

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
Faculdade de Ciências e tecnologia

**Propriedades biológicas e
aplicações dos cladódios de *Opuntia
ficus-indica* (L.) Mill**

Alexandra Isabel Vargas dos Santos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da Prof^a Doutora Maria Graça Miguel

2016

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
Faculdade de Ciências e tecnologia

**Propriedades biológicas e
aplicações dos cladódios de *Opuntia
ficus-indica* (L.) Mill**

Orientando:

Alexandra Santos

Orientador:

Professora Doutora Maria Graça Miguel

2016

Propriedades biológicas e aplicações dos cladódios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Universidade do Algarve, 21 de Dezembro de 2016

Copyright© by Alexandra Santos, “*A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.*”

Agradecimentos

A elaboração desta dissertação não teria sido possível sem o contributo de algumas pessoas que me incentivaram, apoiaram e me ajudaram a enfrentar mais esta etapa da minha vida, pelo que não posso deixar de lhes fazer um agradecimento.

Começo por agradecer à minha orientadora, a professora Doutora Maria Graça Miguel, por todo o apoio, dedicação e disponibilidade que me concedeu ao longo da redação da presente monografia.

Um sincero e enorme agradecimento aos meus pais por toda a dedicação, carinho e apoio que me mostraram ao longo de todo este percurso. Obrigado por estarem sempre presentes em todos os momentos bons e maus da minha vida, por iluminarem as noites mais escuras e por me guiarem ao longo da vida no sentido da concretização de todos os meus sonhos.

Agradeço também à restante família e amigos que, à sua maneira, incentivaram-me a seguir em frente e a terminar mais esta etapa da minha vida.

Resumo

A Fitoterapia é o sistema terapêutico mais antigo do mundo que remonta aos primórdios da história, onde já então, o Homem recolhia e utilizava plantas para fins medicinais. Ao longo da sua evolução, este, apercebeu-se da existência, para além de plantas comestíveis, de outras dotadas de determinadas propriedades que, quando experimentadas no combate à doença, revelavam o seu potencial curativo. Assim, a utilização de plantas medicinais esteve desde sempre, intimamente ligada à evolução da medicina, sendo uma das principais fontes de matéria-prima para a obtenção de medicamentos.

Atualmente, o desenvolvimento científico e técnico fez ressurgir o interesse pela fitoterapia nos países desenvolvidos, uma vez que possibilitou demonstrar a segurança, qualidade e eficácia terapêutica de inúmeras plantas medicinais.

Opuntia ficus-indica, vulgarmente conhecida em Portugal por figueira-da-índia, é uma planta cactiforme do género *Opuntia*, pertencente à família *Cacteacea*. Esta planta cresce em climas áridos, é nativa do México e encontra-se amplamente distribuída por todo o continente Americano, bem como África e região do Mediterrâneo.

Há muito que as populações utilizam, tanto os frutos como os cladódios de *Opuntia* spp., como matéria-prima para medicinas tradicionais, devido às suas propriedades curativas no tratamento de patologias tais como diabetes, hipercolesterolemia, patologias reumáticas, eritemas, entre outras. Atualmente, a composição rica em compostos bioativos, com propriedades benéficas para a saúde, tanto dos cladódios como dos frutos, tornou-os alvo da atenção de vários estudos científicos.

Assim a presente dissertação tem como objetivo fazer uma revisão da literatura, no que respeita, à composição química e às propriedades e aplicações dos cladódios de *Opuntia ficus-indica*.

Palavras-chave: Fitoterapia, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, cladódios, composição química, flavonoides, atividade antioxidante, aplicações biológicas

Abstract

Phytotherapy is the oldest therapeutic system in the world that goes back to the beginnings of history, when Man used to collect and use plants for medical purposes. Throughout its evolution, this one, has realized the existence, besides edible plants, of others endowed with certain properties that when used in the combat of diseases, they revealed their curative potential. The use of medicinal plants has always been closely linked to the evolution of medicine, being one of the main sources of material for the medical products.

Nowadays scientific and technical developments revived the interest in phytotherapy, in developed countries, since it has demonstrated the safety, quality and therapeutic efficacy of numerous medicinal plants.

Opuntia ficus-indica, commonly known in Portugal as “ fig tree”, is a cactiform plant of the genus *Opuntia*, belonging to the *Cacteacea* family. This plant grows in arid climates, is native of Mexico and is widely distributed throughout the American continent, as well in the African and Mediterranean region.

For a long time, populations have used both fruits and cladodes of *Opuntia* spp., as a raw material for traditional medicines, due to their healing properties in the treatment of pathologies such as diabetes, hypercholesterolemia, rheumatic diseases, erythema, among others. Currently, the composition rich in bioactive compounds, with health benefits of both cladodes and fruits, has made them the target of the attention of several scientific studies.

Thus, the present article aims to review the literature regarding the chemical composition properties and applications of *Opuntia ficus-indica* cladodes.

Key words: Phytotherapy, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, cladodes, chemical composition, flavonoids, antioxidant activity, biological applications

Índice

Dedicatória e Agradecimentos	IV
Resumo	V
Abstract	VI
Índice de Figuras	IX
Índice de Tabelas	X
Lista de Abreviaturas	XI
1. Plantas Medicinais	1
1.1 Fitoterapia	1
1.1.1 História e Contexto	1
1.1.2 Evolução na atualidade	4
1.2 Constituintes biologicamente ativos nas plantas medicinais	6
2. <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill	8
2.1 Identificação e descrição morfológica	8
2.2 Origem e distribuição geográfica	11
3. Composição química dos cladódios de <i>Opuntia ficus-indica</i>	14
3.1 Composição química geral dos cladódios de <i>Opuntia ficus-indica</i>	14
3.2 Compostos de baixo peso molecular	16
3.2.1 Minerais	16
3.2.2 Açúcares	17
3.2.3 Ácidos orgânicos	17
3.2.4 Aminoácidos	18
3.2.5 Lípidos	19
3.2.6 Saponinas e fitoesteróis	20
3.2.7 Vitaminas, carotenoides e clorofilas	21
3.2.8 Compostos fenólicos	22

3.3 Compostos de elevado peso molecular	27
4. Propriedades e aplicações biológicas dos cladódios de <i>Opuntia ficus-indica</i>	29
4.1 Ação antioxidante	29
4.2 Propriedades anti-inflamatórias e analgésicas	36
4.2.1 Propriedades anti-inflamatórias	36
4.2.2 Propriedades analgésicas	41
4.3 Propriedades diuréticas	42
4.4 Atividade cicatrizante e antiulcerosa	42
4.4.1 Atividade cicatrizante	42
4.4.2 Atividade antiulcerosa	46
4.5 Atividade condroprotetora	48
4.6 Atividade hipoglicemiante	51
4.7 Atividade anti-hiperlipidêmica	53
4.8 Propriedades antivirais	56
5. Conclusão	57
9. Bibliografia	59

Índice de Figuras

Figura 1.1- Excerto da obra de Garcia de Orta: " <i>Coloquios dos simples, e drogas he cousas mediçinais da India</i> "	3
Figura 1.2- Representação gráfica do mercado europeu de plantas medicinais. Adaptado de Zaghrheca, 2007.....	5
Figura 2.1- Cladódio jovem com folhas, espinhos e aréolas.....	10
Figura 2.2- Fruto de <i>Opuntia ficus-indica</i>	10
Figura 2.3- Brasão de Armas Figurativo na bandeira do México	11
Figura 2.4- Mapa da distribuição mundial de <i>Opuntia spp</i>	12
Figura 2.5- Distribuição geográfica de OFI em Portugal continental e ilhas	13
Figura 3.1- Estrutura química dos ácidos piscídico, eucómico, málico e cítrico, presentes nos cladódios de OFI.....	18
Figura 3.2- Esquema representativo da estrutura geral dos flavonoides	24
Figura 3.3- Estrutura química da quercetina.....	25
Figura 3.4- Estrutura química da isoramnetina	25
Figura 3.5- Estrutura química do campferol	25
Figura 3.6- Estrutura química da aromadendrina (dihidrocampferol)	25
Figura 3.7- Opuntisido A	26
Figura 3.8- Opuntisido B	26
Figura 4.1- Características estruturais mais relevantes para a atividade antioxidante dos flavonoides	31
Figura 4.2- Atividade antioxidante de diferentes alimentos determinada pelo método de capacidade de absorção do radical de oxigénio (<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity – ORAC</i>).....	31
Figura 4.3- Capacidade de inibição de radicais livres dos extratos etanólicos de OFS determinados utilizando o ensaio de DPPH.	32
Figura 4.4- Mecanismo de estabilização de radicais pelo grupo catecol.	33
Figura 4.5- Estabilização dos radicais fenoxilo	34

Figura 4.6- Estrutura química da (+)-dihidroquercetina	34
Figura 4.7- Estrutura química da quercetina 3-metil éter	34
Figura 4.8- Potenciais locais de ação dos polifenóis na cascata inflamatória	37
Figura 4.9- Estrutura química de IGP	40
Figura 4.10- Estrutura química de IGR	40
Figura 4.11- Estrutura química de IGRR.....	40
Figura 4.12- Estrutura química de IGRP.....	40
Figura 4.13- Efeito da indometacina, IGR e do extrato de OFI nos níveis de TNF- α e IL-6 e na atividade do COX-2 em tecido homogeneizado de orelha de ratinho.....	41
Figura 4.14- Estrutura química do composto ativo feoforbídeo.....	56
Figura 4.15- Estrutura química do composto ativo pirofeoforbídeo.....	56

Índice de Tabelas

Tabela 3.1- L-aminoácidos livres em cladódios de OFI.....	19
Tabela 3.2- Composição lipídica em ácidos gordos (%) de farinhas de cladódios de OFI.....	20
Tabela 3.3- Conteúdo vitamínico de cladódios de <i>Opuntia ficus-indica</i>	21

Lista de abreviaturas

OMS- Organização Mundial de Saúde

OFI- *Opuntia ficus-indica*

MS- Matéria seca

NDF- Fibra em detergente neutro, do inglês “*Neutral Detergent Fiber*”

ADF- Fibra em detergente ácido, do inglês “*Acid Detergent Fiber*”

GAE- Gallic Acid Equivalents

ROS- Espécies reativas de oxigênio, do inglês “*Reactive Oxygen Species*”

LDL- lipoproteínas de baixa-densidade, do inglês “*Low Density Lipoprotein*”

RNS- Espécies reativas de azoto, do inglês “*Reactive Nitrogen Species*”

DPPH- radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo, do inglês “2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl”

HPLC- Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês “*High Performance Liquid Chromatography*”

ORAC- Ensaio da capacidade de absorção de radicais de oxigênio, do inglês “*Oxygen Radical Absorbance Capacity*”

OFS- *Opuntia ficus-indica* var. Saboten

X/XO- Xantina/Xantina oxidase

XO- Xantina Oxidase

IC₅₀- Concentração que apresenta 50% de efeito

NMDA- N-Metil-D-Aspartato

SNC- Sistema Nervoso Central

AVC- Acidente Vascular Cerebral

COX-2- Ciclo-Oxigenase-2

LOX- Lipoxigenase

NO- Óxido Nítrico

iNOS- Sintetase induzível do óxido nítrico

NF- κ B- Fator Nuclear Kb

AP-1- Proteína Ativadora-1

MAPK- Proteína Cinase Activada por Mitogénio

NrF2- Fator Nuclear Eritróide 2 relacionado ao fator 2

IGR- Isoramnetina-3-*O*-glucosil-ramnósido

IGRR- Isoramnetina-3-*O*-ramnosil-ramnósido

IL-6- Interleucina-6

TNF- α - Fator de necrose tumoral

IGP- Isoramnetina-3-*O*-glucosil-pentósido

IGR - Isoramnetina-3-*O*-glucosil-ramnósido

IGRP- Isoramnetina-3-*O*-glucosil-ramnosil-pentósido

IGRR- Isoramnetina-3-*O*-glucosil-ramnosil-ramnósido

LD₅₀- Dose letal média

MM- Massa Molecular

Da- Dalton

AINEs- Anti-inflamatórios não esteróides

I.U.- Índice de úlcera

GAGs- Glicosaminoglicanos

PGE₂- Prostaglandinas

GLP-1- Polipeptídeo semelhante ao glucagon-1, do inglês “*glucagon-like peptide 1*”

GIP- Peptídeo insulínico insulino-dependente, do inglês “*Gastric Inhibitory Polypeptide*”

IRS-2- Substrato do recetor de insulina 2

Akt- Proteína cinase serina-treonina

AUC- Área sob a curva, do inglês “*Area under the curve*”

HSV-2- Vírus herpes simplex tipo 2

IFV-A- Vírus influenza A

PV-1- Poliovírus tipo 1

USA- Estados Unidos da América, do inglês “*United States of America*”

Var.- Variedade

HMPC- Comité sobre Medicamentos à base de Plantas, do inglês “*Herbal Medicinal Products Committee*”

ESCAP- Comité Científico Europeu de Fitoterapia, do inglês “*European Scientific Cooperative on Phytotherapy*”

EMA-Agência Europeia de Medicamentos, do inglês “*European Medicines Agency*”

HMPWG-*Working Group on Herbal Medicinal Product*

1. Plantas Medicinais

1.1 Fitoterapia

1.1.1 História e Contexto

A Fitoterapia é o sistema terapêutico mais antigo do mundo que remonta aos primórdios da história, onde já então, o Homem recolhia e utilizava plantas para fins medicinais. O Homem recorria à utilização de plantas quer para satisfazer as suas necessidades alimentares quer com a intenção de aliviar a dor e sofrimento tanto em práticas religiosas como em rituais mágicos (Lima, 2010; Elumalai e Eswariah, 2012). Evidências arqueológicas indicam que o uso das plantas para fins medicinais remonta ao Paleolítico há aproximadamente 60 000 anos. Os primeiros documentos escritos remontam a 2 600 anos a.C. e pertencem às civilizações suméricas e babilónicas que registaram, em placas de barro e caracteres cuneiformes, diversas informações sobre plantas medicinais já então utilizadas, sobre a sua cultura e transformação em medicamento. Também na Mesopotâmia foi escrito o código de Hamurabi que já, então, descrevia muitos produtos vegetais, entre os quais o ópio, o meimendo, o gálbano e a assafétida (Cunha, Silva e Roque, 2003).

No antigo Egito, as plantas medicinais eram utilizadas para fins cosméticos, medicinais e também religiosos. Provas da sua importância e utilização são encontradas em papiros médicos, em ilustrações de túmulos e em vasos médicos onde, por vezes, são detetados vestígios de ervas. Já então a medicina egípcia utilizava, por exemplo, o sene, zimbro, sementes de linho, entre outros. Talvez um dos mais famosos artefactos egípcios, com interesse para a área da medicina e da fitoterapia, será o papiro de Ebers assim denominado em homenagem ao egiptólogo Georg Ebers, que o encontrou em 1873. Nele foram registadas indicações sobre o tratamento de diversas doenças assim como a constituição dos medicamentos destinados ao tratamento das mesmas, tratando-se do primeiro tratado médico conhecido. Muitos outros papiros, tais como o de Edwin Smith (1550 anos a.C.), Ramesseum (1900 anos a.C.) e o de Londres (1350 anos a.C.) foram descobertos e registam indicações sobre o uso de plantas em práticas médicas (Cunha, 2016).

Entre 1974 e 1975 foi descoberta na Síria, a biblioteca do palácio real de Ebla que guardava cerca de 20 000 placas de argila onde eram descritas várias informações sobre a utilização de plantas no tratamento de enfermidades (Cunha, 2016).

A utilização das plantas por causa das suas propriedades curativas também foi bastante explorada pelas civilizações chinesa e indiana. A Fitoterapia é um componente essencial na ancestral Medicina Tradicional Chinesa, que se caracterizava e caracteriza, pela utilização de combinações de diversas plantas em função das suas propriedades medicinais: benefícios pretendidos e possíveis efeitos adversos. O “Pen Tsao” foi o primeiro herbário conhecido e data de 2 838 anos a.C. e terá sido escrito pelo imperador chinês *Shen Nung* (da dinastia *Han*). Esta obra lista 365 plantas medicinais e os seus usos incluindo, por exemplo, a efedra- que posteriormente foi o ponto de partida para a obtenção da efedrina, e a chaulmoogra, cujas sementes eram utilizadas para a obtenção do óleo de chaulmoogra e que constituiu um dos primeiros tratamentos efetivos contra a lepra (Parascandola, 2003; Santos, Souza e Siani, 2008).

Em 1 600 anos a.C., na Índia, o médico indiano *Susruta Samhita* descreveu 700 plantas medicinais, integrando este conhecimento no antigo sistema holístico da medicina indiana: o *Ayurveda*, o mais antigo sistema de medicina tradicional, sendo anterior à medicina tradicional chinesa. Na fitoterapia tradicional indiana, as plantas possuem quatro propriedades básicas: o sabor, a energia, o efeito digestivo e a potência especial (Lima, 2010; Elumalai e Eswariah, 2012; Gurib-Fakim, 2006; Ventura, Bicho e Ventura, 2016).

Outro importante contributo foi-nos dado pelos povos helénicos. Galeno, considerado “o pai da Farmácia”, Teofrasto que escreveu “História das plantas” e Dioscórides, autor do tratado “*De Materia Medica*” foram algumas das principais figuras que deram um importante contributo para o desenvolvimento da medicina e da farmácia (Gurib-Fakim, 2006).

Durante o Renascimento destaca-se Garcia de Orta que, após trinta anos de permanência na Índia, publica em 1563 os “*Coloquios dos simples, e drogas he cousas mediçinais da Índia, e assi dalguas frutas achadas nella onde se tratam algumas cousas tocantes amedicina, pratica, e outras cousas boas, përa saber*” (Figura 1.1). Esta obra tornou-se no primeiro contributo científico europeu para o conhecimento das plantas medicinais orientais sendo uma das mais importantes obras para a Medicina, Farmacognosia e Botânica (Liberato, 2011).

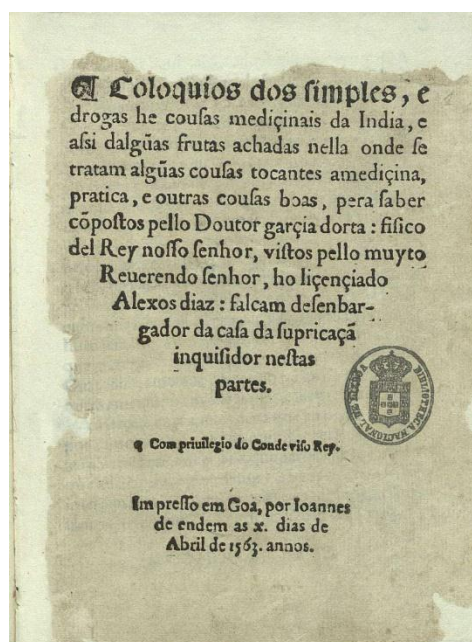


Figura 1.1- Excerto da obra de Garcia de Orta: "*Coloquios dos simples, e drogas he cousas medicinaes da India*" (Biblioteca Nacional de Portugal, 2016).

Em 1673, o farmacêutico francês *Pierre Pomet* publicou a obra "Histoire Général des Drogues" que marca a entrada do estudo das plantas no período científico ao adotar a classificação e a descrição taxonómica das plantas e contribuindo para o aumento da precisão na identificação botânica para os fármacos, resolvendo assim, os problemas da origem e descrição dos caracteres das plantas ou dos órgãos utilizados (Cunha, 2016).

Durante os séculos XVII e XVIII não se registaram avanços significativos, conservando-se o conhecimento acerca das plantas medicinais no domínio do empirismo (Rico, 2003).

Só a partir do final do século XVIII é que se começou a isolar e a determinar a estrutura dos princípios ativos dos produtos de origem natural com propriedades medicinais. A partir desse momento, o Homem começou a tentar perceber a correlação entre a estrutura química dos princípios ativos e a sua ação fisiológica, originando a descoberta de novas moléculas naturais de elevada atividade farmacológica (Cunha, 2016).

1.1.2 Evolução na atualidade

O reino vegetal assumiu desde sempre um papel predominante no que diz respeito à sua contribuição para o desenvolvimento de fármacos e evolução das terapêuticas, no entanto, com o desenvolvimento e aperfeiçoamento de metodologias de síntese químicas a realidade do universo de produção de medicamentos alterou-se e conseqüentemente observou-se uma desvalorização simultânea da contribuição da fitoterapia no processo (Martins, 2008).

O aparecimento de novas doenças relacionadas com os estilos de vida atuais, o aumento da esperança média de vida e problemas relacionados com a utilização de medicamentos de síntese condicionou e dificultou todo o processo de aprovação de medicamentos. Para além destes fatores, também a dificuldade em patentear os medicamentos de origem natural contribuiu para a decadência da fitoterapia e relegou a sua utilização, quase exclusivamente, para países em vias de desenvolvimento e de baixo recursos económicos (Martins, 2008).

No entanto, verificou-se, nas últimas décadas, um aumento no interesse pela utilização de plantas e dos seus extratos, quer utilizados isoladamente quer como complemento terapêutico, compatível com a medicina clássica. A constatação de alguns efeitos secundários dos medicamentos de síntese, a utilização abusiva de certos medicamentos, o aparecimento de resistências e o desenvolvimento científico e técnico que tornou possível a preparação de formas galénicas com teores padronizados de princípios ativos, fizeram ressurgir o interesse pela fitoterapia ao possibilitarem a demonstração da eficácia, qualidade e segurança de várias plantas medicinais (Martins, 2008).

Estima-se que cerca de 80% da população mundial (centrada sobretudo nos países em vias de desenvolvimento) utiliza medicamentos à base de plantas (Tamayo, 2006; Martins, 2013). Assim, tornou-se importante garantir, para além da qualidade, também a segurança e a eficácia deste tipo de medicamentos. Deste modo, a Organização Mundial de Saúde (OMS) e a União Europeia têm unido esforços e elaboraram um conjunto de diretivas com vista a regulamentar estes produtos e garantir a sua qualidade, eficácia e segurança (Martins, 2013).

As plantas e extratos vegetais continuam, para a indústria farmacêutica, a ser vistos com recursos de elevada importância para obtenção de substâncias ativas para o desenvolvimento de fármacos, obtenção de adjuvantes para a formulação de medicamentos ou a elaboração de medicamentos à base de plantas (Martins, 2013).

O recurso à Fitoterapia é muito variável de país para país, no entanto, verifica-se que este representa um nicho de mercado em crescimento tanto na Europa como no resto do mundo (Zagrheca, 2007). O mercado europeu de plantas medicinais exhibe uma elevada variabilidade, sendo liderado por países como a Alemanha, França, Itália e Reino Unido (figura 1.2) (Zagrheca, 2007).

Segundo a OMS, citado por Santos *et al.* (2008), mais de 50% da população residente na Europa, América do Norte e noutras regiões industrializadas, já utilizou pelo menos uma vez, medicamentos à base de plantas como medicina complementar ou alternativa. Santos *et al.* (2008) também referem que entre os anos 1995 e 2000, no mesmo estudo publicado pela OMS, cerca de 90% da população alemã referiu ter utilizado produtos naturais nalgum momento das suas vidas e que, em resultado dessa realidade, o número de médicos que tiveram formação específica em medicina natural disparou para o dobro.

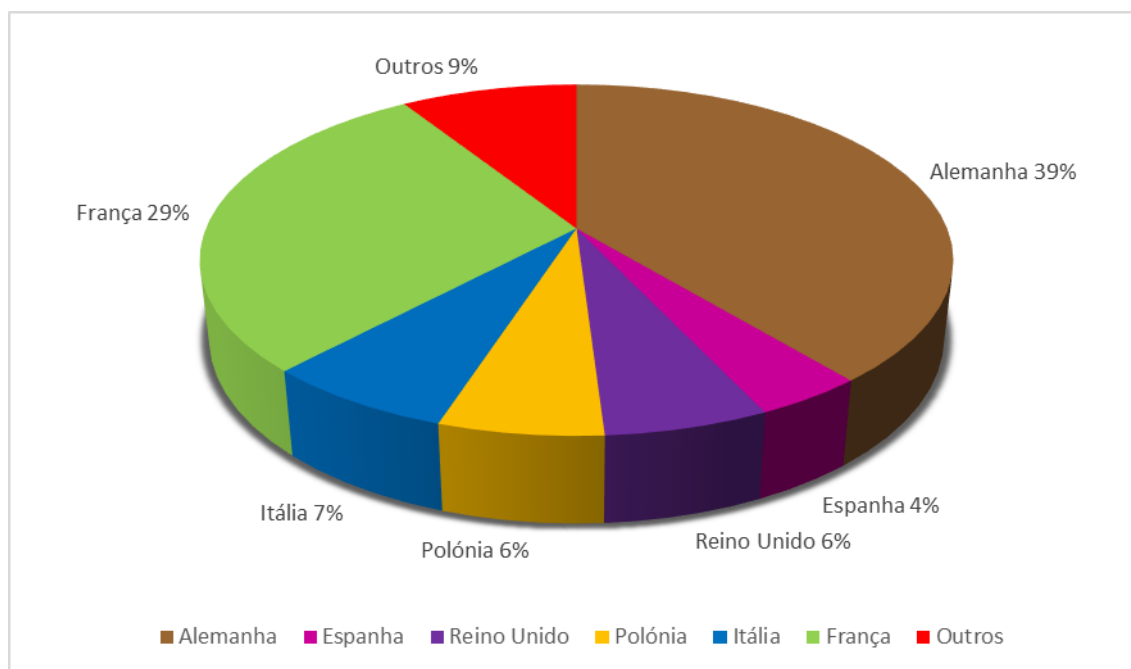


Figura 1.2- Representação gráfica do mercado europeu de plantas medicinais. Adaptado de Zagrheca, 2007.

Assim, na atualidade, o Homem voltou a focar a sua atenção na fitoterapia. Na Europa, vários países, tais como, a Alemanha, França e Inglaterra passaram a incluir plantas medicinais nas respectivas farmacopeias e elaboram várias monografias importantes, como por exemplo, as monografias elaboradas pela Comissão E (Comité de peritos em plantas medicinais, criado pela Agência Federal de Saúde Alemã, para avaliar a segurança das fitomedicinas) que, em quinze anos e até ao ano de 2008, publicou 410 monografias sobre 324 plantas, incluindo as descrições das plantas e respetivos constituintes, propriedades farmacológicas, indicações terapêuticas aceites, contraindicações, efeitos secundários, interações, doses recomendadas, requisitos de controlo da qualidade e condições recomendadas de armazenamento (Martins, 2008).

O interesse pela procura de compostos derivados de espécies vegetais tem aumentado, evidenciado pelo crescente número de ensaios clínicos e farmacológicos que têm seguido essa linha de pesquisa (Calixto, 2000). A crescente procura e interesse pelas plantas medicinais tornaram necessário o estabelecimento de critérios que assegurassem a qualidade, eficácia e segurança destes produtos. A iniciativa da implementação legal da Fitoterapia partiu de instituições, como a Comissão E, a OMS e a *European Scientific Cooperative on Phytotherapy* (ESCOP) (Barrett, 2004; Watson e Preedy, 2008). Na União Europeia, a Agência do Medicamento (EMA) criou, em 1997, um grupo de trabalho sobre medicamentos à base de plantas, o *Working Group on Herbal Medicinal Products* (HMPWG) que, entretanto, deu lugar ao *Herbal Medicinal Products Committee* (HMPC), com vista à criação de normas para os medicamentos à base de plantas e nos EUA o *National Institutes of Health* criou em 1998 o *National Center for Complementary and Alternative Medicine* (Watson e Preedy, 2008; Barrett, 2004; Peschel, 2007).

1.2 Constituintes biologicamente ativos nas plantas medicinais

As plantas medicinais são uma das fontes mais ricas para a obtenção de moléculas biologicamente ativas e com potencial de serem exploradas para a obtenção de fármacos. Após a extração, estes compostos podem ser utilizados como aditivos alimentares, pigmentos, corantes, inseticidas, na indústria da cosmética, perfumaria ou farmacêutica (Mulabagal e Tsay, 2004).

Na natureza, as plantas produzem dois tipos de metabolitos: os primários e os secundários. Dentro dos metabolitos primários incluem-se os hidratos de carbono, os lípidos e os aminoácidos que são essenciais ao desenvolvimento da planta. Por sua vez, os metabolitos secundários desempenham um papel importante na adaptação da planta ao ambiente contribuindo para a sua defesa quer de agentes patogénicos, insetos, outras plantas ou da radiação UV. Estes podem ser classificados de acordo com a sua via biossintética, destacando-se três grandes famílias de moléculas: os terpenos e esteroides, alcaloides e compostos fenólicos, sendo estas as principais moléculas responsáveis pelas propriedades biológicas das plantas medicinais (Bourgaud *et al.*, 2001; Wink, 2015).

Para além dos seus constituintes ativos, as plantas medicinais, também são fontes de outros compostos que não exercendo efeitos terapêuticos, servem de apoio à atividade dos princípios ativos protegendo-os de modificações químicas ou melhorando a sua biodisponibilidade influenciando, assim, a sua ação. Este cenário justifica o facto de que, por vezes, a ação da planta ou de um extrato com um determinado constituinte, apresente maior atividade do que quando utilizado o constituinte ativo de forma isolada (Cunha, Silva e Roque, 2003).

Opuntia ficus-indica é uma planta que há muito tempo é utilizada em medicina tradicional para o tratamento de diversas patologias. Assim a presente dissertação tem como objetivo fazer uma revisão da literatura, no que respeita, à composição química e às propriedades e aplicações dos cladódios de *Opuntia ficus-indica*.

2. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill

2.1 Identificação e descrição morfológica

A família *Cactaceae* é composta principalmente por plantas suculentas, com características morfológicas, anatómicas e fisiológicas adaptadas a ambientes áridos e semiáridos (Alves *et al.*, 2008; Silva e Sampaio, 2015). Dentro da família *Cactaceae*, o género *Opuntia* é o mais diverso, sendo constituído por cerca de 191-350 espécies (Griffith e Portert, 2009; Scheinvar *et al.*, 2011). A classificação taxonómica do género *Opuntia* é complicada pois muitos dos sistemas de classificação apresentam erros nos conceitos de género e espécie o que acaba por contribuir para a elevada sinonímia. Este é um género em estado ativo de evolução e diferenciação, contribuindo para classificações erróneas, a variação interespecífica induzida por diferenças genéticas resultantes da influência dos fatores ambientais, fazendo-se sentir, por exemplo, em diferenças no tamanho dos cladódios, coloração das flores e comprimento dos espinhos foliares (Griffith e Portert, 2009; Scheinvar *et al.*, 2011; Scheinvar, Olalde-Parra e Gallegos-Vázquez, 2015; Pimienta-Barrios, 1995; Sáenz, 2006a).

Opuntia ficus-indica (OFI) pertence à divisão *Magnoliophyta*, à classe *Magnoliopsida*, à ordem *Caryophyllales*, à família *Cactaceae* e ao género *Opuntia* (Naturdata, 2009-2016; USDA, 2016). Em várias zonas do mundo, OFI é reconhecida por diferentes nomes. A riqueza de nomes comuns é ilustrativa da sua importância, uma vez que, as pessoas apenas tendem a nomear plantas com substancial valor económico, social ou ecológico (Hernández, Reyes-Agüero e Aguirre-Rivera, 2005). O México regista a maior variabilidade de nomes comuns atribuídos a OFI (Hernández, Reyes-Agüero e Aguirre-Rivera, 2005). Estes relacionam-se tanto com o local onde cresce, presença ou ausência de espinhos, coloração dos frutos, forma dos cladódios ou aos seus nomes nativos (Hernández, Reyes-Agüero e Aguirre-Rivera, 2005). O nome vulgar de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. varia consoante o país e a região, verificando-se a existência de diversas designações (Hernández, Reyes-Agüero e Aguirre-Rivera, 2005; Ferreira, *et al.*, 2016):

- **Portugal-** Figueira-da-índia, Piteira, Figueira-do-inferno, Figueira Moura, Figueira de Barbária, Tabaio ou Tabaibo (Arquipélago da Madeira) ...;

- **Brasil**- Palma Forrageira, Palma de Gado, Orelha de Onça, Palma, Jamaracá, Jurumbeba, Palmatória...;
- **Marrocos**- Tapia, Christian Fig;
- **Etiópia**- Beles;
- **África do Sul**- Algerian, Fusicaulis, Burbank, Direktor;
- **México**- Amarilla, Amarilla sin Espinas, Atlixco, Blanco, Cenizo, Liso, Liso Blanco, Milpa Alta, Morada, Nopal de Castilla, Nopal sin Espinas, Nopalito de California, Tuna de Castilla, Tuna Mansa, Nunca Vista, Pélon, Pellejo de rata..;
- **Itália**- Bianca, Erba de Calli, Fico d'India, Fritelle, Gialla Sarda, Nopale...;
- **Espanha**- Choya Chumbera, Chumbera, Figuéra de Moro, Figuerassa, Higo de Chumbo, Higo de Barbaria, Pelera, Sanguino, Tunal...;
- **França**- Cactus Raquette, Chardon d'Inde, Figuier de Barbarie, Opunce...;
- **Reino Unido e EUA**- Andy Boy, Indian Fig, Mission Cactus, Smooth Prickly Pear (Hernández, Reyes-Agüero e Aguirre-Rivera, 2005; Ferreira, *et al.*, 2016)...

Em relação à sua morfologia, os cladódios (caules modificados) são numerosos e articulados entre si, com uma forma e coloração variável. Os cladódios podem apresentar uma forma ovoide, elíptica ou oblonga e ser verdes ou glaucos. Em função da disponibilidade nutricional e de recursos hídricos, os cladódios podem alcançar até 60-70 cm de comprimento (Sáenz, 2006b) e 2-3 cm de espessura, podendo ser consumidos quando medem cerca de 10-12 cm e são tenros (Sáenz, 2006b). O crescimento dos cladódios demora cerca de 90 dias (Sáenz, 2006b). Em ambas as faces dos cladódios existem aréolas pequenas, que têm a capacidade de originar novos cladódios, flores e raízes aéreas de acordo com as condições ambientais (Sáenz, 2006b). Nas cavidades das aréolas existem numerosos gloquídeos curtos e amarelos (Figura 2.1) (Liberato, 2008).

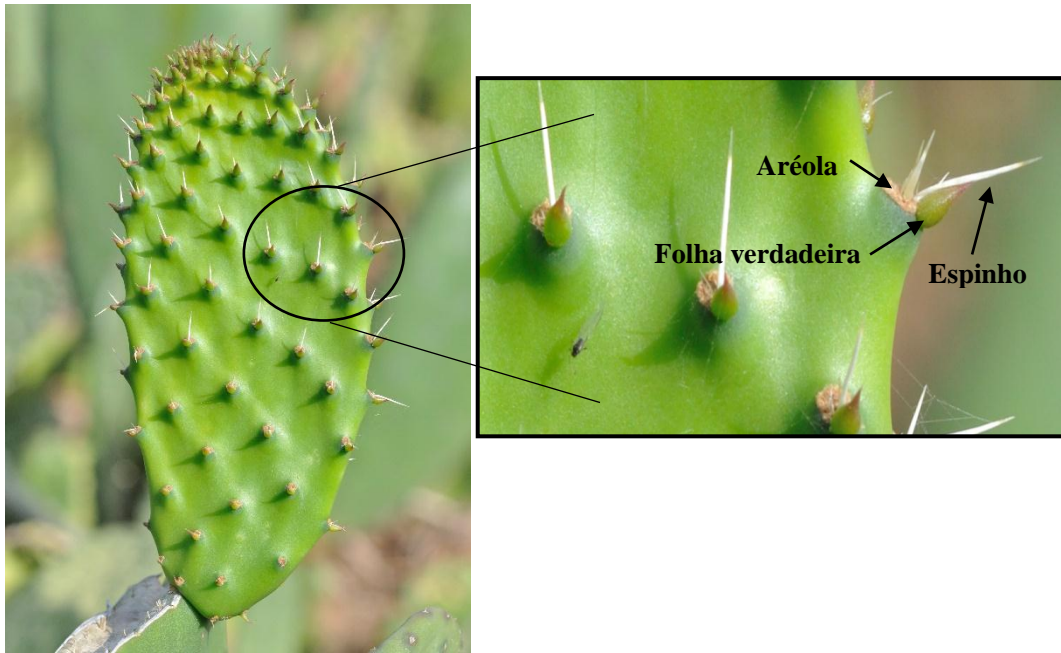


Figura 2.1- Cladódio jovem com folhas, espinhos e aréolas. Adaptado de Ferreira, *et al.* (2016)

As inflorescências são unifloras, sésseis e desenvolvem-se nas aréolas terminais e laterais superiores. As flores são diurnas, bissexuadas e a sua cor é variável, existindo, entre outras cores, flores amarelas, brancas e vermelhas (Liberato, 2008).

Os frutos assumem tamanhos e formas variáveis. Podem ter forma ovóide, redonda, elíptica e oblonga. Quanto à coloração, os frutos podem ser roxos, laranja, vermelhos, amarelos ou verdes, com polpas da mesma cor. São providos de um pericarpo duro onde se encontram pequenos espinhos (Figura 2.2) (Sáenz, 2006a).



Figura 2.2- Fruto de *Opuntia ficus-indica* (Plantas Invasoras, 2015).

2.2 Origem e distribuição geográfica

Opuntia ficus-indica é originária da América tropical e subtropical mas atualmente encontra-se distribuída por uma grande variedade de condições agroclimáticas, de forma silvestre ou cultivada, espalhada por todo o continente americano, África, Ásia, Europa e Oceânia (Sáenz, 2013).

Desde o final do Pleistoceno que grupos indígenas pré-históricos localizados nas bacias semiáridas e vales dos estados de Hidalgo, México, Morelos, Guerrero, Puebla e Oaxaca iniciaram a cultura de várias plantas nativas dessas regiões. Vários autores identificam o México como o país de origem de OFI, sendo este o local onde se iniciou o processo de domesticação (Anaya-Pérez, 2001). Desde cedo que esta planta entrou na alimentação dos mexicanos, destacando-se, juntamente com outras espécies vegetais, no campo da economia agrícola do Império Azteca. Segundo Pimienta (1990) citado por Sáenz (2006a) existem evidências arqueológicas que relacionam a sua origem genética à existência de antigas civilizações mesoamericanas, em particular o povo azteca. A obtenção de cladódios sem espinhos e portadores de frutos grandes e sumarentos eram os principais objetivos do processo de domesticação que se iniciou nas terras altas a sul do México meridional. Segundo Reyes Agüero *et al.* (2004) citado por Reyes Agüero *et al.* (2005) parece existir uma especial relação entre o grupo étnico Otomí e a domesticação da espécie de OFI (Hernández, Reyes-Agüero e Aguirre-Rivera, 2005). Também existem evidências da utilização e consumo de frutos de OFI pela civilização Maia e pelas populações Nazca do Peru (Griffith, 2004). Evidências do conhecimento e utilização de OFI pelas primeiras populações mexicanas podem ser encontradas nas escavações arqueológicas de Tamaulipas, Tehuacán e Puebla, onde foram encontrados artefactos com vestígios de fibras de cladódios de OFI com cerca de 7 000 anos (Sáenz, 2006a).

Exemplo da importância assumida por esta planta ao longo da história do México e da Mesoamérica é representado na bandeira nacional do México, onde no escudo figura uma águia pousada sobre cladódios de OFI- Figura 2.3 (Sáenz, 2006a).



Figura 2.3- Brasão de Armas Figurativo na bandeira do México.

No século XVI, os navegadores contribuíram para a disseminação de OFI no mundo (Kiesling, 1999). Quando estas plantas foram introduzidas na Europa, eram vistas como estranhas e monstruosas e eram principalmente utilizadas para adornar jardins de nobres e burgueses ricos, encontrando apenas mais tarde, o seu lugar na alimentação das pessoas (Blasco, 2014). Acredita-se que exemplares de OFI tenham acompanhado Cristóvão Colombo no seu retorno a Lisboa em 1493 marcando a introdução desta planta na Europa (Griffith, 2004).

No final do século XV, os marinheiros incluíam cladódios frescos nas provisões a bordo dos navios como seguro contra o escorbuto. Esta prática contribuiu significativamente para a disseminação de OFI por variados habitats áridos e semiáridos pelo mundo, em particular na zona em redor do Mediterrâneo: França, Grécia, Itália, Turquia e Israel (Griffith, 2004). Os árabes introduziram-na em África, donde se difundiu para os territórios da Argélia, Egito, Etiópia, Líbia, Marrocos e Tunísia. No continente americano encontra-se vastamente distribuída existindo exemplares desde o Canadá ao Chile, passando pela Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Chile, Estados Unidos da América, México, Perú, Venezuela e muitos outros países da América central e Caraíbas (Sáenz, 2006a). Também é possível encontrar OFI em Angola e na África do Sul, assim como, na Austrália e Índia tanto sob a forma silvestre ou cultivada (figura 2.4) (Sáenz, 2006a).



Figura 2.4- Mapa da distribuição mundial de *Opuntia spp.*
★ : identifica a presença de *Opuntia spp.* (Sáenz, 2006a).

Atualmente, o México é o país onde existe maior variabilidade genética de OFI, juntamente com maiores índices de consumo de frutos e maior área cultivada (Ferreira,

Candeias, Coelho, 2016; Hernández e Corrales-García, 2005). Contudo a sua importância económica bem como as suas propriedades biológicas têm atraído atenção de investidores e da comunidade científica, sendo exemplo disso mesmo, o aumento significativo da produção de OFI em Itália (Griffith, 2004; Ginestra *et al.*, 2009).

Apesar de OFI ser considerada uma espécie invasora em várias regiões do mundo, em Portugal, embora apresente uma ampla distribuição geográfica registando-se a ocorrência desta espécie desde a Estremadura, Beira Alta, Beira baixa, Beira Litoral, Ribatejo, Trás-os-Montes (Alto Douro), Alto e Baixo Alentejo até ao Algarve e arquipélago dos Açores (ilhas de São Miguel e Santa Maria) é considerada como sendo uma espécie exótica mas não invasiva (figura 2.5) (Plantas invasoras, 2015).

No Algarve e Alentejo, esta planta cresce de forma silvestre e, originalmente, era utilizada para delimitar propriedades e para alimentar os animais. Hoje em dia, o mercado de produção nacional de figo-da-índia encontra-se em crescimento (Gago *et al.*, 2014).

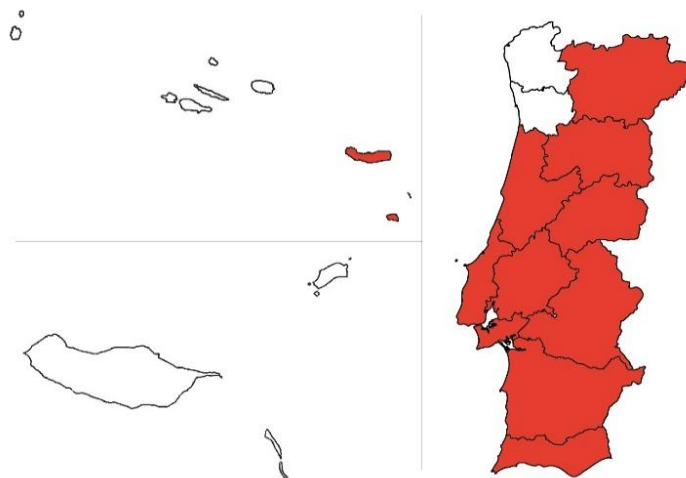


Figura 2.5- Distribuição geográfica de OFI em Portugal continental e ilhas (Plantas invasoras, 2015).

3. Composição química dos cladódios de *Opuntia-ficus-indica*.

3.1 Composição química geral dos cladódios de *Opuntia ficus-indica*.

A composição química e características físicas dos cladódios de OFI são influenciadas por diversos fatores, variando de acordo com o grau de maturação, condições edafo-climáticas (tipo de solo, clima e condições de crescimento), tratamento pós-colheita e condições climáticas prevalentes durante a mesma. Assim, é frequente a observação de diferenças ao nível do conteúdo nutricional entre espécies e variedades distintas resultando na discrepância de resultados encontrados na literatura (Batista *et al.*, 2003; El-Gharras *et al.*, 2006; Rodriguez-Felix e Cantwell, 1998; Stintzing e Carle, 2005). Consequentemente e, para fins de estudos comparativos, é importante garantir a seleção de amostras que foram sujeitas às mesmas condições ambientais e que se encontram no mesmo estágio de maturação (Astello-García *et al.*, 2015).

Os cladódios de OFI são principalmente constituídos por água (80-95%) apresentando também pequenas quantidades de hidratos de carbono (3-7%), fibras (1-2%) e proteínas (0,5-1%) (Ginestra *et al.*, 2009). A idade dos cladódios influencia substancialmente o seu valor nutricional e o seu conteúdo em água pode variar dependendo da disponibilidade deste recurso. A constituição proteica dos cladódios varia entre espécies e grau de maturação. Cladódios mais novos tendem a apresentar maior percentagem de hidratos de carbono, proteínas, e água (Rodrigues-Felix e Cantwell, 1998). Em contraste, Hernández-Urbiola *et al.* (2010) obtiveram resultados contraditórios afirmando que o perfil proteico dos cladódios de OFI da var. Redonda não sofrem alterações significativas em função do grau de maturação dos mesmos. Estes resultados são incomuns, uma vez que cladódios mais jovens tendem a apresentar uma qualidade nutricional superior em relação a cladódios maduros (Stintzing e Carle, 2005), facto atribuído ao espessamento da cutícula dos cladódios maduros e ao aumento da espessura devido à expansão do parênquima que acompanha a expansão do conteúdo celular (Astello-García *et al.*, 2015).

O suco extraído dos nopalitos (cladódios jovens) apresenta, geralmente, um pH a rondar os 4,6 com 0,45% de ácidos tituláveis e 6,9 g/100 g de matéria seca (MS). (Rodríguez-Felix e Cantwell, 1998; Stintzing e Carle, 2005; El-Safy, 2013).

Os cladódios de *Opuntia* são excelentes fontes de fibra dietética (Astello-García *et al.*, 2015; Bensadón, S. *et al.*, 2010). Esta corresponde a uma combinação heterogénea de substâncias químicas, atualmente descrita como uma classe de compostos de origem vegetal constituída sobretudo por polissacáridos e substâncias associadas- tais como polifenóis e carotenóides- que quando ingeridos, não sofrem hidrólise, digestão e absorção no intestino delgado, sendo classificados em fibras solúveis e insolúveis de acordo com a sua capacidade de dissolução em água (PNPAS, 2016). Os subprodutos (epiderme, gloquídeos e porções de partes comestíveis que cobrem tanto os cladódios como os frutos) de OFI apresentam um teor total de fibra dietética superior ao de alimentos dietéticos mais comuns, tais como o feijão, lentilhas, maçãs e laranjas e semelhante ao de materiais considerados ricos em fibra dietética tais como o bagaço de uva, casca de goiaba ou *Fucus vesiculosus* (Bensadón, S. *et al.*, 2010).

A parede celular vegetal é constituída principalmente por celulose, hemicelulose, pectinas e lenhina em proporções variáveis, dependendo da espécie e fase de crescimento da planta (McDonald *et al.*, 2011).

A fibra em detergente neutro (NDF) é constituída principalmente por celulose, hemicelulose e lenhina (McDonald *et al.*, 2011). O teor de NDF em cladódios de OFI varia entre 19,87% (var. Castello) e 38,52% (var. Monterey). Cordova-Torres *et al.* (2009), citados por Andrade-Montemayor *et al.* (2011) determinaram valores de NDF de 26% para cladódios de OFI.

Os cladódios de OFI apresentam baixas concentrações de fibra em detergente ácido (ADF), constituída principalmente por lenhina e celulose. Mciteka (2008) determinou teores de ADF de 13,66% e 17,36% para cladódios de OFI var. *Fuscaulis* e var. Castello, respetivamente. Segundo Villegas-Díaz *et al.* (2008), citados por Andrade-Montemayor *et al.* (2011) cladódios jovens e de meia idade de OFI apresentam um teor de ADF de cerca de 11,8% e 17,8%, respetivamente. Hernández-Urbiola *et al.* (2010) observaram um aumento de 11,00 g para 23,33 g no teor em fibra de cladódios de OFI var. Redonda de 40 e 135 dias respetivamente.

Os cladódios de OFI também são uma fonte de fenóis, incluindo flavonoides, minerais e outros nutrientes. O potencial benefício do seu elevado teor em cálcio é discutível uma vez que tende a encontrar-se sob a forma de cristais de oxalato de cálcio, o que poderá comprometer a sua biodisponibilidade (Ginestra *et al.*, 2009; Sáenz *et al.*, 2010).

3.2 Compostos de baixo peso molecular

3.2.1 Minerais

A constituição mineral dos cladódios de *Opuntia* é influenciada por diversos fatores variando significativamente, por exemplo, de acordo com a espécie e grau de maturação dos cladódios o que justifica a elevada variabilidade de resultados encontrados na literatura (Stintzing e Carle, 2005). Os principais minerais que os constituem são o potássio, cálcio, fósforo, magnésio e o sódio, sendo o potássio e o cálcio os que se encontram em maior concentração (Astello-García *et al.*, 2015; Batista *et al.*, 2003; El-Safy, 2013; Hernández-Urbiola *et al.*, 2010). Foram reportados teores de 50 mg/100 g peso seco de potássio e 18-57 e 11-17 mg/100 g peso seco para o cálcio e magnésio respetivamente. O ambiente seco e a elevada concentração de compostos de cálcio presentes no solo induzem a acumulação de cálcio nos cladódios (Batista *et al.*, 2003).

O cálcio encontra-se sobretudo sobre a forma de cristais de oxalato de cálcio distribuídos por todos os tecidos (Ginestra *et al.*, 2009). O cálcio tem um papel importante no processo de retenção de água e controlo da pressão osmótica nas células vegetais (Ginestra *et al.*, 2009). A existência do cálcio sob a forma de cristais de oxalato pode comprometer a sua biodisponibilidade (Sáenz *et al.*, 2010; McConn e Nakata, 2004). Alguns autores sugerem que com o aumento do grau de maturação dos cladódios, o teor em oxalato de cálcio diminui e aumenta o teor em cálcio favorecendo a sua biodisponibilidade (Rodríguez-García *et al.*, 2007). Por outro lado, outros autores sugerem - baseados em estudos sobre a biodisponibilidade de sais de cálcio- que mesmo sobre a forma de oxalato, o cálcio consegue ser absorvido (Sáenz *et al.*, 2010).

3.2.2 Açúcares

O teor em açúcares redutores em cladódios de *Opuntia* situa-se entre 0,64 e 0,88 g/100 g peso seco variando consoante o grau de desenvolvimento dos cladódios e também entre espécies (Rodrigues-Felix e Cantwell, 1998). A glucose e a arabinose são os principais açúcares detetados, verificando-se que à medida que os cladódios envelhecem a concentração de glucose diminui e que o teor em arabinose aumenta (Figuroa-Pérez *et al.*, 2016). Noutros estudos, a arabinose e a xilose são apontados como os principais açúcares constituintes da mucilagem de OFI (Medina-Torres *et al.*, 2000).

O teor em hidratos de carbono nas plantas depende dos fenómenos de fotossíntese e respiração e, por isso, são influenciados por fatores como o crescimento e desenvolvimento da planta (Figuroa-Pérez *et al.*, 2016; Fulkerson e Donaghy, 2001).

Os polissacáridos extraídos de plantas são uma interessante fonte de aditivos para diversas indústrias, em particular para a alimentar (Medina-Torres *et al.*, 2000).

3.2.3 Ácidos orgânicos

Os cladódios de OFI são ricos em diferentes ácidos tais como: oxálico, málico, cítrico, malónico, succínico, tartárico e piscídico (El safy, 2013; Meraz-Maldonado *et al.*, 2012). As estruturas químicas dos ácidos piscídico, eucómico, cítrico e málico são representadas na figura 3.1. (El safy, 2013; Meraz-Maldonado *et al.*, 2012).

Foram reportados teores de cerca de 36 mg e 178 mg/100 g de peso fresco de ácido málico e cítrico, respetivamente, nos cladódios de OFI (Stintzing e Carle, 2005; Teles *et al.*, 1994). Foram detetadas concentrações vestigiais de ácido tartárico e succínico, assim como a presença de ácido piscídico e fórbico, estes apenas existentes em plantas que apresentam o metabolismo ácido das Crassuláceas (MAC) (Stintzing e Carle, 2005). A idade dos cladódios influencia o teor em ácidos, verificando-se que o teor em ácido piscídico aumenta e o teor de ácido fórbico diminui com o aumento da idade dos cladódios (Stintzing e Carle, 2005; Teles *et al.*, 1994). Observou-se também que ácidos, tais como, o ácido malónico, láurico e tartárico são preferencialmente detetados em cladódios mais jovens assim como o teor em ácido glicólico (25-44%),

treónico (41-52%) e cítrico (65-82%) é superior em cladódios jovens e de meia-idade (Figuroa-Pérez *et al.*, 2016).

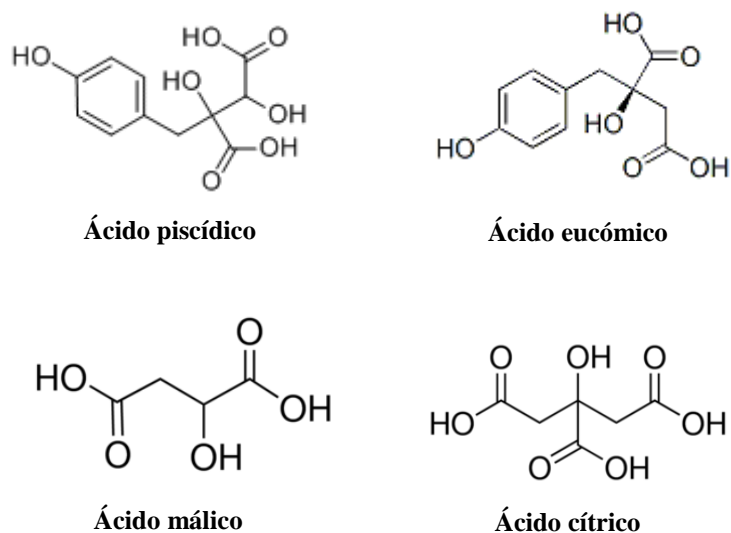


Figura 3.1- Estrutura química dos ácidos piscídico, eucómico, málico e cítrico, presentes nos cladódios de OFI.

3.2.4 Aminoácidos

Foram identificados 17 diferentes aminoácidos presentes em cladódios de *Opuntia*, nove dos quais são considerados essenciais. A glutamina é o principal aminoácido detetado, seguida da leucina, lisina, valina, arginina, fenilalanina e isoleucina. A concentração de cada aminoácido depende do grau de maturação dos cladódios. Cladódios menos maduros (mais jovens) tendem a ser melhores fontes de aminoácidos, uma vez que, por exemplo, a concentração dos aminoácidos treonina e isoleucina diminui com o aumento do grau de maturação dos cladódios (Hernández-Urbiola *et al.*, 2010).

Taxas metabólicas mais elevadas durante estádios de maturação mais precoces e o transporte de azoto dos tecidos maduros para os mais jovens ajudam a explicar esta variabilidade no conteúdo nutricional entre diferentes estádios de maturação (Figuroa-Pérez *et al.*, 2016).

Em contraste, a glicina seguida pela arginina e serina foram os principais aminoácidos detetados num outro estudo (El-Safy, 2013).

Num outro estudo, Brückner e Westhauser (2003), considerando tanto L- como D- enantiómeros, detetaram 18 L-aminoácidos assim como os D- enantiómeros de asparagina, ácido asparagínico, glutamina, ácido glutâmico e serina. A tabela 3.1 resume os aminoácidos que têm detetados nos cladódios de OFI.

Tabela 3.1- L-aminoácidos livres em cladódios de OFI.
Adaptado de Stintzing e Carle, 2005.

	mg/100 g peso fresco		mg/100 g peso fresco
Alanina	0,6	Lisina	2,5
Arginina	2,4	Metionina	1,4
Asparagina	1,5	Fenilalanina	1,7
Aspartato	2,1	Serina	3,2
Ácido Glutâmico	2,6	Treonina	2,0
Glutamina	17,3	Tirosina	0,7
Glicina	0,5	Triptofano	0,5
Histidina	2,0	Valina	3,7
Isoleucina	1,9	Leucina	1,3

3.2.5 Lípidos

Análises cromatográficas revelaram que o ácido palmítico, oleico, linoleico e linolénico correspondem a 13,87, 11,16, 34,87 e 32,83% do teor total de ácidos gordos. Estes quatro ácidos gordos representam mais de 90% do total de ácidos gordos, correspondendo, os ácidos linoleico e linolénico a 67,7% (El- Mostafa *et al.*, 2014).

Num outro estudo, El-Safy (2013) determinou a composição lipídica de farinhas de cladódios de OFI e identificou o ácido oleico como ácido gordo dominante (28,05%) seguido pelo linoleico (18,90%) e palmítico (16,23%). Verificou, também, a presença de baixas concentrações de ácido mirístico e araquídico. A razão ácidos gordos insaturados / saturados foi de 1,814 (Tabela 3.2).

Tabela 3.2- Composição lipídica em ácidos gordos (%) de farinhas de cladódios de OFI. Adaptado de El-safy, 2013.

Ácidos Gordos	Símbolo	(%)	Ácidos Gordos	Símbolo	(%)
Cáprico	C10:0	0,105	Tetradecanóico	C14:1	0,210
Undecanóico	C11:0	0,071	Pentadecanóico	C15:1	0,350
Láurico	C12:0	0,713	Palmitoleico	C16:1	0,166
Tridecanóico	C13:0	0,478	Oleico	C18:1	28,053
Mirístico	C14:0	1,458	Erúcido	C22:1	3,960
Pentadecanóico	C15:0	0,602	Monosaturados (total)	-	32,739
Palmítico	C16:0	16,231	Linoleico	C18:2	18,902
Heptadecanóico	C17:0	0,366	Linolénico	C18:3	0,586
Esteárico	C18:0	4,673	Eicosatrienóico	C20:3 ω 3	1,439
Araquidónico	C20:0	1,286	Docosaheptaenóico	C22:6	4,775
-	C21:0	0,172	Polinsaturados (total)	-	25,702
Beénico	C22:0	0,481	Saturados	-	32,213
-	C23:0	1,697	Insaturados	-	58,441
Lignocérico	C24:0	3,880	Ratio (Ins/sat)	-	1,814
Saturado (total)	-	32,213	Outros	-	9,346

3.2.6 Saponinas e fitoesteróis

Figuroa-Pérez *et al.* (2016) verificaram que a concentração de fitoesteróis e saponinas diminui com a idade dos cladódios, apresentando, cladódios de meia-idade, 7 e 30% mais saponinas e 27 e 44% mais fitoesteróis do que cladódios jovens e velhos, respetivamente. A diminuição do teor de fitoesteróis com o aumento da idade dos cladódios parece relacionar-se com o facto de serem convertidos em hormonas esteroides e vitaminas que regulam o crescimento e desenvolvimento de tecidos imaturos nas plantas.

Os fitoesteróis identificados foram o β -sitosterol, Δ^7 -stigmasterol e o stigmastanol. Cladódios de meia-idade apresentaram um teor em β -sitosterol superior (32 e 66% respetivamente) quando comparados com cladódios jovens e mais maduros. É de notar que, segundo os autores, este foi o primeiro estudo (até à altura de

publicação) a conseguir identificar campestanol em cladódios de OFI (Figuroa-Pérez *et al.*, 2016).

3.2.7 Vitaminas, carotenoides e clorofilas

Os cladódios jovens de OFI apresentam um teor moderado em vitamina C quando comparados a outras plantas. Estudos revelam que o teor total em ácido ascórbico (inclui ácido L-ascórbico e desidroascórbico) por 100 g peso fresco pode chegar até aos 22 mg. Quanto ao β -caroteno as concentrações podem variar entre 11,3 e 53,5 μ g por 100 g peso fresco, 0,14 mg por 100 g peso fresco de tiamina, 0,6 mg de riboflavina por 100 g peso fresco e 0,46 mg por 100 g peso fresco de niacina (Tabela 3.3). (Meraz-Maldonado *et al.*, 2012; Rodriguez-Felix e Villegas-Ochoa, 1997; Stintzing e Carle, 2005).

Tabela 3.3- Conteúdo vitamínico de cladódios de *Opuntia ficus-indica*. Adaptado de Stintzing e Carle, 2005.

	Por 100g peso fresco
Total de vitamina C	7-22 mg
Niacina	0,46 mg
Riboflavina	0,60 mg
Tiamina	0,14 mg
β-Caroteno	11,3-53,5 μ g

O teor em carotenos em frutas e vegetais pode ser considerado importante devido à sua atividade antioxidante e pelo facto destes pigmentos serem precursores da vitamina A. Os carotenoides nos cladódios de OFI são diversos e são compostos por β -caroteno (36%), luteína (46%) e criptoxantina (18%) (Betencourt-Domínguez *et al.*, 2006; Maki-Díaz *et al.*, 2015). Os carotenoides (β -caroteno, luteína, licopeno e zeaxantina) com pelo menos onze ligações duplas conjugadas são cinco vezes mais efetivos que os retinóides e antioxidantes (Betencourt-Domínguez *et al.*, 2006).

O teor total de clorofila presente nos cladódios ronda os 12,5 mg/100 g peso fresco, correspondendo 9,5 mg a clorofila *a* e 3,0 mg a clorofila *b* (Guevara *et al.*, 2003;

Stintzing e Carle, 2005). Meraz-Maldonado *et al.* (2012), estudando cladódios de OFI var. Atlixco de três tamanhos diferentes observaram que o teor em clorofilas sofria variações consoante o tamanho dos cladódios e o tempo de armazenamento. Registraram um teor em clorofila total de 5,92-11,23 mg/100 g polpa e também constataram que independentemente do tamanho dos cladódios, o teor em clorofila *b* foi sempre superior ao de clorofila *a*. Esta observação não é consensual existindo resultados contraditórios na literatura (Guevara *et al.*, 2003; Maki-Díaz *et al.*, 2015). Os teores em clorofila total, *a* e *b* parecem depender dos tamanhos dos cladódios, relacionando-se com o estado de desenvolvimento dos cloroplastos (Meraz-Maldonado *et al.*, 2012). A clorofila *b* é sintetizada a partir da clorofila *a* e atua capturando a energia luminosa e transferindo-a para a clorofila *a*. Assim a acumulação excessiva de clorofila *b* torna a planta vulnerável aos danos solares, uma vez que a flutuação na razão de clorofila *a/b* vai interferir com a captura eficiente de energia luminosa e taxa de transporte fotossintético de elétrons o que, por sua vez, irá interferir com a fixação de carbono, síntese de polissacarídeos e acumulação de matéria seca (Maki-Díaz *et al.*, 2015).

3.2.8 Compostos fenólicos

As plantas são ricas em compostos fenólicos, mais de 4 000 compostos fenólicos foram identificados em plantas vasculares, variando a sua composição e teor em função de diversos fatores, tais como ambientais e genéticos (Cook e Samman, 1996; Repo-Carrasco-Valencia, 2010). Os compostos fenólicos, ou polifenóis, pertencem a uma família de moléculas orgânicas amplamente distribuídas no reino vegetal (Bravo, 1998). São produtos resultantes do metabolismo secundário das plantas que atuam como reguladores fisiológicos (Ginestra *et al.*, 2009; Repo-Carrasco-Valencia, 2010). Apesar das suas vias metabólicas serem complexas são originados a partir de duas principais vias biossintéticas: a via do ácido chiquímico e do acetato (Bravo, 1998). Os compostos fenólicos naturais podem variar desde moléculas simples, tais como os ácidos fenólicos, até compostos altamente polimerizados, tais como os taninos. Entre os compostos fenólicos de baixo peso molecular mais comuns e importantes encontram-se os derivados fenólicos simples e os flavonoides (Bravo, 1998).

Rodriguez-Felix (2002) determinou um teor fenólico total em cladódios de OFI de 8-9 mg/100 g peso fresco. Em cladódios de OFI var. Saboten, Lee *et al.* (2002)

obtiveram um teor fenólico total de 3,7 mg/g nas amostras de cladódios congelados antes da extração com etanol e um teor fenólico total de 180,3 mg/g nos extratos etanólicos. Santos-Zea *et al.* (2011) determinaram concentrações de $318,11 \pm 34,18$ mg de GAE/g (*gallic acid equivalent*) em farinha de cladódios de OFI var. Jalapa e de $593,1 \pm 36,4$ mg de GAE/g em farinha de cladódios de OFI var. Vilanueva.

Foram detetados vestígios de ácido eucómico e de dois ésteres fenólicos identificados como *n*-butileucomato e metileucomato (Stintzing e Carle, 2005). Ginestra *et al.* (2009) identificaram o ácido piscídico como o principal constituinte do teor total de ácidos fenólicos, sendo ainda detetadas concentrações vestigiais de *p*-hidroxibenzaldeído, de ácido *p*-cumárico e de ácido *trans*-ferúlico e de ácido *cis*-cumárico.

Figuroa-Pérez *et al.* (2016) ao analisar amostras de cladódios de OFI var. Milpa Alta em diferentes estádios de maturação observaram que o teor em polifenóis e flavonoides era superior em cladódios de meia-idade (20 dias), contendo estes, 13 e 40% mais polifenóis e 33 e 41% mais flavonoides do que cladódios jovens (12 dias e 40 ± 10 g) e velhos (30 dias), respetivamente. Foram também identificados quinze ácidos fenólicos e treze flavonoides e observaram que cladódios mais jovens e de meia-idade apresentavam uma concentração superior em ácido *p*-hidroxibenzóico (42%), ácido *p*-cumárico (50%), ácido ferúlico (17%), rutina (33%), narcisina (31%) e nicotiflorina (37%) do que cladódios mais velhos.

Num outro estudo, ao analisar-se a composição aproximada e caracterização de ácidos fenólicos e flavonoides de duas amostras comerciais e oito selvagens de cladódios de OFI, identificou-se seis ácidos fenólicos (os ácidos gálico, cumárico, 3,4-dihidroxibenzóico, 4-hidroxibenzoico, ferúlico e salicílico) e cinco flavonoides (issoqueretina, isoramnetina-3-O-glucósido, nicotiflorina, rutina e narcisina). (Guevara-Figuroa *et al.*, 2010)

Polifenóis tais como o ácido clorogénico, ácido protocatecóico, ácido sinápico, ácido rosmarínico, ácido elágico, procianidinas B1 e B2, galhato de galhocatequina, galhato de epicatequina e epicatequina apenas foram detetados em cladódios jovens e de meia-idade (Figuroa-Pérez *et al.*, 2016)

Cladódios mais jovens apresentavam um teor superior em taninos condensados e hidrolisáveis (25-63% e 17-31%, respectivamente) do que em comparação com os mais velhos (Figuroa-Pérez *et al.*, 2016).

A composição, concentração e perfil fenólico em plantas é extremamente variável. Fatores como a idade dos cladódios, condições ambientais e fatores genéticos contribuem para a variabilidade de resultados (Astello-García *et al.*, 2015).

Os flavonoides são classificados de acordo com a sua estrutura química (Cook e Samman, 2016; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010). Estruturalmente, os flavonoides são compostos por dois anéis aromáticos (A e B), ligados por uma ponte de três átomos de carbono que formam o anel heterocíclico oxigenado (C)- estrutura representada na Figura 3.2 (Bravo, 1998). Biogeneticamente, o anel A normalmente deriva de uma molécula de resorcinol ou floroglucinol sintetizada através da via do acetato, enquanto que o anel B é originado a partir da via do chiquimato (Bravo, 1998).

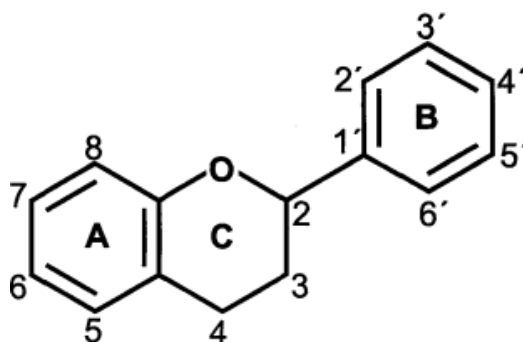


Figura 3.2 – Esquema representativo da estrutura geral dos flavonoides.

Os flavonoides podem ocorrer na sua forma livre (agliconas), ligados a açúcares (glicosídeos/heterósidos) ou também sob a forma de derivados metilados (Lakhanpal e Rai, 2007). Dos 2 000 flavonoides atualmente conhecidos, apenas cerca de 500 encontra-se sob a forma livre (Pereira e Cardoso, 2012).

A posição do substituinte benzénico na posição 3, em vez da posição 2, divide a classe de flavonóide em isoflavonoides. Conforme o estado de oxidação da cadeia heterocíclica do pirano, têm-se diferentes classes de flavonoides (Pereira e Cardoso, 2012): as flavonas, os flavonóis, as flavononas (Cunha, Silva e Roque, 2003), as antocianinas e os isoflavonoides, com múltiplos efeitos biológicos nomeadamente atividade antioxidante, anti-inflamatória e anti-tumoral (Pereira e Cardoso, 2012).

Todos os flavonoides apresentam na sua estrutura o 2-fenil-cromano ligado a, pelo menos, três hidroxilos fenólicos, um deles, ligado a uma ose, quando sob a forma heterosídica (Cunha, Silva e Roque, 2003).

A quercetina (figura 3.3), a isoramnetina (figura 3.4) e o campferol (figura 3.5), tanto sob a forma de agliconas ou glicosídeos, são os principais flavonoides encontrados nos cladódios de OFI. A isoramnetina é o flavonoide mais abundante e é aquele que apresenta a mais ampla variedade de derivados glicosídeos (Santos-Zea, Gutiérrez-Urbe e Serna-Saldivar, 2011).

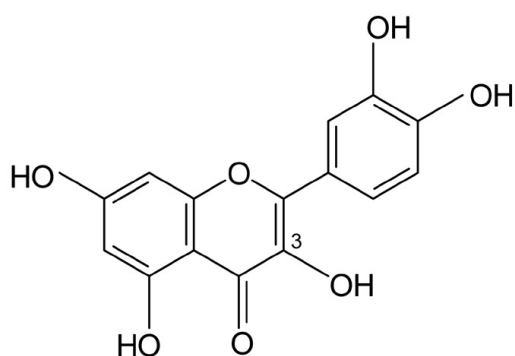


Figura 3.3- Estrutura química da quercetina.

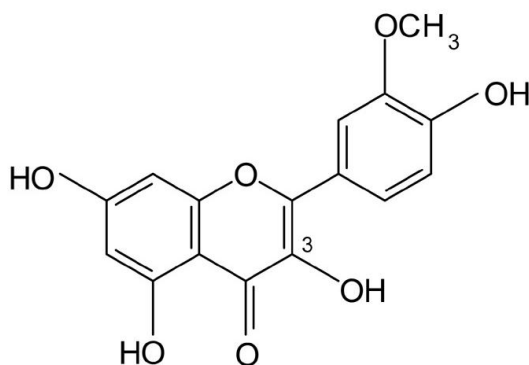


Figura 3.4- Estrutura química da isoramnetina.

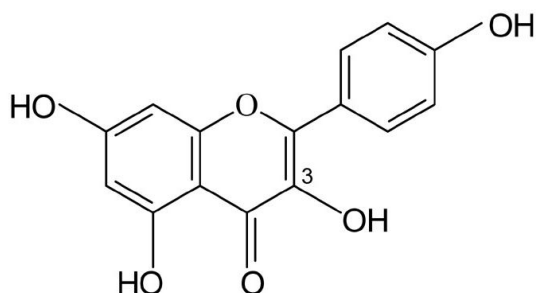


Figura 3.5- Estrutura química do campferol.

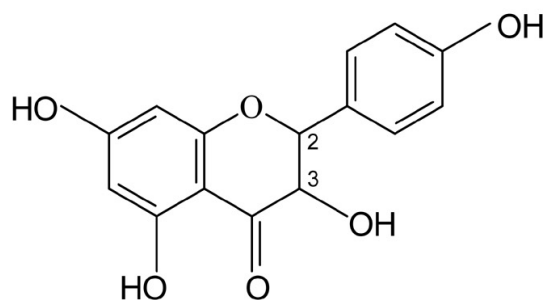


Figura 3.6- Estrutura química da aromadendrina (dihidrocampferol).

Recentemente foram identificados em amostras de cladódios e frutos de OFI var. Saboten oito flavonoides, correspondentes ao campferol, quercetina, aromadendrina

(dihidrocaempferol) (figura 3.6), taxifolina, isoramnetina, narcisina, campferol 3-metil éter e quercetina 3-metil éter e dois terpenóides (Lee *et al.*, 2003).

Ginestra *et al.* (2009) identificaram a isoramnetina-glucosil-ramnosil-ramnósido, e uma mistura de dois flavonoides, a isoramnetina- glucosil- ramnosil- (xilósido ou arabinósido) e um segundo isómero como os principais flavonoides presentes nos cladódios de OFI. Isoramnetina foi identificada como o principal flavonoide, seguida de baixas concentrações de campferol e quercetina.

Num estudo de Saleem *et al.* (2006) foram identificados num extrato metanólico de cladódios de OFI var. Saboten, extraídos com butanol dois compostos denominados como Opuntisido A (Figura 3.7) e B (Figura 3.8), juntamente com mais 15 compostos entre os quais se identificaram a quercetina, campferol, quercetina 3-*O*-metiléter, isoramnetina 3-*O*-glucósido, 2,3-dihidrocampferol, 2,3-dihidroquercetina, ácido cumárico, ácido ferúlico, campferol 7-*O*-glucósido, isoramnetina 3-*O*-neohesperidósido, isoramnetina 3-*O*-rutinosil-4'-*O*- β -*D*-glucósido, isoramnetina 3-*O*-(2,6-diramnosil)glucósido, zatarósido-A, *n*-butil- β -*D*-fructopiranósido, e o ácido 4-*O*-glucosil-mápico

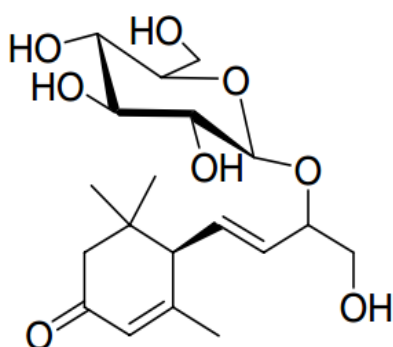


Figura 3.7- Opuntisido A.

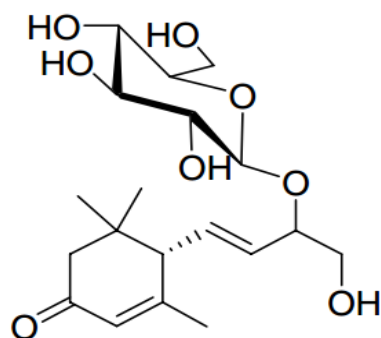


Figura 3.8- Opuntisido B.

3.3 Compostos de elevado peso molecular

O conteúdo em matéria seca depende de diversos fatores, podendo variar dependendo da espécie de *Opuntia spp.* Segundo Esminger *et al.* (1990), citados por Fuentes-Rodriguez (1997) os cladódios de OFI apresentam um teor em MS de cerca de 11,3%. Rodrigues *et al.* (2016) num estudo de cinco diferentes ecótipos de OFI crescendo nas regiões Centro e Sul de Portugal reportaram valores médios de MS de $13,75\% \pm 1,24$ e Andrade-Montemayor *et al.* (2011) reportaram teores de MS de 8-15%. As diferenças de resultados podem ser explicados por variações na idade, altura da colheita e genótipo dos cladódios analisados.

O aspeto viscoso dos caules e folhas de *Opuntia* deve-se à presença de um complexo heteropolissacarídeo fibroso altamente ramificado (Stintzing, Schieber e Carle, 2001). As pectinas fazem parte duma família de substâncias constituintes estruturais das paredes celulares primárias e regiões intercelulares das plantas superiores onde funcionam como agentes hidratantes e coesivos. Duas distintas frações macromoleculares são identificadas nos cladódios de *Opuntia*: a mucilagem, que não gelifica na presença de cálcio e uma fração gelificante sensível ao cálcio (pectina). Apesar de ambos os compostos apresentarem semelhanças no seu perfil de açúcares constituintes, a pectina apresenta um conteúdo superior em ácidos poligalacturónicos lineares. Esta diferença resulta em variações ao nível das suas propriedades físico-químicas e funcionais que tornam a sua utilização potencialmente útil em diversas áreas (biotecnologia, medicina, indústria alimentar, entre outras). (Cardenas, Goycoolea e Rinaudo, 2008; Goycoolea e Cardenas, 2003; Stintzing, Schieber e Carle, 2001)

O principal componente das pectinas é uma cadeia linear central composta por resíduos de ácido D-galacturónico ligados por ligações (1→4) parcialmente esterificadas e ocasionalmente interrompidas pela presença de ramnose, apresentando também, cadeias laterais esterificadas com galactose, arabinose, xilose e frutose (Bayar, Kriaa e Kammoun, 2016; Cardenas, Goycoolea e Rinaudo, 2008; Ribeiro *et al.*, 2010).

Apesar da variabilidade de resultados reportados relativos à percentagem dos diferentes constituintes entre as espécies de *Opuntia* determinou-se que, na mucilagem de OFI, a razão molar de arabinose e xilose é de 2:1 e a ramnose e o ácido galacturónico encontram-se em concentrações equimolares (1:1). Esta composição da mucilagem

sugere forte semelhança com as pectinas, apesar destas, apresentarem um menor teor em ácido galacturónico (Stintzing, Schieber e Carle, 2001).

Os principais açúcares constituintes da mucilagem de cladódios de OFI são a L-arabinose, D-galactose, D-xilose, ácidos urónicos, D-glucose e L-ramnose em proporções variáveis (Sáenz, Sepúlveda e Matsuiro, 2004). Ginestra *et al.* (2009) identificaram a glucose (41%) e o ácido galacturónico (24%) como os principais constituintes da mucilagem, seguidos de pequenas quantidades de arabinose (13%), galactose (9%), manose (1,62%), xilose e ramnose e de vestígios de fucose. Por sua vez, Rodríguez-González *et al.* (2014), ao estudarem a composição da mucilagem de seis espécies de *Opuntia* recolhidas na área de Morelia (México), determinaram que a mucilagem de OFI era composta por 35,36% de L-arabinose, 27,26% de D-galactose, 16,32% D-xilose, 5,18% de D-glucose, 1,93% de L-ramnose e 13,91% de ácidos urónicos. Outros estudos indicam que a mucilagem de OFI é composta por 24,60-42% de arabinose, 21,00-40,1% de galactose, 8,00-12,7% de ácido galacturónico, 7,00-13,1% de ramnose e 22,00-22,2% de xilose (Sáenz, Sepúlveda e Matsuiro, 2004). A influência de fatores edáficos é apontada como possível razão para a variabilidade de resultados encontrados na literatura (Zhao *et al.*, 2007).

4. Propriedades e aplicações biológicas dos cladódios de *Opuntia ficus-indica*

4.1 Ação antioxidante

Atualmente parece verificar-se uma tendência global na procura de fitoquímicos provenientes de fontes naturais, tais como, vegetais, frutas, oleaginosas e plantas com o objetivo de explorar as suas capacidades antioxidantes e funcionais (Lee *et al.*, 2002).

Os efeitos benéficos dos antioxidantes, associados ao consumo de frutas e vegetais, são maioritariamente atribuídos à presença de β -caroteno, ácido ascórbico e constituintes fenólicos (flavonoides) nos alimentos (Heim, Tagliaferro e Bobilya, 2002). Uma vez no plasma, os flavonoides têm a capacidade de elevar os níveis *redox* e antioxidante sendo considerados constituintes biologicamente ativos em plantas medicinais (Ishige, Schubert e Sagara, 2001).

Espécies reativas de oxigénio (ROS: do inglês *reactive oxygen species*) são responsáveis pela oxidação de proteínas celulares, ácidos nucleicos e lípidos, contribuindo para o envelhecimento celular, mutagénese, carcinogénese, doenças cardiovasculares e cardíacas, alterações no DNA e oxidação das lipoproteínas de baixa-densidade (LDL) (Heim, Tagliaferro e Bobilya, 2002). O termo ROS, para além das espécies de oxigénio, também abrange espécies reativas de azoto (RNS: do inglês *reactive nitrogen species*) e espécies radicalares formadas na presença de metais de transição (Valko *et al.*, 2007).

As alterações celulares resultantes dos danos provocados por ROS estão relacionadas com várias patologias e/ou complicações, tais como a obesidade, aterosclerose, diabetes, cancro, doenças neurodegenerativas, cirrose e ao processo de envelhecimento (Avila-Nava *et al.*, 2014).

Os principais efeitos benéficos para a saúde dos flavonoides são atribuídos à sua atividade antioxidante determinada pela capacidade em doar átomos de hidrogénio e/ou eletrões, neutralizado ou estabilizando as espécies radicalares, na ativação de enzimas antioxidantes, na redução de radicais α -tocoferol, na inibição de oxidases e interferência

em reações de catálise metálica, complexando com iões metálicos (Heim, Tagliaferro e Bobilya, 2002).

Os cladódios de OFI são ricos em fitoquímicos tais como os polifenóis, incluindo flavonoides e ácido ascórbico (vitamina C). O potencial antioxidante do extrato de cladódios de OFI, foi examinado *in vitro* e expresso segundo a capacidade de inibição de ROS: $\cdot\text{OH}$ (hidroxilo), H_2O_2 (peróxido de hidrogénio), ONOO^- (peroxinitrilo), $\text{O}_2^{\cdot-}$ (superóxido) e ácido hipocloroso (HOCl). Os resultados da atividade antioxidante dos extratos hidrolisado e não hidrolisado, avaliados com recurso ao método de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo), mostraram que ambos exibiam atividade antioxidante dependente da concentração do extrato. No entanto, verificou-se que a hidrólise *in vitro* do extrato aumentou a sua atividade antioxidante e concentração de polifenóis totais. O extrato hidrolisado mostrou capacidade em inibir radicais hidroxilo, peróxido de hidrogénio, o anião peroxinitrilo, o anião radical superóxido e o ácido hipocloroso. A hidrólise ácida permite a libertação dos polifenóis ligados ou associados com fibras solúveis sob a forma de glicósidos (Avila-Nava *et al.*, 2014). Os polifenóis glicosilados apresentam menor capacidade em doar eletrões para a estabilização de espécies radiculares e, portanto, são menos efetivos como antioxidantes do que as suas agliconas correspondentes (Avila-Nava *et al.*, 2014; Williams, Spencer e Rice-Evans, 2004).

Foram identificados com recurso a HPLC (Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês: *high performance liquid chromatography*) e espectrometria de massa os flavonoides quercetina, isoramnetina e campferol e a vitamina C (Avila-Nava *et al.*, 2014). A atividade antioxidante dos polifenóis depende das suas características estruturais, tais como, a presença do grupo catecol no anel B e A capazes de doar átomos de hidrogénio e estabilizar espécies radiculares, a presença da insaturação $\text{C}_2 = \text{C}_3$ conjugada com a função cetona no anel C e a presença de grupos funcionais capazes de ligar iões metálicos (Fe^{3+} e Cu^{2+}) (figura 4.1) (Amic *et al.*, 2003; Heim, Tagliaferro e Bobilya, 2002; Williams, Spencer e Rice-Evans, 2004).

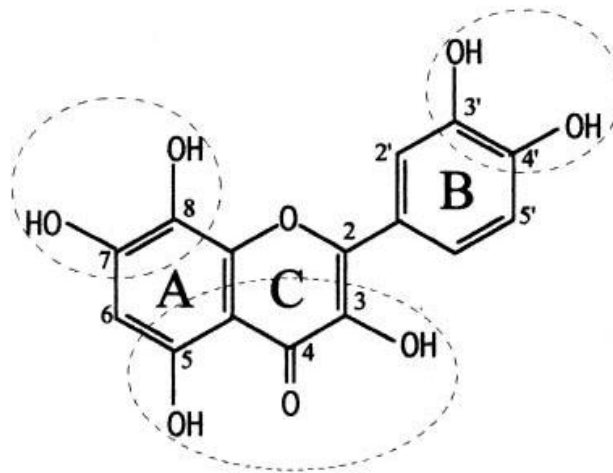


Figura 4.1- Características estruturais mais relevantes para a atividade antioxidante dos flavonoides (Amic *et al.*, 2003).

A atividade antioxidante dos cladódios de OFI foi comparada com a de outros alimentos e a seguinte ordem foi observada: café > alho > cladódios de OFI > ameixa > sementes de chia (Figura 4.2). Estudos *in vivo* mostraram que o consumo de 300 g/dia de cladódios de OFI var. Milpa Alta durante três dias resultaram num aumento de 20% da atividade antioxidante no plasma e de 5% no sangue, em indivíduos saudáveis (Avila-Nava *et al.*, 2014).

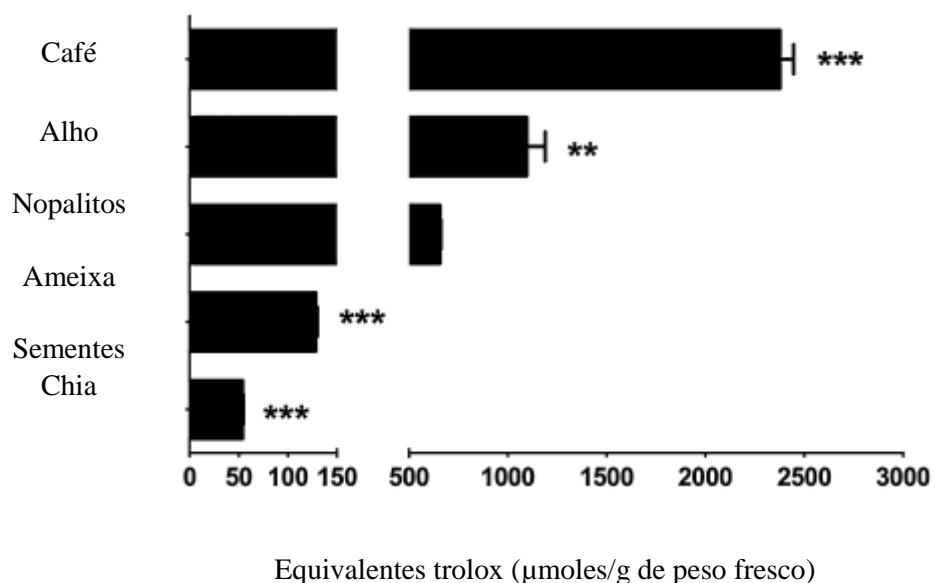


Figura 4.2- Atividade antioxidante de diferentes alimentos determinada pelo método ORAC (do inglês *oxygen radical absorbance capacity*). Os resultados são expressos em equivalentes Trolox. Os dados são apresentados como média \pm EPM (erro padrão da média), n=3. **p<0.001, ***p<0.0001 vs. nopalitos. Adaptado de Avila-Nava *et al.* (2014).

Lee *et al.* (2002) estudaram as propriedades antioxidantes de cladódios de OFI var. Saboten (OFS) e propuseram-se a identificar os componentes ativos e mecanismos responsáveis pela sua ação antioxidante. Os resultados revelaram que os extratos etanólicos de OFS exibiam uma poderosa ação antioxidante, sendo poderosos inibidores de radicais hidroxilo, inibindo fortemente a degradação da deoxirribose induzida por radicais hidroxilo tanto em ensaios específicos como não específicos (figura 4.3). Esta ação resultava em especial da capacidade em capturar íons de ferro em vez de capturar diretamente os radicais hidroxilo. A atividade antioxidante dos extratos foi confirmada em ensaios com radicais DPPH. Observou-se também, que a capacidade em reduzir complexos de Fe^{3+} -EDTA- que representa a sua capacidade em estimular a geração de radicais hidroxilo- apenas se observava quando eram adicionadas baixas concentrações de extrato. Concentrações relativamente elevadas de extratos de OFS não apresentavam atividade. Estes resultados sugerem que a atividade pro-oxidante dos extratos de OFS é fortemente compensada pelo seu potencial antioxidante. Para além disso, foi observado que os extratos de OFS exibiam atividade antiproliferativa, por regulação do crescimento celular.

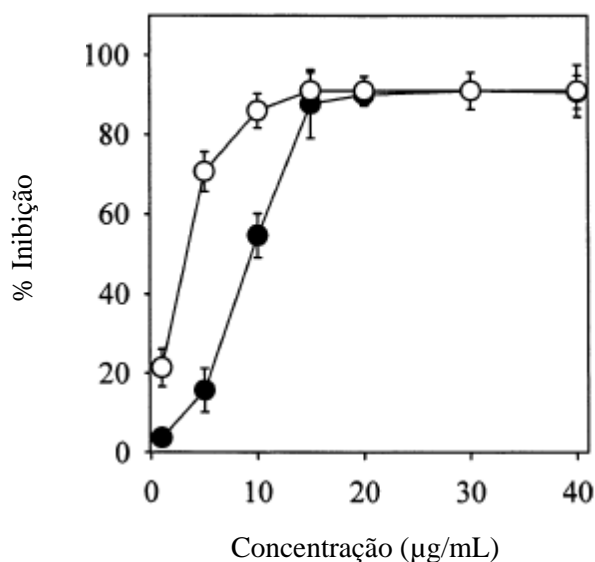
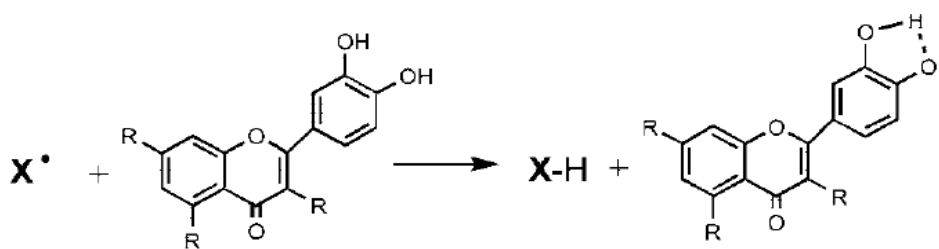


Figura 4.3- Capacidade de inibição de radicais livres dos extratos etanólicos de OFS determinados utilizando o ensaio de DPPH. A capacidade inibitória dos extratos de OFS (●) e do ácido ascórbico (○) de radicais DPPH é expressa em % de inibição. As concentrações testadas variam de 1 a 40 µg/mL. Adaptado de Lee *et al.* (2002).

Ensaio DPPH demonstraram que flavonoides 4'-hidroxi-substituídos, tais como o campferol, exibiam menor capacidade em sequestrar radicais DPPH do que os seus

derivados 3',4'-dihidroxi-susbtituídos, tais como a quercetina. A substituição nas posições 3' e 7' também se provaram essenciais para a atividade antioxidante. Em contraste, em ensaios de captação de radical superóxido, os compostos 4'-hidroxi-susbtituídos apresentavam maior potência do que compostos 3',4'-dihidroxi-susbtituídos (quercetina) e observava-se que a sua atividade podia ser potenciada por substituintes 3-metoxilo, tais como, a 3-O-metilquercetina (Qiu *et al.*, 2002).

Tal como referido anteriormente, a capacidade antioxidante dos flavonoides depende fortemente da sua estrutura, desempenhando o grupo catecol com os grupos hidroxilo nas posições 3' e 4', no anel B, um importante papel na estabilização das espécies radicalares. Esta estabilização depende da interação que se gera entre o grupo hidroxilo e o radical de oxigénio (figura 4.4) (Musialik *et al.*, 2009). Por outro lado, está provado que grupos hidroxilo nas posições 5 e 7 não exercem uma ação antioxidante tão potente quanto os das posições 3' e 4'.



Onde R=H ou OH

X•= ROS

Figura 4.4 - Mecanismo de estabilização de radicais pelo grupo catecol.

Adicionalmente, a ligação dupla C=C no anel C conjugada com o grupo 4-oxo exerce um papel fundamental ao permitir a deslocalização da densidade eletrónica, contribuindo para a estabilização dos radicais resultantes -figura 4.5 (Musialik *et al.*, 2009; Rice-Evens, Miller e Paganga, 1996; Barros, 2012).

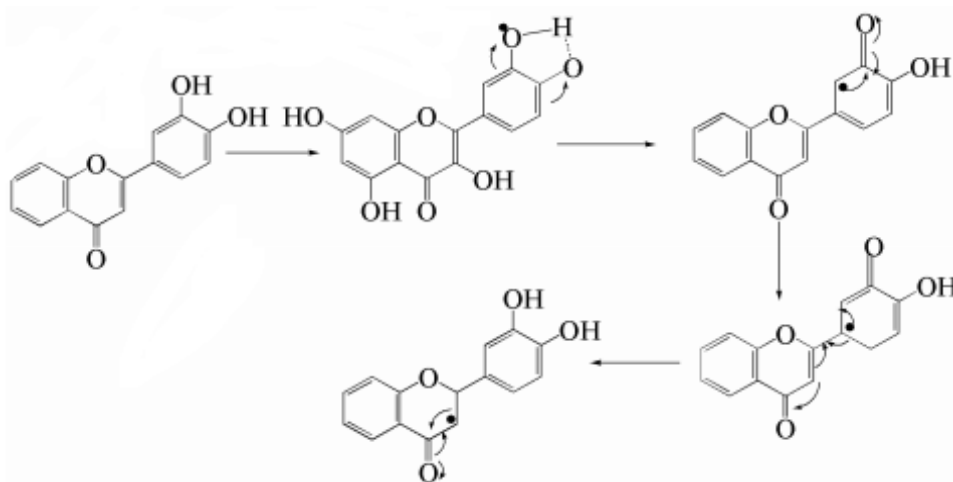


Figura 4.5 - Estabilização dos radicais fenóxilo.

Noutro estudo, verificou-se que compostos tais como a quercetina, (+)-dihidroquercetina (figura 4.6) e quercetina-3-metiléter (figura 4.7), presentes tanto em frutos como em cladódios de OFS, eram capazes de proteger células neuronais contra danos oxidativos induzidos por H_2O_2 e xantina (X)/xantina oxidase (XO), com um IC_{50} estimado de 4-5 $\mu g/mL$. No entanto, concentrações de 30 $\mu g/mL$ ou superiores não demonstraram efeito protetor, sugerindo citotoxicidade intrínseca ou atividade pro-oxidante, nestas concentrações. O efeito pro-oxidante que se verificou, quando utilizadas concentrações elevadas de quercetina, poderá dever-se à presença de iões metálicos e formação de espécies reativas de oxigénio ou depender do nível *redox* do ambiente biológico (Dok-Go *et al.*, 2003).

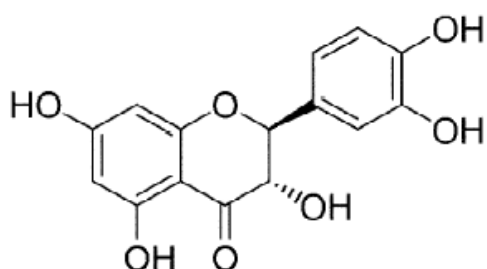


Figura 4.6- Estrutura química da (+)-dihidroquercetina.

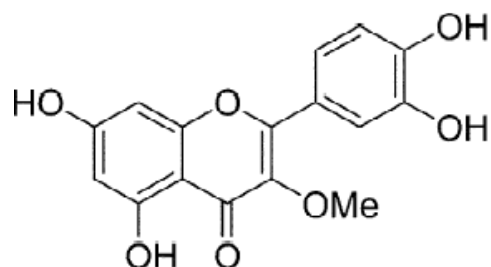


Figura 4.7- Estrutura química da quercetina 3-metil éter.

Verificou-se que a capacidade de inibição de danos oxidativos por parte da (+)-dihidroquercetina era dose dependente e que esta apresentava uma atividade

antioxidante menos potente do que a da quercetina. Em contraste, a quercetina 3-metil éter exibiu a mais potente e dramática capacidade de inibição de danos oxidativos induzidos por H_2O_2 e X/XO, com valores de IC_{50} de 0.6 e 0.7 $\mu g/mL$, respetivamente. Todos os três princípios ativos exibiram elevada capacidade em inibir a peroxidação lipídica e eficácia na captura de radicais livres DPPH. A quercetina e quercetina 3-metil éter demonstraram inibir a atividade XO *in vitro*, com valores de IC_{50} de 10,67 e 42,01 $\mu g/mL$, respetivamente (Dok-Go *et al.*, 2003).

Segundo estes resultados, a quercetina 3-metil éter provou ser mais eficaz do que a quercetina ou a (+)-dihidroquercetina, realçando, mais uma vez, a importância da presença da dupla ligação na posição 2 e 3 e a metilação na posição 3 (Stintzing e Carle, 2005).

Cho *et al.* (2007) avaliaram os efeitos da fração butanólica, preparada a partir de 50% do extrato etanólico de cladódios de OFS, sobre danos neuronais induzidos por *stress* oxidativo, excitotoxinas e β -amiloide ($A\beta$) em culturas primárias de células corticais de ratinhos. Observaram que a fração butanólica exercia uma forte ação inibitória sobre os danos oxidativos induzidos por H_2O_2 ou X/XO e atividade inibitória do dano excitotóxico induzido por glutamato, N-metil-D-aspartato (NMDA) ou cianato.

O L-glutamato é o principal aminoácido neurotransmissor excitatório no SNC dos mamíferos. Segundo a literatura, a libertação excessiva de glutamato é frequentemente indicada como principal causa para o dano neuronal associado a várias patologias neurológicas. A estimulação excessiva dos recetores glutamatérgicos desencadeia mecanismos neurotóxicos, incluindo a produção de espécies reativas de oxigénio, resultando eventualmente em morte celular por oxidação dos componentes celulares (Cho *et al.*, 2007).

Neste estudo, os autores, observaram que a toxicidade induzida por NMDA era inibida, de forma mais dramática, com valores de IC_{50} de 50.6 $\mu g/mL$ (Cho *et al.*, 2007).

Estes resultados indicam que a fração butanólica preparada a partir de extratos de cladódios de OFS exibem uma potente atividade antioxidante e efeitos neuroprotetores através de uma série de mecanismos, implicando a sua potencial utilização para prevenção ou tratamento de patologias neurodegenerativas associadas ao *stress* oxidativo, péptidos $A\beta$ e excitotoxicidade (Cho *et al.*, 2007).

Lee *et al.* (2003) patentaram a utilização de extratos de OFI e dos compostos isolados com aplicação médica no campo da prevenção e tratamento de doenças neurológicas, tais como, doença de Alzheimer, Parkinson, acidente vascular cerebral (AVC) e danos celulares e tecidulares provocados por isquemia ou doenças cardiovasculares, tais como, enfarte do miocárdio. Os compostos responsáveis por esta ação eram os flavonoides quercetina, campferol, dihidroquercetina e quercetina 3-metil éter isolados a partir de extratos de acetato de etilo obtidos de amostras de frutos, cladódios e frutos liofilizados de OFI.

4.2 Propriedades anti-inflamatórias e analgésicas

4.2.1 Propriedades anti-inflamatórias

A resposta inflamatória é uma sequência complexa de acontecimentos que envolve muitos dos mediadores químicos e células da imunidade inata e decorre da resposta a qualquer tipo de lesão a que os tecidos sejam sujeitos (Seeley, Stephens e Tate, 1989). A inflamação corresponde a uma reação da microcirculação caracterizada pelo movimento de proteínas séricas e leucócitos (neutrófilos, eosinófilos e macrófagos) do sangue para os tecidos extra-vasculares. São vários os mediadores químicos associados à resposta inflamatória e que contribuem para os sintomas associados ao processo. Uma resposta inflamatória excessiva, se não controlada, poderá tornar-se num fator de risco para o desenvolvimento de várias patologias, tais como, obesidade, hiperglicemia, dislipidemia e outras doenças inflamatórias crônicas (Serafini, Peluso e Raguzzini, 2010). As terapêuticas convencionais disponíveis atualmente, apesar de eficazes nalguns casos, estão associadas a diversos efeitos secundários, estimulando a constante procura por novas alternativas terapêuticas, em especial, de moléculas que ocorrem naturalmente ou dos seus derivados sintéticos. Os flavonoides, em particular, têm sido alvo de bastante atenção, em virtude das propriedades anti-inflamatórias exibidas, demonstradas tanto *in vitro* como *in vivo* (Gomes *et al.*, 2008). Estes têm a capacidade de modular a resposta inflamatória através de uma série de mecanismos diferentes: inibição de enzimas pro-inflamatórias, tais como, ciclo-oxigenase-2 (COX-

2), lipoxigenase (LOX), sintetase induzível do monóxido de azoto (iNOS), inibição do fator nuclear kB (NF-κB), ativação de proteína ativadora-1 (AP-1) e de enzimas antioxidantes/destoxificadoras de fase II, ativação da proteína cinase activada por mitogénio (MAPK), da proteína cinase C e do fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) (figura 4.8) (Serafini, Peluso e Raguzzini, 2010).

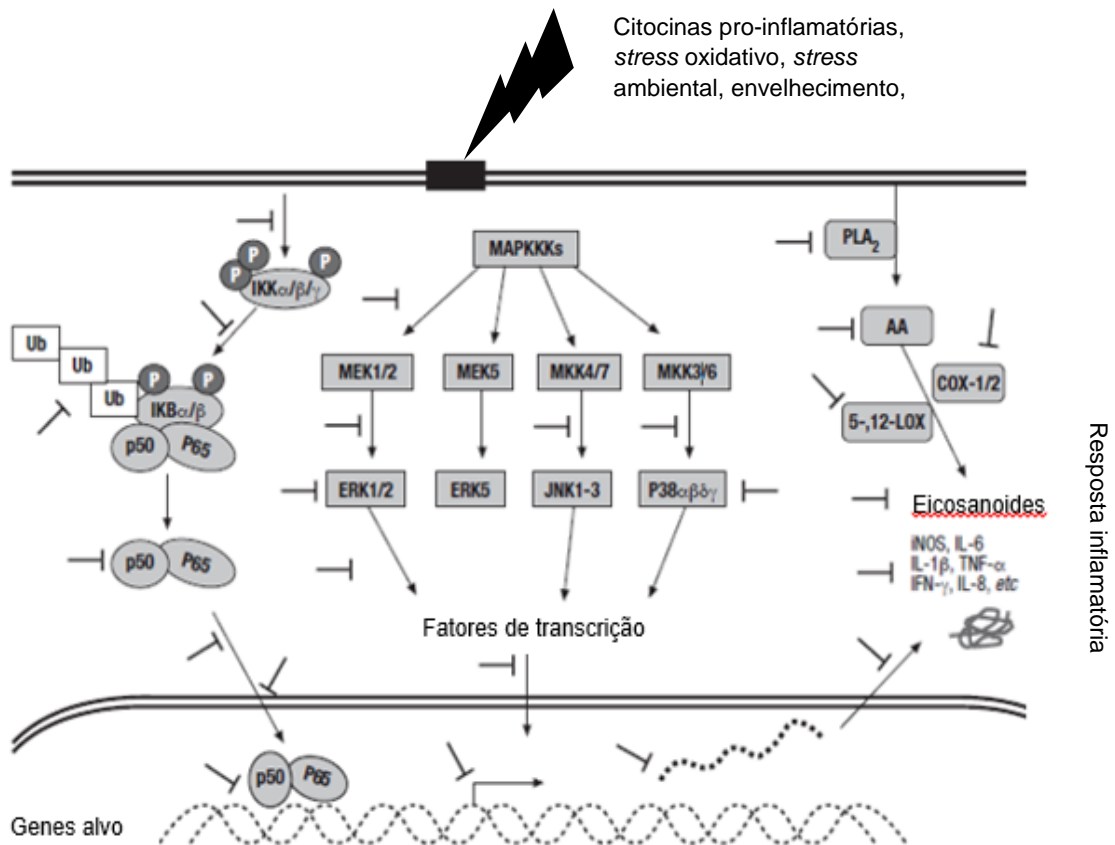


Figura 4.8- Potenciais locais de ação dos polifenóis (□) na cascata inflamatória. *IKB*- inibidor *kB*, Ub- ubiquitina; *IKK*- *IkB*-cinase; *ERK*- cinase regulada por sinal extracelular; *JNK*, cinase *c-Jun* N-terminal; *p38* (ou *p38-MAPK*), proteínas cinases *p38* ativadas por mitogénio; *MEK* (ou *MKK*), cinase-MAPK; *MAPKKK*, cinase cinase *MAPK*; *IL-8*, interleucina-8; *INF* γ , interferão- γ ; *TNF- α* , fator de necrose tumoral- α ; *IL-1 β* , interleucina-1 β ; *IL-6*, interleucina-6; *iNOS*, sintetase induzível do óxido nítrico; *LOX*, lipoxigenase; *COX*, cicloxigenase; *AA*, ácido araquidônico; *PLA₂*, fosfolipase *A₂*. Adaptado de Santangelo *et al.*, (2007).

Para além da modulação de resposta inflamatória derivada da sua interação com diversas enzimas chave, citocinas, fatores de transcrição e ação sobre a expressão de genes pro-inflamatórios, as propriedades anti-inflamatórias dos flavonoides encontram-se também intimamente relacionadas com as suas capacidades antioxidantes, uma vez que, em diversas fases do processo inflamatório são criadas condições de *stress*

oxidativo que resultam na produção de ROS e RNS. Estes radicais livres apesar de serem importantes na defesa do organismo contra microrganismos patogênicos e de desempenharem um importante papel na regulação da cascata inflamatória como moléculas sinalizadoras, quando produzidos em excesso podem provocar ou exacerbar lesões no local da inflamação (Gomes *et al.*, 2008). Em virtude da importância da capacidade em neutralizar ou de inibir a produção de espécies radicalares, mais uma vez a estrutura química dos compostos polifenólicos é de extrema importância e determinante para a atividade antioxidante e, conseqüentemente, anti-inflamatória dos mesmos (Gomes *et al.*, 2008).

Como anteriormente referido, os cladódios de OFI são ricos em compostos polifenólicos e tradicionalmente têm sido utilizados, entre outras finalidades, no tratamento de situações inflamatórias (Antunes-Ricardo *et al.*, 2015). Na realidade, foi observado uma redução da resposta inflamatória aguda em consequência da utilização de extratos etanólicos de cladódios de OFI em ratinhos com edema na pata induzida por carragenina (Park, Kahng e Paek, 1998).

Verificou-se que a administração oral deste extrato permitiu a diminuição da resposta inflamatória induzida pela carragenina e mostrou um potente efeito inibitório na migração leucocitária e na liberação da enzima lisossomal β -glucuronidase em neutrófilos de ratinhos. Por outro lado, ao contrário dos fármacos anti-inflamatórios não esteroides, utilizados tradicionalmente na terapêutica de situações inflamatórias, não se verificaram efeitos secundários decorrentes da administração dos extratos, observando-se inclusive, um efeito protetor da mucosa gástrica. Assim, à luz destes resultados, a utilização de cladódios de OFI pode constituir uma alternativa à terapêutica tradicional no tratamento de doentes com patologias inflamatórias crônicas, tal como a artrite reumatoide, podendo potencialmente ser utilizados com o intuito de reduzir a lesão gástrica associada ao tratamento com fármacos anti-inflamatórios não esteroides (Park, Kahng e Paek, 1998).

Noutro estudo, utilizando desta vez o extrato metanólico de cladódios de OFI, Park *et al.* (2001) procuraram avaliar a sua potencial atividade anti-inflamatória, induzindo experimentalmente granulomas em ratinhos. Após o fracionamento do extrato, isolaram e identificaram o princípio ativo β -sitosterol, atribuindo-lhe propriedades anti-inflamatórias, embora relativamente mais fracas do que quando comparadas com as da hidrocortisona (Park *et al.*, 2001a).

Antunes-Ricardo *et al.* (2015a) identificaram os flavonoides isoramnetina-3-*O*-glucosil-ramnósido (IGR) e isoramnetina-3-*O*-ramnosil-ramnósido (IGRR) em extratos de cladódios de *OFI* var. Jalpa e avaliaram os seus efeitos sobre vários mediadores anti-inflamatórios: NO, COX-2, interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF- α). Simultaneamente foi também estudada a atividade anti-inflamatória do extrato de *OFI*.

O estudo *in vivo* foi realizado utilizando ratinhos divididos em cinco grupos, nos quais foram produzidas bolsas de ar através da injeção subcutânea de 20 mL de ar estéril na região interescapular e mantidas por nova injeção ao terceiro dia. Cada grupo de ratinhos, ao sexto dia, foi tratado de forma diferente, sendo administrado por via intraperitoneal, extrato de *OFI*, IGR, IGRR, indometacina (controlo positivo) ou soro fisiológico (0.9% NaCl- controlo negativo). A inflamação foi induzida através da injeção de carragenina diretamente nas bolsas de ar e o exsudado foi posteriormente analisado.

Os melhores resultados relativos à redução da infiltração celular foram observados com a administração de IGR ($51,8 \pm 10,9\%$). O extrato de *OFI* e o IGRR inibiram eficazmente tanto a produção de NO (IGRR: 81,4%; extrato de *OFI*: 77,2%) como a atividade do COX-2 (IGRR: 76,3%; extrato de *OFI*: 77,7%), no entanto o extrato foi o que conseguiu a maior inibição do TNF- α (85,2%) e da IL-6 (53,0%).

Os resultados obtidos demonstraram que tanto o extrato de *OFI* como os derivados glicosídeos de isoramnetina (IGRR e IGR) possuem um significativo potencial anti-inflamatório atuando segundo vários mecanismos de ação, suprimindo a infiltração celular e inibindo tanto a produção de NO como a atividade do COX-2 e diminuindo a secreção de citocinas.

Observou-se que o efeito anti-inflamatório do extrato de *OFI* foi superior ao do IGR e IGRR, facto justificado pela existência de efeitos sinérgicos entre os vários fitoquímicos que compõem o extrato.

Na realidade, encontram-se na literatura, vários estudos que comprovam os efeitos anti-inflamatórios de outros flavonoides e derivados tais como a quercetina e o campferol (García-Mediavilla *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2010; Mahat *et al.*, 2010) também estes presentes nos cladódios de *OFI* (Santos-Zea, Gutiérrez-Urbe e Serna-Saldivar, 2011). A avaliação dos mecanismos moleculares responsáveis pelos efeitos anti-inflamatórios dos flavonoides poderá ajudar a seleccionar flavonoides ou combinações de

flavonoides para desenvolvimento clínico e poderá constituir uma área promissora para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos à base de flavonoides, potencialmente úteis no tratamento de várias patologias inflamatórias (García-Mediavilla *et al.*, 2007).

Os mesmos autores, num outro estudo, avaliaram também os efeitos anti-inflamatórios tópicos, tanto do extrato de OFI como dos derivados glicosídeos de isoramnetina isolados desse extrato. O extrato de OFI e os diglicósidos de isoramnetina [isoramnetina-glucosil-pentósido: IGP (figura 4.9) e isoramnetina-glucosil-ramnósido: IGR (figura 4.10)] e os tri-glicósidos (IGRR [figura 4.11]) e isoramnetina-glucosil-ramnosil-pentósido: IGRP (figura 4.12) foram testados numa linha celular comercial RAW 264.7 (macrófagos) com o intuito de avaliar o efeito na produção de NO. Estes compostos foram também, mais tarde, testados *in vivo* em ratinhos no ensaio do edema na orelha induzido pela aplicação de óleo de cróton com o objetivo de avaliar os seus efeitos nos níveis de COX-2, TNF- α e IL-6.

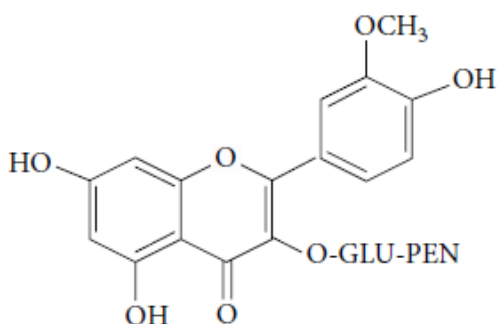


Figura 4.9- Estrutura química de IGP.

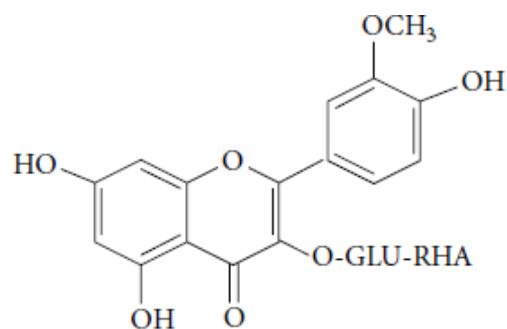


Figura 4.10- Estrutura química de IGR.

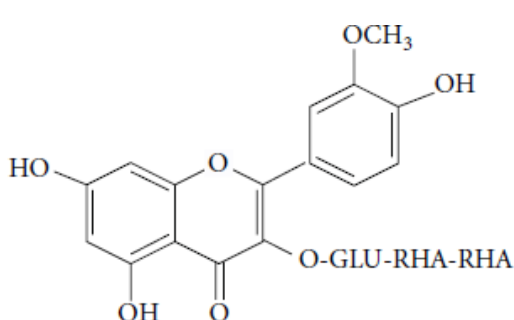


Figura 4.11- Estrutura química de IGRR.

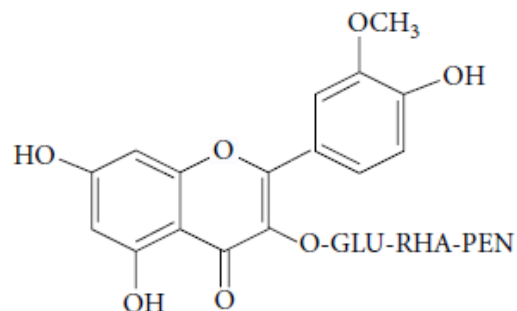


Figura 4.12- Estrutura química de IGRP.

Os resultados dos ensaios *in vitro* demonstraram que tanto o extrato de OFI como o di-glicósido IGR reduziram significativamente a produção de NO na linhagem celular RAW 264.7 sem afetarem significativamente a viabilidade das células comprovando que este efeito não se deve a citotoxicidade dos compostos. No ensaio *in vivo* o IGR ($77.4 \pm 5.7\%$) demonstrou uma eficácia comparável à da indometacina ($69.5 \pm 5.3\%$) na redução da inflamação, demonstrando ser um composto de origem natural com potencial para o desenvolvimento de novas terapias anti-inflamatórias. Mais uma vez, verificou-se que tanto o extrato de OFI como o di-glicósido IGR isolado foram capazes de inibir, significativamente, a atividade dos mediadores inflamatórios (figura 4.13). (Antunes-Ricardo *et al.*, 2015b)

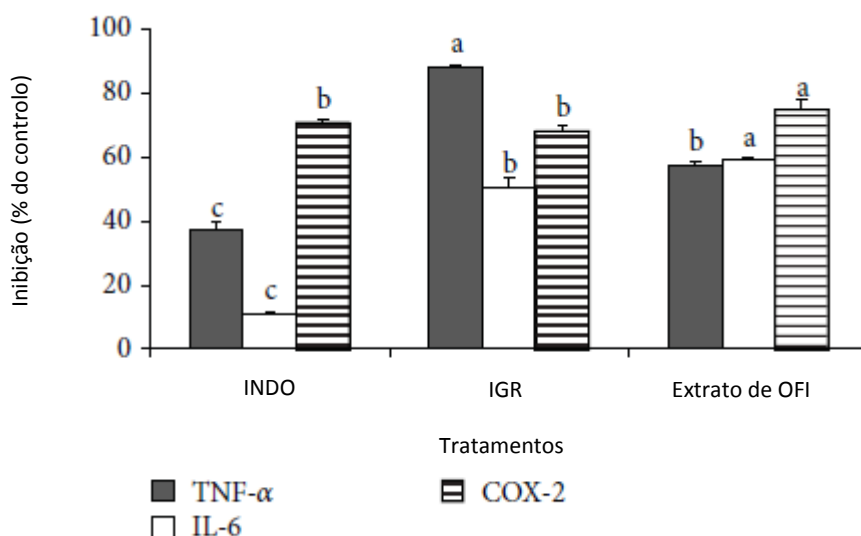


Figura 4.13- Efeito da indometacina (INDO), IGR e do extrato de OFI nos níveis de TNF- α e IL-6 e na atividade do COX-2 em tecido homogeneizado de orelha de ratinho. A indometacina foi utilizada como controlo positivo e o grupo de controlo apenas recebeu óleo de cróton 5% (v/v) como agente irritante. Os dados representam média \pm desvio-padrão de seis replicados. As diferentes letras ^{a,b,c} indicam diferenças significativas entre os resultados ($P < 0.05$). Adaptado de Antunes-Ricardo *et al.* (2015).

4.2.2 Propriedades analgésicas

Um extrato etanólico de cladódios (300-600 mg/Kg peso corporal) obtido a partir de *Opuntia ficus-indica* var. Saboten mostrou um efeito analgésico similar ao do ácido acetilsalicílico (200 mg/Kg peso corporal), sem no entanto provocar toxicidade

nos ratinhos ($LD_{50} > 2$ g/Kg peso corporal) inclusive em doses elevadas (Park, Kahng e Paek, 1998).

4.3 Propriedades diuréticas

Galati *et al.* (2002a) estudaram a atividade diurética da infusão de cladódios de OFI em ratinhos; foi também estudado o efeito da infusão sobre a excreção de sódio e potássio, bem como, a sua atividade sobre situações de hiperuricemia induzida por frutose.

Neste estudo, os animais foram divididos em cinco grupos de doze ratinhos cada, onde cada grupo foi sujeito a um tratamento diferente, recebendo a infusão a 15% de cladódios de OFI, água potável ou hidroclorotiazida.

Os resultados revelaram que a infusão de cladódios induziu um aumento significativo da diurese, particularmente durante o tratamento crônico (de duração de 7 dias), enquanto que os níveis urinários de sódio e potássio não sofreram alterações significativas bem como os níveis de ácido úrico no sangue e na urina.

Os autores alegam que a ação diurética observada poderá depender da existência de elevadas quantidades de eletrólitos no extrato (particularmente de K^+ e outros catiões bi- e monovalentes) e da presença de compostos polares tais como flavonoides glicosilados e ácido ascórbico. O sinergismo entre todos os componentes do extrato poderá relacionar-se com as alterações observadas na diurese.

4.4 Atividade cicatrizante e antiulcerosa

4.4.1 Atividade cicatrizante

Na medicina tradicional, ervas e plantas ricas em mucilagens, polissacarídeos e amido são muito utilizadas no tratamento de patologias de pele, em especial no tratamento de feridas e situações de irritação das mucosas. Atualmente existem vários estudos que atestam o poder cicatrizante de várias plantas medicinais, que atuam segundo vários mecanismos e interferem em várias fases do processo de cicatrização,

influenciando as interações célula-célula e célula-matriz, síntese de colagénio, imunomodulação e capacidade de bioadesão (Di Lorenzo *et al.*, 2016).

Tradicionalmente, os cladódios de OFI são utilizados no tratamento de variadas patologias da pele, nomeadamente, no tratamento de feridas, queimaduras e irritação de mucosas, em virtude das suas propriedades cicatrizantes (Galati *et al.*, 2002b; Kaur, Kaur e Sharma, 2012; Park e Chun, 2001b; Trombetta *et al.*, 2006).

As feridas resultam de uma disrupção da integridade cutânea. A cicatrização de feridas é um processo dinâmico (Laureano e Rodrigues, 2011) e complexo que depende de uma sequência perfeita e coordenada de eventos celulares, moleculares e bioquímicos que atuam sinergicamente para a promoção da reconstituição dos tecidos (Campos, Borges-Branco e Groth, 2007; Kunt, 1980) de estrutura e função semelhantes aos dos tecidos íntegros (Laureano e Rodrigues, 2011). O processo de cicatrização compreende três fases sobrepostas: a fase inflamatória, a fase de proliferação ou de granulação e, por fim, a fase de remodelação ou de maturação (Campos, Borges-Branco e Groth, 2007; Kunt, 1980). Durante a fase de proliferação (reepitelização), os queratinócitos proliferam até aos limites da lesão, diferenciando-se progressivamente em corneócitos e formando uma nova e fina epiderme. Posteriormente a este processo ocorre a migração de fibroblastos até aos limites da lesão com subsequente proliferação e produção da matriz extracelular. Durante a fase de remodelação os fibroblastos transformam-se em miofibroblastos que participam na formação de colagénio. Embora cada tipo de células tenha a sua função específica é a interação e sinergia entre a ação dos fatores de crescimento e das citocinas que é essencial para a reconstituição dos tecidos (Gescher e Deters, 2011).

A atividade cicatrizante dos cladódios de OFI foi estudada por Park e Chun (2001b) que demonstraram que tanto o extrato metanólico de cladódios de OFI bem como as suas frações de *n*-hexano e de acetato de etilo possuíam atividade cicatrizante significativa quando aplicados topicamente sobre a lesão na pele dorsal de ratinhos.

Vários biopolímeros polissacarídeos naturais, tais como, o quitosano, o alginato e glicosaminoglicanos, tendo a capacidade de formar hidrogéis, têm-se mostrado efetivos no tratamento de feridas (Fayazzadeh *et al.*, 2014; Kirker *et al.*, 2002), sendo aplicados em vários biomateriais (materiais de penso) em função da sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e atividade farmacológica (Luo *et al.*, 2010).

Tem sido descrito que polissacarídeos isolados a partir de cladódios de OFI são suscetíveis de serem utilizados como agentes mucoprotectores (Galati *et al.*, 2003a; Di Lorenzo *et al.*, 2016). A elevada capacidade de bioadesão à superfície das mucosas (Rizza *et al.*, 2012) que, aliada à capacidade em formar uma rede molecular capaz de reter elevadas quantidades de água (Karawya *et al.*, 1980), faz com que consigam formar uma barreira protectora em volta das mucosas (Di Lorenzo *et al.*, 2016) e mantenham um elevado teor de humidade na interface do ferimento, contribuindo para a aceleração do processo de cicatrização (Galati *et al.*, 2003a).

Neste contexto, Trombetta *et al.* (2006) avaliaram o potencial cicatrizante, *in vivo*, de dois extratos liofilizados de polissacarídeos extraídos de cladódios de OFI, aplicados em feridas circulares profundas em ratos macho Sprague-Dawley.

Neste estudo, a partir do extrato inicial de sumo de cladódios de OFI, foram isoladas duas frações polissacarídicas de diferentes massas moleculares (MM): a fração C - composta por polissacarídeos com uma MM superior a 10^6 Da; e a fração D com uma MM variável entre 10^4 - 10^6 Da. Ambas as frações foram posteriormente liofilizadas e administradas em solução salina a 10% (m/v). Os animais foram divididos em dois grupos e cada um foi tratado com uma fração C ou D. O ácido hialurónico foi utilizado como controlo positivo e solução salina como negativo.

Ao final de sete dias de tratamento, os autores (Trombetta *et al.*, 2006) observaram que tanto a fração C como a D potenciaram a cicatrização das feridas cutâneas, acelerando as fases de proliferação e remodelação, verificando-se melhorias significativas na organização da epiderme, quando comparadas com as feridas tratadas apenas com ácido hialurónico. Esta observação mostra-se bastante interessante, uma vez que a aplicação tópica de ácido hialurónico e de outros glicosaminoglicanos endógenos, tais como a heparina, sulfato de heparina e sulfato de dermatano, é bastante utilizada para o tratamento de feridas cutâneas derivado aos seus conhecidos efeitos sobre a reparação dos tecidos (Saiba, 2001; Young, 2008).

Em conclusão, os resultados deste estudo, apesar de demonstrarem os efeitos benéficos do extrato de OFI no processo de cicatrização de feridas, não permitem determinar exatamente o processo biológico e qual os mecanismos responsáveis por esta atividade; contudo, permitem especular que os efeitos benéficos sobre as fases de proliferação e remodelação se devem ao seu efeito sobre a matriz celular e ação de modulação sobre a deposição de laminina (Trombetta *et al.* 2006).

É também de referir que, apesar das duas frações estudadas terem apresentado resultados positivos, verificou-se que as feridas tratadas com a fração D (MM: 10^4 - 10^6 Da) apresentaram uma melhor cicatrização do que as tratadas com a fração C (MM > 10^6 Da). A redução da neovascularização e a organização das fibrilas de colagénio na derme observadas nos tecidos analisados sugerem que a fração C acelera, mais do que a fração D, o processo de remodelação, essencial para uma rápida cicatrização. Estas observações levam a supor que a estrutura dos polissacarídeos e as suas propriedades higroscópicas, reológicas e viscoelásticas (Medina-Torres *et al.*, 2003) são essenciais na promoção da atividade cicatrizante observada (Trombetta *et al.*, 2006).

Galati *et al.* (2003a) estudaram o efeito cicatrizante de um creme contendo 15% de liofilizado de cladódios de OFI aplicado em feridas induzidas nas costas de ratos e os resultados foram comparados com os de uma preparação comercial contendo ácido hialurónico.

Ao final de cinco dias, o preparado contendo o liofilizado de cladódios de OFI produziu um efeito positivo sobre a reconstituição dos tecidos e, numa fase mais avançada, promoveu uma diminuição do número de células inflamatórias, estimulou a migração de fibroblastos- com o conseqüente aumento da formação de colagénio- e estimulou a angiogénese e reepitelização, acelerando o processo de cicatrização quando comparado com os animais não tratados ou tratados com o preparado comercial contendo ácido hialurónico (Galati *et al.*, 2003a). Segundo os autores, o efeito cicatrizante dos cladódios de OFI relaciona-se com os efeitos dos seus componentes sobre a proliferação e migração de queratinócitos e influência sobre a inflamação, fibroplasia e síntese de colagénio.

Os estudos anteriores focaram-se apenas nas frações polissacarídeas purificadas obtidas a partir de cladódios de OFI sem terem em conta todo o extrato, inclusive, outros componentes que não hidratos de carbono. Di Lorenzo *et al.* (2016) tiveram esse facto em consideração e propuseram-se a descrever a completa caracterização estrutural de polissacarídeos e compostos não polissacarídeos de baixo peso molecular existentes na mucilagem dos cladódios de OFI e avaliaram as propriedades cicatrizantes dos vários constituintes da mucilagem.

Os efeitos cicatrizantes de cada componente da mucilagem de OFI foram avaliados através de ensaios *in vitro* em modelos celulares. Os resultados obtidos sugerem que a capacidade cicatrizante advém não só da ação isolada dos polissacarídeos

constituintes dos cladódios de *Opuntia* mas sim da ação concertada de toda a mucilagem de OFI, isto é, tanto dos componentes polissacarídeos como dos restantes. Em concordância com esta linha de pensamento, Galati *et al.* (2003a) sugerem que compostos de baixo peso molecular, tais como, resíduos de monossacarídeos, polifenóis e β -sistosterol, existentes nos cladódios de OFI, podem funcionar como ativadores da angiogénese promovendo a cicatrização das feridas.

4.4.2 Atividade antiulcerosa

A doença ulcerosa péptica é um transtorno inflamatório predominantemente caracterizado pela lesão da mucosa gástrica e duodenal (Cilleruelo e Rivero, 2010). O desequilíbrio entre os fatores de proteção da mucosa e os fatores que a danificam resulta na lesão da mucosa do trato digestivo superior (Vomero e Colpo, 2014). Dependendo do grau de desequilíbrio assim se poderá desenvolver uma gastrite de intensidade variável e, em casos mais graves, lesão ulcerosa, podendo ambas as lesões coexistir ou surgir de forma separada (Cilleruelo e Rivero, 2010).

A capacidade da mucosa gástrica de resistir aos danos infligidos tanto por secreções endógenas (ácido, pepsina e ácidos biliares) como pela ingestão de substâncias irritantes (p.e., álcool e anti-inflamatórios não esteróides (AINEs)) pode ser atribuída a vários fatores, coletivamente designados por “defesa da mucosa”. O ácido, por si só, poderá ser entendido como uma primeira linha de defesa, uma vez que desempenha um papel importante na redução da probabilidade de colonização bacteriana do estômago e, por isso, impede a entrada de bactérias na circulação sistémica quando existe lesão do epitélio gástrico. Também o muco e bicarbonato secretados pelas células epiteliais desempenham um papel importante na prevenção da lesão do epitélio, constituindo uma barreira físico-química contra múltiplos irritantes. Outros fatores, como a própria organização estrutural do epitélio, associada ao rápido *turnover* celular, capacidade de reparação do epitélio lesado e a existência de um sistema microvascular complexo na região da camada submucosa, contribuem para a proteção da mucosa contra a ação de agentes irritantes (Wallace, 2001).

Dentro dos fatores agressivos ou citotóxicos, para a mucosa gástrica, encontram-se os medicamentos como o ácido acetilsalicílico e os AINEs. Os AINEs são dos

fármacos mais consumidos a nível mundial (Garner, 1992; McGettigan e Henry, 2013). Utilizados isoladamente ou em associação terapêutica com outras classes de fármacos, aliviam os sintomas associados a múltiplas situações clínicas, incluindo o alívio temporário ou a longo termo de vários estados de dor e de um vasto leque de desordens músculo-esqueléticas (McGettigan e Henry, 2013).

Em Portugal, cerca de 800 000 pessoas consomem diariamente AINEs e estima-se que o risco de complicações gastrointestinais associado ao consumo destes anti-inflamatórios seja 4 a 5 vezes superior ao da população que não consome este tipo de fármaco, sendo o risco ainda mais elevado em idosos e/ou indivíduos com antecedentes de úlcera (Couto, Macedo e Ribeiro, 2010).

Na medicina tradicional, os cladódios de OFI, para além doutros usos, são também utilizados no tratamento de doenças da mucosa gástrica (Galati *et al.*, 2001) por se acreditar nas suas propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes e atividade anticulcerosa (Galati *et al.*, 2007).

Galati *et al.* (2001) estudaram o efeito da administração de cladódios de OFI liofilizados em úlceras gástricas induzidas com etanol a 90% em ratinhos. O etanol causa solubilização dos constituintes do muco e diminui o teor de proteínas nos tecidos, levando a estase do fluxo de sangue gástrico. Para além desta ação, ocorre também a formação de ROS e peroxidação de lípidos o que contribui, também, para a lesão direta da mucosa gástrica. Os resultados de Galati *et al.* (2001) revelaram que o tratamento preventivo com o liofilizado de cladódios previne o efeito ulceroso do etanol.

Face a este resultado, os autores avançaram com a possibilidade da mucilagem presente nos cladódios ser responsável pelos efeitos observados através de um mecanismo de ação que passaria pela prevenção da penetração do agente necrosante na mucosa gástrica. A formação de uma película protetora em redor da mucosa protegeria o epitélio da lesão necrótica e da extensa exfoliação induzida pelo etanol. É também sugerido a existência de um possível sinergismo entre a mucilagem e os fatores de “defesa da mucosa”. Paralelamente, a observação ultraestrutural da mucosa mostrou que, quando administrado o liofilizado de cladódios de OFI em tratamento curativo, ou seja, após a administração do etanol, as células epiteliais da mucosa permanecem lesadas apesar de existir uma redução do índice de úlcera (I.U. 3.25 ± 2.0) quando comparado com os resultados do grupo de controlo (I.U. 8.24 ± 1.5).

Galati *et al.* (2002b) demonstraram também, que a mucilagem de cladódios de OFI, quando administrada em terapia preventiva mantém a mucosa gástrica sob condições normais, prevenindo a dissolução do muco pelo etanol, e para além disso, estimula e favorece a produção de muco pelas células epiteliais. O aumento da produção de muco pelas células das glândulas gástricas, principalmente pelas localizadas na porção apical, foi também observado no decurso do tratamento curativo (Galati *et al.*, 2007; Galati *et al.*, 2002b).

O incremento na produção de muco poderá também ser explicado, em parte, pela ação dos fibroblastos, presentes em maior número e apresentando maior organização, na mucosa dos ratos tratados com OFI e etanol do que em comparação com o grupo de controlo (Galati *et al.*, 2002b). Os fibroblastos desempenham um papel importante na cicatrização das lesões ulcerosas por favorecerem a regeneração da superfície epitelial e do pólo apical das glândulas gástricas que produzem o muco (Wallace, 2001).

Estes resultados foram confirmados por Lee *et al.* (2002) que investigaram a eficácia dum liofilizado de cladódios de OFS no tratamento de lesões gástricas e ulcerosas em ratos. Os resultados revelaram uma redução significativa nas lesões induzidas por ácido clorídrico (HCl)/etanol, HCl/ácido acetilsalicílico e por indometacina, em dosagens de 200-600 mg/Kg, 600 mg/Kg e 200-600 mg/Kg *per os* (p.o.), respetivamente (Lee *et al.*, 2002).

4.5 Atividade condroprotetora

As doenças reumáticas são as causas mais comuns de dor crónica e incapacidade física e afetam centenas de milhões de pessoas em todo mundo (Wolf e Pflieger 2003). Estas são condições e distúrbios funcionais do sistema músculo-esquelético de origem não-traumática (Monjardino, Lucas e Barros, 2011) e caracterizam-se por um conjunto de sintomas músculo-esqueléticos que podem envolver desde músculos, ligamentos, tendões, fásia, bursa e até nervos periféricos (Carnide, Lourenço e Cunha-Miranda, 2013). Abrangem um largo espectro de condições, desde situações agudas e de curta duração até situações de doença crónica incluindo osteoartrite, artrite reumatoide, osteoporose e dor lombar (Wolf e Pflieger 2003; Monjardino, Lucas e Barros, 2011). Em Portugal as doenças reumáticas representam um elevado peso económico e social e são

a causa de 16-23% das consultas em cuidados de saúde primários (Ferreira, Carrapiço e Pimentão, 2013).

A abordagem terapêutica neste tipo de patologias tem como objetivo o alívio da sintomatologia, nomeadamente a redução da dor e inflamação, passando por isso pela utilização de fármacos de ação sintomática rápida -analgésicos, AINEs, glucocorticoides articulares; fármacos de ação sintomática lenta- sulfato de glucosamina, sulfato de condroitina, diacereína (Simón, 2005); e fármacos anti-reumáticos modificadores da patologia- fármacos biológicos, sulfassalazina, metotrexato, leflunomida, entre outros (Cardoso *et al.*, 2005).

A osteoartrite é uma das disfunções articulares mais comuns que evolui desde uma lesão inflamatória local para um processo crónico com uma marcada componente inflamatória e destrutiva resultante dos efeitos destrutivos dos radicais livres (ROS e NO) e da atividade das citocinas pró-inflamatórias e metaloproteinases- todas substâncias produzidas em excesso em situações de osteoartrite (Panico *et al.* 2007). É neste contexto que Panico *et al.* (2007) avaliaram os efeitos anti-inflamatórios/condroprotetores dos extratos liofilizados de cladódios de OFI, do ácido hialurónico na produção de NO, dos glicosaminoglicanos (GAGs), prostanglandinas (PGE₂) e de ROS em culturas de condrócitos humanos, estimuladas por interleucina-1 β .

Os efeitos dos extratos de OFI sobre condrócitos humanos foram avaliados a concentrações de 200 μ g/mL através da determinação *in vitro* da viabilidade celular, produção de NO, PGE₂, ROS e libertação de GAGs (Panico *et al.*, 2007). Os resultados deste estudo demonstraram que os extratos de OFI possuem um elevado poder antioxidante, reduzindo eficientemente os níveis de ROS e libertação de NO nos condrócitos humanos. Para além disto, verificou-se que os extratos de OFI preveniam a inibição da síntese de GAGs e inibiam a produção de PGE₂. Paralelamente, observou-se que o ácido hialurónico apresenta a capacidade de suprimir a produção de interleucina-1 β induzida por PGE₂ e a redução da síntese de proteoglicanos. Também protege as células e tecidos contra os efeitos nocivos dos ROS mas de forma menos eficiente do que os extratos de OFI uma vez que o ácido hialurónico, ao contrário dos extratos de OFI, é facilmente despolimerizado pelos radicais livres (Panico *et al.*, 2007).

Os efeitos condroprotetores observados dos extratos de cladódios de OFI correlacionam-se com a composição química dos mesmos. Os principais compostos presentes nos cladódios de OFI são polissacarídeos que aceleram o processo de

reparação dos tecidos, glicoproteínas, polifenóis, esteróis, ácidos gordos, vitaminas lipossolúveis e β -caroteno, importantes devido à sua atividade antioxidante e que atuam nos aspetos degenerativos da doença articular, tais como, o *stress* oxidativo, a inflamação e a condrodegeneração. À luz destes resultados, e segundo os autores, os extratos de cladódios de OFI apresentam potencial e, futuramente, poderão servir como base a uma nova e alternativa abordagem terapêutica na doença osteoarticular (Panico *et al.* 2007).

Para além da osteoartrite, também a osteoporose afeta milhões de pessoas em todo o mundo, constituindo um problema de saúde pública à escala mundial, com um pesado ónus económico nas sociedades desenvolvidas e emergentes. A osteoporose não é apenas uma das principais causas de fraturas, como também é uma das doenças com maior morbilidade e mortalidade (Tavares, 2007).

O tratamento tradicional da osteoporose baseia-se na utilização de agentes farmacológicos – que têm como objetivo a redução das fraturas ósseas e a prevenção da perda óssea- associado a medidas não farmacológicas que tentam incitar à prática de um estilo de vida mais saudável (Tavares, 2007).

Foi demonstrado que a ingestão de cálcio através da dieta contribui para melhorar a saúde óssea (Heaney, 2007). Apesar do cálcio se encontrar distribuído por uma grande variedade de alimentos, mais de 80% do consumo diário deste mineral provém do consumo de leite e produtos derivados (Rojas-Molina *et al.*, 2015). No entanto, problemas de intolerância à lactose ou, em alguns países em desenvolvimento, o elevado preço deste tipo de alimentos podem contribuir para uma ingestão insuficiente de cálcio (Rojas-Molina *et al.*, 2015).

Os cladódios de OFI são bastante ricos em cálcio, pelo que apresentam potencial para constituir um excelente suplemento de cálcio a incluir na dieta diária com o intuito de aumentar o consumo de cálcio e prevenir a osteoporose (Aguilera-Barreiro *et al.*, 2013; Rojas-Molina *et al.*, 2015).

Aguilera-Barreiro *et al.* (2013) investigaram a relação entre o consumo de cladódios de OFI desidratados (cladódios de 600 g) e os seus efeitos sobre a densidade mineral óssea e calciúria, na prevenção da osteoporose. Para isso, foi realizado um estudo longitudinal, quasi-experimental, cego e randomizado com duração de dois anos

em 181 mulheres em pré- e pós-menopausa e de idades compreendidas entre os 35 e os 55 anos.

Segundo os autores, após seis meses, o consumo de cladódios de OFI desidratados melhoraram os níveis de calciúria que retomaram aos valores normais e permaneceram constantes durante o resto do tratamento. Também se verificou o aumento da densidade mineral óssea total na região lombar e da anca, principalmente nas mulheres pós-menopausa, nos grupos que consumiram cladódios desidratados.

4.6 Atividade hipoglicemiante

A diabetes *Mellitus* é um distúrbio metabólico que afeta o corpo humano em termos físicos, psicológicos e sociais (Patel *et al.*, 2012). É definida como um grupo de disfunções caracterizadas por hiperglicemia e alteração do metabolismo lipídico, proteico e dos hidratos de carbono (Patel *et al.*, 2012). A diabetes tornou-se num dos principais problemas de saúde pública, estimando-se que afete aproximadamente 150 milhões de pessoas em todo o mundo, podendo o número de pessoas afetadas duplicar até ao ano de 2025 (WHO, 2016).

Uma alternativa para o seu controlo pode ser encontrado em plantas medicinais (Osuna-Martínez, Reyes-Esparza e Rodríguez-Fragoso, 2014; Marles e Farnsworth, 1995; Patel *et al.*, 2012). Os benefícios da utilização de plantas medicinais no tratamento de diversas patologias encontram-se amplamente documentados (Marles e Farnsworth, 1995; Patel *et al.*, 2012). Os catos do género *Opuntia* são uns dos mais estudados a nível clínico e experimental (Osuna-Martínez, Reyes-Esparza e Rodríguez-Fragoso, 2014). No México, cladódios de todos os graus de maturação são tradicionalmente usados no tratamento da diabetes. Estudos *in vivo* com alguns dos polissacarídeos isolados de diferentes extratos de *Opuntia* revelaram consideráveis efeitos antioxidantes, hipolipidémicos e antidiabéticos em ratinhos com diabetes induzidos por estreptozotocina. Adicionalmente, extratos desidratados testados em doentes diabéticos revelaram capacidade em atenuar estados de hiperglicemia pós-prandial; e cladódios grelhados administrados sob condições de jejum, a sujeitos diabéticos, foram capazes de diminuir os níveis séricos de glucose (Osuna-Martínez, Reyes-Esparza e Rodríguez-Fragoso, 2014).

Frati *et al.* (1990) avaliaram os efeitos hipoglicêmicos dos cladódios de OFI em 8 pacientes com diabetes *Mellitus* não insulino-dependente (tipo 2). Após a ingestão de 500 g de cladódios de OFI os valores de glucose sérica foram medidos aos 0, 30, 60, 120 e 180 minutos. Verificou-se uma diminuição dos valores de glicemia em todos os doentes, atingindo valores de $23,3 \pm 4,4$ a $25,4 \pm 14,3$ mg/dL abaixo dos níveis de glucose ao minuto zero. Enigbokan *et al.* (1996) também observaram a redução dos valores séricos de glucose em resultado do tratamento com cladódios de OFI. No entanto, neste caso, verificou-se que apenas a administração intravenosa do extrato aquoso de OFI exercia efeito hipoglicemiante; em contraste com o efeito hiperglicêmico resultante da administração oral do mesmo extrato. Segundo os autores, os princípios ativos hipoglicêmicos- na sua forma natural- encontram-se complexados com princípios com efeito hiperglicêmico, os quais são libertados aquando a passagem pelo fígado e sofrem o chamado “efeito de primeira passagem” em experiências realizadas em animais.

Existem evidências que relacionam o efeito anti-hiperglicêmico dos extratos de plantas com a diminuição da absorção intestinal de glucose resultante da presença de componentes viscosos nesses mesmos extratos. Foi sugerido a existência de uma relação direta entre a viscosidade de polissacarídeos solúveis, existentes em plantas, e as suas capacidades em inibir a absorção de glucose, algo que também depende da concentração e massa molecular das fibras solúveis (Nuñez-López *et al.*, 2013).

Esta explicação vai ao encontro das observações de Nuñez-López *et al.* (2013), que investigaram as propriedades anti-diabéticas de cladódios desidratados de OFI de três estados de maturidade diferentes. Os resultados revelaram que os ratos diabéticos tratados com cladódios pequenos e médios- que apresentavam elevado conteúdo de fibras e elevada viscosidade, capacidade de tumefação e de absorção de água- sofreram uma redução da concentração pós-prandial de glucose no sangue de 46.0 e 23.6%, respetivamente e em comparação com o controlo.

Em ratinhos machos *db/db* (ratinhos com diabetes tipo 2 induzido) alimentados com ração contendo extratos de OFI a 5% (p/p) durante 4 semanas observou-se, para além de uma redução significativa das concentrações de glucose no sangue e de insulina no plasma, uma melhoria na morfologia dos ilhéus de *Langerhans*. A análise imunohistoquímica revelou um aumento na produção de insulina e do número de células- β no pâncreas (Yoon *et al.*, 2011).

O controlo da concentração de glucose pós-prandial não depende apenas da estimulação direta da libertação de insulina pelos nutrientes absorvidos, mas também da secreção de incretinas, tais como, o *glucagon-like peptide 1* (GLP-1) e o peptídeo insulínico dependente de glucose (GIP). A libertação destas incretinas é responsável por, pelo menos, 50% do total da insulina secretada após a ingestão de alimentos (López-Romero *et al.* 2014).

Para além da diminuição da absorção intestinal de glucose, foi reportado que as fibras alimentares não digeríveis e sujeitas a fermentação no cólon induzem a libertação de GLP-1 intestinal, conduzindo à estimulação da secreção de insulina e redução da síntese de glucose hepática pela melhoria da estimulação dependente de insulina da fosforilação do IRS-2 e Akt no fígado dos ratinhos tratados (Nuñez-López *et al.* 2013).

López-Romero *et al.* (2014) testaram esta hipótese ao conduzirem um estudo com o objetivo de avaliar o índice glicémico, índice insulínico, índice de GIP, índice de GLP-1 e o efeito dos cladódios de OFI em doentes com diabetes tipo 2 após a ingestão de um pequeno-almoço rico em hidratos de carbono ou rico em proteína de soja na resposta pós-prandial à glucose, insulina, GIP, GLP-1 e atividade antioxidante.

Os resultados revelaram baixos índices glicémicos ($32,5 \pm 4,0$) e insulínicos ($36,1 \pm 6,1$), ambos associados a uma redução dramática da AUC plasmática de GIP. Estes resultados sugerem que os cladódios de OFI conseguem regular as concentrações de glucose no sangue e de insulina plasmática através da modulação dos níveis de GIP. Para além disto, verificou-se, também, que a inclusão de cladódios grelhados juntamente com um pequeno-almoço rico em hidratos de carbono reduziu significativamente o pico glicémico pós-prandial (López-Romero *et al.* 2014).

4.7 Atividade anti-hiperlipidémica

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte a nível mundial, causando, no continente Europeu, quase duas vezes mais mortes do que o cancro (Townsend *et al.*, 2015). Atualmente tem-se verificado um aumento na incidência destas doenças, principalmente, nos países de baixo e médio rendimento, como consequência da modificação dos estilos de vida e do aumento da prevalência dos fatores de risco cardiovasculares. Consideram-se como fatores de risco para as doenças cardiovasculares

os fatores de risco genéticos (não modificáveis) e os fatores de risco modificáveis, passíveis de correção tais como a dislipidemia, hipertensão arterial, diabetes, sedentarismo, excesso de peso, tabagismo e dieta inadequada (Mariano, Antunes, Rato e Bourbon, 2015).

Plantas do gênero *Opuntia* têm sido tradicionalmente usadas no tratamento da síndrome metabólica e diabetes, em virtude dos seus múltiplos efeitos sobre o metabolismo, atuando nos mecanismos de regulação da glucose, lípidos, colesterol total e lipoproteínas de elevada e baixa densidade (Padilla-Camberos *et al.* 2015).

Galati *et al.* (2003) investigaram a influência da administração diária de liofilizado de cladódios de OFI no metabolismo lipídico de ratos hipercolesterolêmicos. A duração do tratamento variou entre os 15 e os 30 dias. Os resultados revelaram que a administração oral diária do liofilizado de cladódios a ratos hiperlipidêmicos e normais resultava numa redução dos níveis de colesterol no plasma, do LDL e triglicéridos, sem afetar os níveis de HDL. Nos ratos tratados durante 15 dias verificou-se uma diminuição dos níveis de colesterol, triglicéridos e LDL de 41,2, 44,3 e 43,4%, respetivamente. Observou-se também que o tratamento de 30 dias foi mais eficaz, uma vez que se verificou uma redução de 49% na concentração de colesterol, uma redução de 44,3% nos triglicéridos e uma redução de 52,6% nos níveis de LDL. Segundo os autores, estes efeitos poderão relacionar-se com o conteúdo em fibra solúvel dos cladódios secos (Galati *et al.*, 2003b).

Evidências sugerem que dietas ricas em fibras solúveis contribuem para a redução significativa dos níveis de colesterol total e LDL (Galati *et al.*, 2003b). Os mecanismos pelos quais as fibras atuam permanecem pouco claros, no entanto, evidências sugerem que algumas fibras solúveis têm a capacidade de se ligar aos ácidos biliares ou ao colesterol durante a formação intraluminal das micelas. A redução resultante no teor de colesterol das células hepáticas conduz a uma sobre-regulação dos receptores de LDL e, portanto, no aumento da clearance do colesterol LDL (Brown *et al.*, 1999).

Em 1992, Fernandez *et al.* (1992) demonstraram, *in vivo*, que o consumo de pectina de OFI contribuiu para a redução da concentração plasmáticas de LDL e colesterol hepático, e para o aumento da densidade do LDL e da expressão dos receptores de apolipoproteína B/E, em virtude, do aumento na demanda por colesterol

hepático em consequência do aumento da excreção de ácidos biliares e interrupção do mecanismo de reciclagem entero-hepática.

Outros possíveis mecanismos, através dos quais as pectinas de OFI poderão atuar, passam pela inibição da síntese hepática de ácidos gordos por produtos resultantes da fermentação das fibras no cólon; alteração da motilidade intestinal; diminuição da velocidade de absorção dos macronutrientes, derivado à elevada viscosidade das fibras, o que leva ao aumento da sensibilidade à insulina (Brown *et al.*, 1999).

Os cladódios de OFI contêm também uma série de outros princípios ativos, tais como, o sitosterol, vitaminas, flavonoides, ácido ascórbico e carotenoides- que podem também apresentar efeitos hipolipidêmicos- e atuar em conjunto com as pectinas (Galati *et al.*, 2003b). Exemplo disso, são os compostos polifenólicos existentes nos cladódios de OFI. Existem evidências de que os fenóis têm a capacidade de inibir a enzima lipase pancreática, responsável pela hidrólise dos triglicéridos. A inibição desta enzima contribui para a redução dos níveis de colesterol e prevenção da hiperlipidemia (Padilla-Camberos *et al.* 2015).

Padilla-Camberos *et al.* (2015) avaliaram a atividade hipocolesterolêmica do extrato aquoso de cladódios de OFI em ratinhos e, avaliaram também, a atividade inibitória, *in vitro*, desse mesmo extrato, sobre a enzima lipase pancreática.

Após a administração do extrato aquoso de OFI os níveis sanguíneos de colesterol foram significativamente reduzidos, comparados ao controle negativo. Verificou-se que o extrato foi capaz de inibir a atividade da lipase em concentrações de 60 a 1000 µg/mL e com um IC₅₀ de 588,5 µg/mL (Padilla-Camberos *et al.* 2015).

À luz destas evidências, os cladódios de OFI apresentam potencial para servir como base ao desenvolvimento de agentes hipocolesterolêmicos ou de alimentos e bebidas funcionais destinados a pessoas com níveis de colesterol elevados (Padilla-Camberos *et al.* 2015).

4.8 Propriedades antivirais

Bousslama *et al.* (2010) examinaram a atividade antiviral dos cladódios de OFI e propuseram-se a extrair, isolar e identificar os compostos ativos responsáveis por essa mesma atividade. Avaliaram o efeito inibitório do extrato etanólico e aquoso de cladódios de OFI sobre a replicação de três tipos de vírus: dois vírus com envelope [vírus herpes simplex tipo 2 (HSV-2) e vírus influenza A (IFV-A)] e um sem envelope [poliovírus tipo 1 (PV-1)].

As análises *in vitro* dos extratos revelaram que apenas o extrato etanólico exibiu efeito inibitório contra a replicação do HSV-2. O fracionamento do extrato etanólico, em coluna cromatográfica, eluído com água, etanol 50%, etanol e acetona, originaram quatro frações (E1-E4), respectivamente. Destas frações, a E3 e E4 revelaram atividade inibitória da replicação de HSV-2 e IFV-A.

A partir da fração E4 foram isolados dois compostos ativos identificados como o feoforbídeo (figura 4.14) e o pirofeoforbídeo (figura 4.15). Ambos os compostos são produtos resultantes da degradação das clorofilas.

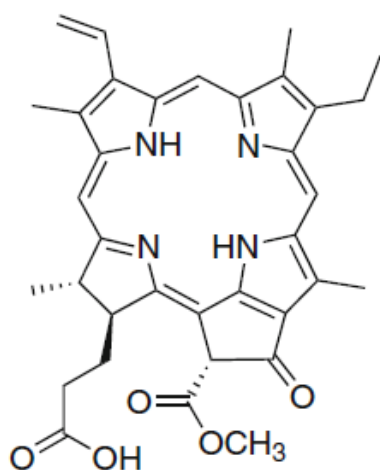


Figura 4.14- Estrutura química do composto ativo feoforbídeo.

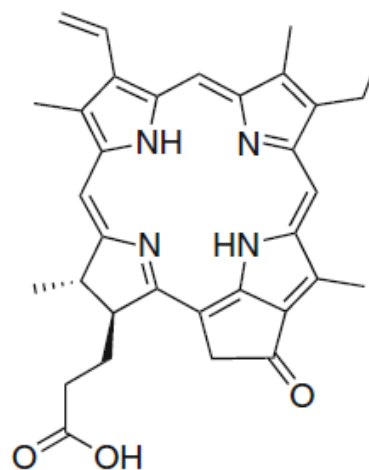


Figura 4.15- Estrutura química do composto ativo pirofeoforbídeo.

Estes dois compostos ativos revelaram uma notável atividade antiviral contra HSV-2, no entanto não mostraram efeito sobre o ciclo replicativo de IFV-A e PV-1. Em relação à atividade virucida (inativação direta das partículas virais), ambos os

compostos foram capazes de reduzir significativamente a infecciosidade de HSV-2 e IFV-A, de forma dose-dependente, provavelmente em consequência do reconhecimento e interferência com glicoproteínas do envelope viral, indispensáveis à adsorção e penetração nas células hospedeiras.

5. Conclusão

O uso de preparações à base de plantas medicinais representa o mais antigo método terapêutico utilizado pelo Homem. No último milénio, um número considerável de sistemas de cura e práticas terapêuticas tradicionais surgiram enquadradas em diferentes ambientes culturais. Atualmente- e apesar da evolução da indústria farmacêutica e das metodologias químicas de síntese- uma parcela significativa da população, sobretudo residente em países em vias de desenvolvimento, continua a depender da fitoterapia como fonte de cuidados de saúde primários em virtude da inacessibilidade às metodologias convencionais.

Opuntia ficus-indica é um cacto pertencente à família *Cactaceae*, que engloba cerca de 130 géneros e quase 1500 espécies diferentes. Encontra-se dispersa pelo continente Americano, bem como pelo continente Africano, Asiático e região do Mediterrâneo (Kaur, Kaur e Sharma, 2012). Embora a sua utilização no campo da medicina tradicional seja há muito reportada, deparamo-nos com uma falta de estudo aprofundado sobre os mecanismos de ação dos seus princípios ativos responsáveis pelos seus diversos efeitos biológicos, permanecendo a incerteza se as diferentes atividades são devidas à ação de substâncias isoladas ou, resultado, duma ação concertada dos vários componentes da complexa matriz vegetal (Osuna-Martínez, Reyes-Esparza e Rodríguez-Fragoso, 2014).

Em virtude dos muitos potenciais princípios ativos passíveis de serem extraídos de OFI, os cladódios são tidos como alimentos funcionais uma vez que são uma excelente fonte de fibra dietética e fitoquímicos com atividade antioxidante, tais como flavonoides, carotenos e ácido ascórbico (vitamina C). Os fitoquímicos obtidos de extratos de cladódios de OFI encontram-se, atualmente, sob intensiva investigação científica e despertam o interesse de tanto cientistas como profissionais de saúde.

Estudos *in vitro*, em animais e humanos apontam para a eficácia de OFI no tratamento de diversas patologias crônicas.

Apesar da riqueza em fitoquímicos, os constituintes dos cladódios de *Opuntia* são apenas em parte conhecidos e frequentemente não são quantitativamente determinados. Embora o despertar recente do interesse da comunidade científica, muitas das investigações relevantes datam de há 20 anos sendo necessária a sua validação por métodos atuais (Stintzing e Carle, 2005). Para além disto, em virtude da elevada variação interespecífica entre espécies que dificulta a classificação taxonómica do género, os dados provêm de todos os tipos de *Opuntia* spp., o que justifica o questionar se a classificação botânica foi adequadamente avaliada em cada caso (Stintzing e Carle, 2005). Além de uma sólida classificação sistemática, é também necessário levar em linha de conta a interdependência entre a composição química e as condições pré- e pós-colheita e as características físicas das diferentes variedades de OFI.

Apesar das variadas atividades biológicas apontadas em diversos estudos, verifica-se que a vasta maioria dos ensaios são realizados *in vitro*, existindo assim, a necessidade da realização de ensaios *in vivo* de modo a comprovar os resultados anteriores. Embora todas as limitações referidas, existem fortes evidências do valor terapêutico dos cladódios de OFI em áreas como o combate à obesidade, tratamento da diabetes *Mellitus*, hiperlipidémia, tratamento de patologias da pele e mucosas, ação anti-inflamatória e antioxidante.

Em função das diversas potenciais utilizações dos cladódios de OFI na prevenção e/ou tratamento de variadas patologias, o farmacêutico, surge como figura de relevo tanto no cenário da indústria – assumindo um papel preponderante na aplicação dos conhecimentos científicos e desenvolvimento de novas terapêuticas farmacológicas tendo por base compostos ativos isolados de extratos vegetais- como no seio da farmácia de oficina onde, como agente promotor de saúde, tem um contacto privilegiado com a população, tendo a capacidade de identificar potenciais situações onde a utilização dos conhecimentos enumerados pela presente monografia sejam benéficos, como também de monitorizar, avaliar e despistar quaisquer possíveis problemas relacionados com a sua utilização.

Bibliografía

Aguilera-Barreiro, M., Rivera-Márquez, J., Trujillo-Arriaga, H., Tamayo y Orozco, J., Barreira-Mercado, E., & Rodríguez García, M. (2013). Intake of dehydrated nopal (*Opuntia ficus indica*) improves bone mineral density and calciuria in adult Mexican women. *Food & Nutrition Research*, 57.

Alves, M. A., Souza, A.C.M.de, Gamarra-Rojas, G. & Guerra, N.B. (2008). Fruto de palma [*Opuntia fícus-indica* (L) MILLER, Cactaceae]: Morfologia, composição química, fisiologia, índices de colheita e fisiologia pós-colheita. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 9(1), pp.16–25.

Amic, D., Amic-Davidovic, D., Beslo, D. & Trinajstic, N. (2003). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta*, 76(1), pp.55–61.

Anaya-Pérez, M.A. (2001). History of the use of *Opuntia* as forage in Mexico. In: Cactus (*Opuntia* spp.) as forage. FAO, Plant Production and Protection paper 169. pp:5-12.

Andrade-Montemayor, H. M., Cordova-Torres, A. V., Casca, T. G. & Kawas, J. R. (2011). Alternative foods for small ruminants in semiarid zones, the case of Mesquite (*Prosopis laevigata* spp.) and Nopal (*Opuntia* spp.). *Small Ruminant Research*, 98(1-3), pp. 83-92.

Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Uribe, J.A., López-Pacheco, F., Alvarez, M.M., & Serna-Saldívar, S.O. (2015a). In vivo anti-inflammatory effects of isorhamnetin glycosides isolated from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill cladodes. *Industrial Crops and Products*, 76, pp.803–808.

Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Uribe, J.A., Martínez-Vitela, C., & Serna-Saldívar, S.O. (2015b). Topical Anti - Inflammatory Effects of Isorhamnetin Glycosides Isolated from *Opuntia ficus - indica*. *BioMed Research International*, 2015, pp.1–9.

Astello-García, M.G., Cervantes, I., Nair, V., Santos-Díaz, M.del.S., Reyes-Agüero, A., Guéraud, F. *et al.* (2015). Chemical composition and phenolic compounds profile of cladodes from *Opuntia* spp. cultivars with different domestication gradient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, pp.119–130.

Avila-Nava, A., Calderon-Oliver, M., Medina-Campos, O. N., Tao, Z., Liwei, G., Nimbe, T., *et al.* (2014). Extract of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes scavenges reactive oxygen species *in vitro* and enhances plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Functional Foods*, 10, pp.13–24.

Barrett, M. (2004). *The handbook of clinically tested herbal remedies*. Nova York, The Haworth Herbal Press.

Barros, M.C.T.C. (2012). *Preparação de novos derivados flavonoides com potencial atividade biológica*. Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial. Faculdade de Farmácia- Universidade de Coimbra, Coimbra. 78 pp.

Batista, A.M., Mustafa, A.F., McAllister, T., Wang, Y., Soita, H. & McKinnon, J.J. (2003). Effects of variety on chemical composition, *in situ* nutrient disappearance and *in vitro* gas production of spineless cacti. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), pp:440–445.

Bayar, N., Kriaa, M. & Kammoun, R. (2016). Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus-indica* cladodes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, pp.441–450

Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S.G. & Goñi, I. (2010). By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), pp.210–216.

Betancourt-Domínguez, M.A., Hernández-Pérez, T., García-Saucedo, P., Cruz-Hernández, A. & Paredes-López, O. (2006). Physico-chemical changes in cladodes (nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia spp.*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 61(3), pp.115–119.

Biblioteca Nacional de Portugal, 2016. Disponível em: < <http://purl.pt/22937/3/#/10> >. Acesso em 19 Dez. 2016.

Blasco, M. (2014). *Opuntia ficus-indica* (L-Mill., 1768) en el mundo. Producción y uso. In: Livro de Resumos das Jornadas Ibéricas da Figueira-da-índia, IPCB, Castelo Branco. p. 13-15.

Borland, A.M. & Taybi, T. (2004). Synchronization of metabolic processes in plants with Crassulacean acid metabolism. *Journal of Experimental Botany*, 55 (400), pp.1255–1265.

- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S. & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161(5), pp.839–851.
- Bousslama, L., Hayashi, K., Lee, J.-B., Ghorbel, A., & Hayashi, T. (2011). Potent virucidal effect of pheophorbide a and pyropheophorbide a on enveloped viruses. *Journal of Natural Medicines*, 65(1), pp.229–233.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), pp.317–333.
- Brown, L., Rosner, B., Willett, W.W., & Sacks, F.M. (1999). Cholesterol-lowering effects of dietary fiber : a meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, pp.30–42.
- Brückner, H. & Westhauser, T. (2003). Chromatographic determination of L- and D-amino acids in plants. *Amino Acids*, 24, pp. 43–55
- Calixto, J.B. (2000). Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents) . *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* , 33 , pp.179–189.
- Campos, A.C.L., Borges-Branco, A. & Groth, A.K. (2007). Cicatrização de feridas. *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*, 20, pp.51–58.
- Cárdenas, A., Goycoolea, F.M. & Rinaudo, M. (2008). On the gelling behaviour of “nopal” (*Opuntia ficus-indica*) low methoxyl pectin. *Carbohydrate Polymers*, 73(2), pp.212–222
- Carnide, F., Lourenço, S., & Cunha-Miranda, L. (2013). Doenças Reumáticas em Contexto Ocupacional: Fatores de Risco. *Observatório Nacional das Doenças Reumáticas (ONDOR)*. Dep Epidemiologia Clínica, Medicina Preditiva e Saúde Pública. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, pp. 145-178.
- Cardoso, A., Branco, J.C, Silva, J.A.P., Cruz, M., & Costa, M.M. (2005). *Regras de ouro em reumatologia*. DGS. Lisboa, pp. 129-138.
- Cho, J., Han, C.-K., Lee, Y.S., & Jin, C. (2007). Neuroprotective and Antioxidant Effects of the Butanol Fraction Prepared from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *The Journal of Applied Pharmacology*, 15(4), pp.205–211.

Cilleruelo, M.L., & Rivero, M.J. (2010). Gastritis . Ulcus gástrico y duodenal. *Asociacion española de pediatria*, 1(1), pp.111–118.

Cook, N.C. & Samman, S. (2016). Flavonoids- Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(2), pp.66–76

Couto, G., Macedo, G., & Ribeiro, F. (2010). Hemorragia digestiva alta associada ao consumo de ácido acetilsalicílico e de anti-inflamatórios não-esteróides em Portugal Resultados do estudo PARAINES . *Jornal Português de Gastreenterologia* , 17 , pp.200–206.

Cunha, A.P. Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes ativos e fitoterapia. Disponível em: <http://www.ppmac.org/sites/default/files/aspectos_historicos.pdf>. Acesso em: 10 Jun. 2016.

Cunha, A. P., Silva, A. P. & Roque, O. R. (2003). Plantas e Produtos Vegetais em *Fitoterapia*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Di Lorenzo, F., Silipo, A., Molinaro, A. & Lanzetta, R. (2016). The polysaccharide and low molecular weight components of *Opuntia ficus-indica* cladodes: Structure and skin repairing properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, pp.128–136

Dok-Go, H., Lee, K.H., Kim, H.J., Lee, E.H., Lee, J., Song, Y.S., *et al.* (2003). Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Brain Research*, 965(1–2), pp.130–136

El-Gharras, H., Hasib, A., Jaouad, A. & El-Bouadili, A.(2006). Chemical and physical characterization of three cultivars of moroccan yellow prickly pears (*Opuntia ficus-indica*) at three stages of maturity caracterización química y física de tres variedades de higos chumbos amarillos de marruecos. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 5(2), pp: 93-99.

El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M.S. *et al.* (2014). Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, 19(9), pp.14879–14901.

Elumalai, A.; Eswariah, M.C. (2012). Herbalism – a Review. *International Journal of Phytotherapy*, 2(2), pp.96–105.

- El-Safy, F.S. (2013). Evaluation and utilization of cladodes flour in formulating functional sponge cake. *World Applied Sciences Journal*, 27(4), pp.512–523.
- Enigbokan, M. A., Felder, T. B., Thompson, J. O., Kuti, J. O., & Ekpenyong, K. I. (1996). Hypoglycaemic Effects of *Opuntia ficus-indica* Mill., *Opuntia lindheimeri* Engelm and *Opuntia robusta* Wendl. in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Phytother. Res.*, 10, pp.379–382.
- Fayazzadeh, E., Rahimpour, S., Ahmadi, S.M., Farzampour, S., Sotoudeh Anvari, M., Boroumand, M.A., & Ahmadi, S. H. (2014). Acceleration of skin wound healing with Tragacanth (Astragalus) preparation: An experimental pilot study in rats. *Acta Medica Iranica*, 52(1), pp.3–8.
- Fernandez, M. L., Lin, E. C., Trejo, A., & McNamara, D. J. (1992). Prickly pear (*Opuntia sp.*) pectin reverses low-density lipoprotein receptor suppression induced by a hypercholesterolemic diet in guinea pigs. *J. Nutrition*, 122, pp. 2330–2340.
- Ferreira, A.R., Carrapiço, E. & Pimentão, J.B. (2013). Efectividade das infiltrações de corticosteróides nas doenças reumáticas peri-articulares: uma revisão baseada na evidência. *Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar*, 29, pp.38–52.
- Ferreira, A., Candeias, D., Coelho, I.S., Passarinho, J.A., Alves, J.C.R, Andrada, L.C., et al. (2016). A Cultura da Figueira-da-Índia e a Valorização Agroindustrial do Fruto. INIAV, I.P.
- Figuroa-Pérez, M.G., Pérez-Ramírez, I.F., Paredes-López, O., Mondragón-Jacobo, C. & Reynoso-Camacho, R. (2016). Phytochemical composition and *in vitro* analysis of nopal (*O. ficus-indica*) cladodes at different stages of maturity. *International Journal of Food Properties*.
- Fрати, A.C., Jiménez, E., & Ariza, C.R. (1990). Hypoglycemic effect of *Opuntia ficus indica* in non insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Phytotherapy Research*, 4(5), pp.195–197.
- Fuentes-Rodriguez, J. (1997). A Comparison of the Nutritional Value of *Opuntia* and Agave Plants for Ruminants. PhD Diss. *Universidad Autonoma Agraria “Antonio Narro”*, Saltillo, Coahuila. pp. 20-24
- Fulkerson, W.J. & Donaghy, D.J. (2001). Plant-soluble carbohydrate reserves and senescence - key criteria for developing an effective grazing management system for

ryegrass-based pastures: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(2), pp.261–275.

Gago, C., Guerreiro, A., Miguel, G., Faleiro, M. L., Candeias, D. & Antunes, M.D. (2014). Avaliação das propriedades físico-químicas e sensoriais do figo-da índia (*Opuntia ficus-indica*) desidratado. In: 2º Simpósio Nacional de Fruticultura. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 23. Pp: 425-431.

Galati, E.M., Mondello, M.R., Monforte, M.T., Galluzzo, M., Miceli, N., & Tripodo, M.M. (2003a). Effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cladodes in the wound-healing process. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5(July 2002), pp.1–16.

Galati, E.M., Monforte, M.T., Miceli, N., Mondello, M.R., Taviano, M.F., Galluzzo, M., & Tripodo, M.M. (2007). *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. mucilages show cytoprotective effect on gastric mucosa in rat. *Phytotherapy Research*, 21(4), pp.344–346.

Galati, E.M., Monforte, M.T., Tripodo, M.M., d’Aquino, A., & Mondello, M.R. (2001). Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(1), pp.1–9.

Galati, E.M., Pergolizzi, S., Miceli, N., Monforte, M.T. & Tripodo, M.M. (2002b). Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes. *Journal of Ethnopharmacology*, 83(3), pp.229–233

Galati, E.M., Tripodo, M.M., Trovato, A., Miceli, N. & Monforte, M.T. (2002a). Biological effect of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste matter: Note I: diuretic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(1), pp.17–21.

Galati, E.M., Tripodo, M.M., Trovato, A., d’Aquino, A., & Monforte, M.T. (2003b). Biological Activity of *Opuntia ficus indica* Cladodes II: Effect on Experimental Hypercholesterolemia in Rats. *Pharmaceutical Biology*, 41(3), pp.175–179.

García-Mediavilla, V., Crespo, I., Collado, P.S., Esteller, A., Sánchez-Campos, C., Tuñón, M.J. *et al.* (2007). The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells. *European Journal of Pharmacology*, 557(2–3), pp.221–229

- Garner, A. (1992). Adaptation in the Pharmaceutical Industry, with Particular Reference to Gastrointestinal Drugs and Diseases. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 27(sup193), pp.83–89
- Gescher, K. & Deters, A.M. (2011). Typha latifolia L. fruit polysaccharides induce the differentiation and stimulate the proliferation of human keratinocytes *in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), pp.352–358.
- Ginestra, G., Parker, M.L., Bennett, R.N., Robertson, J., Mandalari, G., Narbad, A. *et al.* (2009). Anatomical, Chemical, and Biochemical Characterization of Cladodes from Prickly Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), pp.10323–10330.
- Gomes, A., Fernandes, E., Lima, J. F. C., Mira, L. & Corvo, M. L. (2008), Molecular Mechanisms of Anti-Inflammatory Activity Mediated by Flavonoids. *Current Medicinal Chemistry*, 15, pp. 1586- 1605.
- Goycoolea, F.M. & Cardenas, A. (2003). Pectins from *Opuntia spp.*: A Short Review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5, pp.17-29.
- Griffith, M.P. (2004). The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): New molecular evidence. *American Journal of Botany*, 91(11), pp.1915–1921.
- Griffith, M. P. & Portert, J. M. (2009). Phylogeny of Opuntioideae (Cactaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 170(1), pp.107–116.
- Guevara-Figueroa, T., Jiménez-Islas, H., Reyes-Escogido, M.L., Mortensen, A.G., Laursen, B.B., Lin, L.-W. *et al.* (2010). Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia spp.*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), pp.525–532.
- Guevara, J.C., Yahia, E.M. & Brito de la Fuente, E. (2001). Modified Atmosphere Packaging of Prickly Pear Cactus Stems (*Opuntia spp.*). *LWT - Food Science and Technology*, 34(7), pp.445–451.
- Guevara, J.C., Yahia, E.M., Brito de la Fuente, E. & Biserka, S.P. (2003). Effects of elevated concentrations of CO₂ in modified atmosphere packaging on the quality of prickly pear cactus stems (*Opuntia spp.*). *Postharvest Biology and Technology*, 29(2), pp.167–176.

- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), pp.1–93.
- Heaney, R.P. (2007). Bone health. *The American journal of clinical nutrition*, 85(1), p.300S–303S.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), pp.572–584.
- Hernández, H.M., Reyes-Agüero, J.A. & Aguirre-Rivera, J.R. (2005). Systematic notes and a Detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. (CACTACEAE). *Agrociencia*, julio-agosto, 395-408.
- Hernández, J.L. & Corrales-García, J. (2005). "Cambios en la calidad postcosecha de variedades de tuna con y sin semilla". *Revista Fitotecnia Mexicana*, num. enero-marzo, pp. 9-16.
- Hernández-Urbiola, M.I., Contreras-Padilla, M., Pérez-Torrero, E., Hernández-Quevedo, G., Rojas-Molina, J.I., Cortes, M.E. & Rodríguez-García, M.E. (2010). Study of Nutritional Composition of Nopal (*Opuntia ficus indica* cv . Redonda) at Different Maturity Stages. *The Open Nutritional Journal*, 4, pp.11–16.
- Ishige, K., Schubert, D. & Sagara, Y. (2001). Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(4), pp.433–446
- Karawya, M.S., Wassel, G.M., Baghdadi, H.H. & Ammar, N.M. (1980). Mucilages and pectins of *Opuntia*, *Tamarindus* and *Cydonia*. *Planta Medica*, 40 (1), pp. 68-75.
- Kaur, M., Kaur, A. & Sharma, R. (2012). Pharmacological actions of *Opuntia ficus-indica*: A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(7), pp.15–18.
- Kiesling, R. (1999). Origen, domesticacion ydistribucion de *Opuntia ficus indica*. *Journal Professional Association for Cactus Development* 3, 50–59.
- Kirker, K.R., Luo, Y., Nielson, J.H., Selby, J., & Prestwich, G.D.(2002). Glycosaminoglycan hydrogel films as bio-interactive dressings for wound healing. *Biomaterials*, 23(17), pp.3661–3671.

- Kunt, T.K. (1980). Disorders of wound healing. *World Journal of Surgery*, 4(3), pp.271–277.
- Lakhanpal, P. & Rai, D.K. (2007). Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update - EJOURNAL*, 2(2), pp.22–37.
- Laureano, A. & Rodrigues, A.M. (2011). Cicatrização de feridas. *Revista da SPDV*, 69(3), pp. 335-363
- Lee, E.B., Hyun, J.E., Li, D.W., & Moon, Y.I. (2002). Effects of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten stem on Gastric damages in rats. *Archives of Pharmacal Research*, 25(1), p.67.
- Lee, E.H., Kim, H.J., Song, Y.S., Jin, C., Lee, K.-T., Cho, J. *et al.* (2003). Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Archives of Pharmacal Research*, 26(12), pp.1018–1023.
- Lee, J.-C., Kim, H.-R., Kim, J., & Jang, Y.-S. (2002). Antioxidant Property of an Ethanol Extract of the Stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), pp.6490–6496.
- Lee, K.M., Lee, K.W., Jung, S.K., Lee, E.J., Heo, Y.S, Bode, A.M., *et al.* (2010). Kaempferol inhibits UVB-induced COX-2 expression by suppressing Src kinase activity. *Biochemical pharmacology*, 80(12), pp.2042–2049
- Lee, Y.S., Park, H., Jin, C., Kim, H.J., Cho, J., Park, M., *et al.* (2003). Use of an *Opuntia ficus-indica* extract and compounds isolated therefrom for protecting nerve cells. WO Patent 2003037324 A1. Disponível em: <<http://www.google.ch/patents/WO2003037324A1?cl=en>> Acesso em: 15 Set. 2016.
- Liberato, M.C. (2008). Estudo taxonómico de plantas do jardim botânico tropical: Dicotiledóneas dialipétalas de ovário ínfero. *Revista de Ciências Agrárias*, 31 (1), pp.240–261.
- Liberato, M.C. (2011). Contribuição para o conhecimento de Garcia de Orta . *Revista de Ciências Agrárias* , 34 , pp.110–119.
- Lima, J. (2010). Plantas e Dor: Contributo para o Estudo Etnoantropológico do Tratamento e Dor. Almada: Universidade de Lisboa.

López-Romero, P., Pichardo-Ontiveros, E., Avila-Nava, A., Vázquez-Manjarrez, N., Tovar, A.R., Pedraza-Chaverri, J., & Torres, N. (2014). The Effect of Nopal (*Opuntia Ficus Indica*) on Postprandial Blood Glucose, Incretins, and Antioxidant Activity in Mexican Patients with Type 2 Diabetes after Consumption of Two Different Composition Breakfasts. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 114(11), pp.1811–1818.

Luo, Y., Diao, H., Xia, S., Dong, L., Chen, J., & Zhang, J. (2010). A physiologically active polysaccharide hydrogel promotes wound healing. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 94A(1), pp.193–204.

Mahat, M.Y., Kulkarni, N.M., Vishwakarma, S.L., Khan, F.R., Thippeswamy, B.S., Hebballi, V., *et al.* (2010). Modulation of the cyclooxygenase pathway via inhibition of nitric oxide production contributes to the anti-inflammatory activity of kaempferol. *European Journal of Pharmacology*, 642(1–3), pp.169–176.

Maki-Díaz, G., Péna-Valdivia, C.B., García-Nava, R., Arévalo-Galarza, M.L., Calderón-Zavala, G. & Anaya-Rosales, S. (2015). Características físicas y químicas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional. *Agrociencia*, 49(1), pp.31–51.

Mariano, C., Antunes, M., Rato, Q., & Bourbon, M. (2015). *_e_LIPID*: caracterização do perfil lipídico da população portuguesa. *Boletim Epidemiológico*. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge IP, 2(14), pp. 07-10.

Marles, R.J. & Farnsworth, N.R. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2), pp.137–189.

Martins, A. P. (2008). O uso tradicional como evidência na regulamentação dos medicamentos à base de plantas. *INFARMED 15 anos: olhar o passado, projectar o futuro*. pp: 101-108. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/INSTITUCIONAIS/15_ANOS/pdf_FINAL_infarmed.pdf>. Acesso em: 25 Mai. 2016.

Martins, J.C. (2013). Medicamentos à base de plantas: contributo para o aproveitamento dos recursos naturais nacionais. *Revista Portuguesa Farmacoterapia*, 5, pp.22-38.

- McConn, M.M. & Nakata, P.A. (2004). Oxalate Reduces Calcium Availability in the Pads of the Prickly Pear Cactus through Formation of Calcium Oxalate Crystals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), pp.1371–1374.
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A. & Wilkinson, R.G. (2011). *Animal nutrition*. 7th ed. Pearson, Harlow. pp: 3-15
- McGettigan, P., & Henry, D. (2013). Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs That Elevate Cardiovascular Risk: An Examination of Sales and Essential Medicines Lists in Low-, Middle-, and High-Income Countries. *PLoS Medicine*, 10(2).
- Mciteka, H. (2008). Fermentation characteristics and nutritional value of *Opuntia ficus-indica* var. *Fuscaulis* cladode silage. MSc. University of the Free State, Bloemfontein.
- Medina-Torres, L., Fuente, E.B-de la., Torrestiana-Sanchez, B., & Alonso, S. (2003). Mechanical properties of gels formed by mixtures of mucilage gum (*Opuntia ficus indica*) and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 52(2), pp.143–150.
- Medina-Torres, L., Fuente, E.B.-de La., Torrestiana-Sanchez, B. & Katthain, R. (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). *Food Hydrocolloids*, 14(5), pp.417–424.
- Meraz-Maldonado, N., Valle-Guadarrama, S., Hernández-Morales, J., Anaya-Rosales, S., Rodríguez-Maciél, J. C. & Leyva-Ruelas, G. (2012). Quality of three sizes of prickly pear cactus stems (*Opuntia ficus indica* L. “ATLIXCO”). *African Journal of Agricultural Research*, 7(32), pp.4512–4520.
- Monjardino, T., Lucas, R. & Barros, H. (2011). Frequency of Rheumatic diseases in Portugal: a sistematic review. *Acta Reumatol Port*, 36, pp.336–363.
- Mulabagal, V. & Tsay, H. (2004). Plant Cell Cultures - An Alternative and Efficient Source for the Production of Biologically Important Secondary Metabolites. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 2(1), pp.29–48.
- Musialik, M., Kuzmicz, R., Pawłowski, T., & Litwinienko, G. (2009). Acidity of hydroxyl groups: An overlooked influence on antiradical properties of flavonoids. *Journal of Organic Chemistry*, 74(7), pp.2699–2709.

Naturdata. (2009, 2016). Biodiversidade online. *Opuntia ficus-indica* (Linnaeus) Miller. Disponível em:< <http://naturdata.com/Opuntia-ficus-indica-40008.htm>>. Acesso em: 10 Jun.2016.

Núñez-López, M. A., Paredes-López, O. & Reynoso-Camacho, R. (2013). Functional and hypoglycemic properties of Nopal cladodes (*O. ficus-indica*) at different maturity stages using *in vitro* and *in vivo* tests. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), pp.10981–10986.

Osuna-Martínez, U., Reyes-Esparza, J., & Rodríguez-Fragoso, L. (2014). Cactus (*Opuntia ficus-indica*): A Review on its Antioxidants Properties and Potential Pharmacological Use in Chronic Diseases. *Nat. Prod. Chem. Res.*, 2(6), pp.153-160.

Padilla-Camberos, E., Flores-Fernandez, J.M., Fernandez-Flores, O., Gutierrez-Mercado, Y., Carmona-de la Luz, J., Sandoval-Salas, F., *et al.* (2015). Hypocholesterolemic effect and *in vitro* pancreatic lipase inhibitory activity of an *Opuntia ficus-indica* extract. *BioMed Research Internationa*.

Panico, A.M., Cardile, V., Garufi, F., Puglia, C., Bonina, F., & Ronsisvalle, S. (2007). Effect of hyaluronic acid and polysaccharides from *Opuntia ficus indica* (L.) cladodes on the metabolism of human chondrocyte cultures. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), pp.315–321.

Parascandola, J. (2003). Chaulmoogra oil and the treatment of leprosy. *Pharmacy in History*, Madison, 45(2), pp.47-57.

Patel, D.K., Kumar, R., Laloo, D., & Hemalatha, S. (2012). Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(3), pp.239–250.

Park, E.-H. & Chun, M.-J. (2001b). Wound healing activity of *Opuntia ficus-indica*. *Fitoterapia*, 72(2), pp.165–167.

Park, E.-H., Kahng, J.-H., Lee, S.H., & Shin, K.-H. (2001a). An anti-inflammatory principle from cactus. *Fitoterapia*, 72(3), pp.288–290.

Park, E.-H., Kahng, J.-H. & Paek, E.-A. (1998). Studies on the pharmacological actions of cactus: Identification of its anti-inflammatory effect. *Archives of Pharmacal Research*, 21(1), pp.30–34

- Pereira, R.J. & Cardoso, M.D.G. (2012). Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3(November), pp.146–152.
- Peschel, W. (2007). The Traditional Herbal Medicine Directive within the European regulatory framework for Herbal Products. *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas*, 6 (4), pp.102-111.
- Pimienta-Barrios, E. (1995). An overview of genetic resources for *Opuntia* production in Mexico. *Journal of the Professional Association for Cactus Development. Proceedings* p. 13-22.
- Plantas invasoras em Portugal. (2015). *Opuntia ficus indica*. Disponível em <<http://invasoras.pt/gallery/opuntia-ficus-indica/>>. Consultado em 15 Set, 2016.
- Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável (PNPAS), DGS. (2016). Fibra. Disponível em: <<http://www.alimentacaosaudavel.dgs.pt/nutriente/fibra/>>. Consultado em 20 Out, 2016.
- Qiu, Y., Chen, Y., Pei, Y., Matsuda, H., & Yoshikawa, M. (2002). Constituents with Radical Scavenging Effect from *Opuntia dillenii*: Structures of New α -Pyrone and Flavonol Glycoside. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50(11), pp.1507–1510.
- Repo-Carrasco-Valencia, R., Hellström, J.K., Pihlava, J.-M. & Mattila, P.H. (2010). Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry*, 120(1), pp.128–133.
- Ribeiro, E.M. de O., Silva, N.H.da, Lima Fialho, J.L.de, Brito, J.Z.de & Silva, M.da P.C.da. (2010). Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according to age and season. *Food Science and Technology (Campinas)*, 30, pp.933–939.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), pp.933–956.
- Rico, J. M. T. (2003). Prefácio do Prof. Doutor José Manuel Toscano Rico. In: Cunha, A. P., Silva, A. P., Roque, O. R. (Ed.). *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp.9-11.

Rizza, L., Frasca, G., Nicholls, M., & Cardile, V. (2012). Caco-2 cell line as a model to evaluate mucoprotective proprieties. *International Journal of Pharmaceutics*, 422(1–2), pp.318–322.

Rodrigues, A.M., Pitacas, F.I., Reis, C.M.G & Blasco, M. (2016). Nutritional value of *Opuntia ficus-indica* cladodes from portuguese ecotypes. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 22(1), pp. 40-45.

Rodriguez-Felix, A. (2002). Postharvest physiology and technology of cactus pear fruits and cactus leaves. *Acta Horticulturae*, 581, pp.191-199

Rodriguez-Felix, A. & Cantwell, M. (1988). Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition*, 38, pp:83-93.

Rodriguez-Felix, A. & Villegas-Ochoa, M. A. (1997). Quality of cactus stems (*Opuntia ficus-indica*) during low-temperature storage. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 2, pp.142–151.

Rodríguez-García, M.E., de Lira, C., Hernández-Becerra, E., Cornejo-Villegas, M.A., Palacios-Fonseca, A.J., Rojas-Molina, I. *et al.* (2007). Physicochemical Characterization of Nopal Pads (*Opuntia ficus indica*) and Dry Vacuum Nopal Powders as a Function of the Maturation. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(3), pp.107–112.

Rodríguez-González, S., Martínez-Flores, H.E., Chávez-Moreno, C.K., Macías-Rodríguez, L.I., Zavala-Mendoza, E., Garnica-Romo, M.G. & Chacón-García, L. (2014). Extraction and characterization of mucilage from wild species of *Opuntia*. *Journal of Food Process Engineering*, 37, pp. 285-292.

Rojas-Molina, I., Gutiérrez-Cortez, E., Bah, M., Rojas-Molina, A., Ibarra-Alvarado, C., Rivera-Muñoz, E., *et al.* (2015). Characterization of calcium compounds in *Opuntia ficus indica* as a source of calcium for human diet. *Journal of Chemistry*, pp. 1-8.

Sáenz, C. (2013). Opuntias as a natural resource. Agro-industrial utilization of cactus pear. Rome: FAO. Cap. 1, pp. 1-5.

- Sáenz, C. (2006a). Los nopales como recurso natural. In: C. Rosell (ed). Utilización Agroindustrial del Nopal. Rome: FAO, Boletín de Servicios Agrícolas 162, pp.1-6.
- Sáenz, C. (2006b). Características y composición química de los nopales. In: C. Rosell (ed). Utilización Agroindustrial del Nopal. Rome: FAO, Boletín de Servicios Agrícolas 162, pp.7-22.
- Sáenz, C., Sepúlveda, E. & Matsuhira, B. (2004). *Opuntia spp* mucilage's: a functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Environments*, 57(3), pp.275–290.
- Sáenz, C., Sepúlveda, E., Pak, N. & Lecaros, M. (2010). Chemical and physical characterization of cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica*) powder. *Italian Journal of Food Science*, 22, pp.416–423.
- Saleem, M., Kim, H.J., Han, C.K., Jin, C. & Lee, Y.S. (2006). Secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Phytochemistry*, 67(13), pp.1390–1394.
- Saliba Jr, M.J. (2001). Heparin in the treatment of burns: a review. *Burns*, 27(4), pp.349–358.
- Santangelo, C., Varí, R., Scazzocchio, B., Benedetto, R.Di., Filesi, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanità*, 43(4), pp. 394-405.
- Santos, A.C., Oliveira, S., Águas, S., Monteiro, C., Palma, M.L.L.M.G.da, Martins, A.P. et al. (2008). Recolha de dados sobre consumo de medicamentos e/ ou suplementos à base de plantas medicinais numa amostra da população de Lisboa e Vale do Tejo. *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde*, 2(5), pp.128–141.
- Santos, F.S.D. dos, Souza, L.P.A. de & Siani, A.C. (2008). O óleo de chaulmoogra como conhecimento científico: a construção de uma terapêutica antileprótica . *História, Ciências, Saúde-Manguinhos* , 15 , pp.29–46.
- Santos-Zea, L., Gutiérrez-Urbe, J.A. & Serna-Saldivar, S.O. (2011). Comparative Analyses of Total Phenols, Antioxidant Activity, and Flavonol Glycoside Profile of Cladode Flours from Different Varieties of *Opuntia spp*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), pp.7054–7061.

Scheinvar, L. *et al.* (2011). Estado del conocimiento de las especies de nopal (*Opuntia* spp.) productoras de xocostles silvestres y cultivadas (informe final). Instituto de Biología, UNAM – Centro Regional Universitario Centro Norte, UACH. *Dentro del Proyecto “Generación y recopilación de información de las especies de las que México es centro de origen y diversidad genética”*, financiado por la Dirección General del Sector Primario y Recursos Naturales Renovables (DGSPRNR), perteneciente a la SEMARNAT y coordinado por la CONABIO. CONABIO. México D.F.

Scheinvar, L., Olalde-Parra, G. & Gallegos-Vázquez, C. (2015). Una nueva especie del género *Opuntia* (Cactaceae) para el estado de Veracruz, México. *Botanical Sciences*, 93, pp.33–39.

Seeley, R.R., Stephens, T.D., & Tate, P. (1989). *Anatomia e Fisiologia*. Tradução Portuguesa. 6^{ed}, LUSOCIÊNCIA-Edições Técnicas e Científicas, Lda. Loures.

Serafini, M., Peluso, I. & Raguzzini, A. (2010). Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69(03), pp.273–278.

Silva, R. R. & Sampaio, E. V. de Sa. B. (2015). Palmas forrageiras *Opuntia fícus-indica* e *Nopalea cochenillifera*: sistemas de produção e usos. *Revista Geama*, 2(1), pp.131–141.

Simón, A. (2005). Nova abordagem terapêutica na osteoartrose. In: Boletim do CIM. Publicação bimestral de distribuição gratuita da ordem dos Farmacêuticos. Disponível em: http://www.ordemfarmaceuticos.pt/xFiles/scContentDeployer_pt/docs/doc2207.pdf. Acesso em: 02 Out, 2016.

Stintzing, F. C. & Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(2), pp.175–194

Stintzing, F.C., Schieber, A. & Carle, R. (2001). Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *European Food Research and Technology*, 212(4), pp.396–407

Tamayo, C. (2006). Fitoterapia basada en la evidencia. *Revista de Fitoterapia*, 6(S1): pp. 55-60.

- Tavares, V., Canhão, H., Gomes, J.A.M., Simões, E., Romeu, J.C., Coelho, P., *et al.* (2007). Recomendações para o diagnóstico e terapêutica da osteoporose. *Acta Reumatológica Portuguesa*, 32, pp. 49–59.
- Teles, F. F. F., Price, R. L., Whiting, F. M. & Reid, B. L (1994). Circadian variation of non-volatile organic acids in the prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Revista Ceres* 41, 614–622.
- Townsend, N., Nichols, M., Scarborough, P., & Rayner, M. (2015). Cardiovascular disease in Europe — epidemiological update 2015. *European Heart Journal*, 36, pp. 2696-2705.
- Trombetta, D., Puglia, C., Perri, D., Licata, A., Pergolizzi, S., Lauriano, E.R., *et al.* (2006). Effect of polysaccharides from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill cladodes on the healing of dermal wounds in the rat. *Phytomedicine*, 13(5), pp.352–358.
- USDA, NRCS. (2016). The PLANTS Database. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA. Disponível em: <<http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=OPFI>>. Acesso em: 10 Jun. 2016.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), pp.44–84.
- Ventura, C.C., Bicho, P. & Ventura, D.C. (2016). Raízes, enquadramento e características da fitoterapia natural. *Revista da UIIPS*, 4(3), pp-1-19.
- Vomero, N.D., & Colpo, E. (2014). Cuidados Nutricionais na úlcera Péptica. *Arquivos brasileiros de cirurgia digestiva*, 27(4), pp.298–302
- Wallace, J.L. (2001). Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. *The American Journal of Medicine*, 110(1, Supplement 1), pp.S19–S23.
- Watson, R. & Preedy, V. (2008). *Botanical Medicine in Clinical Practice*. London, CAB International.
- WHO. (2016). Fact sheet N°138: *Diabetes Mellitus*. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs138/en/>> Acesso em: 20 Out, 2016.
- Williams, R.J., Spencer, J.P.E. & Rice-Evans, C. (2004). Flavonoids: antioxidants or signalling molecules?. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(7), pp.838–849.

- Wink, M. (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines*, 2(3), pp.251–286.
- Woolf, A.D. & Pfleger, B. (2003). Burden of major musculoskeletal conditions. *Bulletin of the World Health Organization*, 81(9), pp.646–656.
- Yoon, J.A., Lee, S.-J., Kim, H.-K., & Son, Y.-S. (2011). Ameliorating effects of a nopal (*Opuntia ficus-indica*) complex on blood glucose in db/db mice. *Food Science and Biotechnology*, 20(1), pp.255–259.
- Young, E. (2008). The anti-inflammatory effects of heparin and related compounds. *Thrombosis Research*, 122(6), pp.743–752.
- Zagrheca, S.L. (2007). Análisis sectoriales. In S.L. Zagrheca (Ed.), *Libro Blanco de los herbolarios y las plantas medicinales* (pp.68). Madrid: Fundación Salud y Naturaleza. Disponível em: <<http://www.fitoterapia.net/archivos/200701/260307libro-2.pdf?1>> Acesso em: 10 Ago. 2016.
- Zhao, M., Yang, N. Yang, B., Jiang, Y. & Zhang, G. (2007). Structural characterization of water-soluble polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladodes in relation to their anti-glycated activities. *Food Chemistry*, 105(4), pp.1480–1486.