



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BACHARELADO EM FARMÁCIA

ARLINDO CLINTON DA COSTA QUEIROZ

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE CITOTÓXICA DE *Tacinga palmadora*
(Cactaceae)

CAMPINA GRANDE
2023

ARLINDO CLINTON DA COSTA QUEIROZ

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE CITOTÓXICA DE *Tacinga palmadora*
(Cactaceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Fitoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Harley da Silva Alves

**CAMPINA GRANDE
2023**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

Q3e Queiroz, Arlindo Clinton da Costa.

Estudo fitoquímico e atividade citotóxica de *Tacinga palmadora* (Cactaceae) [manuscrito] / Arlindo Clinton da Costa Queiroz. - 2023.

45 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2023.

"Orientação : Prof. Dr. Harley da Silva Alves, Departamento de Farmácia - CCBS. "

1. Quipá. 2. Flavonoide. 3. Citotoxicidade. I. Título

21. ed. CDD 615

ARLINDO CLINTON DA COSTA QUEIROZ

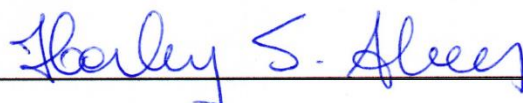
**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE CITOTÓXICA DE *Tacinga palmadora*
(Cactaceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

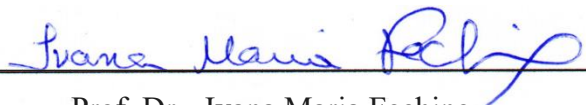
Área de concentração: Fitoquímica.

Aprovado em: 24/11/2023.

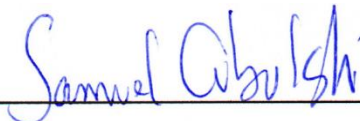
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Harley da Silva Alves (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Ivana Maria Fechine
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Samuel Paulo Cibulski
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

A Deus que sempre me guia em tudo na minha vida.

A minha mãe Elza Maria, que sem a sua presença e ajuda eu não teria conseguido chegar até aqui.

A Lívia Mendonça e Mainê Confessor, que foram as primeiras pesquisadoras que eu conheci e que me inspiraram a ser um pesquisador na área de plantas medicinais.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu forças e permitiu chegar até aqui, sem ele eu não teria conseguido.

Ao meu pai Adalberto Higino e principalmente a minha mãe Elza Maria, sem a ajuda e o apoio de ambos eu não teria chegado até aqui.

A minha família e amigos por todo o apoio e compreensão.

A Universidade Estadual da Paraíba pela infraestrutura e todo o apoio e suporte nesses 5 anos de curso.

A todos os professores da UEPB em especial aos professores do departamento de Farmácia por todo o conhecimento passado ao longo do curso, a todos os técnicos e monitores e também ao secretário do curso de Farmácia Ronald Ferreira.

A professora Lindomar de Farias Belém que me deu a minha primeira oportunidade na graduação, de fazer parte do Centro de Informações Sobre Medicamentos CIM-UEPB por quase 3 anos, agradeço também a Pro Reitoria de Extensão (PROEX) pela bolsa a mim concedida durante 2 anos.

Aos meus colegas de turma Arthur Oliveira, João Vitor, Yves Rodrigues, Paulo Henrique por todo o companheirismo e parceria ao longo desses 5 anos. Agradeço aos colegas de outras turmas que também foram importantes nessa jornada, Rodrigo Araujo, Milena Santos, Adeilson Pereira, Ana Catarina, Ellyton Souza, Jailson Ribeiro, a Gisele Araujo que hoje é mestre em Ciências Farmacêuticas. E por último e não menos especial agradeço a minha madrinha de curso Nayara Gabrielle que esteve presente do início do curso até o fim me ajudando muito durante todo esse tempo.

Aos colegas de estágio Ana Paula, Arthur Oliveira, Alana Querén e Chirlane Alves por todo o aprendizado e convivência harmoniosa durante esse período.

As farmacêuticas Janaína Negreiros e Monalisa Maciel por todo o conhecimento passado no estágio de Farmácia comunitária, a Dennyse Freitas por todo o conhecimento passado no estágio de farmácia hospitalar, a todos os professores preceptores e supervisores, bem como a todos os técnicos desses e dos demais estágios.

A Genil Oliveira por ter me convidado para conhecer o Laboratório de Fitoquímica da UEPB (Lafit-UEPB) o qual eu desenvolvi este trabalho, pela ajuda e por todo o conhecimento passado. Agradeço também aos demais colegas de laboratório: Tiago Marinho, Magna Lima, Lorena Oliveira, Edvânia Emanuelle, Helen Raynara, Mariana França, Higor Victor, Kailane Lourenço, a técnica Adriana Carneiro, que foram muito importantes no meu aprendizado e na realização dos trabalhos no laboratório.

Ao meu orientador Harley da Silva Alves por ter acreditado em mim para a realização desse trabalho que se tornou o meu trabalho de conclusão de curso, agradeço por toda a paciência e por todo o conhecimento e orientação passada durante esse período.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa a mim concedida para a realização desse trabalho, ao Laboratório de Fitoquímica da UEPB (LaFit) o qual eu desenvolvi a maior parte das atividades da pesquisa, ao Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA-UFPB) e ao Laboratório de Biotecnologia Celular e Molecular – UFPB pelos testes realizados nos mesmos.

Ao Professor Samuel Cibulski por toda a ajuda na realização desse trabalho e por ter aceito o convite de fazer parte da minha banca de TCC, agradeço também a professora Ivana Fechine pelo mesmo motivo.

Aos professores que me orientaram em diversos trabalhos científicos, a professora Lindomar de Farias Belém, professor Helimarcos Nunes, professor Harley Alves, e aos colegas que aceitaram o convite para escrever conosco.

A Augusto Pereira técnico do Laboratório de Microbiologia da UEPB, a Wilma Raianny técnica do Laboratório de Análises Clínicas da UEPB, a professora Zilka Nanes e a mestrandu Eduarda Lima por toda a ajuda na realização de experimentos do que seria o meu TCC, porém, devido a algumas circunstâncias o tema foi mudado, mesmo assim agradeço a ajuda de todos.

A Adam Abbas (Farmacêutico clínico que trabalha com atletas de fisiculturismo) e a Rodrigo Abdala (Farmacêutico do meu time de coração, o Clube de Regatas do Flamengo, o primeiro Farmacêutico do Brasil a trabalhar no departamento médico de um clube de futebol) por todo o apoio e orientação nos 2 trabalhos científicos que escrevemos juntos (até o momento), tenho muita admiração por ambos.

“Os Farmacêuticos são uma mão próxima, estendida, que não entrega só os remédios, mas transmite coragem e proximidade. Obrigado a todos os farmacêuticos, este trabalho não é uma atividade, é uma missão”.

Papa Francisco

RESUMO

Tacinga palmadora (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy é um cacto endêmico da Caatinga, popularmente conhecido como “palmatória” ou “quipá-de-espinho”, está presente em todos os estados da região Nordeste do Brasil com exceção do Maranhão. Na medicina popular o chá das suas raízes é usado para tratar problemas da uretra. Um estudo de bioprospecção das raízes de *T. palmadora* mostrou a presença de ácidos fenólicos e um derivado do ácido graxo, além de ação antifúngica das fases do extrato contra cepas de *Candida*. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo fitoquímico e farmacológico dos cladódios de *T. palmadora*. Os cladódios foram coletados em setembro de 2016 no sítio Farinha em Pocinhos-PB, após isso uma exsicata foi confeccionada e depositada no Herbário Jayme Coelho de Moraes da UFPB / Areia, sob código: EAN 1724. Os cladódios foram secos, triturados e usados para preparar um extrato hidroalcolólico (EHA). O EHA foi particionado em 4 fases: hexânica, diclorometano (CH_2Cl_2), acetato de etila e metanol. A fase CH_2Cl_2 foi submetida a uma coluna cromatográfica com sílica gel 60 e solventes orgânicos fornecendo 35 frações. A fração número 8 foi cromatografada em coluna fornecendo 44 frações, sendo que as frações 4 e 5 foram submetidas a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e as frações 6-7 submetidas a nova coluna cromatográfica, fornecendo 44 frações, as frações 27-29 foram submetidas as análises de RMN de ^1H e ^{13}C e forneceram o composto 1 (Tp-1). A interpretação dos espectros de RMN permitiu identificar Tp-1 como sendo o dihidrocanferol ou aromadendrina, isolado pela primeira vez no gênero *Tacinga*, este apresenta estudos de atividade citotóxica em 2 linhagens de câncer de mama, câncer de fígado, gástrico, brônquico e de cólon. A análise de CG-EM em ambas as frações mostrou que o ácido decanodióico ou ácido sebásico foi o composto majoritário, que apresenta ação larvicida, leishmanicida, antimalárica e apresentou citotoxicidade para parasitas e segurança em células normais, na fração 5 foi constatada a presença do beta-sitosterol que apresenta estudos com atividade citotóxica contra a linhagem de câncer de mama MDA-MB-231. A citotoxicidade da fase CH_2Cl_2 foi testada frente a células de câncer de mama MDA-MB-231, uma linhagem celular altamente agressiva. A fase CH_2Cl_2 apresentou uma boa atividade citotóxica sob as células MDA-MB-231 que foi dose dependente, mostrando uma IC_{50} de $34,37 \mu\text{g mL}^{-1}$. A espécie se apresenta como uma boa fonte natural para o isolamento do dihidrocanferol, composto reconhecido pela sua atividade citotóxica. O presente estudo traz informações de suma importância a respeito da espécie *T. palmadora*. Este é o primeiro estudo com atividade citotóxica do gênero *Tacinga* e da espécie *Tacinga palmadora*. Novos estudos são necessários para avaliar a segurança desta fase, que pode ser

testada em outras linhagens de câncer. As demais fases do extrato e o dihidrocanferol isolado podem ser testados na linhagem celular MDA-MB-231 de câncer de mama.

Palavras-Chave: quipá; flavonoide; citotoxicidade.

ABSTRACT

Tacinga palmadora (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy is a cactus endemic to the Caatinga, popularly known as “palmória” or “quipá-de-espinho”, present in all states in the Northeast region of Brazil with the exception of Maranhão. In folk medicine, tea from its roots is used to treat urethra problems. A bioprospecting study of *T. palmadora* roots showed the presence of phenolic acids and a fatty acid derivative, in addition to antifungal action of the extract phases against *Candida* strains. The objective of this work was to carry out a phytochemical and pharmacological study of *T. palmadora* cladodes. The cladodes were collected in September 2016 at the Farinha site in Pocinhos-PB, after which an exsiccata was made and deposited in the Jayme Coelho de Moraes Herbarium at UFPB / Areia, under code: EAN 1724. The cladodes were dried, crushed and used for prepare a hydroalcoholic extract (EHA). The EHA was partitioned into 4 phases: hexane, dichloromethane (CH₂Cl₂), ethyl acetate and methanol. The CH₂Cl₂ phase was subjected to a chromatographic column with silica gel 60 and organic solvents providing 35 fractions. Fraction number 8 was column chromatographed, providing 44 fractions, with fractions 4 and 5 being subjected to gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and fractions 6-7 being subjected to a new chromatographic column, providing 44 fractions. fractions 27-29 were subjected to ¹H and ¹³C NMR analyzes and provided compound 1 (Tp-1). The interpretation of NMR spectra allowed the identification of Tp-1 as being dihydrocamferol or aromadendrin, isolated for the first time in the genus *Tacinga*, which presents studies of cytotoxic activity in 2 lines of breast cancer, liver, gastric, bronchial and colon cancer. The GC-MS analysis in both fractions showed that decanedioic acid or sebasic acid was the major compound, which has larvicidal, leishmanicidal and antimalarial action and presented cytotoxicity for parasites and safety in normal cells, in fraction 5 the presence of the beta-sitosterol that shows cytotoxic activity against the MDA-MB-231 breast cancer line. The cytotoxicity of the CH₂Cl₂ phase was tested against MDA-MB-231 breast cancer cells, a highly aggressive cell line. The CH₂Cl₂ phase showed good cytotoxic activity on MDA-MB-231 cells, which was dose dependent, showing an IC₅₀ of 34.37 μg mL⁻¹. The species presents itself as a good natural source for the isolation of dihydrocamferol, a compound recognized for its cytotoxic activity. The present study provides extremely important information regarding the species *T. palmadora*. This is the first study with cytotoxic activity of the genus *Tacinga* and the species *Tacinga palmadora*. New studies are needed to assess the safety of this phase, which can be tested in other cancer lines. The other phases of the extract and the isolated dihydrocamferol can be tested on the MDA-MB-231 breast cancer cell line.

Key-words: kippah; flavonoid; cytotoxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Distribuição geográfica de duas espécies do gênero <i>Tacinga</i> no estado da Paraíba.....	21
FIGURA 2	Foto de <i>Tacinga palmadora</i> (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy.....	22
FIGURA 3	Cronograma que mostra desde a coleta até a partição do extrato de <i>T. palmadora</i>	28
FIGURA 4	Coluna cromatográfica da fase diclorometano de <i>Tacinga palmadora</i>	29
FIGURA 5	Frações coletadas da coluna cromatográfica da fase diclorometano de <i>Tacinga palmadora</i>	29
FIGURA 6	Cromatografia em camada delgada das frações de <i>Tacinga palmadora</i> que mostra frações com o mesmo fator de retenção (RF).....	30
FIGURA 7	Cronograma de fracionamento da fase diclorometano de <i>Tacinga palmadora</i>	31
FIGURA 8	Cronograma da atividade biológica realizada com a fase diclorometano de <i>Tacinga palmadora</i>	33
FIGURA 9	Aspecto da fração 27-29 da coluna 3, que se apresenta como um pó amarelo, com massa de 11,6mg.....	34
FIGURA10	Espectro de RMN de ¹ H do composto 1 (Tp-1) (δ, MeOD, 400MHz)....	34

FIGURA 11	Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto 1 (Tp-1) de 5,7 a 7,4 ppm (δ , MeOD, 400MHz).....	35
FIGURA 12	Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 100MHz, MeOD).....	36
FIGURA 13	Estrutura química do composto 1 (Tp-1) denominado dihidrocanferol ou aromadendrina.....	37
FIGURA 14	Cromatograma de CG-EM da fração 4.....	38
FIGURA 15	Cromatograma de CG-EM da fração 5.....	39
FIGURA 16	Estrutura química do ácido decanodióico ou ácido sebásico, composto majoritário encontrado no CG-EM das frações 4 e 5 da <i>Tacinga palmadora</i>	39
FIGURA 17	Estrutura química do beta-sitosterol, encontrado na fração 5 de <i>Tacinga palmadora</i>	40
GRÁFICO 1	Viabilidade celular das células MDA-MB-231 expostas a fase CH_2Cl_2 durante 72h. A avaliação da viabilidade foi realizada com o reagente de MTT.....	41

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Dados de RMN ^1H e ^{13}C do composto 1 (Tp-1).....	37
-----------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	American Type Culture Collection
CC	Cromatografia em Coluna
CC ₅₀	Concentração citotóxica para 50% da cultura celular
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas
EC ₅₀	Concentração Efetiva
EHA	Extrato Hidroalcoólico
ER	Receptor de Estrogênio
HER2	Receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano
IC ₅₀	Concentração inibitória média
MeOD	Metanol Deuterado
MeOH	Metanol
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo
PR	Receptor de Progesterona
RF	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	Objetivo geral.....	18
2.2	Objetivos específicos.....	18
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
3.1	Família Cactaceae	19
3.1.1	Família Cactaceae e atividade citotóxica.....	19
3.2	Gênero <i>Tacinga</i> Britton & Rose.....	20
3.3	<i>Tacinga palmadora</i> (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy.....	22
3.4	Câncer.....	23
3.5	Câncer de mama.....	24
3.5.1	Câncer de mama triplo negativo.....	25
3.6	Produtos naturais e câncer.....	25
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1	Coleta do material vegetal.....	27
4.2	Obtenção da droga vegetal.....	27
4.3	Obtenção do extrato hidroalcolico.....	27
4.4	Obtenção das fases particionadas.....	27
4.5	Fracionamento de fase diclorometano (CH₂Cl₂)	28
4.5.1	Coluna 1.....	28
4.5.2	Coluna 2.....	29
4.5.3	Coluna 3.....	30
4.6	Identificação química.....	31
4.7	Cromatografia Gasosa.....	31
4.8	Atividade biológica.....	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1	Identificação estrutural do composto 1.....	34
5.2	Cromatografia gasosa.....	38
5.3	Atividade biológica.....	40
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
	REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o país com maior biodiversidade do mundo, com mais de 116.000 espécies de animais e mais de 46.000 espécies vegetais espalhadas pelos biomas terrestres e ecossistemas marinhos. Essa grande variedade engloba mais de 20% do total de espécies do mundo encontradas em terra e água (Brasil, *s.d.*). Plantas medicinais são espécies vegetais, cultivadas ou não, utilizadas com finalidade terapêutica. O uso destas no Brasil se dá antes mesmo do descobrimento do país, sendo os indígenas os primeiros a utilizarem esse recurso que foi enriquecido com a colonização europeia e o conhecimento dos escravos africanos. Quando se fala em planta medicinal fresca, significa dizer que ela foi utilizada logo após a coleta, sem processo de secagem, essa é a forma mais utilizada pela população brasileira (Lorenzi; Matos, 2008; Cechinel Filho; Zanchett, 2020).

Sendo o Brasil um país muito rico em biodiversidade, a natureza apresenta-se como uma boa fonte de investigação visando buscar novas moléculas, ou a atividade biológica das já conhecidas, com o objetivo de se encontrar novos fármacos advindo dos produtos naturais, que como mencionado anteriormente se apresentam como uma boa fonte, seja o produto natural direto, ou uma síntese química baseada nele. A fitoquímica tem um papel crucial nisso, pois objetiva mostrar a presença e a caracterização de metabólitos secundários que estão presentes nos vegetais. Os metabólitos secundários apresentam estrutura complexa, baixa massa molecular, atividades biológicas marcantes e estão presentes em baixas concentrações em determinados grupos de plantas. São exemplos de metabólitos secundários: alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, óleos essenciais, entre outros (Simões, *et al.*, 2017).

No período de 1946 a setembro de 2019, 321 medicamentos anticâncer foram lançados no mercado. Sendo 52 macromoléculas biológicas (peptídeo ou proteína), 35 produtos naturais inalterados, 1 produto natural botânico, 65 derivados de produtos natural (modificação semissintética), 53 medicamentos totalmente sintéticos, 38 sintéticos ou miméticos de produtos naturais, 22 foram sintetizados a partir de farmacóforo natural, 45 de origem sintética com farmacóforo natural e/ou mimético de produto natural e 10 vacinas. Esses dados mostram a importância dos produtos naturais no desenvolvimento de novos fármacos antitumorais ao longo das décadas. A doxorrubicina, é de origem natural e foi aprovada em 1966, vincristina (1963), vimblastina (1965), paclitaxel (1993) são alguns exemplos que podem ser citados. A maioria desses 321 medicamentos aprovados nesse período de tempo são produtos naturais ou foram sintetizados a partir de um produto natural, graças ao advento da química medicinal, porém, a natureza continua sendo uma fonte praticamente inesgotável de estruturas químicas (Newman; Cragg, 2020).

Apesar do desenvolvimento de áreas como a síntese orgânica, microbiologia industrial e biologia molecular, grande parte dos fármacos ainda é obtida de matérias primas vegetais, devido à dificuldade de se obter moléculas com a mesma estereoquímica ou pela inviabilidade econômica (Simões, *et al.*, 2017).

Estudos tem mostrado o potencial dos flavonoides na quimioterapia preventiva do câncer, alguns interagem com a gênese dessa doença, impedindo o estágio de promoção medicante a inibição da síntese de ornitina descarboxilase. Subclasses de flavonoides apresentaram atividade antitumoral *in vitro* como as chalconas, flavanonas, flavonóis e isoflavonas. Entre os flavonóis, o galato de epigalocatequina encontrado nas folhas de *Camellia sinensis* Kuntze mostrou atividade preventiva no modelo animal de câncer duodenal. São exemplos de fármacos antineoplásicos obtidos de matéria prima vegetal: vincristina e vimblastina obtidos de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Simões, *et al.*, 2017).

O número de novos casos de câncer cresce a cada ano, para os anos de 2020/2022 a estimativa do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) era a ocorrência de cerca de 625 mil casos novos de câncer no Brasil a cada ano. Para a região Nordeste a estimativa era de 136.220 novos casos, o que representa 21,8% do total de novos casos de câncer no Brasil (INCA, 2020). Os produtos naturais continuam sendo importantes para o desenvolvimento de novos fármacos antitumorais, sendo eles inalterados ou usando um produto natural como farmacóforo.

Alguns estudos mostram a atividade antitumoral de espécies da família Cactaceae, em relação ao gênero *Tacinga* existem apenas 2 estudos fitoquímicos, um da espécie *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy que demonstrou atividade antifúngica (Peixoto, 2018). O outro estudo é com a espécie *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy que demonstrou atividade antimicrobiana (Silva, 2016). Devido a ausência de estudos com atividade citotóxica de espécies do gênero *Tacinga* e considerando o fato de que a família Cactaceae já demonstrou essa atividade este estudo buscou o isolamento, identificação de produtos naturais advindos da espécie *Tacinga palmadora* bem como a atividade citotóxica de uma fase advinda do seu extrato.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo desse trabalho foi realizar um estudo fitoquímico e farmacológico de *Tacinga palmadora*.

2.2 Objetivos específicos

Realizar o fracionamento da fase diclorometano dos cladódios de *T. palmadora* por técnicas cromatográficas.

Isolar os metabólitos secundários desta fase.

Definir a estrutura molecular através de técnicas como Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C .

Verificar a citotoxicidade de fases e produtos isolados frente a linhagem MDA-MB-231 de câncer de mama triplo negativo.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Família Cactaceae

A família Cactaceae apresenta 150 gêneros e 1851 espécies (Korotkova, *et al.*, 2021), o Brasil é o terceiro país que mais abriga cactáceas no mundo, logo após o México e sul dos Estados Unidos e a região dos Andes. Estando presentes mais de 200 espécies, praticamente todas endêmicas do Brasil, a maioria dessas estão localizadas no leste do Brasil (região Nordeste e a maioria do Sudeste, com exceção do sul do Rio de Janeiro e do estado de São Paulo) (Zappi, *et al.*, 2011).

As Cactaceae têm o seu destaque e importância cultural para a região Nordeste, uma vez que aparecem inclusive em cartas de bares e restaurantes, representando parte do folclore local e do nome de muitas cidades e vilas. São plantados como símbolos decorativos regionais em praças as vezes são deixadas no campo quando a vegetação é retirada para fins agrícolas. No ano de 2021 a venda de cactos aumentou na Paraíba em decorrência da participação da paraibana Juliette Freire no reality show da Rede Globo o Big Brother Brasil 2021 (Zappi, *et al.*, 2011; Globoplay, 2021).

Dentre os gêneros de cactáceas pode-se destacar: *Cereus* Mill., *Echinopsis* Zucc., *Micranthocereus* Backeb., *Opuntia* Mill., *Pereskia* Mill., *Tacinga* Britton & Rose, dentre outros (Zappi; Taylor; Machado, 2010).

3.1.1 Família Cactaceae e atividade citotóxica

Um estudo avaliou a atividade citotóxica *in vitro* dos extratos de partição hexânica, clorofórmica, metanol e metanol aquosa de *Pachycereus marginatus* (DC.) Britton & Rose contra célula de linfoma murino L5178Y-R e melanoma cutâneo B16F10. Os extratos de hexano, clorofórmio e metanol causaram uma citotoxicidade significativa ($p < 0,05$) de 20 a 85%, 32 a 84% e 32 a 72% para células L5178Y-R em concentrações variando de 1,9 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, a partição metanol-aquosa causou citotoxicidade significativa ($p < 0,01$) de 65 a 78% em concentrações variando de 3,9 a 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente e 72 a 59% de citotoxicidade em 250 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente em comparação com o controle não tratado, não houve significância estatística entre os grupos tratados. Para as células B16F10 os extratos da partição de hexano, clorofórmio, metanol e metanol aquoso causaram citotoxicidade significativa com ($p < 0,01$) de 39 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 43 a 51% de citotoxicidade em concentrações de 25 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 44 a 48% de citotoxicidade em concentrações de 25 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 40 a

42% de citotoxicidade em concentrações de 25 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente em comparação com o controle não tratado (Hernandez-Martinez, *et al.*, 2016).

Um estudo avaliou a atividade citotóxica do extrato etanólico da polpa e das cascas da palma forrageira *Opuntia ficus indica*, em concentrações crescentes de 500, 1000, 1500, 2000 e 3000 $\mu\text{g/mL}$ no câncer de fígado (HepG2), adenocarcinoma colorretal (Caco-2) e câncer de mama (MCF-7), a atividade foi concentração dependendo, ou seja, na maior concentração houve a maior redução da viabilidade celular. Para o câncer de fígado (HepG2) o extrato etanólico da polpa na concentração de 3000 $\mu\text{g/mL}$ a redução na viabilidade celular foi de 57% com uma IC_{50} de 18.3 $\mu\text{g/mL}$, o extrato da casca na mesma concentração e linhagem celular reduziu a viabilidade celular em 34% com IC_{50} de 50,3 $\mu\text{g/mL}$. Para o adenocarcinoma (Caco-2) o extrato etanólico da polpa na concentração de 3000 $\mu\text{g/mL}$ a redução na viabilidade celular foi de 31% com uma IC_{50} de 120 $\mu\text{g/mL}$, o extrato da casca na mesma concentração e linhagem celular reduziu a viabilidade celular em 28% com IC_{50} de 170 $\mu\text{g/mL}$. Para o câncer de mama (MCF-7) o extrato etanólico da polpa na concentração de 3000 $\mu\text{g/mL}$ promoveu uma redução na viabilidade celular de 29,6% com uma IC_{50} de 400 $\mu\text{g/mL}$, o extrato da casca na mesma concentração e linhagem celular reduziu a viabilidade celular em 21% com IC_{50} de 790 $\mu\text{g/mL}$ (El-Beltagi, *et al.*, 2019).

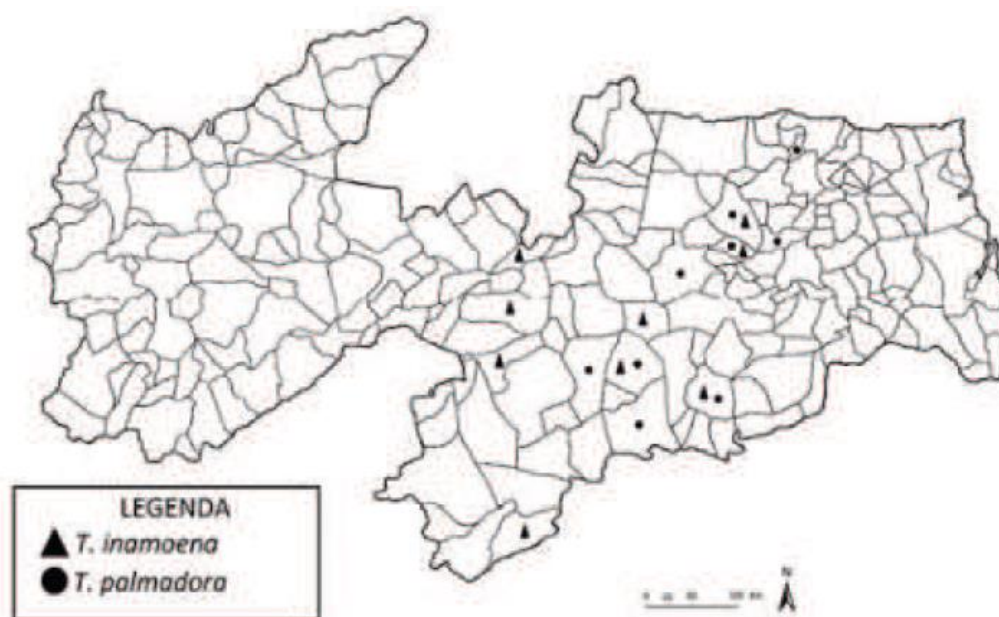
O extrato hidroalcolico de *Cereus jamacaru* DC que é popularmente conhecido como mandacaru reduziu a viabilidade celular do carcinoma 180 (sarcoma murino) *in vitro* em 24 e 48 horas de tratamento, não induziu citotoxicidade em linfócitos humanos e inibiu a citotoxicidade da cisplatina *in vitro*, esse resultado sugere que o extrato desse cacto pode promover ação descitotóxica, agindo diretamente sobre a cisplatina promovendo inativação química ou enzimática desses compostos, promove ação bioantitumoral, induzindo o processo de reparo, podendo ser usado em protocolos pré ou pós tratamento. *C. jamacaru* promoveu 86,07% de inibição tumoral em camundongos com sarcoma na dose de 20,0 mg/kg sem causar danos mutagênicos ou citotóxicos nas células sanguíneas dos camundongos (Vencioneck Dutra, *et al.*, 2018).

3.2 Gênero *Tacinga* Britton & Rose

O Gênero *Tacinga* Britton & Rose apresenta 10 espécies: [*T. inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy, *T. palmadora* (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy, *T. funalis* Britton & Rose, *T. braunii* Esteves, *T. wernerii* (Eggli) N.P. Taylor & Stuppy, *T. saxatilis* (Ritter) N.P. Taylor & Stuppy, *T. subcylindrica* M. Machado & N.P. Taylor, *T. armata* J.G. Freitas & E.M. Almeida, *T. gladiospina* J.G. Freitas & E.M. Almeida e *T. lilae* I (Trujillo & M. Ponce) Majure

& R. Puente], 2 subespécies: [*T. saxatilis* (Ritter) N.P. Taylor & Stuppy subsp. *saxatilis* e *T. saxatilis* subsp. *estesvesii* (P.J. Braun) N.P. Taylor & Stuppy], e 2 notoespécies: [*T. x quipa* (F.A.C. Weber) N.P. Taylor & Stuppy e *T. flammae* J.G. Freitas & A.M. Almeida]. São arbustos e subarbustos que podem medir até 5 metros de altura, podem ter ou não espinhos, as flores e frutos geralmente são solitários. Durante muito tempo esse gênero era considerado exclusivo do Brasil, porém, *T. lilae* que estava presente no gênero *Opuntia* e que ocorre na Venezuela foi incorporada ao gênero. A figura 1 mostra a distribuição geográfica de *T. palmadora* e *T. inamoena* no estado da Paraíba. (Taylor; Zappi, 2004; Taylor; Zappi, 2018; Freitas *et al.*, 2021; Britton; Rose, 1919; Majure *et al.*, 2012 *apud* Martins, 2022, p. 45).

Figura 1: Distribuição geográfica de duas espécies do gênero *Tacinga* no estado da Paraíba.



Fonte: Peixoto, 2018.

Um estudo fitoquímico das raízes de *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy mostrou a presença de alcaloides, flavonoides e taninos. Da fase diclorometano foi possível isolar 5 compostos, todos inéditos no gênero e na espécie, são eles: β -sitosterol-3-O-glicosídeo, N-trans-feruloyl-4-O-metildopamina, N-cis-feruloyl-4-O-metildopamina N-trans-feruloyl tiramina e N-cis-feruloyl tiramina. Foi constatada a atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto e de fases particionadas frente a bactérias Gram positivas e negativas tais como *Staphylococcus aureus* ATCC (25923), *S. aureus* 109, *Escherichia coli* 5I, *E. coli* 5A e *Pseudomonas aeruginosa* 2 (Silva, 2016).

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

Tacinga palmadora (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy (Figura 2) é um cacto endêmico da Caatinga que pertence à subfamília Opuntioideae, popularmente conhecido como “palmatória” ou “quipá-de-espinho”, apresenta como sinônimo heterotípico o nome de *Opuntia palmadora* Britton & Rose. É amplamente distribuído na região Nordeste do Brasil, sendo frequente na parte as Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco, mais de 250 populações são distribuídas na Caatinga em todos os estados na região Nordeste com exceção do Maranhão. A espécie tem hábito arbustivo, podendo chegar a 2 metros de altura, frequentemente é encontrado em substratos arenosos profundos em áreas de 200 a 1020 metros de altitude. Se reproduz através da queda natural dos seus ramos, os chamados cladódios, que quando caem no chão enraízam, gerando novas mudas da planta. O chá de suas raízes é usado para o tratamento de problemas na uretra (Zappi; Taylor, 2023; Meiado *et al.*, 2012a; *apud* Meiado, 2012, p. 8; Taylor & Zappi, 2004 *apud* Meiado, 2012, p. 7; Meiado, 2012).

Figura 2: Foto de *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy.



Fonte: Peixoto, 2018.

Tacinga palmadora apresenta cladódio complanado, artículos obovados a elípticos, ramificações irregulares de cor cinza esverdeado, glauco; apresenta espinhos de 1 a 9 por aréola, indiferenciados, cilíndricos, aciculados, pungentes, dourado quando jovem, cinza pálido com a idade, 1-2 centrais, 7-8 radicais; gloquídeos presentes; flores surgindo a partir da margem ou ápice dos artículos; pericarpo verde, com gloquídeos; segmentos do perianto vermelhos; blácteas escalas, agudas, subtendo cerdas; fruto globoso; pericarpo vermelho ou arroxeado, com globídeos; e polpa funilar translúcida (Peixoto, 2018).

O estudo de Locatelli e Machado (1999) mostrou que *T. palmadora* floresce de junho a novembro. Cada exemplar abriu 5 a 15 flores por dia, elas surgem isoladamente do caule e tem formato tubular de 3-4 cm de comprimento, hermafrodita, com perianto vermelho, apresentando hipanto ou tubo floral verde com escamas e gloquídeos. A maioria das flores abre pela manhã por volta de 5:30 da manhã, algumas esporadicamente abrem no período da tarde por volta das 15 horas, elas são visitadas por beija-flor. As flores geralmente são inodoras. Cerca de 7 dias após a antese, o perianto se desprende, restando apenas o hipanto. então o fruto se desenvolve. O fruto é uma baga amarelo claro, composta por 30-40 sementes pretas e sua maturação dura cerca de 60 dias.

No seu estudo etnobotânico Machado (2013) mostra que *T. palmadora* é usada como forragem na alimentação dos animais no período de estiagem ou seca, sendo queimada para remover os espinhos, ele também registrou o uso da referida espécie como místico ou religioso para a retirada de mal olhado e para a ornamentação de casas na Paraíba. Lucena *et al.* (2013) mostrou que o fruto da *T. palmadora* é utilizado como alimento para humanos e usado como ornamentação, também pode ser cortado ou queimado para ser usado na alimentação de animais. Lucena *et al.* (2015) mostrou que a planta inteira pode ser usada na alimentação de bovinos, caprinos e ovinos e também pode ser usada na construção, na forma de cerca viva, entre outros usos já citados anteriormente.

Um estudo de bioprospecção das raízes de *T. palmadora* mostrou a presença e a identificação de compostos fenólicos e um derivado do ácido graxo: ácido caféico, 5-hidróxi-7,4-dimetioxi-flavona, ácido vanílico e o palmitato de etila. Essas 4 substâncias foram isoladas pela primeira vez no Gênero *Tacinga*. Ademais, foi constatada a atividade antifúngica significativa das fases hexânica, diclorometano, acetato de etila e do extrato hidroetanólico frente a cepas fúngicas de *C. albicans* ATCC 76645, *C. krusei* ATCC 14243 e *C. tropicalis* ATCC 13803 (Peixoto, 2018).

3.4 Câncer

O câncer é um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinhos. Diferente das células normais, as células cancerosas ao invés de morrerem continuam se dividindo incontrolavelmente, formando novas células anormais. Nesse crescimento descontrolado, tem-se uma massa anormal de tecido, seu desenvolvimento é quase autônomo, isso é o que caracteriza as neoplasias, que na prática são chamadas de tumores. As neoplasias podem ser benignas com crescimento de forma organizada, lento e expansivo com limites bem definidos

e que não invadem tecidos vizinhos, mas pode comprimir órgãos e tecidos, e malignas que apresentam maior grau de autonomia, invade tecidos vizinhos e provocam metástases, podendo ser resistente ao tratamento e causar a morte do hospedeiro. O câncer é uma neoplasia maligna (INCA, 2020).

É uma desordem genética causada por mutações do DNA adquiridas espontaneamente ou induzidas por agressões do ambiente. Geralmente apresentam alterações epigenéticas como aumento focal da metilação de DNA e alterações nas modificações da histona que originam mutações em genes que regulam essas modificações, que alteram a expressão de genes que regulam processos celulares como crescimento, sobrevivência e senescência. Essas alterações genéticas são hereditárias e passadas para as células filhas no processo de divisão celular, proporcionando vantagem de crescimento ou sobrevivência, chegando a dominar a população de células. As vantagens seletivas são conferidas a apenas uma célula que acaba dando origem ao tumor. O acúmulo de mutações causa as chamadas características do câncer, são elas: autossuficiência nos sinais de crescimento, ausência de resposta aos sinais inibidores de crescimento, evasão da morte celular, potencial replicativo ilimitado, angiogênese, capacidade de invadir tecidos locais, reprogramação de vias metabólicas e capacidade de invadir o sistema imune (Kumar; Abbas; Aster, 2013).

O controle do câncer é dado por um conjunto de ações como o controle da exposição aos fatores de risco, detecção precoce da doença e nos cuidados paliativos que é composto por diagnóstico, tratamento, seguimento durante o período de sobrevivência e cuidados até o fim da vida. O Instituto Nacional do Câncer (INCA) realiza estimativas para o câncer desde 1995, isso é importante para gestores planejarem ações de controle da doença de acordo com a demanda esperada (INCA, 2022).

Para os anos de 2023 a 2025 no Brasil foram estimados 704 mil novos casos de câncer, retirando o câncer de pele não melanoma que estima-se ser o mais incidente com 220 mil novos casos, espera-se 483 mil novos casos de câncer, 50,5% em mulheres (244 mil casos) e 49,5% em homens (239 mil casos), na população infantojuvenil espera-se 7.900 casos sendo 53,2% para o sexo masculino (4.200 casos) e 46,8% para o feminino (3.700 casos). Os cânceres de próstata e mama representam aproximadamente 15% com 71 e 73 mil casos respectivamente (Santos, *et al.*, 2023; INCA, 2022).

3.5 Câncer de mama

O câncer de mama é o tipo mais comum em mulheres no mundo, quando diagnosticado e tratado precocemente o prognóstico é bom. Não há uma causa única, porém, o envelhecimento

é o principal fator de risco. Outros fatores ligados a vida reprodutiva, aos comportamentos, a genética, o excesso de gordura corporal e o consumo álcool aumentam o risco do desenvolvimento da doença. A prática de exercício físico e a amamentação reduzem o risco de desenvolver esse tipo de câncer. Mais de 80% dos casos câncer de mama têm origem no epitélio ductal, a minoria origina-se no epitélio lobular. Nos últimos 40 anos a sobrevida tem aumentado, nos países desenvolvidos é de 85% e nos países em desenvolvimento entre 50 a 60%. É a principal causa de morte por câncer nas mulheres em todo o mundo, com cerca de 520 mil mortes no ano de 2012. No Brasil a mamografia é o método de rastreio desse tipo de câncer, recomendado para mulheres entre 50 a 69 anos, sendo realizado a cada 2 anos. (INCA, 2020).

Para os anos de 2023 a 2025 espera-se que surjam 73.610 novos casos de câncer de mama feminina no Brasil, o que corresponde a 66,54 novos casos a cada 100 mil mulheres. Na região Nordeste a estimativa são 15.690 novos casos para o mesmo tipo de câncer no mesmo período de tempo, com 52,20 casos a cada 100 mil mulheres. Esse inclusive será o principal câncer que acometerá as mulheres no Brasil nesse período de tempo em todas as regiões, sem considerar o câncer de pele não melanoma (Santos, *et al.*, 2023; INCA, 2022).

3.5.1 Câncer de mama triplo negativo

O câncer de mama triplo negativo é bastante agressivo, ele é caracterizado pela falta do receptor de estrogênio (ER) e do receptor de progesterona (PR), bem como pela ausência de superexpressão do receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) (Pal; Childs; Pegram, 2011). Devido à eficácia reduzida da terapia antineoplásica atual para este tipo de câncer, do elevado número de pacientes acometidos e da resistência desenvolvida aos medicamentos, novas estratégias de tratamento com maior segurança e potência são necessárias (Kalvala, *et al.*, 2023). Neste cenário, os produtos naturais surgem como uma excelente alternativa para suprir tal necessidade.

3.6 Produtos naturais e câncer

Um dos maiores sucessos na pesquisa de produtos naturais para o tratamento do câncer é o paclitaxel. Sua história começou em 1962 quando o Departamento de Agricultura do Estados Unidos coletou a casca da *Taxus brevifolia* como parte do programa exploratório de triagem de plantas no National Cancer Institute, este em 1963 descobre a atividade anticâncer do extrato da casca dessa planta e em 1971 descobre seu princípio ativo o paclitaxel (Amaral, *et al.*, 2019). Para se chegar a 1 grama de paclitaxel eram necessárias 3 árvores maduras com

100 anos de idade, um tratamento pode precisar de até 2 gramas desse medicamento. A demanda atual de paclitaxel é de cerca de 100-200 kg por ano (50.000 tratamentos por ano). Paclitaxel está presente em quantidades muito pequenas em fontes naturais, sua síntese é cara e desafiadora, porém, foi possível se chegar a ela, a bacatina III presente em quantidades muito maiores em *T. brevifolia*, pode ser transformada em paclitaxel (Dewick, *et al.*, 2002; Cseke, *et al.*, 2006; Nicolaou, *et al.*, 1994 *apud* Dias, Urban, Roessner, 2012, p. 311).

Os alcaloides diméricos da *Catharanthus roseus* (L.) G.Don vincristina e vimblastina são usados em vários tipos de câncer, eles causam parada na divisão celular durante a metáfase pela ligação a tubulina, impedindo a sua polimerização. São extraídos das partes aéreas desta espécie, com um rendimento de 0,2 a 1%, pois são parte pequena de uma mistura de substâncias presentes nesta planta, o que torna a sua purificação difícil e cara (Simões, *et al.*, 2017). A vimblastina é usada em associação com outros quimioterápicos para o tratamento de linfomas como o de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e tumores de testículo. Apresenta menor neurotoxicidade que a vincristina. A vincristina é utilizada no tratamento da leucemia linfoblástica aguda infantil em diferentes esquemas quimioterápicos, causa neurotoxicidade, parestesias, alopecia, entre outros. A vinorelbina é obtida através de semissíntese a partir da catarantina e vindolina encontradas da vinca. É eficaz no tratamento de cânceres de ovário e ovário e nos cânceres de não pequenas células, a experiência clínica com esse medicamento ainda é pequena, por isso esquemas com vincristina e vimblastina ainda são a primeira escolha (Micromedex, 2016 *apud* Simões, *et al.*, 2017, p. 785).

A trabectedina é um alcaloide isolado da ascídia caribenha *Ecteinascidia turbinata* com um rendimento de 0,0001%, foi isolada em 1986 e elucidada em 1990. Era necessária 1 tonelada do animal para isolar 1 g da substância. Hoje ela é semissintetizada a partir da cianosafracina B, oriunda da fermentação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* seguida de transformações sintéticas. Foi o primeiro fármaco aprovado para o tratamento de sarcoma de tecidos moles, em 2009 foi aprovada para o tratamento de câncer de ovário, sendo considerado um medicamento órfão (utilizado para doenças raras, sua dispensação atende a casos específicos). No Brasil foi aprovado em combinação com cloridrato de doxorubicina lipossomal prenilado para o tratamento de câncer de ovário recorrente (Cuevas; Francesch, 2009; Martins, *et al.*, 2014; Rangel; Falkenberg, 2015 *apud* Simões, *et al.*, 2017, p. 889).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta do material vegetal

Os cladódios de *T. palmadora* foram coletados em setembro de 2016, no sítio Farinha, localizado no município de Pocinhos. Uma exsicata foi confeccionada e posteriormente depositada no Herbário Jayme Coelho de Moraes da UFPB / Areia, sob código: EAN 1724. O acesso ao material vegetal foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número A05FC48.

4.2 Obtenção da droga vegetal

Inicialmente os cladódios foram secos em uma estufa com sistema de circulação de ar sob temperatura constante de 45° C. Em seguida, o material vegetal seco foi submetido a pulverização em moinho de facas e esse procedimento resultou na obtenção da droga vegetal.

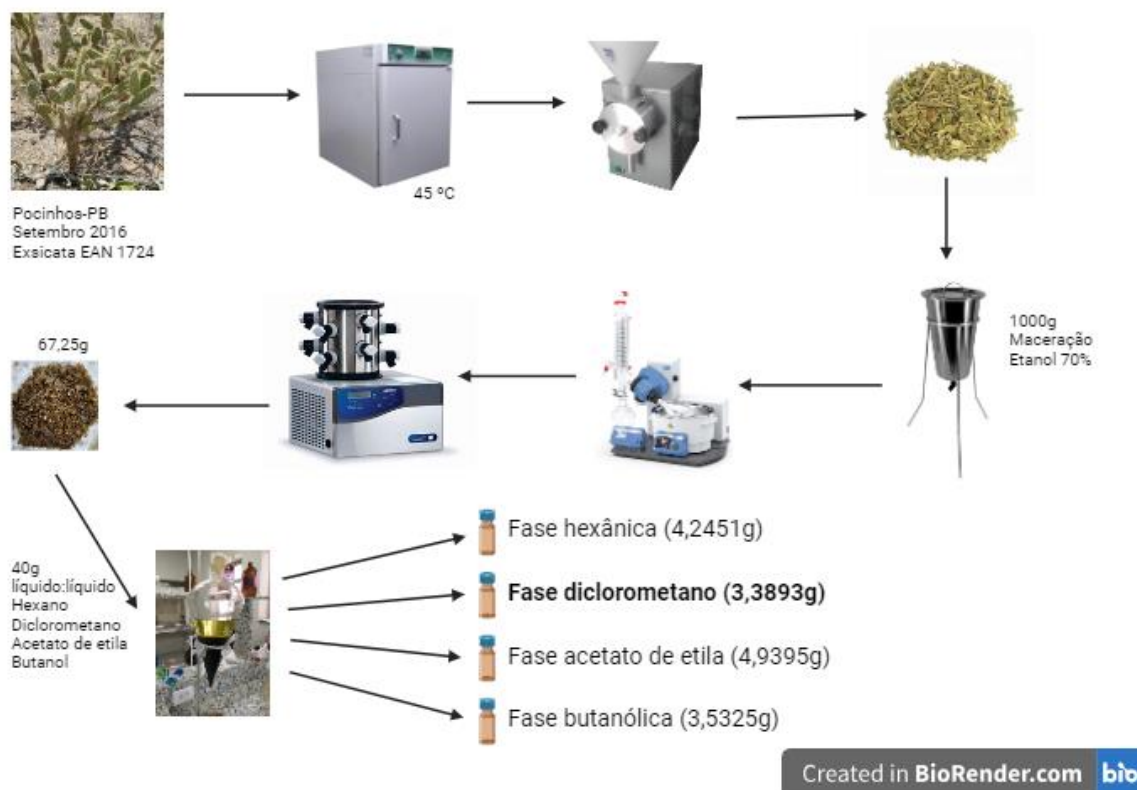
4.3 Obtenção do extrato hidroalcoólico

1000g da droga vegetal foram submetidas ao processo extrativo de maceração utilizando como solvente etanol a 70%. A solução obtida com esse procedimento foi posteriormente concentrada utilizando um evaporador rotativo, seguida do processo de liofilização, o que resultou em 67,25 g do extrato hidroalcoólico (EHA).

4.4 Obtenção das fases particionadas

Para esta etapa, uma alíquota de 40 g foi submetida à partição líquido:líquido utilizando solventes em ordem crescente de polaridade para a obtenção das fases: hexânica (4,2451 g), diclorometano (3,3893 g), acetato de etila (4,9395 g) e butanólica (3,5325 g). Isso está resumido na figura 3.

Figura 3: Cronograma que mostra desde a coleta até a partição do extrato de *T. palmadora*.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023 (BioRender.com).

4.5 Fracionamento de fase diclorometano (CH_2Cl_2)

4.5.1 Coluna 1

O fracionamento da fase CH_2Cl_2 (2,2 g) de *T. palmadora* foi realizada em uma coluna cromatográfica (CC) com sílica gel 60 e solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, fornecendo 35 frações como mostra as figuras 4 e 5. As frações foram submetidas a cromatografia em camada delgada (CCD), eluídas com solventes em ordem crescente de polaridade, as placas foram reveladas em câmara de luz ultravioleta, como mostra as figuras 4, 5 e 6.

Figura 4: Coluna cromatográfica da fase diclorometano de *Tacinga palmadora*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Figura 5: Frações coletadas da coluna cromatográfica da fase diclorometano de *Tacinga palmadora*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

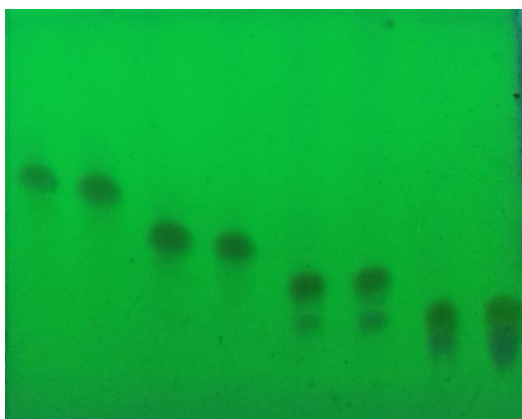
4.5.2 Coluna 2

A fração 8 (163,8 mg) da coluna 1 foi cromatografada em sílica gel 60 e solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, fornecendo 44 frações.

As frações 6 e 7 foram reunidas devido a semelhança de RF apresentado na placa de CCDA, como mostra a figura 6.

As frações 4 e 5 foram levadas para CG-EM.

Figura 6: Cromatografia em camada delgada das frações de *Tacinga palmadora* que mostra frações com o mesmo fator de retenção (RF).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4.5.3 Coluna 3

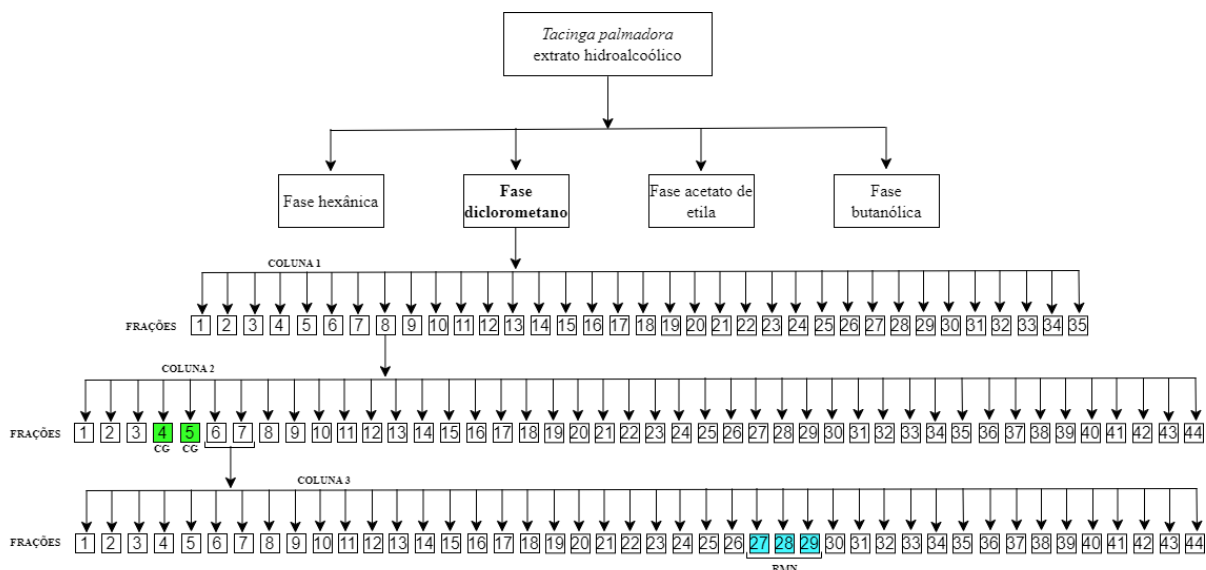
Para a coluna 3 foram utilizadas as frações 6 e 7 da coluna 2, que reunidas totalizaram 57,6 mg. Usou-se também sílica gel 60 (CC) e solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, fornecendo 44 frações.

As frações 27-29 foram levadas para RMN de ^{13}C e ^1H , pois se apresentavam mais puras na placa de CCDA. O está mostrado na figura 7.

Figura 7: Cronograma de fracionamento da fase diclorometano de *Tacinga palmadora*.

Frações em verde: foram levadas para CG-EM.

Frações em azul: foram levadas para RMN de ^{13}C e ^1H .



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023 (draw.io).

4.6 Identificação química

A identificação química dos compostos foi feita por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) em um espectrômetro Bruker Ascend (400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C).

4.7 Cromatografia Gasosa

As frações 4 e 5 da coluna 2 foram levadas para Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM). Foi usado o Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas: Modelo: GCMS-QP2010 Ultra Marca: Shimadzu. Coluna: marca: RTX-5MS capilar (5% difenil/95% dimetil polisiloxano) Tamanho: 30 m (comprimento)/0.25 mm de Diâmetro Interno/0.25 um df. Foi utilizado o gás hélio como gás de arraste.

4.8 Atividade biológica

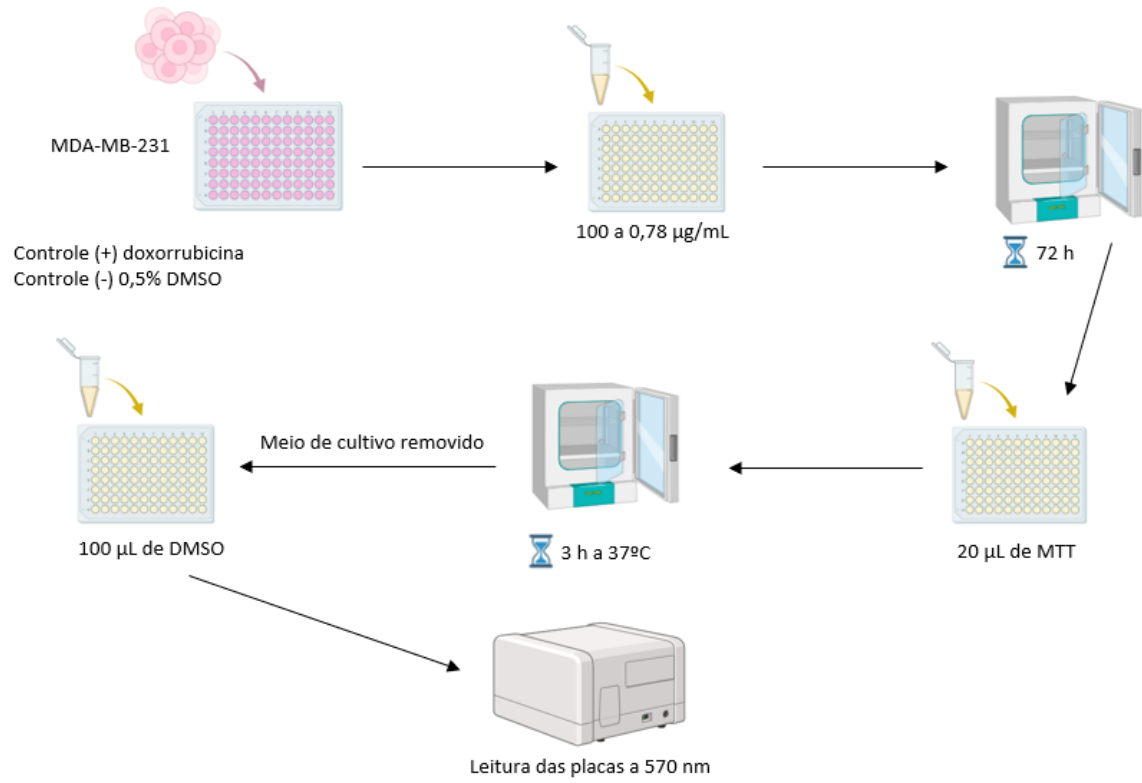
Na triagem da atividade citotóxica da fase CH_2Cl_2 de *Tacinga palmadora* in vitro foram utilizadas células MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama humana), mantida em meio de crescimento Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Sigma-Aldrich®), com suplementação de 10% (v/v) de soro fetal bovino e 1% (v/v) de antibiótico (10.000 UI mL^{-1} de penicilina e 10 mg mL^{-1} de estreptomomicina). O cultivo celular foi mantido a 37 °C em incubadora com atmosfera úmida, 5% de CO_2 e 95% de ar atmosférico, conforme metodologia

preconizada pela American Type Culture Collection (ATCC). Para o ensaio da triagem, 8×10^4 células mL^{-1} (MDA-MB-231) foram semeadas em placas de 96 poços e incubadas overnight. Posteriormente, as células foram expostas ao tratamento durante 72 h. Para o tratamento, a fase foi previamente diluída nas concentrações de: $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, $25 \mu\text{g mL}^{-1}$, $12,5$, $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$, $3,13 \mu\text{g mL}^{-1}$, $1,56 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,78 \mu\text{g mL}^{-1}$ em meio DMEM. O controle positivo foi a Doxorrubicina (Sigma Sigma-Aldrich®). O controle negativo consistiu na exposição das células a 0,5% de DMSO. Finalizado o período de tratamento, $20 \mu\text{L}$ de MTT ([3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo], Sigma-Aldrich, concentração final: $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$) foi adicionado a cada poço e as placas foram incubadas por um período adicional de 3 h a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ (Mosmann, 1983). Em seguida, todo meio de cultivo foi removido dos poços e adicionado $100 \mu\text{L}$ de DMSO, para solubilizar os cristais de formazan. O resultado foi visualizado por meio de análise espectrofotométrica a 570 nm (Mosmann 1983). Dois experimentos independentes foram realizados e em cada experimento a fase CH_2Cl_2 foi testada em triplicata, a figura 8 mostra o cronograma desse teste. A viabilidade celular foi expressa como uma porcentagem relativa em relação ao controle negativo. Exposto-não-exposto a droga, etc. E a citotoxicidade foi calculada por meio da seguinte equação: citotoxicidade (%) = $100 - \text{viabilidade celular (\%)}$

Onde, viabilidade celular (%) = $(\text{Abs}_{570\text{nm}} \text{ das células tratadas} / \text{Abs}_{570\text{nm}} \text{ do controle}) \times 100$

Para a análise estatística foi utilizado o ANOVA de uma via, seguido de Dunnet, como post test. Foi utilizado o graphpad Prism, versão 8 para fazer o gráfico e análises, bem como o cálculo de IC_{50} .

Figura 8: Cronograma da atividade biológica realizada com a fase diclorometano de *Tacinga palmadora*.



Created in **BioRender.com** **bio**

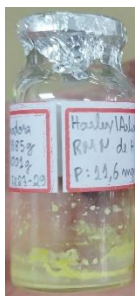
Fonte: Elaborado pelo autor, 2023 (BioRender.com).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação estrutural do composto 1

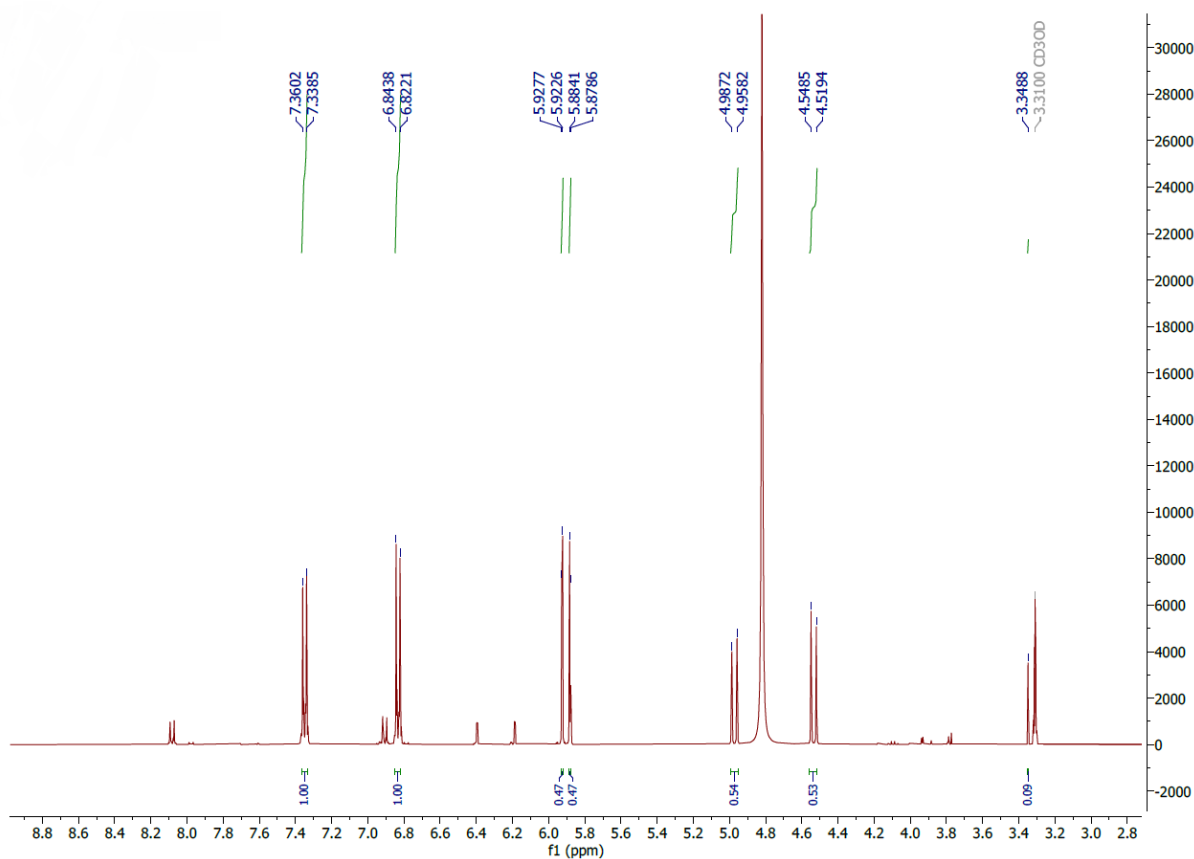
O composto 1 foi resultado da junção das frações 27-29 da coluna 3, que apresentavam o mesmo RF na placa de CCDA, apresentou-se como um pó amarelo com massa de 11,6 mg como mostra a figura 9. Esse composto 1 foi levado para RMN de ^1H e ^{13}C como mostra as figuras 10, 11 e 12.

Figura 9: Aspecto da fração 27-29 da coluna 3, que se apresenta como um pó amarelo, com massa de 11,6mg.



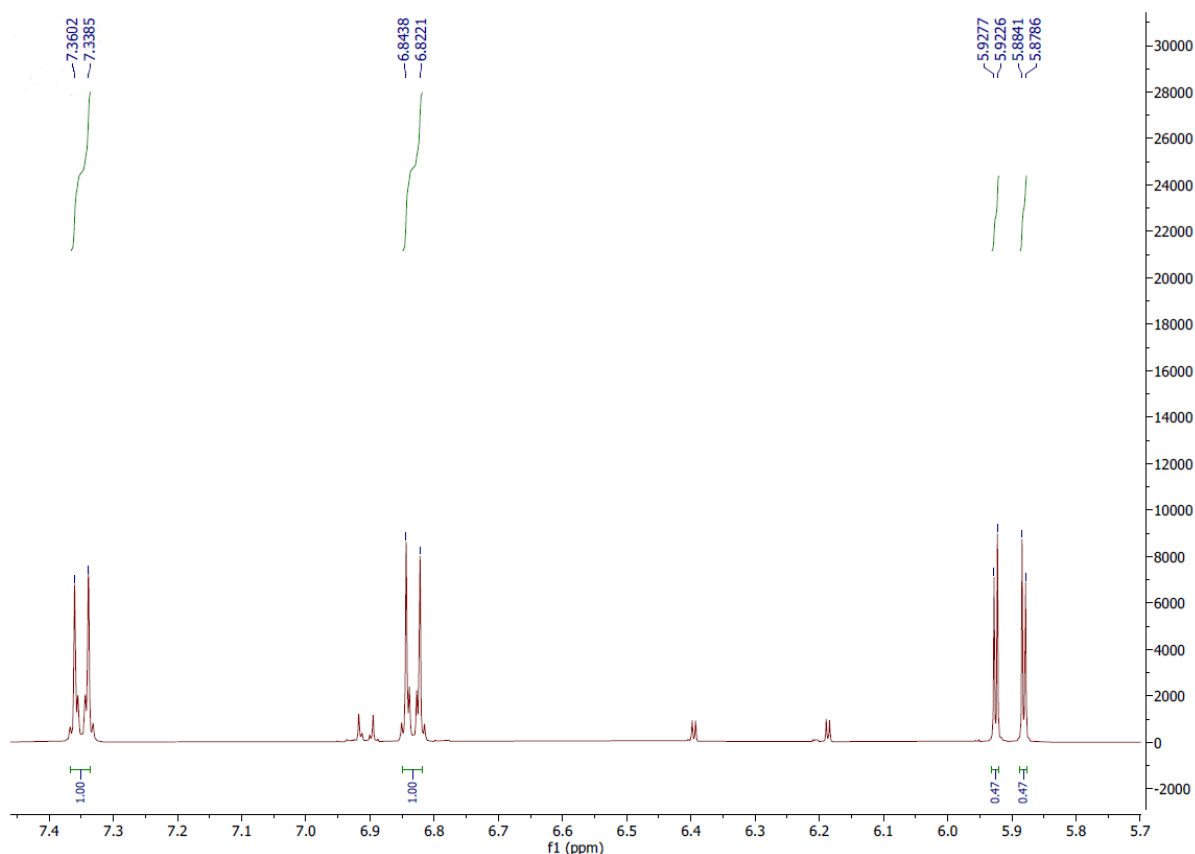
Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Figura 10: Espectro de RMN de ^1H do composto 1 (Tp-1) (δ , MeOD, 400MHz).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

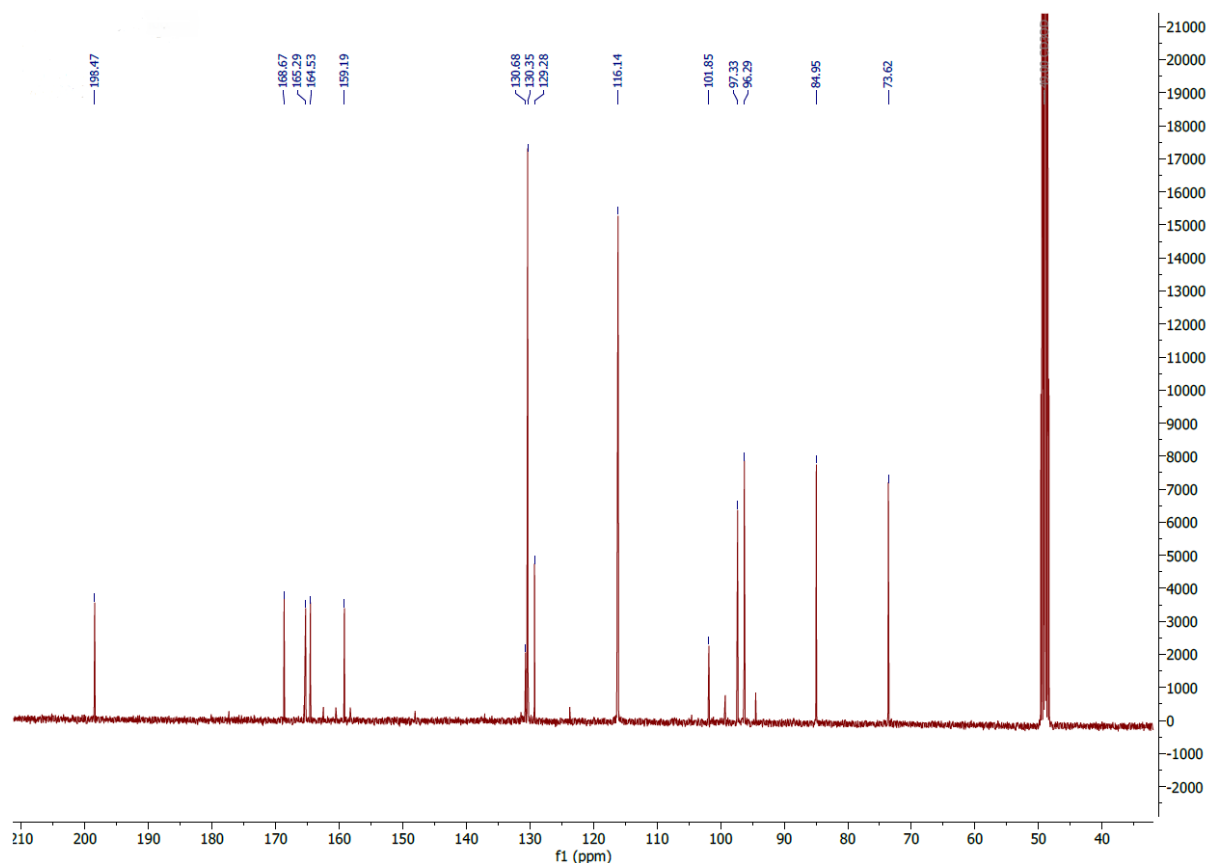
Figura 11: Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto 1 (Tp-1) de 5,7 a 7,4 ppm (δ , MeOD, 400MHz).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

O espectro de RMN de ^1H (δ , MeOD, 400MHz) mostrou a presença de 6 sinais em δH 7,35 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), δH 6,83 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), δH 5,92 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), δH 5,88 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), δH 4,97 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H) e δH 4,53 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H). Os dois primeiros sinais são típicos de um sistema AA' BB' e condizentes com um anel aromático dissubstituído. Já os sinais em δH 5,92 e δH 5,88 são sugestivos de hidrogênios com acoplamento meta em anel aromático tetrassubstituído. Por fim, os dois últimos sinais são característicos de hidrogênios das posições 2 e 3 do núcleo flavonoídico de flavan-3-ol ou flavanonol (Lee, *et al.*, 2003).

Figura 12: Espectro de RMN de ^{13}C (δ , 100MHz, MeOD).

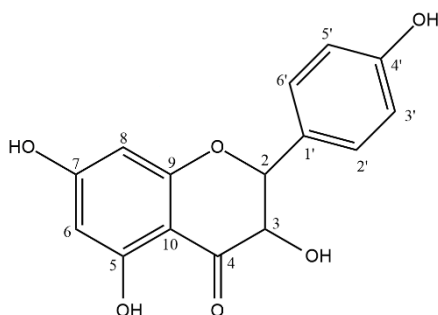


Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

No espectro de RMN de ^{13}C (δ , 100MHz, MeOD), técnica Broadband, foi possível visualizar 13 sinais, sendo 7 sinais para carbonos não hidrogenados (δC : 198,47, 168,67, 165,29, 164,53, 159,19, 129,28 e 101,85) e 6 para carbonos metínicos (δC : 130,35, 116,14, 97,33, 96,29, 84,95 e 73,62). O sinal em δC 198,47 é sugestivo de carbonila de cetona, que juntamente com os sinais em δC 84,95 e δC 73,62 característicos de carbonos oximetínicos das posições 2 e 3, respectivamente, confirmam a presença de um núcleo de flavanonol (Agrawal, 1989).

A interpretação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C (tabela 1), em conjunto com os dados da literatura, permitiram identificar o composto 1 (Tp-1) (Figura 13) como sendo o 3,4',5,7 tetrahydroxiflavanonol, conhecido pelo nome de dihydrocanferol ou aromadendrina obtido pela primeira vez no gênero *Tacinga* (Elghondakly, M. Moawad, A. Hetta, H., 2020).

Figura 13: Estrutura química do composto 1 (Tp-1) denominado dihidrocanferol ou aromadendrina.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Tabela 1: Dados de RMN ^1H e ^{13}C do composto 1 (Tp-1).

Dihidrocanferol (aromadendrina)				
Posição	δC (o autor)	δH (o autor)	δC (Lee, <i>et al.</i> , 2003).	δH (Lee, <i>et al.</i> , 2003).
1'	129,28	-	124,3	-
2'	130,35	7,35 (d, J=8,7 Hz, 2H)	129,5	7,37 (d, 8,6 Hz)
3'	116,14	6,83 (d, J=8,8 Hz, 2H)	115,3	6,84 (d, 8,6 Hz)
4'	159,19	-	158,4	-
5'	116,14	6,83 (d, J=8,8 Hz, 2H)	115,3	6,84 (d, 8,6 Hz)
6'	130,35	7,35 (d, J=8,7 Hz, 2H)	129,5	7,37 (d, 8,6 Hz)
2	84,95	4,97 (d, J=11,6 Hz, 1H)	84,0	4,99 (d, 11,6 Hz)
3	73,62	4,53 (d, J=11,6 Hz, H)	72,7	4,55 (d, 11,6 Hz)
4	198,47	-	197,6	-
5	165,29	-	164,4	-
6	97,33	5,88 (d, J=2,2 Hz, 1H)	96,5	5,89 (d, 2,1 Hz)
7	168,67	-	167,8	-
8	96,29	5,92 (d, J=2,04 Hz, 1H)	95,4	5,93 (d, 2,1 Hz)
9	164,53	-	163,5	-
10	101,85	-	101,0	-

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023; Lee, *et al.*, 2003.

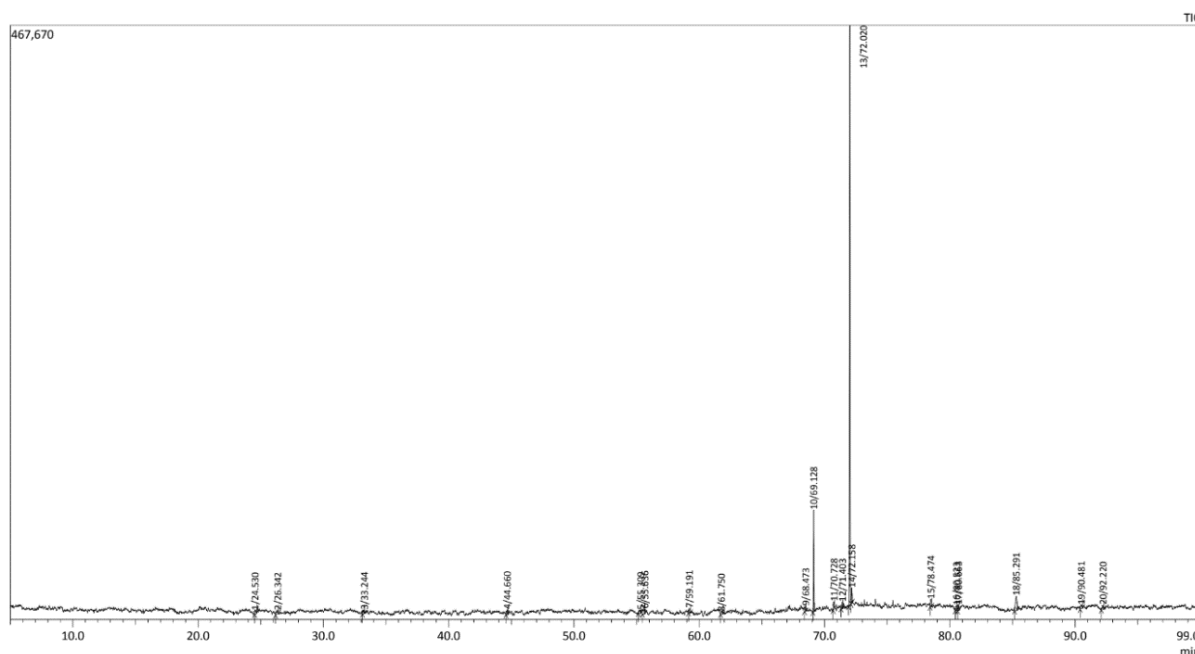
A aromadendrina já foi isolada de *Dioon spinulosum* e sua citotoxicidade foi avaliada *in vitro* frente a células de câncer de mama (MCF7), apresentando como IC_{50} de $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, o que representa uma boa atividade citotóxica (Elghondakly, M. Moawad, A. Hetta, H., 2020).

O dihidrocanferol apresentou citotoxicidade potente frente as células carcinoides de: câncer de mama (BT474), carcinoma de brônquio pulmonar (Chago-K1), carcinoma de fígado (HepG2), carcinoma gástrico (KATO-III) e carcinoma de cólon (SW620) com IC_{50} de $11,66 \mu\text{g mL}^{-1}$, $12,32 \mu\text{g mL}^{-1}$, $13,67 \mu\text{g mL}^{-1}$, $39,79 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $41,11 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, sendo um candidato potencial a ser usado como agente anticancerígeno (Chunhakant, S. Chainharoenpong, C., 2019).

5.2 Cromatografia gasosa

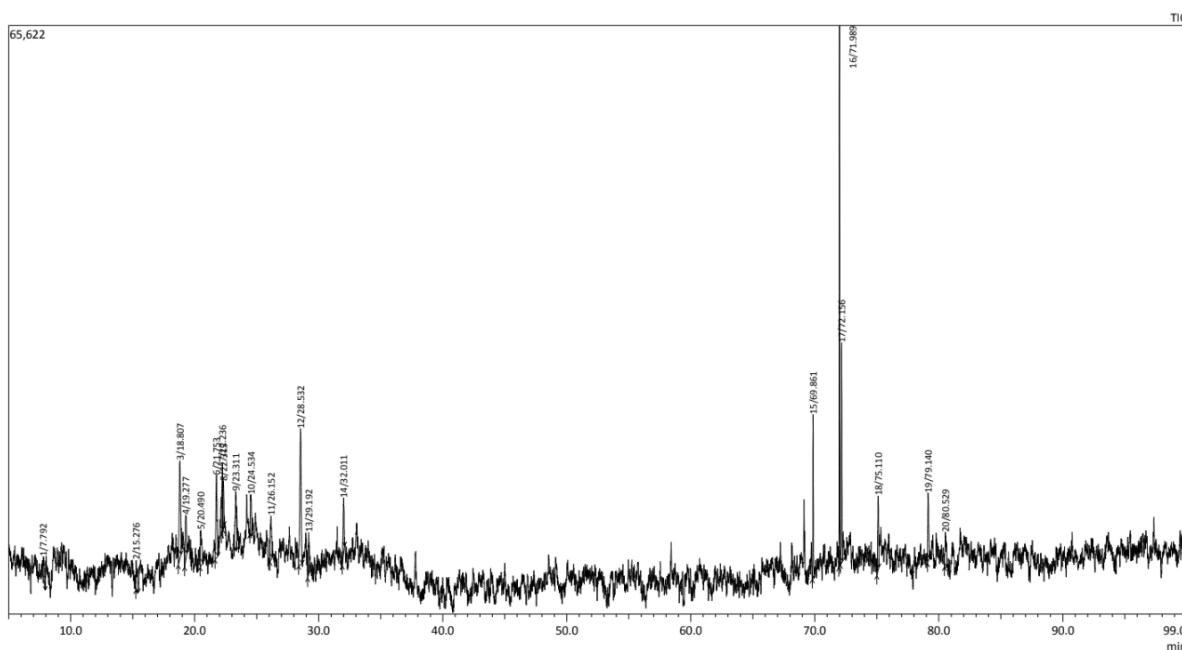
As frações 4 e 5 da coluna 2 foram levadas para cromatografia gasosa. A fração 4 apresentava-se com 0,7 mg de massa, seu cromatograma de CG-EM está retratado na figura 14. A fração 5 apresentou 3,1mg de massa, a figura 15 mostra seu cromatograma de CG-EM.

Figura 14: Cromatograma de CG-EM da fração 4.



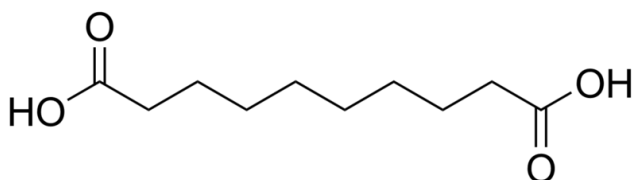
Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

O cromatograma da fração 4 apresentou 20 sinais, 6 deles foram identificados. O componente majoritário é o ácido decanodióico com 67,27% (figura 16), seguido do 1,2-ácido dicarboxílicobenzeno, mono(2-ethylhexyl) com 9,95%, ácido hexanedióico com 1,68%, ácido docosanóico com 1,26%, ácido tereftálico com 0,95% e ácido 9-octadecenóico também com 0,95%.

Figura 15: Cromatograma de CG-EM da fração 5.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

O cromatograma da fração 5 apresentou 20 sinais e 8 deles foram identificados. O componente majoritário foi o ácido decanodióico com 15,13% (figura 16), seguido do 2-oxabicyclo [2.2.2]octan-6-ol, 1,3,3-trimetil- com 8,82%, ácido hexadienóico com 7,57%, 2,3,4,5-tetrametilciclopent-2-en-1-ol com 6,68%, ácido hexanodióico com 5,04%, 1-Heptacosanol com 4,08%, beta-sitosterol com 4,06% (figura 17) e ácido fumárico com 3,47%.

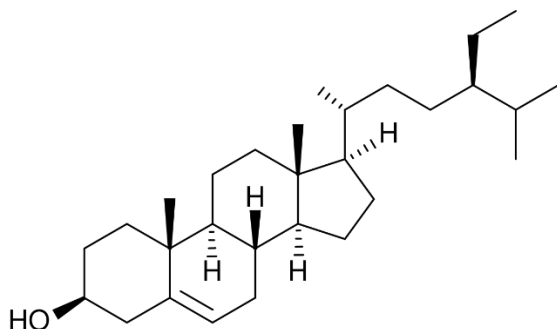
Figura 16: Estrutura química do ácido decanodióico ou ácido sebásico, composto majoritário encontrado no CG-EM das frações 4 e 5 da *Tacinga palmadora*.

Fonte: Google imagens.

O ácido decanodióico foi testado frente a larvas de *Aedes aegypti*, na concentração de 44,7 µg/mL matou 50% da população de larvas testadas. Apresentou ação leishmanicida potente contra amastigotas intracelulares de *Leishmania major* com 4,13 µg/mL de IC₅₀. Apresentou ação antimalárica contra a cepa K1 de *P. falciparum* resistente a cloroquina com valor de IC₅₀ de 3,1 µg/mL. O ácido decanodióico apresentou citotoxicidade específica para parasitas e

segurança para células normais HEK239T humanas com efeito de citotoxicidade CC_{50} de 92,6 $\mu\text{g/mL}$ (Alkhaibari; Alanazi, 2022).

Figura 17: Estrutura química do beta-sitosterol, encontrado na fração 5 de *Tacinga palmadora*.



Fonte: Google imagens.

O beta-sitosterol foi testado em células de câncer de mama MDA-MB-231 por 3 dias na concentração de 16 μM , promoveu um aumento das capazes 8, 9 e 3 o que induziu a apoptose das células em duas vias que levam a apoptose, via extrínseca e de forma mais pronunciada pela via intrínseca (Awad; Roy; Fink, 2003). Outro estudo concluiu beta-sitosterol tem atividade antiproliferativa contra as células de câncer de mama triplo negativo MDA-MB-231 com um valor de EC_{50} de 196.28 μM , ele também foi testado em associação com a genisteína no mesmo tipo de célula apresentando IC_{50} de 0,54 μM e por fim o beta-sitosterol e a genisteína no mesmo tipo celular com IC_{50} de 0,45 μM (Zhu, *et al.*, 2018). Um estudo avaliou a associação do beta-sitosterol e do tamoxifeno no câncer de mama humano MCF-7 positivo para o receptor de estrogênio e MDA-MB-231 negativo para o receptor de estrogênio. O beta-sitosterol inibiu o crescimento de ambas as células, o tamoxifeno inibiu o crescimento apenas das células MCF-7. A combinação de beta-sitosterol e tamoxifeno inibiu o crescimento celular de ambas as células, de forma mais expressiva na linhagem celular MDA-MB-231. Isso mostra que a “quimioterapia dietética” associada com o tamoxifeno pode ser benéfico no tratamento de pacientes com câncer de mama (Awad, *et al.*, 2008).

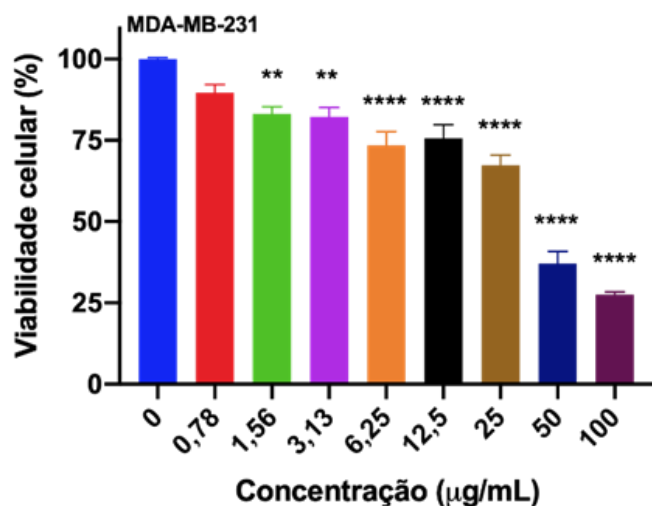
5.3 Atividade biológica

A fase CH_2Cl_2 advinda do extrato hidroalcolico dos cladódios de *T. palmadora* foi testada *in vitro* frente a células de câncer de mama triplo negativo MDA-MB-231. Após 72 horas foi analisada a viabilidade celular, como mostrado no (Gráfico 1).

Gráfico 1: Viabilidade celular das células MDA-MB-231 expostas a fase CH_2Cl_2 durante 72h. A avaliação da viabilidade foi realizada com o reagente de MTT.

** : significativo

**** : muito significativo com $p < 0.0001$.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

A redução da viabilidade celular foi concentração dependente, ou seja, quanto maior a concentração da fase CH_2Cl_2 maior foi a redução da viabilidade celular. Na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ a redução da viabilidade celular foi de 72,45%, com $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ a redução foi de 62,93%; com $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi de 32,64%; com $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ reduziu 24,41%; com 6,25: 26,56%; com $3,13 \mu\text{g mL}^{-1}$: 17,85%; $1,56 \mu\text{g mL}^{-1}$: 16,90%; e com $0,78 \mu\text{g mL}^{-1}$: 10,43%. A concentração de $0 \mu\text{g mL}^{-1}$ é o grupo não tratado, as concentrações de 0,78 e $1,56 \mu\text{g mL}^{-1}$ foram consideradas significativas e as concentrações de 6,25 até $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ foram consideradas muito significativas na redução da viabilidade celular, com um valor de $p < 0.0001$

A partir desse gráfico foi feito o cálculo de IC_{50} que é a concentração do produto capaz de reduzir a viabilidade celular em 50%, com isso a fase diclorometano apresentou uma IC_{50} de $34,37 \mu\text{g mL}^{-1}$, e a doxorrubicina apresentou como IC_{50} de $0,03 \mu\text{g mL}^{-1}$.

De acordo com os dados obtidos, pode-se supor que o dihidrocanferol por ter atividade em vários tipos de câncer e o beta-sitosterol por ter atividade contra essa linhagem celular de câncer de mama podem estar envolvidos nessa atividade citotóxica

O dihidrocanferol isolado, bem como o beta-sitosterol encontrado na cromatografia gasosa podem estar envolvidos nesta atividade biológica, visto que o dihidrocanferol apresenta estudos em diversos tipos de câncer e o beta-sitosterol apresenta estudos nesta mesma linhagem de câncer de mama MDA-MB-231, por diversas vias de sinalização.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo traz informações de suma importância a respeito da espécie *T. palmadora*. Um flavonoide denominado dihidrocanferol ou aromadendrina foi isolado pela primeira vez no gênero *Tacinga*, este apresenta estudos de atividade citotóxica em 2 linhagens de câncer de mama, câncer de fígado, gástrico, brônquico e de cólon. Duas frações foram levadas para o CG-EM, nas duas o composto majoritário foi o ácido decanodióico ou ácido sebásico que apresenta ação larvicida, leishmanicida, antimalárica e apresentou citotoxicidade para parasitas e segurança em células normais, em uma dessas frações foi constatada a presença do beta-sitosterol que apresenta estudos com atividade citotóxica contra a linhagem de câncer de mama MDA-MB-231. A fase diclorometano foi testada em células de câncer de mama triplo negativo MDA-MB-231, o que gerou uma boa atividade citotóxica que foi dose dependente, com um IC_{50} de $34,37 \mu\text{g mL}^{-1}$. Pode-se supor que o dihidrocanferol e o beta-sitosterol estejam envolvidos na atividade inibitória que foi observada pela metodologia utilizada, visto que os mesmos apresentam estudos na literatura a respeito. Este é o primeiro estudo com atividade citotóxica do gênero *Tacinga* e da espécie *Tacinga palmadora*. Este estudo traz uma nova perspectiva a respeito desta espécie, em decorrência do ineditismo envolvendo a mesma, novos estudos são necessários para avaliar a segurança desta fase, bem como, outras fases do extrato de *Tacinga palmadora* podem ser testados nesta linhagem celular de câncer de mama, em outras linhagens de cânceres, ou até mesmo em outras atividades farmacológicas. O dihidrocanferol isolado pode ser testado nesta linhagem celular de câncer de mama triplo negativo MDA-MB-231.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of flavonoids**. Elsevier, 1989.
- ALKHAIBARI, A. M.; ALANAZI, A. D. Insecticidal, Antimalarial, and Antileishmanial Effects of Royal Jelly and Its Three Main Fatty Acids, trans-10-Hydroxy-2-decenoic Acid, 10-Hydroxydecanoic Acid, and Sebacic Acid. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022.
- AMARAL, R. G. *et al.* Contribuição dos produtos naturais para o desenvolvimento de tratamentos para o câncer. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-SERGIPE**, v. 5, n. 2, p. 119-134, 2019.
- AWAD, A. B. *et al.* β -Sitosterol enhances tamoxifen effectiveness on breast cancer cells by affecting ceramide metabolism. **Molecular nutrition & food research**, v. 52, n. 4, p. 419-426, 2008.
- AWAD, A. B.; ROY, R.; FINK, C. S. β -sitosterol, a plant sterol, induces apoptosis and activates key caspases in MDA-MB-231 human breast cancer cells. **Oncology reports**, v. 10, n. 2, p. 497-500, 2003.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade. *s.d.* Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade>. Acesso em: 7 de maio de 2023.
- CECHINEL FILHO, V.; ZANCHETT. C. C. C. **Fitoterapia avançada: uma abordagem química, biológica e nutricional**. Artmed. Porto Alegre-RS. 2020.
- CHUNHAKANT, S.; CHAICHAROENPONG, C. Antityrosinase, antioxidant, and cytotoxic activities of phytochemical constituents from *Manilkara zapota* L. bark. **Molecules**, v. 24, n. 15, p. 2798, 2019.
- DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303-336, 2012.
- EL-BELTAGI, H. S. *et al.* Phytochemical screening, antimicrobial, antioxidant, anticancer activities and nutritional values of cactus (*Opuntia ficus indica*) pulp and peel. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 28, n. 2A/2019 p. 1534-1551, 2019.
- ELGHONDAKLY, M.; MOAWAD, A.; HETTA, M. Cytotoxicity and chromatographic analysis of *Dioon spinulosum*, family Zamiaceae. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 10, n. 12, p. 075-082, 2020.
- GLOBOPLAY. Sucesso de Juliette no ‘BBB 21’ faz aumentar venda de cactos na Paraíba – 05/05/2021. 2021. Disponível em: <https://globoplay.globo.com/v/9489574/>. Acesso em: 10/11/2023.
- HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, H. C. *et al.* Antitumor activity of *Pachycereus marginatus* (DC.) Britton Rose extracts against murine lymphoma L5178Y-R and skin melanoma B16F10 cells. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 36, p. 635-639, 2016.

INCA. **ABC do câncer: Abordagens Básicas para o Controle do Câncer.** Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. – 6. Ed. rev. atual. – Rio de Janeiro. 2020.

INCA. Instituto Nacional de Câncer (Brasil). **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil** / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro, 2022.

KALVALA, A. K. *et al.* The role of Cannabidiol and tetrahydrocannabivarin to overcome doxorubicin resistance in MDA-MB-231 xenografts in athymic nude mice. **Biochimie**, v. 208, p. 19-30, 2023.

KOROTKOVA, N. *et al.* Cactaceae at Caryophyllales. org—a dynamic online species-level taxonomic backbone for the family. **Willdenowia**, v. 51, n. 2, p. 251-270, 2021.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Robbins Patologia Básica.** – Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

LEE, E. H. *et al.* Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. saboten. **Archives of Pharmacal Research**, v. 26, p. 1018-1023, 2003.

LOCATELLI, E.; MACHADO, I. C. S. 1999. Comparative study of the floral biology of two ornithophilous species of Cactaceae: *Melocactus zehntneri* and *Opuntia palmadora*. **Bradleya** 17:75-85.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil Nativas e Exóticas.** 2º edição. Instituto Plantarum. Nova Odessa-SP. 2008.

LUCENA, C. M. *et al.* Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. **Journal of ethnobiology and ethnomedicine**, v. 9, p. 1-11, 2013.

LUCENA, C. M. *et al.* Conhecimento botânico tradicional sobre cactáceas no semiárido do Brasil. **Gaia scientia**, v. 2, pág. 77-90, 2015.

MACHADO, J. S. **CONHECIMENTO LOCAL DE CACTÁCEAS EM UMA COMUNIDADE RURAL DO MUNICÍPIO DE BOQUEIRÃO (PARAÍBA, NORDESTE DO BRASIL).** 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2013.

MARTINS, J. S. **Espécies brasileiras de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae): morfoanatomia e estratégias reprodutivas.** 2022. 119p. Dissertação de mestrado (Mestrado em ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2022.

MEIADO, M. V. Propagação sexual e assexual estruturando populações de *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy, um cacto endêmico da Caatinga. **Rev. Biol. Neotrop.** 9 (2): 6-13. 2012

MONTEMAYOR, E. D. *et al.* In Silico Pathway Analysis of the Anti-cancer Mechanism of Selected Active Components of Virgin Coconut Oil and their Key Targets. **Philippine Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 1, n. 1, p. 37-53, 2020.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**. v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.

PAL, S. K.; CHILDS, B. H.; PEGRAM, M. Triple negative breast cancer: unmet medical needs. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 125, p. 627-636, 2011.

PEIXOTO, L. R. **Estudo fitoquímico e biológico da *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) NP Taylor & Stuppy (cactaceae)**. 2018. 135f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2018.

SANTOS, M. O.; LIMA, F. C. S.; MARTINS, L. F. L.; OLIVEIRA, J. F. P.; ALMEIDA, L. M.; CANCELA, M. C. Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. e–213700, 2023. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/3700>. Acesso em: 13 nov. 2023.

SILVA, J. P. R. **Estudo fitoquímico e atividade biológica da *Tacinga inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy**. 2016. 141f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017, 486 p.

VENCIONECK DUTRA, J. C. *et al.* Cereus jamacaru DC hydroalcoholic extract promotes anti-cytotoxic and antitumor activity. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 4, p. 130, 2018.

ZAPPI, D. C., TAYLOR, N. P. & MACHADO, M. C. 2010. **Cactaceae**. In: FORZZA, R. C.; *et al.*, (eds.). catálogo de Plantas e fungos do brasil, Jardim botânico do Rio de Janeiro, vol., 1: 822 – 832.

ZAPPI, D.; *et al.* 2011. **Plano de Ação Nacional para a Conservação das Cactáceas. Série Espécies Ameaçadas nº 24** – Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBIO, 112p

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.P. Cactaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB1754>>. Acesso em: 25 set. 2023.

ZHU, Y. *et al.* Synergistic effect of bioactive anticarcinogens from soybean on anti-proliferative activity in MDA-MB-231 and MCF-7 human breast cancer cells in vitro. **Molecules**, v. 23, n. 7, p. 1557, 2018.