014 Chemical composition and antimicrobial activity of *Opuntia stricta* F. essential oil. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*.4, 94-101
- Movafagh A., Ghanati K., Amani D., Mahdavi SM., Hashemi M., Davood Zare Abdolahi Z., Darvish H., Gholami M., HaghNejad L., Mosammami S., Safari S., Darehgzani R., Rahimi M., Naini NS., Motlagh MG., Zamani M. 2013. The structure Biology and Application of Phytohemagglutinin (PHA) in Phytomedicine: With special up-to-date references to lectins. *Journal of Paramedical Sci.* 2013; 4
- Necchi, R. M. M, Alves, I. A., Alves, S. H., Manfron ,M.P. 2012 *In vitro* antimicrobial activity, total polyphenols and flavonoids contents of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae) *Research in Pharmacy*.2(3) 01-07.
- Nurmahani, M.M., Osman, A., Abdul Hamid, A., Mohamad Ghazali, F. and Pak Dek, M.S. 2012. Antibacterial property of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* peel extracts. *International Food Research Journal*. 19(1) 77-84.
- Ostrosky, E. A.; Mizumoto, M. K.; Lima, M. E. L.; Kaneko, T. M.; Nishikawa, S. O.; Freitas, B. R. 2008. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(2) 301- 307.
- Paiva, P. M. G. et al. 2011. Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65, 7,982–989.
- Park, E; Chun, M. (2001).Wound healing activity of *Opuntia ficus-indica*. *Fitoterapia* 72, 165-167.
- Rahman, S. S. 2008. Cytotoxic activity of *Pereskia bleo* (Cactaceae) against selected human cell lines. *International Journal of Cancer Research*, 4(1), 20-27.
- Ramírez-Moreno, E., Cariño-Cortés,R.; Cruz-Cansino, N.S.; Delgado-Olivares,L.; Ariza-Ortega,J.A.; Montañez-Izquierdo, V.Y.; Hernández-Herrero,M;M.; Filardo-Kerstupp, T. 2017 Antioxidant and Antimicrobial Properties of Cactus Pear (*Opuntia*) Seed Oils. *Journal of Food Quality*, 2017, 1-8.
- Rasoulpour, R.,Afsharifar, A., Izadpanah, K., Aminlar, M. 2017.Purification and characterization of an antiviral protein from prickly pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) cladode. *Crop Protection*, 93, 33-42.
- Salim, N.,1*, Abdelwaheb, C., Rabah, C., Ahcene, B. 2009. Chemical composition of *Opuntia ficus-indica* (L.) fruit *African Journal of Biotechnology*. 8 (8), 1623-1624

- Santana, G. M. S. et al. 2009. Isolation of lectin from *Opuntia Ficus-Indica* cladodes. *Acta Horticulturae*, 811, 281–286.
- Shafiei S, Kariminik A, Hasanabadi Z. 2013. Antimicrobial activity of methanol extract of *Opuntia stricta* F. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* 7, 907-910
- Silva, F.S., Albuquerque, U.P. Costa-Júnior,L.M., Lima,A.S., Nascimento,A..B. Monteiro, J.M.2014. An ethnopharmacological assessment of the use of plants against parasitic diseases in humans and animals. *Journal of Ethnopharmacology* 155, 1332–1341
- Sim, K. S., Nurestri, A. S., & Norhanom, A. W. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of *Pereskia grandifolia* Haw.(Cactaceae) extracts. *Pharmacognosy magazine*, 6(23), 248.
- Singh SK¹, Bimal S, Narayan S, Jee C, Bimal D, Das P, Bimal R. 2011. Leishmania donovani: assessment of leishmanicidal effects of herbal extracts obtained from plants in the visceral leishmaniasis endemic area of Bihar, India. *Experimental Parasitology* 127, 552–558.
- Smida, A., Ncibi, S., Taleb, J., Saad, A. B., Ncib, S., & Zourgui, L. 2017. Immunoprotective activity and antioxidant properties of cactus (*Opuntia ficus indica*) extract against chlorpyrifos toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 88, 844-851.
- Souza, M. A. et al. 2013.The immunomodulatory effect of plant lectins: a review with emphasis on ArtinM properties. *Glycoconjugate Journal*, 30,641–657.
- Sreekanth, D., Arunasree M.K., Roy, K.R., Reddy, T.C., Reddy, G.V., Reddanna, P.2007. Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Phytomedicine* 14:739-746.
- Taylor, N.P. & Zappi, D.C. 2004. *Cacti of Eastern Brazil*. Royal Botanic Gardens, Kew. 499p.
- Torres-Olvera, M.; Salazar, J. R.; Soto-Cabrera, D.; Cerón-Nava, A.; Rosales-Guevara, J. 2014.Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos y compuestos aislados de *Hylocereus sp* Vitae,. 21, S79-S80
- Upendra, R.S., Khandelwal, P. 2012. Assessment of nutritive values, phytochemical constituents and biotherapeutic potentials of *Epiphyllum oxypetalum*. 4, 421-425.
- Vatta, A.F., Kandu-Lelo, C., Ademola, I.O., Eloff, J.N. 2011. Direct anthelmintic effects of *Cereus jamacaru* (Cactaceae) on trichostrongylid nematodes of sheep: In vivo studies. *Veterinary Parasitology* 180, 279– 286.
- Vieira, P.B. Silva, N.L.F., Silva,G.N.S., Silva,D.B., Lopes,N.P., Gnoatto,S.C.B. Silva,M.V. Macedo,A.J., Bastida,J., Tasca,T. 2016. Caatinga plants: Natural and semi-synthetic compounds potentially active against *Trichomonas vaginalis*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 26, 2229–2236.

Yousif ,F., Hifnawy, M.S., Soliman, G., Boulos, L., Labib, T., Mahmoud, S., Ramzy F., Yousif M., Hassan I., Mahmoud K., El-Hallouty S.M., El-Gendy M., Gohar L., El-Manawaty M., Fayyad W., El-Menshawi B.S. 2007. Large-scale in Vitro. Screening of Egyptian Native and Cultivated Plants for Schistosomicidal Activity. *Pharmaceutical Biology* 45(6), 501-510.

Yunes, R.; Calixto, J.B. 2001 *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Chapecó: Argos, 524p

Zampini, I. C., Ordóñez, R., Giannini, N. P., Blendinger, P. G., & Isla, M. I. 2011. Nutraceutical properties and toxicity studies of fruits from four Cactaceae species grown in Argentine Northwestern. *Food Research International*, 44(7), 2345-2351.

Zenteno, E. et al. 1991. *Machaerocereus eruca* cactus isolectins. Purification and characterization. *Plant Science*, 77, 11–19.

Zenteno, E. et al. 1995. Specificity of the isolectins from the plant cactus *Machaerocereus eruca* for oligosaccharides from porcine stomach mucin. *Glycoconjugate Journal*, 12, 669-706.

Zenteno, E.; Debray, H.; Montreuil, J. 1988. Purification and partial characterization of two lectins from the cactus *Machaerocereus eruca*. *FEBS Letters*, 238, 95–100.

CAPÍTULO 2

Atividades antimicrobiana e antioxidante de extrato metanólico de

***Cereus jamacaru* DC. (Cactaceae)**

Manuscrito a ser traduzido para o inglês e submetido ao Periódico: Natural
Products Research

Normas para submissão no periódico disponível em: <http://www.tandfonline.com/action/authorSubmission?journalCode=gnpl20&page=instructions>

Atividades antimicrobiana e antioxidante de extrato metanólico de *Cereus jamacaru* DC. (Cactaceae)

Resumo

Cereus jamacaru (mandacaru) é uma espécie pouco estudada do ponto de vista químico e farmacológico. Este estudo objetivou realizar uma análise fitoquímica, avaliando atividade antimicrobiana e antioxidante do extrato metanólico de mandacaru. Através da análise por cromatografia em camada fina (TLC), foi verificada a presença de flavonoídes, fenilpropanoídes, monoterpenos, triterpeno e esteroides. A atividade antimicrobiana foi obtida por Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). O extrato metanólico em concentrações Para determinar a atividade antimicrobiana Obteve-se atividade bactericida variando entre 0,39-12,5 mg.ml⁻¹ contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Apresentou atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazila) e ABTS(2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico). Estes resultados mostram que *Cereus jamacaru* é uma espécie promissora com relação a compostos bioativos.

Palavras chave: Cactáceas, Caatinga, Antibacteriano, Fitoquímico, Estafiloxantina.

1 Introdução

A biodiversidade da flora brasileira tem levado a crescente busca por produtos naturais de origem vegetal, como uma alternativa para a produção de compostos bioativos (Coutinho et al. 2004). A família Cactaceae é uma das mais importantes fanerógamas encontradas na Caatinga, onde 44 espécies são endêmicas. (Taylor et al. 2015).

O cacto *Cereus jamacaru*, conhecido popularmente por mandacaru, é endêmico do Brasil (Silva 2015). Estudos *in vitro* mostraram que extratos etanólicos de mandacaru possuem atividade antibacteriana (Davet et al. 2009). Estudos fitoquímicos mostraram que em *C. jamacaru* foram encontrados alcaloides como a tiramina (Brhun & Lindgren, 1976), kaempferol (Burret et al. 1982), hordeína, N-metiltiramina e esteróis como o β -sitosterol, (Davet et al. 2009), ácido acético, cânfora, cisteína e geranilacetona (Schwarz et al. 2010).

Os produtos naturais são a maior fonte de compostos antimicrobianos. Um grande número de plantas, microrganismos e organismos marinhos têm sido avaliados quanto à produção de compostos com atividade biológica (Firáková et al. 2007). É importante que os compostos antimicrobianos provenientes de fontes naturais apresentem atividade comparada à dos compostos antimicrobianos tradicionalmente utilizados, possuam menor toxicidade, sejam mais eficazes contra a resistência de microrganismos patogênicos e apresentem menor impacto ambiental (De Bona et al. 2014).

De forma geral, denomina-se antioxidante a substância que em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam ou inibem a oxidação do substrato (Soares 2002). Dentre os antioxidantes naturais, destacam-se as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoídes, antioxidante mais abundante na alimentação (Podsdek 2007). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química.

Considerando o desafio que é a descoberta de novos fármacos a partir de plantas e poucas pesquisas de atividade biológica do mandacaru, este trabalho teve como objetivo realizar uma avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante *in vitro* do extrato metanólico de *Cereus jamacaru*.

2 Material e método

2.1 Material Botânico

A espécie *Cereus jamacaru* foi coletada em área de transição entre o Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco, previamente identificada e a exsiccata depositada no Herbário Dárdano De Andrade Lima e recebeu número de voucher 85028.

As hastes de mandacaru foram cortadas em pequenos pedaços, deixado à sombra em temperatura ambiente durante 24h. Em seguida foi colocado na estufa a 35°C durante 7 dias, posteriormente triturada a pó.

2.2 Preparação do Extrato

Para o preparo do extrato o material moído foi colocado em agitação com solvente Metanol, durante 24hs e o processo repetido até que não fosse observada coloração no solvente. O extrato foi concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida (40 °C), e posteriormente diluído em água destilada autoclavada para obtenção de uma solução com concentração inicial de 100mg/mL.

2.3 Screening fitoquímico

O rastreio fitoquímico do extrato foi realizado por cromatografia em camada fina (TLC) em placas de sílica (60F254, alumínio, espessura de 200 µm, 10,0 x 5,0 cm, Macherey-Nagel, Ref. 818160, Alemanha). A presença de flavonóides, fenilpropanóides, alcalóides, terpenos, esteróides, cumarinas, quinonas e proantocianidinas foram investigados utilizando sistemas de revelação e sistemas de desenvolvimento adequados, como se pode ver na Tabela 1 (Roberts et al. 1957, Brasseur & Angenot 1986 , Wagner & Bladt 1996, Harborne 1998). Após o desenvolvimento, as placas foram secas e acrescentadas reveladores.

2.4 Dosagem de Fenóis Totais

O conteúdo fenólico total foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu segundo Hua-Bin Li (2008) com modificações. As amostras foram lidas à DO 765 nm. Uma curva de calibração com Ácido gálico (0 – 100 µg/mL) como padrão foi obtida. O teor total de fenol no extrato foi expresso em termos de equivalente de ácido gálico (mg EAG / g de extrato).

2.5 Dosagem de Flavonóides

A técnica colorimétrica com cloreto de alumínio descrita por Woisky e Salatino (1998) foi utilizada para estimativa de flavonóides, com modificações. A absorbância das amostras foram lidas à 420 nm. A concentração de flavonóides foi determinada a partir da curva de calibração ($Y = 0,0284x + 0,037$, $R^2 = 0,9918$). O teor de flavonóides total no extrato foi expresso como equivalente Quercetina (mg QE / g de extrato).

2.6 Microrganismos e condições de cultivo

Os micro-organismos utilizados foram *Streptococcus mutans* (AU 159) e *Streptococcus salivarius* (ATCC 27975) fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia da UNICAMP (Universidade Estadual de Campinas) e *Streptococcus sanguis* (ATCC 15300), *Streptococcus mitis* (ATCC 903), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7664), *Escherichia coli* (ATCC 8730), *Salmonella* sp. (ATCC 14028) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) cedidas gentilmente pela FIOCRUZ- Rio de Janeiro. As amostras foram mantidas no meio ágar Mueller Hinton (MH) acrescido de 5% de sangue de carneiro e estocadas sob refrigeração (5°C).

2.7 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Determinação da atividade antibacteriana do extrato metanólico de mandacaru foi realizada para obtenção das concentrações inibitória mínima (CIM) e mínimas bactericida (CMB), pela técnica de microdiluição em placa de 96 poços, utilizado o meio Brain Heart Infusion (BHI). Foram testadas concentrações finais do extrato variando de 0,2 a 100mg mL⁻¹.

As microplacas foram preparadas de forma que cada compartimento tivesse um volume final de 100 µL, com proporções variadas do meio de cultura e do extrato de cactáceas, incubadas a 37°C por 48 horas. Para o controle de esterilidade foram adicionados 100 µL do meio. A todos os orifícios foram adicionados 20 µL do inóculo bacteriano, com exceção do controle de esterilidade. O ensaio foi realizado em triplicata para determinação da CIM e CBM. Terminado o período de incubação, foram adicionados 30 µL de resazurina para determinação da CIM. As colunas restantes foram utilizadas para a determinação da CBM (Palomino et al. 2002)

Para a determinação da CBM foram retiradas alíquotas de todos os 96 poços, e incubadas em placa de Petri contendo meio ágar BHI. As bactérias foram incubadas, a 37°C por 48 horas. A CBM foi considerada como sendo a concentração a partir da qual não seja observado crescimento microbiano após cultivo, na presença do extrato.

2.8 Ensaio da Produção de Estafiloxantina

A produção de Estafiloxantina por *S. aureus* (STX) foi determinada conforme descrito por Lee et al. (2013) ligeiramente modificado. As células de *S. aureus* foram reinoculadas a uma diluição de 1: 100 em meio de MH (20 mL) e alíquotas (100 µL) desta suspensão foram incubadas com diferentes concentrações de extrato (CIM / 2; CIM/4; CIM/8, CIM/16), a 37 °C a 200rpm, durante 24 h. Todo o experimento foi

realizado em quintuplicata. No controle a substância teste não adicionada. As células foram recolhidas por centrifugação a 11 000 xg durante 10 min e lavadas uma vez com solução salina. STX foi extraído com MeOH (600 µL) e a DO foi determinada a 465 nm. Os dados de OD obtidos foram analisados utilizando GraphPad PRISM 5.0.

2.9 Atividade antioxidante

2.9.1 Sequestro de radicais livres pelo DPPH[•]

Este ensaio foi realizado segundo Blois (1958), onde foram utilizadas diferentes concentrações do extrato (7,8; 15,6; 31,25; 62,5; 125; 250; 500 e 1000 µg/mL). Após 25 minutos foi medida a absorbância em 517 nm. Ácido Gálico, foi usado como composto de referência. A eliminação de radicais de DPPH[•] (2,2- difenil-1-picril-hidrazila) foi calculada pela fórmula: $SRL [DPPH^{\bullet}] (\%) = [(Aa - Ac) / Ac] \times 100$. Onde: Aa = Absorbância da amostra e Ac = Absorbância do controle.

2.9.2 Inibição pelo radical ABTS^{•+}

O método do ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) foi executado baseado em RE et al. (1999) com modificações. Uma solução estoque do radical ABTS^{•+} foi preparada dissolvendo 7 mM de ABTS^{•+} com 2,45 mM de Persulfato de potássio, e deixado por 16 horas antes do uso. A solução de trabalho foi preparada por diluição da solução de estoque em etanol até obter a absorbancia de $0,700 \pm 0,02$ em 734 nm. 0,01 mL da amostra nas concentrações 250; 500 e 1000 µg/mL foi adicionada a 1 mL da solução de trabalho e lida exatamente após 6 minutos da reação em espectrofotometro a 734 nm. Foi utilizado Trolox em diferentes concentrações (0 – 2000 µM), em porcentagem de inibição, comparada com o padrão, onde foi calculada através da equação Inibição do radical ABTS^{•+} (%) = $[(Ac - Aa) / Ac] \times 100$. Onde: Ac = Absorbância do controle e Aa = Absorbância da amostra

3 Resultados e discussão

3.1 Perfil fitoquímico

Utilizando-se a metodologia TLC observou-se que o extrato metanólico de *C. jamacaru* apresenta em sua composição flavonoídes, e traços de fenilpropanoídes, monoterpenos, triterpeno, e esteroides (Tabela 1).

3.2 Dosagem de Fenóis e Flavonoídes

Numerosos estudos têm demonstrado uma forte relação entre o conteúdo fenólico total e a atividade antioxidante em frutas, vegetais e plantas medicinais. Os compostos fenólicos têm sido descritos como tendo múltiplos efeitos biológicos incluindo a atividade antioxidante. Além disso, eles podem atuar na eliminação de radicais livres ou impedir sua formação (Uchôa et al. 2015).

A dosagem de fenóis para o extrato metanólico de *C. jamacaru* foi de $43,87 \pm 1,26$ mgEAG/g_{extrato} e a dosagem de flavonoides foi de $10,29 \pm 2,08$ mgEQ/g_{extrato}. Estudo realizado por Santana et al. (2015) revelou a presença de fenóis e flavonoídes totais em extrato clorofórmico de raiz de *C. jamacaru*.

3.3 Atividade Antimicrobiana

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antibacteriana do extrato metanólico de *Cereus jamacaru* (Tabela 2), demonstraram, potencial antibacteriano sobre o crescimento de todos os microrganismos testados, exceto *Salmonella sp.* O extrato obteve o melhor resultado frente ao *S. sanguis*, com uma atividade bactericida em baixa concentração, $0,78 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Até o momento são poucos os trabalhos que relatam atividade antimicrobiana de *C. jamacaru*. Davet et al. (2009) observou a atividade antibacteriana frente a *S. epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. Sabe-

se que o mandacaru possui uma substância chamada tiramina no entanto, foi visto que não existe relação com atividade antimicrobiana (Davet et al.,2009). De acordo com Biyiti et al.(2004) uma substância é dita como bactericida se a razão CBM/CIM for ≤ 2 , e se for > 2 é bacteriostático, com isso pode-se dizer que o extrato metanólico de *C. jamacaru* teve ação bactericida sobre os microrganismos testados.

3.4 Produção de estafiloxantina

Staphylococcus aureus é um dos agentes mais comuns de infecções bacterianas em seres humanos e animais, causando uma extensa lista de infecções hospitalares e comunitárias clinicamente significativas, incluindo infecção cutânea e sistêmica (Daum 2008, Karamatsu et al. 2012) e 90% dos isolados de *S. aureus* de infecções humanas são pigmentados (Lennette et al. 1985).

A estafiloxantina (STX) é um pigmento carotenóide encontrado na membrana bacteriana de *S. aureus*, e que tem capacidade de neutralizar os radicais livres e de impedir a oxidação (Clauditz et al. 2006). A fluidez da membrana bacteriana é influenciada, entre outros fatores, pelo teor de proteína e pelo nível de estafloxantina (Mishra et al. 2011). Neste estudo, observamos que a síntese de STX foi reduzida frente a exposição ao extrato metanólico de *C. jamacaru* na síntese de STX (Figura 1). Com os resultados obtidos neste teste pode-se sugerir que o extrato de *C. jamacaru* atua na membrana do *S. aureus*, sendo esta uma forma de ação bactericida.

3.5 Atividade antioxidante

O extrato metanólico de *Cereus jamacaru* apresentou atividade antioxidante. No ensaio de DPPH (Tabela 3), observou-se uma variação de $3,63\% \pm 0,72$ (31,2 $\mu\text{g/ml}$) até $55,85\% \pm 2,41$ (1000 $\mu\text{g/ml}$). No ensaio de ABTS (Figura 2) mostrou que as três concentrações testadas tiveram atividade e que o efeito antioxidante benéfico do extrato melhora significativamente ao longo do tempo.

Santana et al.(2015) observou a atividade antioxidante de raiz de *C. jamacaru* em extrato clorofórmico e hidrometanólico, pelo método DPPH, no entanto os resultados obtidos não foram significativos, associando a este fator a quantidade de fenóis e flavonoides encontrado na amostra.

4 Conclusão

O extrato metanólico de *Cereus jamacaru* coletado na Caatinga apresentou atividade bactericida contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Observou-se a redução na produção de estafiloxantina por *S. aureus* mostrando que a substância teste pode atuar na membrana do microorganismo durante sua ação bactericida. O extrato apresentou atividade antioxidante, esse fator está diretamente ligado a quantidade de fenóis e flavonoides presente. Trabalhos utilizando essa espécie são bem limitados, por isso, novas pesquisas devem ser realizadas, como isolamento de compostos.

5 Referências

- Biyiti LF, Meko DJL, AmvamZollo PH 2004. Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales Camerounaises. *Pharmacologie et Medecine Traditionnelle en Afrique* 13,11-20.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199- 1200.
- Bruhn, J. C.; Lindgren, J. E. 1976. Cactaceae alkaloids. XXIII. Alkaloids of *Panchycereus pecten-aborigium* and *Cereus jamacaru*. *Lloydia, Cincinnati*, 39,175-177.
- Burret F., Lebreton P., Voirin B. 1982. Les aglycones flavoniques des Cactées: distribution, signification. *Journal Natural Products*, 45: 687–693.
- Cheung, L. M.; Cheung, P. C. K.; Ooi, V. E. C. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry, Barking*, 80, 249-255.
- Clauditz, A., Resch, A., Wieland, K. P., Peschel, A. & Götz, F. 2006. Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. *Infect Immun* 74, 4950– 4953.
- Coutinho, H. D. M. et al. Atividade antimicrobiana de produtos naturais. **Conceitos**. 10 ed. Paraíba, 2004.
- Daum, R. S. 2008. Removing the golden coat of *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med* 359, 85–87.
- Davet, A.; Carvalho, J. L. S.; Dadalt, R. C.; Vituoso, S., Dias, J. F.; Miguel, M. D.; Miguel, O. G. 2009. *Cereus jamacaru*: a non buffered LC quantification method to nitrogen compounds. *Chromatographia*, 69, 245-247.
- Firáková, S.; Šturdikova, M.; Muckova, M. 2007. Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. *Biologia Bratislava, Bratislava*, 62, 251-257.
- Harborne JB, *Phytochemical Methods*. 3^a Ed. Londres: Chapman & Hall, 1998.
- Karamatsu, M. L., Thorp, A. W. & Brown, L. 2012. Changes in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections presenting to the pediatric emergency department: comparing 2003 to 2008. *Pediatr Emerg Care* 28, 131– 135
- Lee, J-H., Cho, H., Kim, Y., Kim, J-A., Banskota, S., Cho, M., Lee, J. 2013. Indole and 7-benzyloxyindole attenuate the virulence of *Staphylococcus aureus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97,4543-4552.
- Lennette, E. H., Balows, A., Hausler, W. J. J. & Shadomy, H. J. 1985. *Manual of Clinical Microbiology*, 4th edn. Washington, DC: American Society for Microbiology.

- Meiado, M.V.; Albuquerque, L.S.C.; Rocha, E.A.; Rojas-Arechiga, M. & Leal, I.R.. 2010. Seed germination responses of *Cereus jamacaru* DC. ssp. *jamacaru* (Cactaceae) to environmental factors. *Plant Species Biology* 25: 120-128.
- Mishra, N. N., Liu, G. Y., Yeaman, M. R., Nast, C. C., Proctor, R. A., McKinnell, J. & Bayer, A. S. 2011. Carotenoid-related alteration of cell membrane fluidity impacts *Staphylococcus aureus* susceptibility to host defense peptides. *Antimicrob Agents Chemother* 55, 526–531.
- Palomino, J., C. et al. 2002. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46, 2720, 2002.
- Ralph, P., Nakoinz I. 1975. Phagocytosis and cytolysis by a macrophage tumour and its cloned cell line. *Nature*. 257, 393-394.
- PODSEDEK, A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT - Food Science Technology*, 40,1-11;.
- Re, R., et al. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231–1237.
- Roberts EAH, Cartwright RA, Oldschool M 1957. Phenolic substances of manufactured tea. I. Fractionation and paper chromatography of water-soluble substances. *J Sci Food Agr* 8: 72-80.
- Santana, A.F.; Rocha, M.L.; Bomfim, H.F.; Valadares, S.N.S.; Lucchese, A.M. 2015. Composição química e atividade antioxidante das frações clorofórmica e hidrometanólica do extrato da raiz de *Cereus jamacaru* DC. (Cactaceae). In: II Simpósio da Rede de Recursos Genéticos Vegetais do Nordeste, 2015, Fortaleza. Anais do II Simpósio da RGV Nordeste. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical.
- Schwarz, A. Medeiros, I., Mourão C., Queiroz, F., Pflugmacher, S. 2010. Phytochemical and toxic analysis of an ethanol extract from *Cereus jamacaru*. *Toxicology Letters*, 196.
- Silva, V.A. 2015. Diversidade de uso das cactáceas no nordeste do Brasil: uma revisão. *Gaia Scientia*, 9, 137-154.
- Soares, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev. Nutr., Campinas*. v.15, n. 1, p. 71-81, 2002.
- Taylor N, Santos Mr, Larocca J E Zappi D. 2015. Cactaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Uchôa, A.D.A., et al. 2015 Antioxidant Activity and Phytochemical Profile of *Spondias tuberosa* Arruda Leaves Extracts. *American Journal of Plant Sciences*, 6, 3038-3044
- Wagner H, Bladt S 1996. Plant drug analysis -A thin layer chromatography atlas. Springer. 2.ed. Munich
- Woisky R.G., Salatino. A. 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, 37.

Tabela 1: Sistemas e reveladores para screening fitoquímico utilizado na técnica de cromatografia em camada fina (TLC).

Classe de metabólitos secundários	Padrões	Sistema de eluição	Revelador	Referências
Flavonoides e fenilpropanoglicosídeos	Quercetina, rutina e ácido clorogênico	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	NEU	Wagner; Bladt, 1996
Triterpenos e esteroides	β -sitosterol	Tolueno:AcOEt (90:10 v/v)	Lieberman & Burchard	Harborne, 1998
Saponinas	-	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Lieberman & Burchard	Harborne, 1998
Mono e sesquiterpenos	Timol	Tolueno:AcOEt (97:3 v/v)	Anisaldeído sulfúrico	Harborne, 1998
Cumarinas e Quinonas	Cumarina e lapachol	CHCl ₃ -MeOH (98:2 v/v)	KOH	Wagner; Bladt, 1996
Alcaloides	Pilocarpina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Dragendorff	Wagner; Bladt, 1996
Proantocianidinas condensadas	Catequina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Vanilina clorídrica	Roberts et al. 1957

Tabela 2: Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) expressas em mg.mL^{-1} , do extrato metanólico de *Cereus jamacaru* e a razão CBM/CIM, onde se a razão for ≤ 2 é Bactericida e se for > 2 é bacteriostático

Microrganismos	CIM (mg.mL^{-1})	CBM (mg.mL^{-1})	CBM/CIM
<i>Streptococcus mutans</i>	12,5	12,5	1
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,562	3,125	2
<i>Streptococcus sanguis</i>	0,39	0,78	2
<i>Streptococcus mitis</i>	12,5	12,5	1
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	6,25	12,5	2
<i>Salmonella sp.</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5	12,5	1

Figura 1: Perfil da síntese de estafiloξανtina por cepas de *Staphylococcus aureus* na presença do extrato metanólico *Cereus jamacaru* em diferentes concentrações: CIM (12,5mg/ml) ; CIM/2; CIM/4; CIM/8; CIM/16, do extrato metanólico de

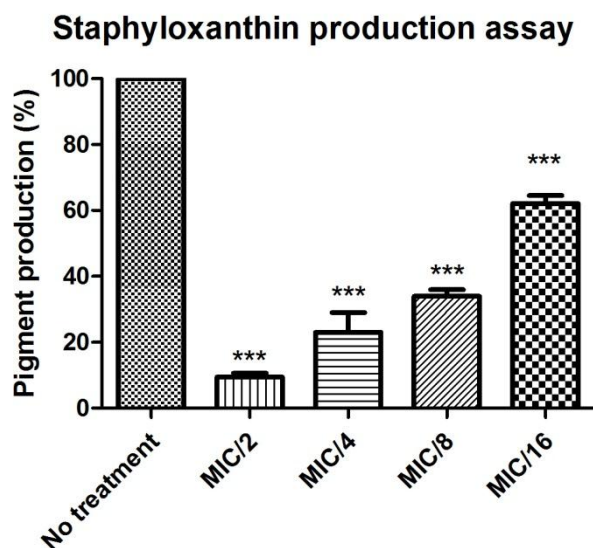
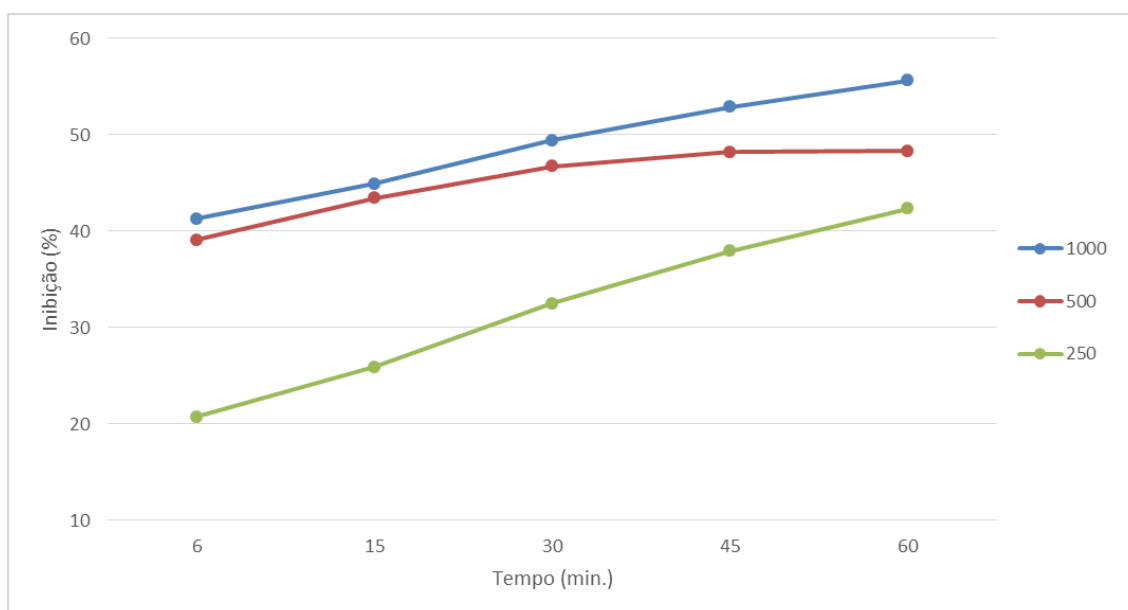


Tabela 3: Atividade antioxidante do extrato metanólico de *C. jamacaru* em diferentes concentrações.

Concentração do extrato em ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH (%SRL)
1000	$55,85 \pm 2,41$
500	$32,32 \pm 1,24$
250	$20,58 \pm 0,44$
125	$13,82 \pm 0,79$
62,5	$7,15 \pm 0,88$
31,2	$3,63 \pm 0,72$

Figura 2: Efeito da atividade antioxidante durante um periodo de incubação de 60 minutos do extrato metanólico de *C. jamacaru* em concentrações 1000,500 e 250 $\mu\text{g/ml}$, no ensaio ABTS.



CAPÍTULO 3

Avaliação da produção de carotenoides e de suas atividades biológicas por *Micrococcus luteus* isolados do Semiárido brasileiro

Manuscrito a ser traduzido para o inglês e submetido ao Periódico:

Journal of Biotechnology and Biodiversity

Normas para submissão no periódico disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/about/submissions>

Avaliação da produção de carotenoides e de suas atividades biológicas por *Micrococcus luteus* isolados do Semiárido brasileiro

Resumo

Os carotenóides pertencem ao grupo de corantes naturais com importantes funções biológicas e podem ser produzidos por microrganismos. *Micrococcus luteus* é uma actinobactéria produtora do carotenoide amarelo, sarcinaxantina. Este estudo relata a caracterização de carotenoides produzidos por *M. luteus* isolados do solo da região da caatinga e avalia suas atividades biológicas. Os isolados bacterianos foram identificados por análises bioquímicas e moleculares. O pigmento extraído da biomassa bacteriana foi caracterizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Determinou-se a atividade antioxidante e a atividade antimicrobiana através da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). Os resultados das análises morfológicas e moleculares identificaram os isolados FT9.12 e FT5.10 como pertencentes a espécie *Micrococcus luteus*. Os perfis cromatográficos foram semelhantes para os dois extratos, apresentando compostos majoritários característicos do carotenoide sarcinaxantina. O isolado *M. luteus* FT9.12 destacou-se na produção de sarcinaxantina (12.01 mg/L). Nas atividades antioxidantes, destacou-se o método de inibição da oxidação do β -caroteno que exibiu uma taxa de 78.65(\pm 7.046) % (FT9.12). O Fator de Proteção Solar (FPS) foi de 4.26(\pm 0.83) para FT5.10. Nas atividades antimicrobianas, destacou-se o CIM (0.962 mg.mL⁻¹) e CBM (1.443 mg.mL⁻¹) o extrato do isolado FT9.12 para *Echerichia coli* e *Salmonella spp.*, o FT5.10 mostrou CIM e CBM de 0.91mg.mL⁻¹ para *S. aureus*.

Palavras-chaves: Caatinga, *Micrococcus luteus*, sarcinaxantina, processos fermentativos, atividades biológicas.

INTRODUÇÃO

Os carotenoides são pigmentos naturais lipofílicos originados da via biossintética dos terpenoides, cuja coloração varia do amarelo ao vermelho (Bonet et al. 2015). Eles são encontrados em microrganismos e plantas e mais de 750 carotenoides diferentes foram isolados de fontes naturais (Shindo e Misawa, 2014). Eles apresentam atividades biológicas como proteção contra danos fotooxidativos em organismos não fotossintéticos (Mata-Gomez et al. 2014) e podem prevenir certos tipos de câncer, doenças vasculares e Alzheimer (Heider et al. 2012).

Este grupo de moléculas é importante para a indústria farmacêutica, química e de alimentos por serem agentes corantes naturais e por suas propriedades biológicas e também são utilizados como suplemento alimentar em áreas como aquicultura. Segundo o Relatório do Mercado Global de Carotenoides, a Companhia de Comunicações Empresarial (BCC Research) estimou que o valor do mercado mundial de carotenoides utilizados comercialmente foi cerca de US\$ 1,2 bilhão em 2010, com uma chance de crescer para US\$ 1,4 bilhões em 2018, com uma taxa de crescimento anual composta de 2,3% (März, 2011).

A maioria dos carotenoides possuem 40 carbonos em sua estrutura que podem ser agrupados em carotenos e xantofilas (Mata-Gómez et al. 2014). Um pequeno número de carotenoides possui 30 carbonos e um número ainda menor possui 50 carbonos em sua estrutura (Netzer et al. 2010). Os carotenoides C50 são sintetizados por bactérias da ordem Actinomycetales (Netzer et al, 2010) e por bactérias Gram-negativas *Pseudomonas* (Miki et al. 1994).

Micrococcus luteus é uma bactéria Gram positiva representante das actinobactérias, com elevadas concentrações de guanina e citosina (G + C) no DNA, é aeróbica, não formadora de esporos, amplamente distribuída na natureza, mas o seu habitat primário é o solo (Mohana et al. 2013; Ventura et al., 2007; Silva et al., 2015). Ela é capaz de sobreviver sob condições estressantes, como extremos de temperatura e baixa quantidade de nutrientes (Umadevi and

Krishnaveni, 2013). É conhecida pela produção de carotenoide C50, denominado sarcinaxantina (Netzer et al. 2010; Klassen e Foght, 2011).

A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro e ocupa uma área de 840.000 km², o equivalente a aproximadamente 10% do território brasileiro (Santos et al. 2011) e tem como características principais, baixas taxas de precipitação anual (menos de 800 mm), temperaturas elevadas durante o dia, baixa umidade e alta taxa de incidência de radiação solar. A temperatura varia entre 23°C e 27°C, enquanto que o solo pode atingir temperaturas de cerca de 60°C (Apgaua et al. 2014; Menezes et al. 2015). É um ambiente hostil para o desenvolvimento da maioria dos organismos, especialmente para o crescimento microbiano no solo. E os microorganismos que conseguiram sobreviver neste ambiente possui uma alta adaptação (Silva et al. 2015; Duarte et al. 2012).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a produção de carotenoides por isolados de *Micrococcus luteus* obtidos do solo da Caatinga do Nordeste brasileiro, e avaliar suas atividades antioxidantes, fotoprotetora e antibacteriana.

MATERIAL E MÉTODOS

ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO SOLO PRODUTORAS DE CAROTENOIDES

O solo foi coletado na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Fazenda Tamanduá (FT) situada no município de Santa Terezinha - PB, na Mesoregião do Sertão. As amostras foram coletadas assepticamente em sacos plásticos na camada 0 - 20 cm do solo, transportadas para o laboratório a 4°C, e foram mantidas na geladeira até o processamento.

Após enriquecimento (5g de solo foi incubado em 50 ml de TSB a 5% acrescido de 1% de glicose por 7 dias sob agitação) 100 µL das diluições (10⁻⁶) foram semeados no meio TSB (acrescido de 1,5% de agar) suplementado com cicloheximidina (50 mg/mL). As colônias selecionadas foram purificadas por esgotamento no meio TSB (acrescido de 1,5% de agar) (Soares Jr et al. 2012).

Cada microorganismo recebeu uma nomenclatura FT (Fazenda Tamanduá), região 1 a 9, e a numeração do isolado. Para este trabalho foram utilizados apenas os isolados pigmentados em amarelo (FT 5.10 e FT 9.12)

IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA

Testes bioquímicos básicos foram realizados nos dois isolados bacterianos FT9.12 e FT5.10, como a coloração de gram (Pelczar et al 1997), prova da catalase, teste do crescimento em ágar manitol salgado e teste de bacitracina e prova da hidrólise da bile esculina de acordo com a metodologia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil 2004).

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

O DNA genômico foi extraído de células de bactérias cultivadas em meio de cultura Luria Bertani (LB) a 37°C por 48 horas, segundo metodologia descrita por Sambrook, et al. (1989) e o gene 16S rDNA foi amplificado por PCR utilizando os seguintes oligonucleotídeos iniciadores: fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e rD1 (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3') (Weisburg et al., 1991). Os produtos amplificados foram sequenciados em sequenciador automático de DNA ABI 3500. O alinhamento múltiplo das sequências foi realizado a partir do programa CLUSTALw (Thompson et al. 1994) e visualizado através do programa MEGA 6. A amplificação por REP-PCR foi realizada seguindo a metodologia utilizada por Lucena et al. (2010), utilizando como primer (GTG)5. As sequências resultantes foram analisadas usando as ferramentas Pregap4 e Gap4 do pacote de

softwares STADEN 1.6 e submetidas à busca de similaridade no banco de dados do Centro Nacional de Informação Biotecnológica (NCBI), utilizando a ferramenta Blast N (Altschul et al. 1997), e Ribosomal Database Project (RDP). A identificação bacteriana foi assumida quando a sequência de consulta mostrou similaridade > 97% para o gene 16S (Gevers et al. 2005).

EXTRAÇÃO DO PIGMENTO

Os isolados bacterianos de coloração amarela foram cultivados em meio TSB a 30°C, a 180 rpm por 48h. Posteriormente, as células foram coletadas por centrifugação a 14.000 rpm durante 6 minutos, em que o pellet obtido foi lavado com água esterilizada. A extração dos carotenoides foi realizada a partir da biomassa seca, utilizando metanol, de acordo com as metodologias descritas por Netzer et al. (2010) e Kaiser et al. (2007).

Em seguida, os extratos obtidos foram secos em rotaevaporador a 40°C e foram submetidos a um processo de saponificação (Meléndez-Martínez et al. 2007). Os extratos foram secos novamente em rotaevaporador e os materiais residuais foram ressuspendidos em 10 mL de álcool metílico. Ao final, foi feita a filtração dos pigmentos extraídos através de membrana hidrofóbica PTFE com 0,45 micrômetros.

CARACTERIZAÇÃO DOS CAROTENOIDES POR HPLC

Os extratos obtidos foram analisados através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para caracterização dos carotenoides, utilizando a coluna SunFire C18 (4.6 x 150 mm), com uma fase móvel de acetonitrila/metanol/acetato de etila (10:50:40) e o comprimento de onda de 450 nm. O betacaroteno foi utilizado como padrão externo.

ATIVIDADES ANTIOXIDANTES

DPPH –(2,2-difenil-1-picril-hidrazila)

A avaliação da capacidade em sequestrar o radical livre DPPH• foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Blois (1958). Numa microplaca de 96 poços, 40µL dos extratos metanólicos nas concentrações 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 16.25 e 7.56 µg/mL, reagiram com 250µL de solução metanólica de DPPH• durante 25 minutos, ao abrigo da luz. A medida da absorbância foi realizada no comprimento de onda de 517 nm em leitor de Microplacas. Todas as análises foram feitas em triplicata. O ácido gálico foi utilizado como padrão. A percentagem de sequestro de radical livre (%SRL) foi calculada pela seguinte equação:

$$\text{SRL (\%)} = \frac{(\text{Abs. controle} - \text{Abs. amostra})}{\text{Abs. controle}} \times 100$$

ABTS- [2,2'- azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido-sulfônico)]

Este método foi realizado segundo Re et al. (1999). O radical ABTS•+ foi preparado a partir da reação de 7.81 mL da solução de ABTS com 0.137 mL da solução de persulfato de potássio. A mistura permaneceu no escuro, à temperatura ambiente, por 16 horas. Em seguida, 1 mL desta mistura foi diluída em álcool etílico até obter uma absorbância de 0.700 (±0.020) nm a 734 nm. Foi preparada uma curva padrão com o Trolox com concentrações que variam de 100 a 2000µM. Foram adicionadas 10µL das amostras dos extratos metanólicos brutos na concentração 1000µg/mL em 1mL do reagente de ABTS e a absorbância das amostras foi determinada exatamente após 6 minutos no comprimento de onda de 734 nm. O BHT(Butylhydroxytoluene) foi utilizado como padrão. Os resultados foram expressos em Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC).

FRAP -Redução dos íons de ferro

O FRAP foi realizado de acordo com Benzie e Strain (1996). O reagente foi preparado misturando-se tampão acetato de sódio 300 mM a pH 3,6, solução de TPTZ 10 mM em HCl 40 mM e solução de cloreto férrico 20 mM na proporção 10:1:1. O BHT foi utilizado como padrão. Numa microplaca de 96 poços foram adicionados 180 µL do reagente e 20µL do padrão ou extrato e incubados durante trinta minutos a 37°C. A leitura da absorbância foi realizada a 593 nm. Foi preparada uma curva padrão com o sulfato ferroso heptahidratado com concentrações que variam de 500 a 2000 µM. Os resultados foram expressos em µM de sulfato ferroso/g extrato (atividade antioxidante equivalente ao sulfato ferroso heptahidratado).

Sistema de co-oxidação o β-caroteno/ ácido linoleico

A medida da atividade antioxidante pela oxidação acoplada do beta-caroteno e do ácido linoleico foi realizada de acordo com o método descrito por Kabouche et al. (2007). Foram pesados 0.5 mg de beta-caroteno e diluídos em 1mL de clorofórmio. Em seguida, foram adicionados 25µL de ácido linoleico e 200mg de monopalmitato de polioxietileno sorbitan. O clorofórmio foi evaporado à 40°C. Em seguida 100mL de água destilada foi adicionada aos poucos agitando vigorosamente para formar uma emulsão. As amostras foram diluídas nas seguintes concentrações: 25, 50, 100, 200 e 400 µg/mL. 50 µL da amostra foi adicionada à 1mL da emulsão e 200µL desta mistura foram colocados numa microplaca. O tempo zero (A₀) foi medido imediatamente à 470 nm e as amostras foram incubadas por 2h a 50°C. A absorbância foi determinada novamente após 120 minutos (A₁₂₀). O mesmo procedimento foi realizado com o BHT para ser utilizado como padrão. O cálculo da inibição foi realizado com a seguinte fórmula:

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{(\text{Abs. controle} - \text{Abs. amostra}) \times 100}{\text{Abs. controle}}$$

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Microrganismos e condições de crescimento

As bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria monocytogenes* ATCC 7664, *Escherichia coli* ATCC 8730 e *Salmonella* spp. ATCC 14028 armazenadas em meio Mueller hinton agar foram cultivadas em meio líquido BHI (brain heart infusion) e incubadas a 37°C por 24h. Os inóculos bacterianos foram preparados em solução salina (NaCl 0.90%), para obter a turvação correspondente a 0.5 na escala McFarland. A leitura espectrofotométrica foi realizada no comprimento de onda 625 nm, para ajustar a absorbância no valor de 0,132, correspondente a concentração de 10⁸ UFC/ml (Lopes et al. 2013).

Concentração Inibitória Mínima-CIM

Para a determinação do CIM, foram utilizadas microplacas estéreis com 96 poços de acordo com Dussalt et al. (2016) com adaptações. Os extratos metanólicos de coloração amarela dos isolados de *M. luteus* foram dissolvidos em metanol na concentração de 5.52mg /ml e 5.77mg /ml para FT5.10 e FT9.12, respectivamente. Nos microplacas, cada compartimento tinha um volume final de 100 uL com proporções variáveis de infusão de cérebro e coração (BHI) e forma o extrato analisado, atingindo concentrações diferentes do produto. Em seguida, a cada poço adicionou-se 20 µL do inóculo, exceto no controle estéril. Foram utilizados controle de esterilidade (CE) contendo 100 µL de meio estéril, e controle de crescimento (cc) contendo 80 µL de meio e 20 µL de inóculo. O material foi incubado a 37 °C durante 24 horas. Após o período de incubação, foram adicionados 30 µL de resazurina. As microplacas foram colocadas

de novo em estufa durante 1 hora a 37°C. A CIM é a concentração mais baixa do extrato que impedia o crescimento bacteriano visível após 24h de incubação a 37°C.

Concentração Bactericida Mínima-CBM

Após a determinação da CIM, a primeira concentração que não apresentou crescimento visível e três imediatamente acima, foram cultivadas em placas de petri contendo meio BHI agar. Foram transferidos 10 µL dos poços para as placas de petri que foram incubadas a 37 °C em condições de microaerofilia por 24 horas. A CBM foi determinada pela análise de crescimento bacteriano visível.

ATIVIDADE FOTOPROTETORA

Soluções metanólicas de concentração 100mg/L foram preparadas em triplicata com o extrato bruto dos isolados e a absorbância determinada em espectrofotômetro nos seguintes comprimentos de onda: 290, 295, 300, 305, 310, 315 e 320 nm. Os valores obtidos foram utilizados para o cálculo do FPS (fator de proteção solar) utilizando a seguinte fórmula:

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda)$$

Onde: FC = fator de correção; EE (λ) = efeito eritematogênico da radiação solar em cada comprimento de onda (λ); I (λ) = intensidade da luz solar no comprimento de onda (λ); Abs (λ) = leitura espectrofotométrica da absorbância da formulação em solução no comprimento de onda (λ).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os dados dos experimentos foram representados por média (±SD) e analisados com o programa GraphPad Prism 5. Diferenças foram consideradas significativas quando P<0.05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

Os dois isolados bacterianos (FT9.12 e FT5.10) utilizados neste estudo para avaliação da produção de corantes naturais, foram identificados como *Micrococcus luteus*. Contudo, observou-se uma diferença fenotípica, quanto à intensidade da cor amarela apresentada pelos isolados quando observado a morfologia de suas colônias, sugerindo diferenças na produção e quantidade de pigmento produzido por eles.

Sendo assim, comparou-se as sequências do gene 16S rDNA dos isolados através do alinhamento múltiplo utilizando a ferramenta MEGA 6.0 que revelou um alto grau de conservação entre as sequências. Tais resultados corroboram com a identificação no nível de espécie dos isolados bacterianos, visto a estabilidade e conservação do marcador genético utilizados.

Por isso, fez-se necessário a utilização de outro marcador genético que refletisse a variabilidade genética entre os isolados de *M. luteus*. O rep-PCR tem demonstrado ser uma ferramenta valiosa para identificar, rastrear e analisar a diversidade bacteriana, visto que cinco por cento do genoma bacteriano é constituído por sequências de DNA repetitivos, e sendo assim a PCR, utilizando esse DNA repetitivo como iniciador, tem gerado perfis de amplificação únicos, refletido uma impressão digital única para as linhagens bacterianas. Uma vez que cada linhagem ou isolado bacteriano possuem sequências repetitivas localizadas em regiões distintas seu genoma (Ishii e Sadowsky, 2009).

Desta forma, a técnica rep-PCR com o primer GTG5 foi utilizada com o objetivo de diferenciar a nível intra-específico estes isolados e que eles apresentaram perfis genéticos diferentes. Sabendo que cada perfil de amplificação pode estar associado a uma “impressão digital” de uma linhagem distinta, esses dados indicam para a ocorrência de linhagens diferentes de *Micrococcus luteus* entre os isolados, o que pode corroborar com os dados fenotípicos, quanto a diferenças na intensidade de pigmentação apresentada.

IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA

Os dois isolados são Gram positivos, apresentam forma de cocos com arranjos em cachos, são catalase positivos, apresentam sensibilidade a bacitracina, não demonstraram crescimento em ágar manitol salgado e foram negativos para o teste da hidrólise da esculina. Não apresentaram motilidade e as colônias possuíam coloração amarela. Os testes bioquímicos realizados nos dois isolados bacterianos estão descritos na Tabela 1. Estes resultados corroboram com a identificação molecular confirmando que os isolados bacterianos são *M. luteus*

Tabela 1: Resultado das provas para identificação bioquímica para os isolados bacterianos.

Provas Bioquímicas	FT 5.10	FT 9.12
Coloração de Gram	Positivo	Positivo
Morfologia	Cocos com arranjos em cachos	Cocos com arranjos em cachos
Catalase	Positivo	Positivo
Sensibilidade à bacitracina	Positivo	Positivo
Crescimento em ágar manitol salgado	Negativo	Negativo
Teste da hidrólise da esculina	Negativo	Negativo
Motilidade	Negativo	Negativo
Coloração	Amarela	Amarela

CARACTERIZAÇÃO DOS PIGMENTOS CAROTENOIDES POR HPLC

Análises realizadas por HPLC do extrato metanólico do isolado FT9.12 (Figura 1) mostrou dois compostos majoritários com tempos de retenção de 3.166 e 3.905, com o máximo de absorção de 415.5, 439.7, 468.9 nm, típicos de sarcinaxantina e seus derivados (Netzer, 2010), e a concentração de 4.19 mg/L e 12.01 mg/L, respectivamente. O extrato do isolado FT5.10 (Figura 2) mostrou um composto predominante similar, entretanto com a concentração 16 vezes menor. Este resultado está de acordo com a análise visual da produção de pigmento pois a tonalidade do amarelo no isolado FT 9.12 é mais intenso que o observado no isolado FT 5.10. Comparando com as seguintes leveduras que são referência na produção de beta-caroteno, a levedura *Rhodotorula rubra* NRRL Y-15596, que atinge uma média de produção de 1.04mg/L, o isolado FT9.12 produziu 12 vezes mais pigmento carotenoide e o isolado FT 5.10, 1.4 vezes a menos. Comparando com a levedura *Rhodotorula glutinis var glutinis*, que atinge uma média de produção de 7.37mg/mL (Bhosale and Gadre, 2001), o isolado FT9.12 produziu 1.6 vezes mais pigmento carotenoide e o isolado FT5.10, 10 vezes a menos.

Figura 1: Perfil do cromatograma do extrato de FT 9.12 exibindo pico a 3.9 minutos (a). Espectro UV de absorção com pico 3.9 minutos (b):

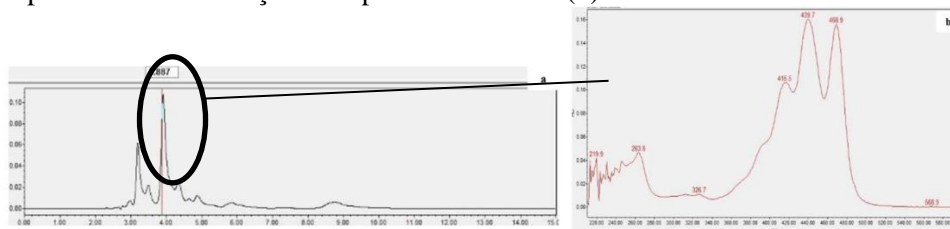
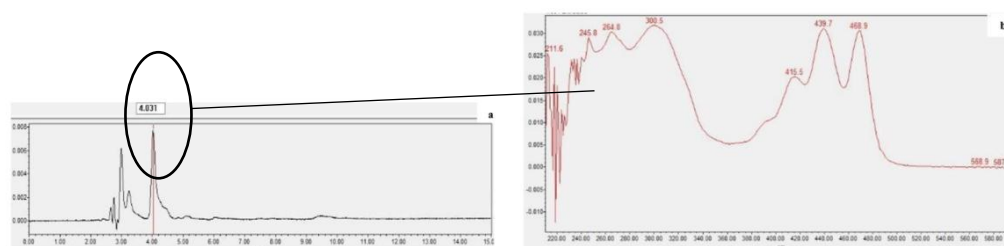


Figura 2: Perfil do cromatograma do isolado FT 5.10 exibindo pico a 4.0 minutos (a). Espectro UV de absorção do isolado FT5.10 com pico 4.0 minutos (b):



ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

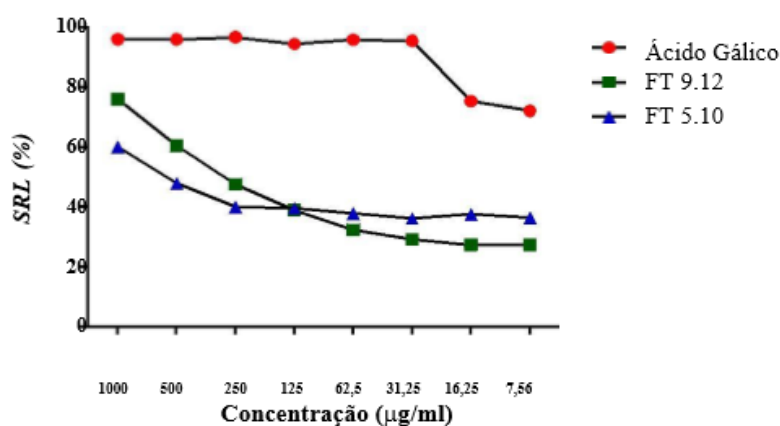
Os pigmentos carotenoides são conhecidos por sua atividade antioxidante. Eles têm a capacidade de sequestrar oxigênio singlete e outros tipos de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Kiokias et al. 2016) e por isso podem reduzir ou até prevenir o desenvolvimento de muitas desordens relacionadas com as ROS como arterosclerose, cataratas, esclerose múltipla e até alguns tipos de câncer (Manimala e Murugesan, 2014).

DPPH

O aumento da concentração dos extratos e do padrão acarretou em um aumento do sequestro do radical DPPH•. O extrato metanólico bruto do isolado FT5.10 exibiu como percentagem de sequestro do radical livre, 36.49(±2.4) % na concentração 7.56 µg/mL e aumentou para 60.16(±1.14) % quando a concentração aumentou para 1000 µg/mL. O extrato metanólico bruto do isolado FT 9.12 exibiu como percentagem de sequestro do radical livre 27.55(±0.8) % na concentração 7.56 µg/mL e aumentou para 76.06(±2.2) % quando a concentração aumentou para 1000 µg/mL (Figura 3).

Ser et al. (2015) analisando o extrato em DMSO (Dimetilsulfóxido Dimetilsulfóxido)de *Streptomyces pluripotens* MUSC 137 isolada do solo na Malasia, verificou a atividade sequestradora do radical livre de DPPH• de 23.24(±5.0) a 1000µg/mL. Comparando com os dados obtidos no presente estudo, o extrato de FT 9.12 apresentou atividade 3.27 vezes superior e o extrato do isolado FT 5.10, 2.58 vezes superior para a mesma concentração.

Figura 3: Percentagem de sequestro de radical livre DPPH• do extrato metanólico dos isolados FT 9.12 e FT 5.10.



ABTS

O valor do isolado FT 9.12, $1278(\pm 99.05)$ $\mu\text{M TEAC/g}$ de extrato, foi 1,76 vezes superior ao obtido para o isolado FT 5.10, $725.4(\pm 53.16)$ $\mu\text{M TEAC/g}$ de extrato. Em termos de percentagem, o isolado FT 9.12 exibindo $63.82(\pm 4.233)$ %, foi 1.58 vezes superior ao obtido para o isolado FT 5.10 que apresentou $40.22(\pm 2.272)$ %.

Pawar et al. (2015) também avaliaram os extratos de bactérias pigmentadas que estavam associadas a algas marinhas com o método ABTS. Os extratos metanólicos brutos das bactérias *Pseudomonas argentinensis*, *Pseudomonas Koreensis* e *Serratia rubidaes*, todas na concentração $1000 \mu\text{g/mL}$, apresentaram os seguintes resultados: $1.8(\pm 0.01)$ %, $19.2 \pm 0.05\%$, $7.2 \pm 0.03\%$, respectivamente. O extrato do isolado FT 9.12 apresentou atividade de sequestro do $\text{ABTS}\cdot+$ 36, 3.0 e 9.0 vezes superior e o extrato do isolado FT 5.10 foi 22, 2 e 5 vezes superior aos valores obtidos de *Pseudomonas argentinensis*, *Pseudomonas Koreensis* e *Serratia rubidaes*, respectivamente.

FRAP

O extrato metanólico do isolado FT9.12 apresentou na concentração de $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ o valor de $6951(\pm 245.0)$ $\mu\text{molesFe(II)/g}$ extrato e o extrato metanólico do isolado FT5.10 na mesma concentração apresentou o valor de $9410(\pm 376.7)$ $\mu\text{molesFe(II)/g}$ extrato. Pelos dados obtidos pode-se concluir que os extratos metanólicos dos isolados de *M. luteus* apresentaram boa capacidade redutora dos íons ferro. Pode-se observar que o extrato do isolado FT 5.10 teve desempenho 4 vezes superior na redução do íon ferro comparando com o extrato do isolado FT 9.12.

Sistema de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico

O extrato metanólico dos isolados FT5.10 e FT9.12 na concentração de $400 \mu\text{g/mL}$ apresentou as maiores percentagens de inibição, $74.48(\pm 3.253)$ % e $78.65(\pm 7.046)$ %, respectivamente. Kumar et al.(2014) analisaram a percentagem de inibição no sistema de cooxidação do β caroteno/ácido linoleico com o extrato bruto de um isolado de *Streptomyces* extraído em acetato de etila que demonstrou inibição de 50% na concentração de $400 \mu\text{g/mL}$. Comparando com os resultados obtidos por Kumar et al.(2014) o extrato bruto de FT5.10 e FT9.12 se mostraram

muito mais eficientes na inibição da oxidação do β -caroteno que o extrato de *Streptomyces*. A mesma percentagem de inibição de 50.00% foi alcançada pelo extrato bruto de FT 9.12 na concentração de 25 $\mu\text{g/ml}$ e o extrato de FT 5.10 inibiu a oxidação do β -caroteno em 52.08 (± 33.71) % na concentração de 50 $\mu\text{g/ml}$.

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

CIM

Os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana de extrato metanólico em bruto de FT5.10 isolado e FT9.12 utilizando a concentração inibitória mínima estão na tabela 3, respectivamente. As concentrações analisadas do extrato de metanol de FT5.10 variou de 5.52mg/ml e 0.46mg/ml e para o extrato de metanol de concentrações FT9.12 variou de 5,77 mg/ml e 0,481 mg/mL.

Tabela 2 Resultados de CIM (mg.mL⁻¹) do extrato metanólico do isolado FT5.10 e FT9.12

Microorganismos	CIM mg.mL ⁻¹	
	FT 5.10	FT 9.12
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,91	<0,481
<i>Escherichia coli</i>	1,38	0,962
<i>Listeria monocytogenes</i>	<0,46	<0,481
<i>Salmonella sp.</i>	0,962	0,962

Não foi possível determinar a concentração inibitória mínima para *L. monocytogenes* pois a menor concentração do extrato analisado (460 μg / ml) foi capaz de inibir o crescimento bacteriano após 24 h de incubação a 37°C.

O extrato do isolado FT9.12 demonstrou uma atividade antibacteriana superior ao extrato em isolado FT5.10 porque menores concentrações do extrato do isolado FT9.12 em relação ao extrato do isolado FT 5.10 conseguiu inibir o crescimento de *E. coli* e *Salmonella spp.* Não foi possível determinar a MIC para *S. aureus* e *L. monocytogenes* pois a menor concentração do extrato analisado (481 μg /ml) foi capaz de inibir o crescimento de bactérias.

CBM

A concentração bactericida mínima dos extratos brutos metanólicos dos isolados FT5.10 e FT9.12 estão na tabela 4. A concentração bactericida mínima para *L. monocytogenes* não pôde ser determinado a partir de extratos dos dois isolados porque não houve qualquer crescimento bacteriano nos concentração analisada do extrato bruto dos isolados de *M. luteus*.

Tabela 3: : Resultados de CBM (mg.mL⁻¹) do extrato metanólico do isolado FT5.10 e FT9.12

Microorganismos	CBM mg.mL ⁻¹	
	FT 5.10	FT 9.12
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,91	0,962
<i>Escherichia coli</i>	1,84	1,443
<i>Listeria monocytogenes</i>	<0,46	<0,481
<i>Salmonella spp.</i>	1,84	1,443

ATIVIDADE FOTOPROTETORA

Os resultados de absorvância obtidos entre os comprimentos de onda: 290, 295, 300, 305, 310, 315 e 320 nm foram submetidos a um tratamento matemático já descrito anteriormente, e os valores do FPS do extrato metanólico foram : 3.59 (\pm 0.64) para o isolado FT9.12 e 4.26 (\pm 0.83). para o isolado FT5.10.

Os carotenoides podem ser utilizados como agente bioativo em formulações fotoprotetoras devido as suas propriedades biológicas de proteção do organismo contra a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e da radiação UV. Os carotenoides absorvem luz na faixa de 350-500 nm e essa faixa de absorção confere uma proteção ampla do espectro e, portanto, a absorção dos carotenoides nesta faixa iria proporcionar uma proteção complementar e aumentar a proteção de radiação acima de 400 nm pelos protetores solares (Stafsnes et al. 2010).

CONCLUSÃO

Foram isolados duas cepas de *Micrococcus luteus* do solo da caatinga, elas são capazes de produzir um carotenoide amarelo, chamado sarcinaxantina, neste trabalho pode-se observar a atividade biológica do extrato metanólico, sendo este corante natural um potencial antimicrobiano, antioxidante e fotoprotetorar.

REFERÊNCIAS

- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schaffer, A. A., et al. Gapped BLAST and PSIBLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, p. 3389-3402, 1997.
- Apgaua, D.M.G; Santos R.M., Perreira D.G.S. et al. Beta-diversity in seasonally dry tropical forests (SDTF) in the Caatinga Biogeographic Domain, Brazil, and its implications for conservation. **Biodiversity and Conservation**, v. 23, p. 217-232, 2014.
- Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p.70-76, 1996.
- Bhosale, P.; Gadre, R.V. Optimization of carotenoid production from hyper-producing *Rhodotorula glutinis* mutant 32 by a factorial approach. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, p.12-16, 2001.
- Brasil -Agência Nacional De Vigilância Sanitária . Detecção e identificação de bactérias de importância médica: Módulo V. Brasília, DF, 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod_5_2004.pdf Acesso em: 15 abr. 2017.
- Duarte, R.T.D.; Nóbrega, F.; Nakayama, C.R.; Pellizari, V.H. Brazilian research on extremophiles in the context of astrobiology. **International Journal of Astrobiology**, v. 11, n.4, p.325–333, 2012
- Gevers, D.; Cohan, F.M.; Lawrence, J.G.; Spratt, B.G. et al. Re-evaluating prokaryotic species. **Nature Reviews Microbiology**, v.3, p.733-739, 2005.
- Heider, S.; Peters-Wendisch, P.; Wendisch,V. Carotenoid biosynthesis and overproduction in *Corynebacterium glutamicum*. **BMC Microbiology** v.12, p.1471-2180, 2012.
- Ishii, S.; Sadowsky, M.J. Applications of the rep-PCR DNA fingerprinting technique to study microbial diversity, ecology and evolution. **Environmental Microbiology**, v.11, n.4, p.733–740, 2009.
- Kabouche, A., Kabouche, Z., Ozturk, M., Kolal, U., Topcu, G. Antioxidant abietane diterpenoids from *Salvia barrelieri*. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1281–1287, 2007.
- Kaiser, P.D.; Golczak, M.; Palczewski, K. Chemistry of the Retinoid (Visual) Cycle. **Chemical reviews**, v.114, n.1, p. 194-232, 2014.

- Kiokias, S., Proestos, C. Varzakas T. A review of the structure, biosynthesis, absorption of carotenoids-analysis and properties of their common natural extracts. **Current Research in Nutrition and Food Science**, v. 4(1), p.25-37. (2016).
- Klassen, J.L., Foght, J.M. Characterization of Hymenobacter isolates from Victoria Upper Glacier, Antarctica reveals five new species and substantial non-vertical evolution within this genus. **Extremophiles**, v, 15, p. 45–57, 2011.
- Kumar, P.P.; Raj, J.P.; Christudas, I.V.S.N. α -Glucosidase inhibition and antioxidante properties of Streptomyces sp.: In vitro. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.172, p. 1687-1698, 2014.
- Lopes, L.T.A.; De Paula; J.R.; Tresvenzol, L.M.F. et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e anatomia foliar e caulinar de *Citrus limettioides* Tanaka (Rutaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e aplicada**, v. 34, n.4, p.503-511, 2013.
- Marz, U. The global market for carotenoids. Technical Report FOD025D. Business Communications Company, Inc. Norwalk, CT, 2011. Disponível em: [http://www.bccresearch.com/pressroom/fod/global-carotenoids-market-reach-\\$1.4-billion-2018](http://www.bccresearch.com/pressroom/fod/global-carotenoids-market-reach-$1.4-billion-2018). Acesso em 24 de abril de 2017.
- Mata-Gómez, L.C.; Montañez, J.C.; Méndez-Zavala, A; Aguilar, C.N. Biotechnological production of carotenoids by yeasts na orverview. **Microbial cell factories**, v.13, n.12, p.1-11, 2014.
- Meléndez-Martínez, A.J; Vicario, I.M; Heredia, F.J. Review: Analysis of carotenoids in Orange juice. **Journal of food composition and Analysis**, v. 20, p. 638-649, 2007.
- Menezes, K.A.S., Nunes, G.F.O., Sampaio, A.A., Aidar, S.T., Martins, L.M.V., Fernandes-Júnior, P.I. Seedling development of nodulating and non-nodulating native legumes in soils from Brazilian Caatinga biome. **Plant Science Today**, v.2, n.2, p.56-59, 2015.
- Miki W, Otaki N, Yokoyama A, Izumida H, Shimidzu N. Okadaxanthin, a novel C50-narotenoid from a bacterium, Pseudomonas sp. KK10206c associated with marine sponge, Halichondria okadai. **Experientia. Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 50, n.7, p.684–686, 1994.
- Mohana, D.C.; Thippeswamy, S.; Abhishek R.U. Antioxidant, antibacterial, and ultraviolet-protective properties of carotenoids isolated from *Micrococcus* spp. **Radiation Protection and Environment**, v. 36, n.4, 2013.
- Manimala, M.R.A., Murugesan R. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of carotenoid pigment extracted from Sporobolomyces sp. isolated from natural source. **Journal of Applied and Natural Science**. v 6 (2):p. 649 – 653. 2014
- Netzer, R.; Stafnes, M. H; Andreassen, T.; Goksøyr, A.; Bruheim P.; Trygve B. Biosynthetic Pathway for -Cyclic Sarcinaxanthin in *Micrococcus luteus*: Heterologous Expression and Evidence for Diverse and Multiple Catalytic Functions of C50 Carotenoid Cyclases. **Journal of Bacteriology**, v, 192, N 21, p. 5688–5699, 2010.
- Pawar, R.; Mohandass, C.; Sivaperumal, E.; Sabu, E. et al. Epiphytic marine pigmented bacteria: A prospective source of natural antioxidants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n.1, p. 29-39, 2015.
- Pelczar, M.; Reid, R.; Chan, E.C.S.; Krieg, N.R. Microbiologia: Conceitos e aplicações. 2.ed. São Paulo: **Makron Books**, v.2, p.517 1997
- Re, R.; Pellegrini, N.; Anna Protegente et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9, p.1231–1237, 1999

- Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatis, T. **Molecular cloning: a laboratory Manual**, 2ª edição. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
- Santos, J.C, Almeida-Cortez, J.S.; Fernandes, G. W. Richness of gall-inducing insects in the tropical dry forest (caatinga) of Pernambuco. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.55, n.1, p. 45–54, 2011
- Ser, H.; Mutalib, W.; Yin, W. et al. Evaluation of antioxidative and citotoxic activities of *Streptomyces* pluripotents MUSC 137 isolated from Mangrove soil in Malaysia. **Frontiers in Microbiology**, v.6, p.1-11, 2015.
- Shindo,K and Misawa N. New and Rare Carotenoids Isolated from Marine Bacteria and Their Antioxidant Activities. **Marine drugs**. v.12, p.1690-1698, 2014
- Silva, V.M.A.; Martins, C.M.; Martins, S.C.S. Atividade celulolítica de actinobactérias de região semiárida do Ceará. **Enciclopédia biosfera**, v.11 n.21, p. 2026, 2015
- Silva, V.M.A.S.; Brito, F. A. E., Ramos, K.A., Silva R. M., Martins, C.M., Martins, S.C.S. Atividade Enzimática de Actinobactérias do Semiárido. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.08, p. 560-572, 2015.
- Stafsnes, M.H; Josefsen, K.D.; Kildahl-Andersen, G.; Valla; S.; Ellingsen, T.E.; Bruheim, P. Isolation and characterization of marine pigmented bacteria from Norwegian coastal waters and screening for carotenoids with UVA-blue light absorbing properties. **The Journal of Microbiology** v. 48, n.1, p. 16-23, 2010.
- Thompson, J.D.; Higgins, D.G.; Gibson, T.J. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673-4680, 1994
- Umadevi, K.; Krishnaveni, M. Antibacterial activity of pigment produced from *Micrococcus luteus* KF532949. **International Journal of Chemical and Analytical Science**, v.4, p. 149-152, 2013
- Ventura, M., Canchaya, C., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K.F., Sinderen, D. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.71, p. 495-548, 2007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a revisão bibliográfica foi possível verificar o grande potencial biológico das Cactaceas, no entanto existem poucas espécies estudadas.

Verificou-se que o extrato metanólico de *Cereus jamacaru* possui atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Com relação a atividade antioxidante verificou-se que esse mesmo extrato conseguiu neutralizar os radicais livres mesmo em baixas concentrações.

Foi possível isolar o *Micrococcus luteus* do solo, confirmando a espécie através de técnicas bioquímicas e moleculares, e com essa última identificou-se duas cepas, as quais produziam o pigmento amarelo identificado como carotenoide sarcinaxantina. Este pigmento foi avaliado como um bom antioxidante, antimicrobiano, no entanto com baixa ação fotoprotetora.