UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DAIANE MARIA OLIVEIRA QUARESMA

ESTUDO FITOQUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *Solanum subumbellatum* Vell. (SOLANACEAE)

UBERLÂNDIA
2023

DAIANE MARIA OLIVEIRA QUARESMA

ESTUDO FITOQUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *Solanum subumbellatum* Vell. (SOLANACEAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química, da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Química.

Área de Concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Alberto de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Pivatto

UBERLÂNDIA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

Q1e
2023

Quaresma, Daiane Maria Oliveira, 1990-
Estudo fitoquímico e farmacológico de Solanum subumbellatum Vell. (Solanaceae) [recurso eletrônico] / Daiane Maria Oliveira Quaresma. - 2023.

Orientador: Alberto de Oliveira.
Coorientador: Marcos Pivatto.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.te.2023.8000
Inclui bibliografia.

1. Química. I. Oliveira, Alberto de, (Orient.). II. Pivatto, Marcos, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU: 54

André Carlos Francisco - Bibliotecário-Documentalista - CRB-6/340

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG,
CEP 38400-902Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br

ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado Acadêmico, 134, PPGQUI				
Data:	Dezoito de janeiro de dois mil e vinte e três	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	18:00
Matrícula do Discente:	11813QMI004				
Nome do Discente:	Daiane Maria Oliveira Quaresma				
Título do Trabalho:	"ESTUDO FITOQUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE Solanum subumbellatum Vell. (SOLANACEAE)"				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Medicinal, Química de Produtos Naturais e Síntese Orgânica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	"Estudo químico e biológico de espécies do Cerrado"				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Google Meet, link https://meet.google.com/eaz-bzgc- ptb, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Amanda Danuello Pivatto, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia; Bruno Henrique Sacoman Torquato da Silva, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia; Adalberto Manoel da Silva, Instituto Federal Catarinense; Francyelle Borges Rosa de Moura, da Universidade Federal de Catalão e Alberto de Oliveira, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Alberto de Oliveira, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu a Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Documento assinado eletronicamente por **Alberto de Oliveira**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 19/01/2023, às 11:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Bruno Henrique Sacoman Torquato da Silva**, **Membro de Comissão**, em 19/01/2023, às 11:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Amanda Danuello Pivatto**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 19/01/2023, às 11:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Francyelle Borges Rosa de Moura**, **Usuário Externo**, em 19/01/2023, às 12:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Adalberto Manoel da Silva**, **Usuário Externo**, em 19/01/2023, às 15:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4203413** e o código CRC **8E4D1AA8**.

Referência: Processo nº 23117.092052/2022-14

Dedicatória

Ao meu avô Honorico e aos meus pais Donisete e Lucinha pelo incentivo em estudar as plantas medicinais. Ao meu esposo Stive que esteve sempre me apoiando e ao meu filho Jonas por todo amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela proteção diante dos obstáculos.

À Universidade Federal de Uberlândia, ao Instituto de Química da UFU e ao Programa de Pós-Graduação em Química, pelo espaço cedido para a realização deste projeto.

Ao Prof. Dr. Alberto de Oliveira pela orientação, ensinamentos, compreensão, confiança, apoio e pela paciência.

Ao Prof. Dr. Marcos Pivatto pela coorientação, contribuições e ensinamentos.

Ao Dr. Rafael A. C. Souza pelo auxílio no laboratório e contribuições.

As alunas Taís S. Adriano, Kamila N. Maia e Letícia A. Corrêa que fizeram iniciação cientifica nesse projeto e contribuíram para a realização desse trabalho.

Aos professores do Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais (NuPPeN) Roberto Chang, Francisco José Torres de Aquino, Sérgio A. L. de Morais e Raquel M. F. de Sousa, pelos seus auxílios para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. João Renato Stehmann pela identificação e classificação botânica.

Ao Prof. Dr. Foued S. Espindola e ao Dr. Allisson B. Justino pelos ensaios de atividade antioxidante.

Ao prof. Dr. Eduardo Bagagli e a Dra. Fabiana Furtado pela realização do ensaio antifúngico.

Ao Dr. Mário M. Martins pelas análises de espectrometria de massas e a Drª. Arlene B. dos S. Nossol pela análise de CG-EM.

Aos colegas do NuPPeN em especial a Tiara, ao Frank e ao Diego pelo companheirismo nas atividades do laboratório e nos estudos das disciplinas.

Ao meu marido Stive, por todo carinho e incentivo para concluir esta etapa da minha vida acadêmica.

Aos diretores e colegas de trabalho da E. E. Irmãos Guimarães pela compreensão e disposição em organizar os horários escolares para atender as atividades do doutorado.

Aos meus pais Donisete e Lucimar e a todos os meus familiares pelo incentivo.

A todos meus amigos, em especial a Juliana, obrigada pelo incentivo e carinho.

Ao apoio financeiro concedido pela FAPEMIG (Projeto APQ-01612-18) e ao CNPq.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Finance Code 001).

RESUMO

A espécie *Solanum subumbellatum* (Solanaceae), conhecida como jurubeba-de-cupim, é nativa do Cerrado e é empregada na medicina popular contra gripe, resfriado, bronquite, asma e diurético. As plantas do gênero *Solanum* são descritas na literatura por apresentarem atividades antifúngica e antioxidante. Assim, os objetivos deste estudo foram realizar as atividades biológicas dos extratos hexânicos (EH) e etanólicos (EE) das cascas das raízes (CR), miolo das raízes (MR), galhos (G) e folhas (F) e frações da *S. subumbellatum* e realizar o estudo químico dos extratos e frações mais ativas. No ensaio de atividade antioxidante pelo método do DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) foi observado que a fração acetato de etila das cascas das raízes (FAE-CR) apresentou a maior atividade antioxidante (CE_{50} = 32,5 µg mL^{-1}) em relação ao controle positivo ácido ascórbico (CE_{50} = 4,1 µg mL^{-1}). Pelo método ORAC (capacidade de absorção do radical de oxigênio) a FAE-CR (3862,5 µmol trolox eq g^{-1}) e a fração diclorometano das cascas das raízes (FD-CR) (3920,3 µmol trolox eq g^{-1}) apresentaram resultados superiores ao controle positivo ácido ascórbico (2576,0 µmol trolox eq g^{-1}). O EE-CR, o EE-F e o EH-F apresentaram maiores teores de fenóis totais, flavonoides e de proantocianidinas, respectivamente. Entre as frações, a FAE-CR seguido da FD-CR foram as que apresentaram maiores teores de fenóis totais (137,6 mg EAG g^{-1}; 103,4 mg EAG g^{-1}, respectivamente) e a FD-CR apresentou maior concentração de flavonoides (5,6 mg EQ g^{-1}). A atividade antifúngica foi realizada pelo método da microdiluição em caldo e a FD-CR foi a mais ativa contra *Candida albicans* (CIM = 19,5 µg mL^{-1}) e a fração hidrometanólica das cascas das raízes (FHM-CR) foi a mais ativa contra a *Cryptococcus neoformans* (CIM = 78,0 µg mL^{-1}), quando comparada com o controle positivo anfotericina (CIM = 0,5 µg mL^{-1}). As frações mais ativas, a FD-CR, FAE-CR e a FHM-CR, foram submetidas à cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM) no modo negativo e positivo, sendo anotados os seguintes ácidos clorogênicos: ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido 5-*O*-cafeoilquínico, ácido 4-*O*-feruloilquínico, além do cafeato de etila, e de alcaloides esteroidais: 3-amino-hidroxi-desidro-furostan-22-ol-*O*-(26)-*β*-D-Gli, fatimagraino, batachariaino, isojuripidina e a jurubidina. Estes compostos já foram descritos na literatura e estão relacionados a atividades biológicas. O cafeato de etila foi isolado a partir da FD-CR e elucidado pôr EM e ressonância magnética nuclear (RMN). Este composto apresenta muitas atividades biológicas já relatadas, como a antioxidante. Além disso, o cafeato de etila apresentou bioatividade forte contra *C. krusei*, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. orthopsilosis* e *Cryptococcus neoformans* (CIM's 4,7–18,7 µg mL^{-1}).

Dessa forma, esse primeiro estudo descrito na literatura sobre *S. subumbellatum* permite concluir que essa planta pode ser considerada uma fonte promissora de compostos com potencial antioxidante e antifúngico.

Palavras-chave: Jurubeba-de-cupim. Cerrado. Alcaloides. Antioxidante. Antifúngico.

ABSTRACT

The species *Solanum subumbellatum* (Solanaceae), also known as "jurubeba-de-cupim", is native from Cerrado and is used in folk medicine against the flu, cold, bronchitis, asthma and as a diuretic. The plants of the genus *Solanum* are described in the literature as having antifungal and antioxidant activities. Thus, the objectives of this study were to unveil the biological activities of hexane (HE) and ethanolic (EE) extracts of root bark (RB), root core (RC), twigs (T), leaves (L) and fractions of *S. subumbellatum* by carrying out the chemical study of the most active extracts and fractions. In the antioxidant activity test by DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) it was observed that the ethyl acetate fraction of the root bark (EAF-RB) showed the highest antioxidant activity (EC_{50} = 32.5 µg mL^{-1}) compared to the ascorbic acid positive control (EC_{50} = 4.1 µg mL^{-1}). By the ORAC method (oxygen radical absorption capacity), the values of FAE-CR (3862.5 µmol trolox eq g^{-1}) and the dichloromethane fraction of root bark (DF-RB) (3920.3 µmol trolox eq g^{-1}) have shown better results than the ascorbic acid positive control (2576.0 µmol trolox eq g^{-1}). The EE-RB, EE-L and HE-L showed higher levels of total phenols, flavonoids and proanthocyanidins, respectively. Among the fractions, the FAE-CR followed by the FD-CR showed the highest levels of total phenols (137.6 mg EAG g^{-1} and 103.4 mg EAG g^{-1}, respectively) and the FD-CR presented highest concentration of flavonoids (5.6 mg EQ g^{-1}). The antifungal activity was performed by the broth microdilution method and the FD-CR was the most active against *Candida albicans* (MIC = 19.5 µg mL^{-1}) and the hydromethanolic fraction of root bark (HMF-RB) was the most active against *Cryptococcus neoformans* (MIC = 78.0 µg mL^{-1}), when compared to the positive control amphotericin (MIC = 0.5 µg mL^{-1}). The most active fractions, DF-RB, EAF-RB and HMF-RB, were then subjected to high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC-MS) in negative and positive mode, and the following chlorogenic acids were recorded: caffeic acid, ferulic acid, 5-*O*-caffeoylquinic acid, 4-O-feruloylquinic acid, in addition to ethyl caffeate, and steroidal alkaloids: 3-amino-hydroxy-dehydro-furostan-22-ol-*O*-(26)-β-D-Gly, fatimagraine, bhattacharyyaine, isojuripidine and jurubidine. These compounds have already been described in the literature and are related to biological activities. Ethyl caffeine was isolated from DF-RB and elucidated by MS and nuclear magnetic resonance (NMR). This compound has many biological activities already reported, such as antioxidant. Furthermore, ethyl caffeate showed strong bioactivity against *C. krusei*, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. orthopsilosis* and *Cryptococcus neoformans* (MIC's 4.7–18.7 µg mL^{-1}). This is the first study to describe in the

literature the chemical composition of *S. subumbellatum*, that let us conclude that this plant can be considered a good source of compounds with antioxidant and antifungal properties.

Keywords: Jurubeba de cupim. Brazilian savannah. Alkaloids. Antioxidant. Antifungal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos de princípios ativos isolados de plantas. 22
Figura 2. Origem dos fármacos aprovadas de janeiro de 1981 a setembro de 2019..... 23
Figura 3. Gráfico da origem dos fármacos antifúngicos lançados entre 1981–2019..... 24
Figura 4. Fármacos antifúngicos desenvolvidos entre 1981–2019..... 25
Figura 5. Gráfico do perfil químico do gênero *Solanum.* 29
Figura 6. Vias de biossíntese do ME e suas conexões com o metabolismo primário.... 30
Figura 7. Exemplos de alcaloides: fármacos analisados para o tratamento da COVID-19..... 31
Figura 8. Principais classes dos alcaloides produzidos pelas plantas..... 33
Figura 9. Estrutura dos esteroides numerada..... 34
Figura 10. Estruturas de alguns alcaloides encontrados em espécies do gênero *Solanum*..... 36
Figura 11. Classes de compostos fenólicos produzidos pelas plantas. 38
Figura 12. Ácidos fenólicos e flavonoides do gênero *Solanum*..... 41
Figura 13. Classes de terpenos produzidos pelas plantas. 43
Figura 14. Terpenos presentes do gênero *Solanum* ilustrado na Tabela 2..... 45
Figura 15. Compostos isolados no gênero *Solanum* com atividade antifúngica... 49
Figura 16. Fotografias de *Solanum subumbellatum.* 50
Figura 17. Antioxidantes presentes na batata (*Solanum tuberosum*)..... 52
Figura 18. Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica..... 53
Figura 19. Estruturas de antioxidantes..... 54
Figura 20. Mecanismo de ação dos antifúngicos frente a célula fúngica. 56
Figura 21. Estruturas dos antifúngicos utilizados atualmente. 58
Figura 22. Fluxograma de preparo dos extratos. 66
Figura 23. Esquema do processo de extração líquido-líquido do EE-CR de *S. subumbellatum.* 66
Figura 24. Fluxograma do fracionamento da FD-CR das RE de *S. subumbellatum*..... 73
Figura 25. Reação entre a rutina e o reagente difenilborato aminoetanol (NP)..... 76
Figura 26. Reação do colesterol com o reagente de Liebermann-Buchard. 77

Figura 27. Sistema conjugado na luteína. 78
Figura 28. Esquema da formação do complexo nitrogenado com o bismuto..... 79
Figura 29. Esquema da formação do complexo nitrogenado com a platina. 79
Figura 30. Reação entre os compostos fenólicos e os derivados dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolíbdico em meio básico. 81
Figura 31. Reação de complexação da quercetina com o cloreto de alumínio. 82
Figura 32. Reação entre a vanilina a proantocianidina formando um composto vermelho..... 82
Figura 33. Mecanismo da reação entre a vanilina e um monômero do tanino catéquico. 83
Figura 34. Reação do DPPH• com a eliminação por um antioxidante (AH). 86
Figura 35. Reação do radical AAPH durante o ensaio com o ORAC. 87
Figura 36. Reação entre o radical DPPH e os compostos fenólicos. 88
Figura 37. Mecanismo da ação antioxidante do ácido ascórbico. 88
Figura 38. Reação química de redução da resazurina para resorufina. 90
Figura 39. Cromatogramas obtidos por CLAE-EM-IES no modo negativo da FD-CR, FAE-CR e FHM-CR. 95
Figura 40. Cromatogramas obtidos por CLAE-EM-IES no modo positivo da FD-CR, FAE-CR e FHM-CR. 96
Figura 41. Compostos anotados por CLAE-EM/EM-IES-(–/+). 101
Figura 42. Rota biossintética dos ácidos clorogênicos anotados. 103
Figura 43. A) EM-IES-(–) em alta resolução do ácido cafeico; B) EM/EM-IES-(–). ... 104
Figura 44. Proposta de fragmentação para o ácido cafeico anotado por EM/EM-IES-(–) na FD e FAE das cascas das raízes de *S. subumbellatum.* 105
Figura 45. A) EM-IES-(–) em alta resolução do ácido ferúlico; B) EM/EM-IES-(–). .. 106
Figura 46. Proposta de fragmentação para o ácido ferúlico anotado por EM/EM-IES-(–) na FD e FAE das cascas das raízes de *S. subumbellatum.* 106
Figura 47. EM-IES-(–) em alta resolução dos ácidos 5-*O*-CQA (A) e do 4-*O*-FQA (B); EM/EM-IES-(–) do 5-*O*-CQA (A') e 4-*O*-FQA (B'). 108
Figura 48. Proposta de fragmentação para o 5-*O*-CQA anotado por EM/EM-IES-(–) nas frações FD, FAE e FHM das cascas das raízes de *S. subumbellatum* 109
Figura 49. Proposta de fragmentação para o 4-*O*-FQA anotado por EM/EM-IES-(–) na FD, FAE e FHM das cascas das raízes de *S. subumbellatum*. 109

Figura 50. EM-IES em alta resolução do cafeato de etila da fração FD, modo negativo (A); modo positivo (B); EM/EM-IES-(–) (A'); EM/EM-IES-(+) (B'). 111
Figura 51. Proposta de fragmentação para o cafeato de etila anotado por EM/EM-IES-(–) na FD das cascas das raízes de *S. subumbellatum.* 112
Figura 52. Biossíntese dos alcaloides esteroidais e seus diferentes esqueletos. 113
Figura 53. EM-IES-(+) em alta resolução do fatimagraino fatimagraino ou do isômero. 114
Figura 54. EM-IES-(+) em alta resolução do isômero do fatimagraino fatimagraino ou do isômero..... 114
Figura 55. EM-IES-(+) em alta resolução da jurubina. 115
Figura 56. EM-IES-(+) em alta resolução do batachariaino ou do isômero.. 115
Figura 57. EM-IES-(+) em alta resolução do batachariaino ou do isômero.. 116
Figura 58. Fórmulas estruturais da jurubina, do fatimagraino e do batachariaino. 116
Figura 59. EM/EM-IES-(+) da jurubina (A), batachariaino (B) e do fatimagraino (C). 118
Figura 60. Proposta de fragmentação para a jurubina (A), batachariaino (B) e fatimagraino (C) anotados por EM/EM-IES-(+) na FD, FAE e FHM das CR de *S. subumbellatum*..... 119
Figura 61. A) EM-IES-(+) em alta resolução para o 3-amino-hidroxi-desidro-furostan-22-ol-*O*-(26)-β-D-Gli; B) EM/EM-IES-(+). 120
Figura 62. EM-IES-(+) em alta resolução da isojuripidina. 121
Figura 63. EM-IES-(+) em alta resolução da jurubidina. 122
Figura 64. EM-IES-(+) em alta resolução do isômero da jurubidina. 122
Figura 65. EM/EM-IES-(+) da isojuripidina (D) e da jurubidina (E)..... 123
Figura 66. Proposta de fragmentação para a isojuripidina (D) e para a jurubidina (E) anotadas por EM/EM-IES-(+) na FD e FAE das CR de *S. subumbellatum*.. 124
Figura 67. Fórmula estrutural do cafeato de etila ((*E*)-3-(3,4-diidroxifenil)acrilato de etila). 125
Figura 68. Cromatograma do cafeato de etila obtido por CG–EM..... 126
Figura 69. EM–IE do cafeato de etila obtido por CG–EM. 126
Figura 70. Proposta de fragmentação para o cafeato de etila por EM-IE isolado da FD-CR de *S. subumbellatum.* 127
Figura 71. Espectro de RMN de ^{1}H do cafeato de etila (400 MHz, $CDCl_3$). 131
Figura 72. Ampliação da Figura 72 (δ 6,20–7,60) do cafeato de etila. 132
Figura 73. Mapa de contorno COSY do composto cafeato de etila (400 MHz, $CDCl_3$). 133

Figura 74. Espectro de RMN de ^{13}C do composto cafeato de etila (100 MHz, $CDCl_3$). 134
Figura 75. Espectro de DEPT 135 do composto cafeato de etila (100 MHz, $CDCl_3$).... 135
Figura 76. Mapa de contorno HSQC do composto cafeato de etila (400 MHz, $CDCl_3$). 136
Figura 77. Mapa de contorno HMBC do composto cafeato de etila (400 MHz, $CDCl_3$). 137
Figura 78. Representação de algumas correlações entre $^{1}H \rightarrow {}^{13}C$ (HMBC) do cafeato de etila isolada da CR-FD de *S. subumbellatum*..... 138
Figura 79. EM/EM-IES-(+) do fatimagraino ou do isômero (*m/z* 594)..... 162
Figura 80. EM/EM-IES-(+) do batachariaino ou do isômero (*m/z* 578)..... 162
Figura 81. EM/EM-IES-(+) da jurubidina ou do isômero (*m/z* 416)..... 163
Figura 82. EM/EM-IES-(+) do composto n.d (*m/z* 374). 163
Figura 83. EM/EM-IES-(+) do composto n.d. (*m/z* 358). 163
Figura 84. EM/EM-IES-(–) do composto n.d. (*m/z* 667)..... 164
Figura 85. EM/EM-IES-(–) do composto n.d. (*m/z* 599)..... 164
Figura 86. EM/EM-IES-(+) do composto n.d. (*m/z* 316)..... 164
Figura 87. EM/EM-IES-(–) do composto n.d. (*m/z* 640)..... 165
Figura 88. EM/EM-IES-(+) do composto n.d. (*m/z* 223). 165
Figura 89. EM/EM-IES-(–) do composto n.d. (*m/z* 448)..... 165

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ácidos fenólicos e flavonoides de espécies de *Solanum*. 40
Tabela 2. Terpenos presentes em espécies de *Solanum*. 44
Tabela 3. Espécies de *Solanum* utilizadas na medicina popular. 46
Tabela 4. Atividades biológicas de plantas do gênero Solanum. 47
Tabela 5. Moléculas com atividades antifúngicas isoladas no gênero *Solanum*. 48
Tabela 6. Reagentes utilizadas no desenvolvimento da pesquisa. 61
Tabela 7. Teor de umidade das cascas das raízes, miolo das raízes, galhos e folhas de *S. subumbellatum*. 65
Tabela 8. Rendimento dos EH e EE das raízes, galhos e folhas de *S. subumbellatum*.... 74
Tabela 9. Rendimento da extração líquido-líquido das EE-CR de *S. subumbellatum*. ... 75
Tabela 10. Faixas do espectro visível. 78
Tabela 11. Prospecção química dos extratos de *S. subumbellatum*. 80
Tabela 12. Prospecção química do EE e frações das CR de *S. subumbellatum*. 80
Tabela 13. Teores de fenóis totais, flavonoides e proantocianidinas dos extratos de *S. subumbellatum*. 84
Tabela 14. Comparação dos teores de fenóis totais, flavonoides e proantocianidinas dos extratos etanolicos de *S. subumbellatum* e de *S. nigrum*. 85
Tabela 15. Teores de fenóis totais, flavonoides e proantocianidinas dos extratos e frações das CR de *S. subumbellatum*. 85
Tabela 16. Atividade antioxidante dos EH e EE de *S. subumbellatum*. 89
Tabela 17. Atividade antioxidante dos extratos e frações das CR de *S. subumbellatum*. 90
Tabela 18. CIM (μg mL^{-1}) da atividade antifúngica dos EH e EE da *S. subumbellatum*. 91
Tabela 19. CIM da atividade antifúngica do EE de espécies do gênero *Solanum*. 92
Tabela 20. CIM (μg mL^{-1}) dos extratos e frações das CR de *S. subumbellatum*. 92
Tabela 21. Proposta da composição química FD[a], da FAE[b] e da FHM[c] do EE-CR de *S. subumbellatum* por CLAE-ME/ME-IES-(–/+) (continua). 97
Tabela 22. Dados de RMN de ^{1}H e ^{13}C para o cafeato de etila isolado da FD-CR de *S. subumbellatum* e dados comparativos da literatura. 129
Tabela 23. Correlações observadas nos mapas de DEPT 135, COSY, HSQC e HMBC para o cafeato de etila. 130
Tabela 24. Esquema de classificação para composto isolado de acordo com os valores de CIM para atividade antifúngica.. 140

Tabela 25. CIM (µg mL^{-1}) da atividade antifúngica do cafeato de etila da *S. subumbellatum*. 140

LISTA DE ABREVIATURAS

AAPH – 2,2'-azobis (2-amidinopropano) di-hidrocloreto

Ara – Arabinopiranosil

BHA – Hidroxianisol butilado

BHT – Butilidroxitolueno

CAS – *Chemical Abstracts Service*

CC – Cromatografia em coluna

CCD – Cromatografia em camada delgada

CE_{50} – Concentração necessária para inibição de 50% do radical

CG-EM – Cromatografia gasoso acoplada a espectrometria de massas

CIM – Concentração inibitória mínima

CLAE-EM – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas

CLSI – *Clinical and laboratory standards institute*

COSY – *Correlation spectroscopy*

COVID – Doença do coronavírus

CQA – ácido cafeoilquínico

CRF – Fragmentação de retenção de carga

DCM – diclorometano

DEPT – *Distortionless enhancement by polarization transfer*

DPPH – 2,2-difenil-1- picrilidrazila

EM – Espectrometria de massas

DMSO – Dimetilsulfóxido

EE-F – Extrato etanólico das folhas

EE-G – Extrato etanólico dos galhos

EM-IE – Espectrometria de massas com ionização por impacto de elétrons

EM-IES – Espectrometria de massas com ionização por *eletrospray*

EE-CR – Extrato etanólico das cascas das raízes

EE-MR – Extrato etanólico do miolo das raízes

EH-F – Extrato hexânico das folhas

EH-G – Extrato hexânico dos galhos

EH- CR – Extrato hexânico das cascas das raízes

EH-MR – Extrato hexânico do miolo das raízes

FAc – Fração acetato de etila

FD – Fração diclorometano

FE – Fase estacionária

FH – Fração hexano

FHM – Fração hidrometanólica

FQA – ácido feruloilquínico

FM –fase móvel

Gal – Galactopiranosil

Gli – Glicopiranosil

HAT – *Sequential próton loss electron transfer*

HMBC – *Heteronuclear multiple bond correlation*

HSQC – *Heteronuclear single quantum correlation*

ICPt – Iodocloroplatinato

IES – Ionização por *eletrospray*

ME – Metabólitos especializados

MeOH – metanol

NP – difenilborato aminoetanol

NuPPeN – Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais

OG – galato de octila

OMS – Organização Mundial da Saúde

ORAC – capacidade de absorção do radical de oxigênio

PEG – Polietilenoglicol

PG – Galato de propila

Rha – Ramnopiranosil

RHR – Rearranjo remoto de hidrogênio

RMN – Ressonância magnética nuclear

RMN de ^{1}H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio 1

RMN de ^{13}C – Ressonância magnética nuclear de carbono 13

t_R – Tempo de retenção

t-BHQ – *terc*-butilidroquinona

TMS – tetrametilsilano

SPLET – *Sequential próton loss electron transfer*

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

UFU – Universidade Federal de Uberlândia

UV – Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA 20

2 REFERENCIAL TEÓRICO 27

2.1 A FAMÍLIA SOLANACEAE E O METABOLISMO VEGETAL 27

2.2 BIOSSÍNTESE E PRINCIPAIS CLASSES DE COMPOSTOS NO GÊNERO *SOLANUM* 29

2.2.1 Alcaloides 30

2.2.2 Compostos fenólicos 37

2.2.3 Terpenos 42

2.3 ATIVIDADES MEDICINAIS NO GÊNERO *SOLANUM* 45

2.4 *SOLANUM SUBUMBELLATUM* 50

2.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE 51

2.6 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA 55

3 OBJETIVOS 60

3.1 OBJETIVO GERAL 60

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 60

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL 61

4.1 SOLVENTES E REAGENTES 61

4.2 INSTRUMENTAÇÃO 62

4.3 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS 62

4.4 TÉCNICA ESPECTROSCÓPICA: RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) 64

4.5 MATERIAL VEGETAL 64

4.6 PREPARO DOS EXTRATOS DAS RAÍZES, GALHOS E FOLHAS DE *S. SUBUMBELLATUM* 65

4.7 EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DO EE-CR DE *S. SUBUMBELLATUM* 66

4.8 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA 67

4.9 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS 68

4.10 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PROANTOCIANIDINAS 69

4.11 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES 69

4.12 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE 69

4.13 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA 71

4.14 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DA FD DAS CR DE *S. SUBUMBELLATUM* 72

4.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA 73

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES 74

5.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DAS CASCAS DAS RAÍZES DE *S. SUBUMBELLATUM* 74

5.2 PROSPECÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE *S. SUBUMBELLATUM* 75

5.3 TEORES DE FENÓIS TOTAIS, FLAVONOIDES E PROANTOCIANIDINAS DOS EXTRATOS E FRAÇÕES 80

5.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE 85

5.5 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA 90

5.6 ANOTAÇÃO DOS METABÓLITOS ESPECIALIZADOS DA FD, FAE E FHM DAS CASCAS DAS RAÍZES DE *S. SUBUMBELLATUM*. 93

5.7 ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DO CAFEATO DE ETILA 125

5.8 RELAÇÃO DOS POTENCIAIS FARMACOLÓGICOS DOS COMPOSTOS PRESENTES NA FD, FAE E FHM DAS CASCAS DAS RAÍZES DE *S. SUBUMBELLATUM*. 138

5.9 POTENCIAL FARMACOLÓGICO DO CAFEATO DE ETILA ISOLADO DA FD-CR DE *S. SUBUMBELLATUM*. 139

6 CONCLUSÃO 141

REFERÊNCIAS 142

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil é o quinto maior país em extensão e apresenta a sexta maior população do mundo, com cerca de 213.317.639 milhões de pessoas (IBGE, 2021). Com o crescimento populacional foi necessário aumentar a produção de alimentos, cujo cultivo em larga escala vem reduzindo habitats nativos para a flora e a fauna. Considerando os impactos, em especial acerca da flora, nos últimos anos a etnobotânica vem sendo considerada um instrumento importante de valorização e identificação de potenciais de proteção do conhecimento tradicional, uma vez que os saberes populares sobre as plantas medicinais não podem ser perdidos (ALBUQUERQUE et al., 2022).

Tal conhecimento foi passando de geração em geração, sendo que as pessoas mais velhas como os avós são detentoras dos saberes e tal conhecimento deve ser valorizado. A terapia pelas plantas remonta a antiguidade, pois o homem sempre buscou nos vegetais substâncias medicamentosas responsáveis pelo alívio e cura dos males humanos. O médico e filósofo Hipócrates disse: “O homem é uma parte integral do cosmo e só a natureza pode tratar seus males”, mostrando com isso, que as causas das doenças eram naturais e não punições divinas como se acreditava até então, e que podiam ser tratadas com medicamentos de origem natural (BARACHUH et al., 2016).

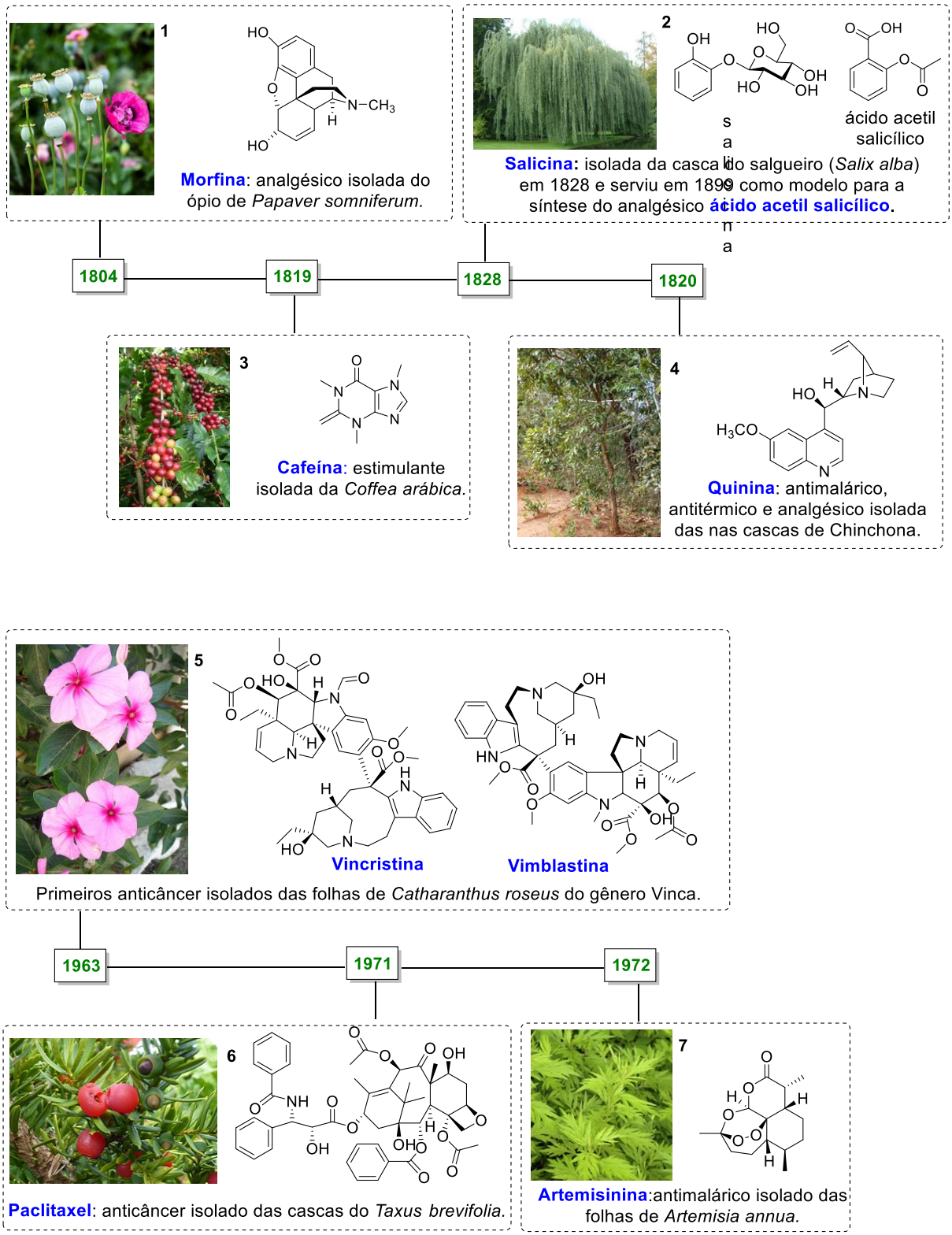
Nos últimos anos, tem-se observado que o consumo dos produtos naturais vem aumentando, seja na prescrição e orientação, por parte de profissionais de saúde ou por incentivo das políticas governamentais e mídias sociais, ou então ou para fins estéticos, como o emagrecimento (PEDROSO et al., 2021). As plantas medicinais são importantes para uma parcela considerável da população mundial que não tem ao seu alcance os medicamentos industrializados (OLIVEIRA et al., 2020). Assim, as plantas constituem alternativas terapêuticas complementares ao tratamento de doenças trazendo inúmeros benefícios à saúde, quando utilizadas racionalmente e de maneira adequada, visto que os vegetais produzem compostos químicos que estão presentes nas raízes, galhos, folhas, flores e ou frutos, e que podem atuar beneficamente. Contudo alguns compostos oriundos de plantas podem agirem de forma tóxica, enfatizando que o uso de uma espécie vegetal deve ser feito com segurança e é fundamental que a mesma seja estudada sob o ponto de vista químico, biológico e toxicológico (ALVES et al., 2022; PEDROSO et al., 2021).

No Brasil, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterapia, criada em 22 de junho 2006, nº 5.813, têm como objetivo buscar melhorias no bem-estar da população promovendo,

entre outros resultados, a melhoria na saúde (BRASIL, 2006). Posteriormente, em 09 de dezembro de 2008 a portaria de nº 2.960, criou o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterapia, que concede uso seguro e racional de plantas medicinais e fitoterápicos, garantindo que seja feito com segurança, de forma eficaz e com qualidade. A partir disso, foi reconhecido de forma oficial o uso das plantas medicinais e da fitoterapia, levando em 2016 à divulgação de um resultado interessante que foi levantado a partir de dados coletados no Sistema Universal de Saúde, onde em cerca de dois milhões de consultas práticas integrativas registradas no sistema mais de oitenta e cinco mil foram considerados fitoterapia (ESTEVES et al., 2020).

Nesse sentido, com o surgimento de novas técnicas científicas a partir do século XIX os pesquisadores, considerando o saber popular e seus usos, realizaram estudos mais avançados das propriedades das plantas medicinais, o que permitiu o isolamento de alguns princípios ativos utilizados até hoje ou que serviram como modelos para a síntese de novos medicamentos (Figura 1) (NEWMAN et al., 2020; VIEGAS-JR et al., 2006).

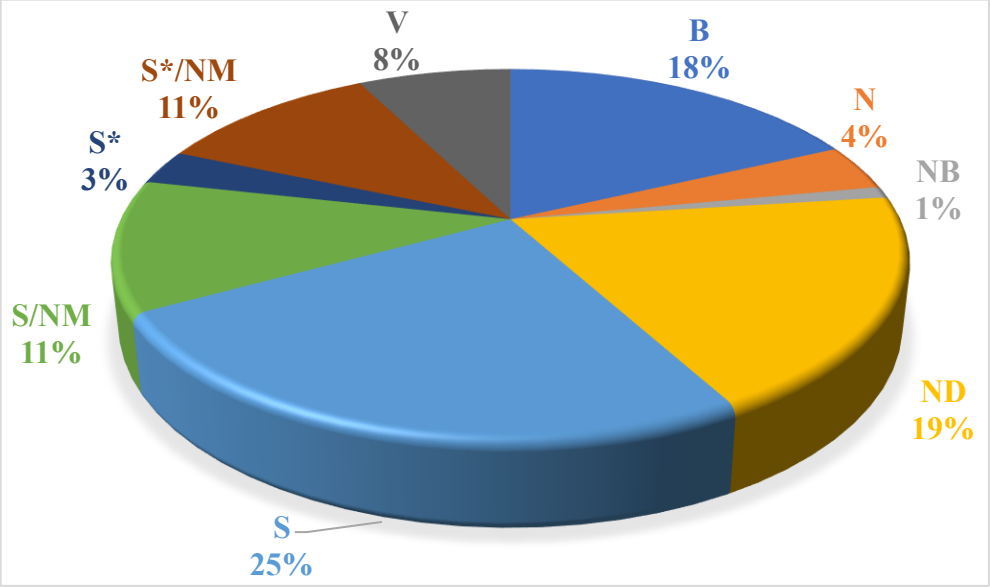
Figura 1. Exemplos de princípios ativos isolados de plantas.



Fonte: adaptado de Valli; Bolzani (2019) e imagens de: [1]Krishnamurti, Rao (2016); Theotherkev, (2019). [2] Dias et al., (2012); Flora (2018). [3] Shashi et al., (2015); Machabuca (2006). [4] Morais (2008); Renslo (2013). [5] Taher et al., (2019); Faroleco (2012). [6] Goosen (2017). [7] Kushka (2020).

Newman e Cragg (2020) também demonstraram a importância dos produtos naturais na descoberta de novos fármacos. Segundo levantamento, a maioria dos 1.881 medicamentos aprovados pelo *Food and Drug Administration* entre 1981 e 2019 tiveram a sua origem em produtos naturais. Observando a Figura 2 pode-se verificar que 4% do total corresponde aos fármacos isolados de produto natural, entretanto 49% dos fármacos foram produzidos inspirados em produtos naturais (exceto os sintéticos, vacinas e macromoléculas biológicas).

Figura 2. Origem dos fármacos aprovadas de janeiro de 1981 a setembro de 2019.



Nota: PN - produto natural; B - macromolécula biológica; NB - produto natural "botânico" (fitoterápicos); ND - derivado de produto natural com modificação semissintética; NM - composto desenvolvido a partir do conhecimento adquirido de produto natural; S - sintético; S*- sintético com grupo farmacofórico de produto natural e V - vacina. Fonte: adaptado de Newman e Cragg (2020).

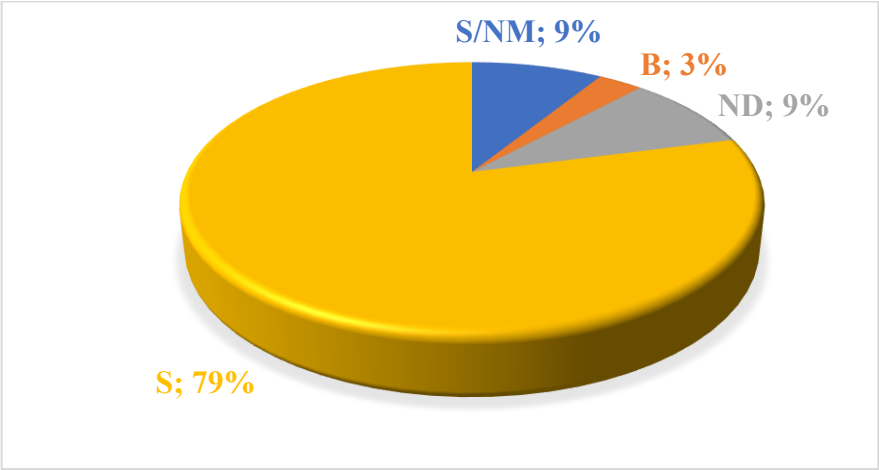
Contudo, apesar de novas descobertas de medicamentos, a busca de fármacos está longe de terminar, visto que doenças não transmissíveis, incluindo câncer e cardiopatias, permanecem responsáveis por quase 70% das mortes em todo o mundo, e transmissíveis, como malária e tuberculose, também afetam bilhões de pessoas. Além disso, em dezembro de 2019 foi descoberto o novo coronavírus que recebeu o nome de SARS-CoV-2 (coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave), cuja doença recebeu a denominação pela OMS de doença do Coronavírus 19 (COVID-19). Muitas pessoas vieram a óbito e se fez necessário uma busca urgente por novos medicamentos e a produção de vacinas para controlar novas infecções causadas pelo vírus (ANTONELLI, 2020; HOWES et al., 2020).

Há ainda preocupações acerca do risco de infecções causadas pelos fungos, como aqueles do gênero *Candida*. Esses microrganismos também podem causar várias infecções em pacientes suscetíveis, incluindo pacientes idosos, hospitalizados ou imunossuprimidos. Visto que, quando há um desequilíbrio dessa microbiota várias doenças infecciosas podem surgir, como a candidíase e a candidemia (BHATTACHARYA, SAE-TIA, FRIES, 2020). De acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças estima-se que 34.000 casos de candidíase foram relatados em pacientes hospitalizados e cerca de 1.700 pessoas morreram em 2017 (CDC, 2019). Os tipos de candidíase variam conforme a região do corpo que foi afetada, sendo que os principais tipos são as candidíases: vaginal, peniana, oral e na pele. Quando não tratada, as lesões podem ser agravadas (MAGALHÃES, 2022). E a candidemia é uma infecção da corrente sanguínea e está associada a uma taxa de mortalidade entre 45 a 50% (ANTINORI et al., 2016).

Outra doença causada por fungo é a criptococose, cujo agente etiológico é o *Cryptococcus neoformans,* encontrado nas fezes de aves, principalmente dos pombos. Representa a principal causa de meningoencefalite, morte em indivíduos com a síndrome da imunodeficiência adquirida e pode levar a infecções pulmonares graves (BRASIL, 2021).

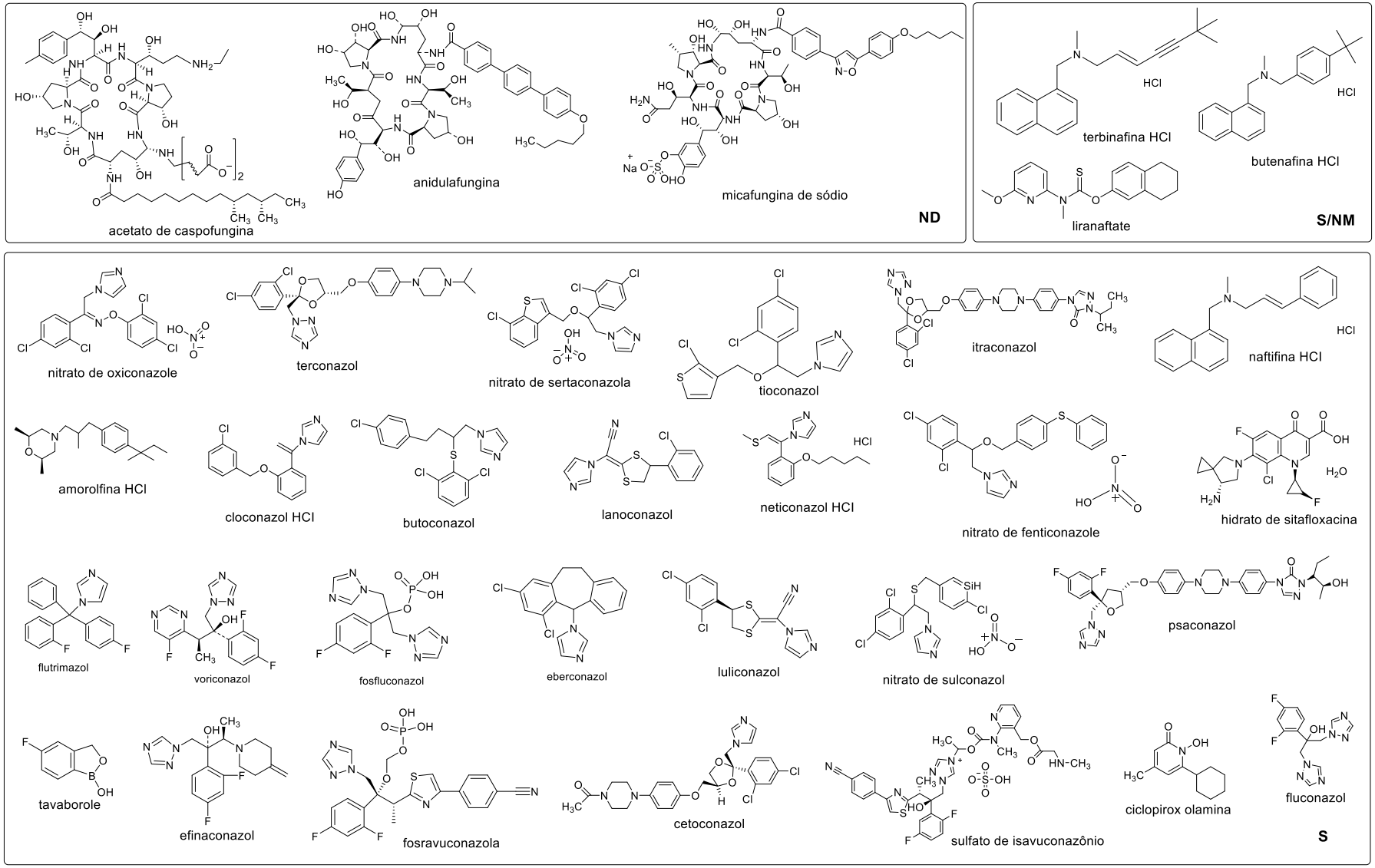
A importância dos produtos naturais com atividade antifúngica é destacada no estudo realizado por Newman e Cragg (2020), onde entre os 34 fármacos citados com potencial antifúngico, três (9%) deles foram classificados em ND e três (9%) em S/NM como ilustrado na Figura 3 e na Figura 4.

Figura 3. Gráfico da origem dos fármacos antifúngicos lançados entre 1981–2019.



Nota: S - sintético. NM - composto desenvolvido a partir do conhecimento adquirido de produto natural. B - macromolécula biológica; ND - derivado de produto natural com modificação semissintética. Fonte: adaptado de Newman e Cragg (2020).

Figura 4. Fármacos antifúngicos desenvolvidos entre 1981–2019.



Interferon gama-n1: é uma macromolécula biológica (**B**) da classe de proteínas espécies (ou glicoproteínas), produzida de acordo com informações codificadas por espécies de genes de interferon e que exercem complexos efeitos biológicos. Neste caso é utilizado a radiação gama e o n indica que se trata de mistura com interferons de ocorrência natural.

Fonte: adaptado de Newman e Cragg (2020).

O uso demasiado desses medicamentos ocasiona o aumento da resistência microbiana, devido principalmente a alterações na parede celular fúngica e evolução genética dos fungos (HOUŠŤ et al., 2020; SARDI et al., 2013). Além disso, os antifúngicos convencionais, como a anfoterecina B e a fluorocitosina têm mostrado efeitos colaterais, sendo que os mais graves são hepatotoxicidade (de toxicidade hepática, dano no fígado), nefrotoxicidade (efeito deletério sobre a função renal) e mielotoxicidade (ou toxicidade hematológica), que se trata da redução da produção de células do sangue, como hemoglobinas, neutrófilos e plaquetas (HOUŠŤ, SPÍŽEK, HAVLÍČEK, 2020).

A OMS identificou esse tipo de resistência antimicrobiana como uma das ameaças dominantes de 2021 (OMS, 2021), o que enfatiza a importância do desenvolvimento de novos fármacos. Segundo Valli e Bolzani (2019) uma alternativa é a busca nas plantas por novas biomoléculas. Compostos fenólicos, flavonoides, esteroides, terpenos e alcaloides foram isolados de plantas e tem mostrado atividade antifúngica contra diferentes espécies de fungos (KAUNDA et al., 2019).

Muitos desses compostos também atuam como antioxidantes, bloqueando o efeito danoso causados pelas espécies reativas de oxigênio, de nitrogênio, entre outras, devido suas propriedades redutoras correlacionadas à estrutura química. O estresse oxidativo provocado pelo desequilíbrio das espécies reativas no organismo está relacionado ao desenvolvimento de várias doenças, como diabetes, câncer, aterosclerose, asma, atrite, Parkinson e Alzheimer (ANRAKU et al., 2018; APAK et al., 2016; GULCIN, 2020). O butilidroxitolueno (BHT) e o *terc*-butilidroquinona (*t*-BHQ), por exemplo, são antioxidantes utilizados em conservantes de alimentos. Todavia, há relatos na literatura de seus efeitos colaterais, como o aumento da síntese de enzimas digestivas no fígado; risco de alergia manifestado por erupção cutânea, urticária, angioedema e eczema; aumento dos níveis de colesterol e lipídios no sangue e o risco de acúmulo no tecido adiposo. Assim, nenhum desses antioxidantes podem ser usados em alimentos para bebês e crianças (SILVA et al., 2016). Dessa forma, nos últimos anos diversos estudos estão voltados na obtenção de novos oxidantes, uma vez que antioxidantes naturais são benéficos para o organismo e podem ser obtidos das plantas (APAK et al., 2016; KIM et al., 2019).

Com relação à disponibilidade de material vegetal para estudos de produtos naturais, o Brasil apresenta uma grande biodiversidade, com cerca de 42 mil espécies vegetais, que estão divididas em seis biomas: Mata Atlântica, Amazônia, Caatinga, Pampa, Pantanal e Cerrado (BUSTAMANTE et al., 2019).

O Cerrado é o segundo maior, ocupa cerca de 23,3% do território nacional (IBGE, 2019) e há cerca de 12.866 espécies vegetais, sendo que 12.113 são angiospermas e 366 estão ameaçadas de extinção (MARTINELLI et al., 2014). Estima-se que apenas cerca de 20% da área original ainda esteja preservada devido a desmatamentos e queimadas. Além disso, o uso de fertilizantes químicos e agrotóxicos já deixaram 67% das áreas do Cerrado "altamente modificadas". Há várias consequências causadas pelo desmatamento de um bioma, como alteração no microclima da região, erosão do solo, desertificação e arenização, além da perda de biodiversidade (AGUIAR et al., 2016).

Neste contexto, neste trabalho foi estudada a espécie *Solanum subumbellatum*, nativa do Cerrado, conhecida popularmente como jurubeba-de-cupim ou jurubebinha e pertencente à família Solanaceae. Esta planta foi selecionada para o estudo por ser utilizada na medicina tradicional (RODRIGUES et al., 2001), onde inclusive familiares da autora utilizam o chá das cascas das raízes contra gripe, bronquite e diuréticos. Também foi escolhida por não apresentar registros na literatura de sua composição química. Além disso, plantas do gênero *Solanum* apresentaram atividades biológicas descritas, como antifúngica (KAUNDA et al., 2019; PINTO et al., 2011) e a antioxidante (MARTINS et al., 2021; MORAIS et al., 2015).

Dessa forma, esse trabalho visa valorizar as espécies presentes no Cerrado, por meio do estudo da *S. subumbellatum.* Além de contribuir na formação dos discentes envolvidos contribuindo para o crescimento da instituição.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A família Solanaceae e o metabolismo vegetal

A família Solanaceae, da qual a *S. subumbellatum* pertence, compõe um dos maiores grupos dentre das angiospermas e dicotiledôneas, compreendendo 98 gêneros e mais de 2.700 espécies, possuindo distribuição presente em todo o mundo, sendo a América do Sul um dos principais centros de diversidade e ocorrência das espécies. Podem ser arbustivas, árvores, ervas e/ ou lianas (DUPIN et al., 2016).

Na literatura há vários trabalhos que destacam a composição química de plantas da família Solanaceae que apresentam diversas classes de compostos, sendo grande número de artigos com destaque para os alcaloides e compostos fenólicos (KAUNDA et al., 2019). Tais compostos são denominados de metabólitos especializados (ME) (metabólitos secundários).

Vale destacar que as espécies vegetais produzem compostos orgânicos que são nomeados de metabólitos, e são produzidos por metabolismos primário e secundário (ou especializado) (BRAZ-FILHO, 2010; MOHIUDDIN, 2019).

Os metabólitos primários compreendem as macromoléculas (carboidratos, lipídeos, nucleotídeos e proteínas) que são essenciais para o crescimento e sobrevivência do organismo e são muito semelhantes aos de espécies não vegetais. Já os ME são entidades moleculares, com a função de sobrevivência e reprodução do organismo, e são produzidos mediante a um arsenal de estresses bióticos e abióticos, como a ação de microrganismos, herbívoros, alelopatia, índice pluviométrico, radiação UV, entre outros (ALSEEKH; FERNIE, 2018; GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Na família Solanaceae são encontrados uma diversidade de ME, como os alcaloides, saponinas, cumarinas, terpenos e compostos fenólicos (KAUNDA et al., 2019).

A biossíntese dos ME é específica de um ou mais tecidos e células vegetais, e sua concentração pode ser restrita a um único órgão, como raízes, galhos ou folhas. A maioria das substâncias são sintetizados no citoplasma, no retículo endoplasmático ou nas organelas do vegetal. Os compostos hidrofílicos são geralmente armazenados no vacúolo após sua formação no citoplasma, já as substâncias lipofílicas são retidas em dutos, laticíferos, tricomas, membranas do tilacoides ou na cutícula (PAGARE et al., 2015). Nas raízes de plantas da família Solanaceae foram isolados grande quantidade de alcaloides esteroidais, nos galhos foram isolados flavonoides e nas folhas foram isolados saponinas esteroidais. Estes compostos apresentam propriedades medicinais (SILVA et al., 2020; VALADARES et al., 2009).

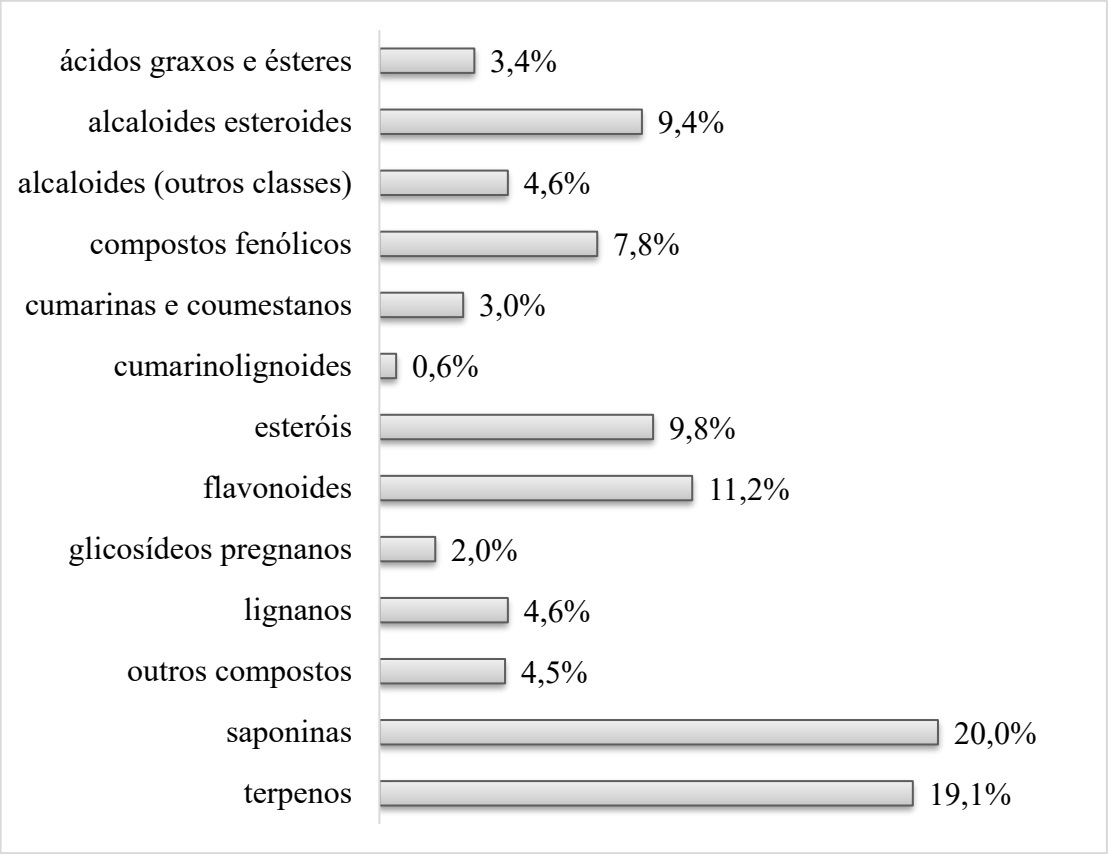
Além da importância medicinal, as plantas da família Solanaceae também apresentam importância para alimentação humana, são exemplos, a batata (*Solanum tuberosum*), o tomate (*S. lycopersicum*), a beringela (*S. melongena*), o jiló (*S. gilo*), o pepino (*S. muricatum*) e as pimentas e os pimentões (*Capsicum sp.*). Já as espécies de *Petunia*, *Schizanthus*, *Salpiglossis, Datura e de Solanum* (como a *S. aviculare*, *S. capsicastrum*, *S. crispum* e a *S. laciniatum*) apresentaram valor ornamentais. Já o tabaco (*Nicotiana tabacum*) tem valor econômico.

As solanáceas são encontradas em uma variedade de ecossistemas, desde os desertos a vegetações mais densas. No Brasil, ocorrem 33 gêneros e 470 espécies, das quais 221 são consideradas endêmicas (KAUNDA et al., 2019; STEHMANN et al., 2015).

2.2 Biossíntese e principais classes de compostos no gênero *Solanum*

O gênero *Solanum* é o maior da família Solanaceae com 2.000 plantas (KAUNDA et al., 2019). Os ME do gênero foram analisados por Kaunda et al., (2019) que estudaram 65 trabalhos publicados de 1990 a 2017 a partir de espécies medicinais de *Solanum*, sendo identificados pelo menos 670 compostos, como saponinas esteroidais, alcaloides, glicosídeos, cumarinas, terpenos, compostos fenólicos, entre outros (Figura 5).

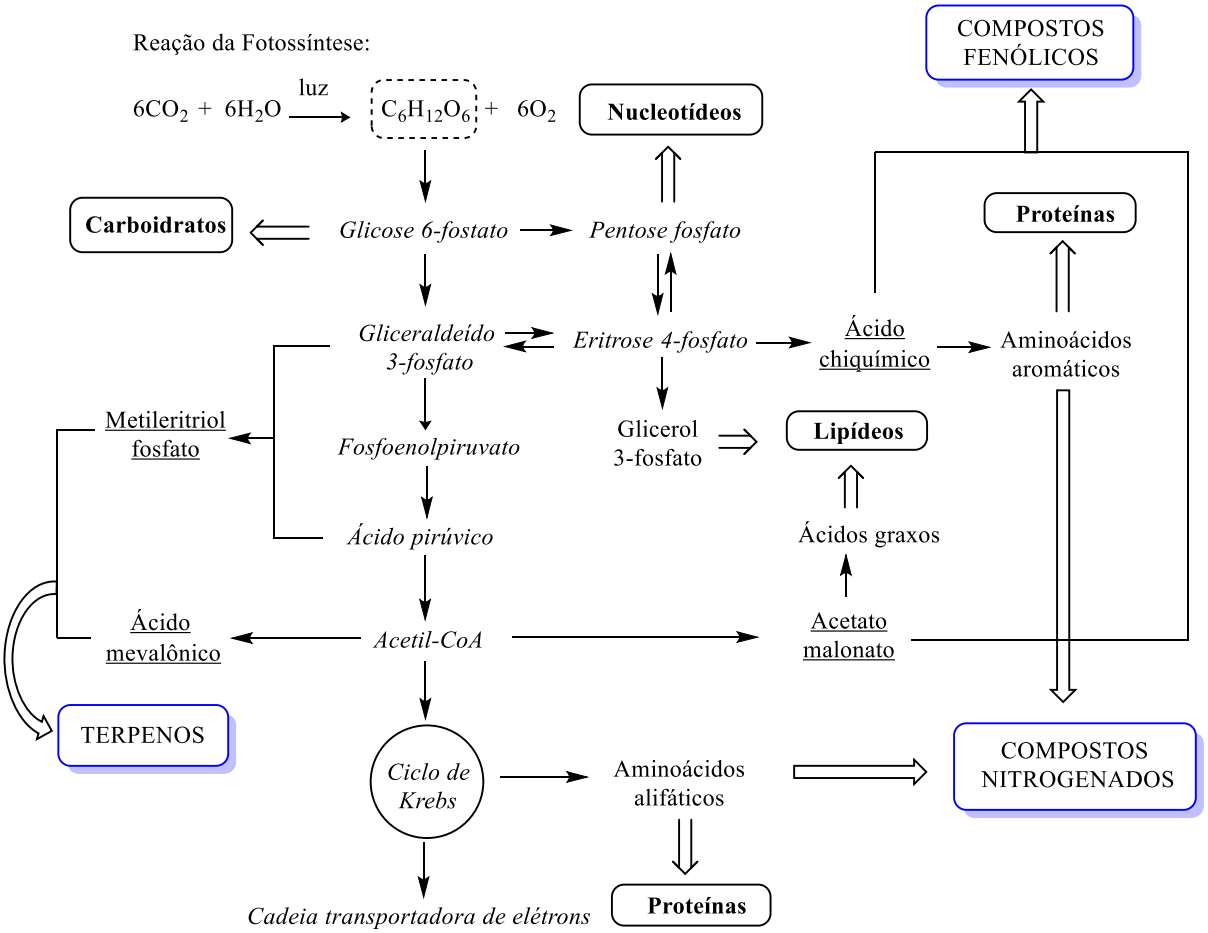
Figura 5. Gráfico do perfil químico do gênero *Solanum.*



Fonte: adaptado de Kaunda et al. (2019).

Tais ME são resultantes de vias ou rotas biossintéticas, sendo as principais: 1) acetato malonato; 2) ácido chiquímico; 3) ácido mevalônico; 4) metileritritol fosfato. Sendo as vias 1 e 2, as responsáveis pela síntese dos compostos fenólicos (ou também conhecidos como fenilpropanoides) e as vias 3 e 4 as precursoras dos terpenos. Já os compostos nitrogenados são provenientes da via 2 e dos aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) provenientes do ciclo de Krebs (Figura 6) (WANG et al., 2019).

Figura 6. Vias de biossíntese do ME e suas conexões com o metabolismo primário.



Nota: Em itálico, vias de biossíntese do metabolismo primário e em retângulos pretos seus produtos, os metabólitos primários. Sublinhado, biossíntese do metabolismo especializado e em retângulos azuis os metabólitos especializados. Fonte: adaptado de Moreira (2015) e Dewick (2009).

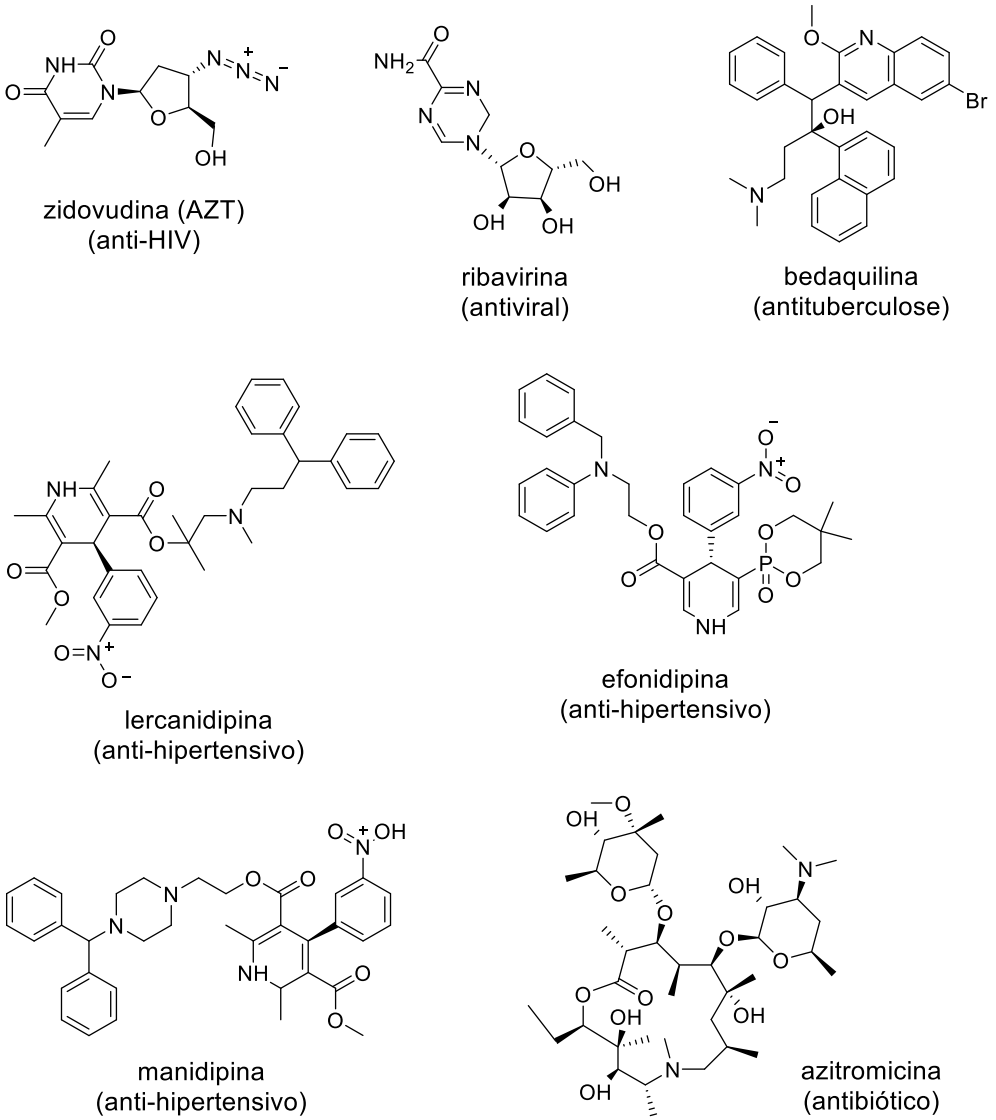
2.2.1 Alcaloides

Aproximadamente 20.000 alcaloides naturais são conhecidos e são metabólitos que possuem um ou mais átomos de nitrogênio heterocíclicos (alcaloides verdadeiros) ou exocíclicos (protoalcaloides, aminas e poliaminas). Atuam como calmante, sedativo, estimulante, analgésico, anestésico, entre outras ações. O termo alcaloide é derivado de *álcali* (do árabe *al-qali*) que significa básico, com o sufixo *–oide* que significa "-semelhante a" (DEWICK, 2009; PYNE et al., 2019).

Os alcaloides são armazenados nos vacúolos das células das plantas e estão envolvidos no mecanismo de defesa contra ação de insetos e microrganismos, ou seja, estão associados à resistência dos vegetais a pragas e patógenos, mostrando toxicidade dependente da concentração (AL-SINANI; ELTAYEB, 2017).

Na Figura 7 são ilustrados exemplos de alcaloides candidatos a novos medicamentos para o novo coronavírus. Segundo Ferreirai e Andricopulo (2020) o desenvolvimento de novos medicamentos é um processo complexo e os resultados podem levar tempo para aparecer. Os cientistas não mediram esforços e uma estratégia usada foi o reposicionamento de fármacos, ou seja, buscaram entre os fármacos já comercializados possibilidades para o tratamento da COVID-19. Tal estratégia permite reduzir consideravelmente a taxa de falhas associada a questões de segurança ou toxicidade, além de propiciar uma economia de até 5 a 7 anos no tempo médio de desenvolvimento de medicamentos (ASHBURN et al., 2004).

Figura 7. Exemplos de alcaloides: fármacos analisados para o tratamento da COVID-19.



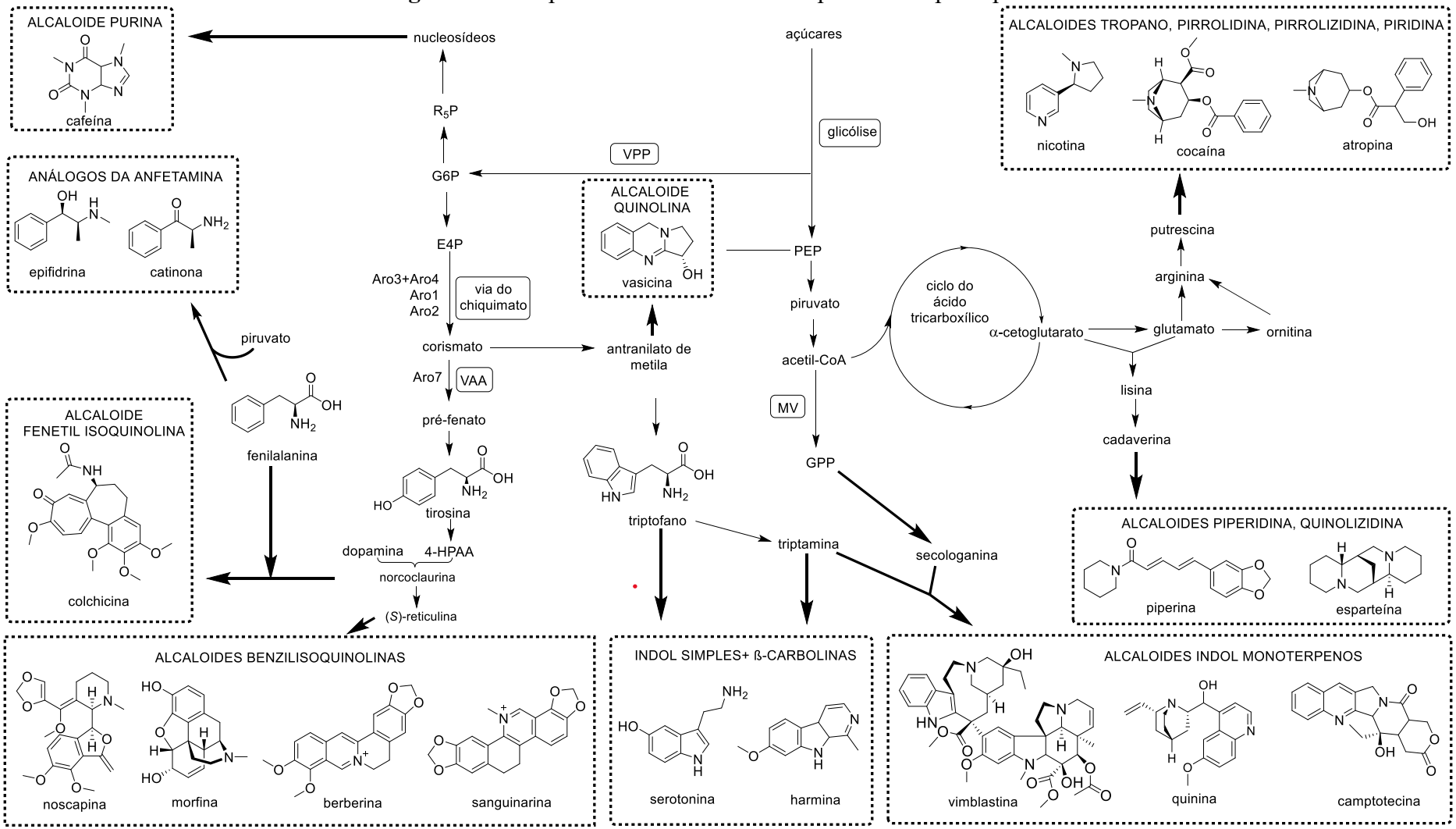
Fonte: autora.

Os alcaloides podem ser classificados de acordo com o aminoácido precursor. A Figura 8 ilustra as classes de alcaloides, com seus respectivos compostos nitrogenados que são derivados do ciclo do ácido tricarboxílico e do ácido chiquímico.

Na rota do ácido tricarboxílico são produzidos os aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) que dão origem aos produtos nitrogenados: alcaloides tropano, pirrolidina, pirrolizidina, piridina, piperidina e quinolizidina (PYNE et al., 2019).

Na rota do ácido chiquímico são formados os aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e o triptofano) que dão origem a alcaloides fenetil isoquinolina, anfetaminas, benzilisoquinolinas, indois simples, β-carbolinas e quinolinas. Por exemplo, a noscapina, morfina, berberina e a sanguinarina são da classe dos alcaloides benzilisoquinolinas, que é um grupo grande com cerca de 2.500 metabólitos, formados a partir da tirosina. Nesta rota, a primeira etapa é a condensação de dopamina com o 4-hidroxifenilacetaldeído (4-HPAA), formando a da norcoclaurina, em seguida, a (*S*)-reticulina é formada da norcoclaurina por uma série de carboxilações e metilações (PYNE et al., 2019; ROBERTS et al., 2018).

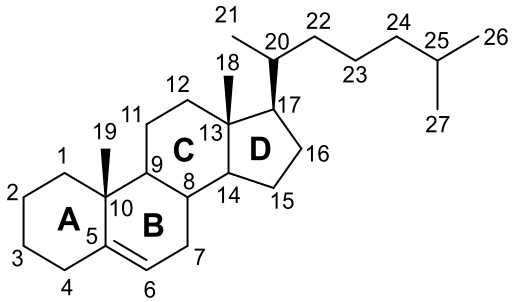
Figura 8. Principais classes dos alcaloides produzidos pelas plantas.



Nota: R5P, ribose 5-fosfato; G6P, glicose-6-fosfato; E4P, eritrose 4-fosfato; Aro1, proteína pentafuncional aromática; Aro2, enzima corismato sintase e flavina redutase; Aro3+Aro4, isoenzimas 3-desoxi-*D*-Ara-heptulosonato-7-fosfato sintase, DAHP; Aro7, corismato mutase; 4-HPAA, 4-hidroxifenilacetaldeído; VPP, via da pentose fosfato; PEP, fosfoenolpiruvato; VM, via do mevalonato; VAA, via do aminoácido aromático; GPP, geranil pirofosfato. Fonte: adaptado de Pyne et al. (2019).

Os alcaloides, assim como outros metabólitos, podem ser encontrados na forma de uma mistura complexa e são marcadores quimiossistemáticos, por exemplo, os alcaloides esteroidais são característicos do gênero *Solanum* (RAMOS et al., 2019; RAMOS et al., 2021). Tais alcaloides são moléculas que apresentam um átomo de nitrogênio do esqueleto C-27 e/ou pela entrada de um grupamento amino na hidroxila da posição do C-3. Podem ocorrer como glicosídeos, apresentando a ligação polissacarídica nas posições C-3 e em alguns casos, também no C-26 (Figura 9) (RAMOS et al., 2019).

Figura 9. Estrutura dos esteroides numerada.



Fonte: a autora.

No gênero *Solanum* foram relatados em extratos e frações elevada concentração de alcaloides que são compostos básicos que ao serem submetidos a uma fonte de ionização são facilmente protonados $[M+H]^+$ (KAUNDA et al., 2019). Algumas espécies do gênero *Solanum* são conhecidas popularmente como "Jurubeba", entre elas a *S. subumbellatum*, entretanto a farmacopeia brasileira descreve apenas a *S. paniculatum* como a verdadeira jurubeba, sendo que nela foram anotados e isolados nas suas raízes alcaloides esteroidais (GAZOLLA et al., 2019; SILVA et al., 2020).

Em 1826, foi descoberto em batatas (*S. tuberosum*) o primeiro alcaloide esteroidal conhecido como solanina, em seguida foram descobertos a tomatina (1948 na *S. lycopersicum*) e a α-chaconina (1954, também presente na *S. tuberosum*). Solasonina e solamargina, foram os dois principais glicoalcaloide encontrados nas beringelas (*S. melongena*), sendo descobertos em mais de 100 outras espécies posteriormente (MILNER et al., 2011). As estruturas estão ilustradas na Figura 10.

Outro alcaloide é a solasodina, estudada por Dixit e Gupta (1982), que foi isolado de frutos de *S. xanthocarpum*, atuando como material de partida para a síntese de hormônios esteroides e que têm sido usados na regulação de inflamações, na menopausa e no tratamento de doenças cardiovasculares (KUMARA, 2015). Solasodina, e suas formas glocosiladas β1-

solasonina, solasonina e solamargina, como também e também o solanigrosídeo P, foram isoladas de *S. nigrum* e possuem atividades como antitumoral, anticâncer e anti-herpes, antidiabéticas, antiparacéticas, antibióticas, antimicrobianas, antivirais e antifúngicas (DING et al., 2013; IKEDA et al., 2003; LEE et al., 2007; TIOSSI et al., 2012).

Oligoglicosídeos esteroidais, como os robeneosídeos A e B, foram isolados de *S. lycocarpum* e são compostos antidiabetogênicos (YOSHIKAWA et al., 2007), além dessas moléculas também foi encontrado na planta o lobofrutosídeo (NAKAMURA et al., 2008).

Um raro alcaloide esteroidal 16β-H, a khasianina, além da solamargina foram isolados de *S. surattense* e apresentaram atividade citotóxica contra células A549 (adenocarcinoma pulmonar humano) (LU et al., 2011).

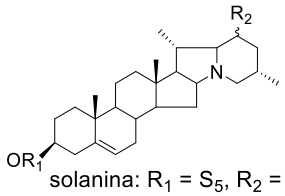
A leptinidina; a leptinidina 3-*O*-β-D-Gli; a leptinina I, leptinidina 3-*O*-[α-L-Rha-(1→4)-[α-L-Rha-(1→2)]-β-D-Gli] e a leptinina II, leptinidina 3-*O*-[β-D-Gli-(1→3)]-[α-L-Rha-(1→2)-β-D-Gla foram obtidos de *S. orbignianum* (COELHO, SOUZA, SARRAGIOTTO, 1998).

Dois raros alcaloides C-3 amino esteroidais, (22*R*,25*R*)-3β-amino-5α-spirosolano e (22*R*,25*R*)-3β-amino-5-spirosoleno, foram isolados de *S. triste* (MAXWELL et al., 1995).

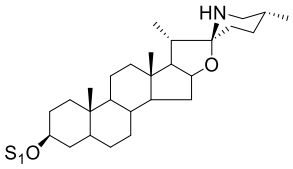
Três glicoalcaloides esteroidais C-27, espiralósidos A, B e o C, foram obtidos a partir de *S. spirale* e demostraram atividade antitussígenos (tratamento de reflexos da tosse) (LI et al., 2016).

No gênero *Solanum* também foram isolados a isojuripidina isolada da *S. asterophorum*, que apresenta atividade espasmolítica (OLIVEIRA et al., 2006); a solanopubamina da *S. schimperianum*, que ilustrou atividade anticâncer e antitumoral (AL-REHAILY et al., 2013); a cernumidina e a isocernumidina isoladas da *S. cernuum* que apresentaram atividades antigenotóxica e antioxidante (DAMASCENO et al., 2016), além de quatro aminas *N-trans-p*-coumaroil octopamina*; N-trans-p*-coumaroiltiramina*; N-trans-p*-feruloil-octopamina *e N- trans-p*-ferulotiramina isoladas da *S. americanum* que desmostraram atividade antidiabética (SILVA et al., 2017) (Figura 10).

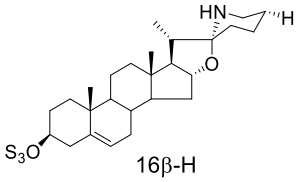
Figura 10. Estruturas de alguns alcaloides encontrados em espécies do gênero *Solanum.*



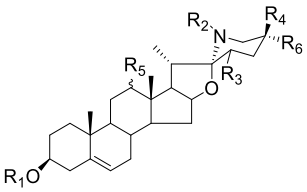
solanina: $R_1 = S_5$, $R_2 = H$
α-chaconina: $R_1 = S_3$, $R_2 = H$



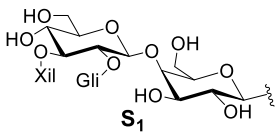
tomatina



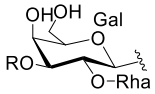
16β-H



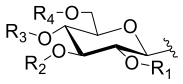
solamargina: $R_1 = S_2$, $R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = H$, $R_4 = CH_3$
solasonina: $R_1 = S_2$, $R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = H$, $R_4 = CH_3$
β1-solasonina: $R_1 = S_5$, $R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = H$, $R_4 = CH_3$
solasodina: $R_1 = R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = H$, $R_4 = CH_3$
robeneosídeo A: $R_1 = S_2$, $R_2 = R_3 = R_6 = H$, $R_4 = CH_3$, $R_5 = \alpha OH$
robeneosídeo B: $R_1 = S_4$, $R_2 = R_3 = R_6 = H$, $R_4 = CH_3$, $R_5 = \alpha OH$
lobofrutosídeo: $R_1 = S_2$, $R_2 = R_3 = R_6 = H$, $R_4 = CH_3$, $R_5 = \beta OH$
solanigrosídeo P: $R_1 = S_3$, $R_2 = R_3 = R_6 = H$, $R_4 = CH_3$, $R_5 = \beta OH$



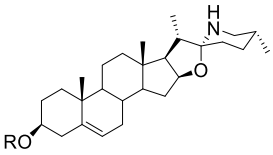
S_1



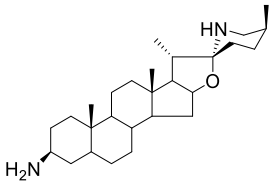
S_4 = R = Gli
S_5 = R = H



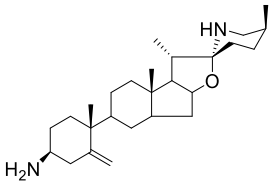
S_2 $R_1 = R_3 = Rha$, $R_2 = R_4 = H$
S_3 $R_1 = R_2 = R_4 = H$, $R_3 = Rha$



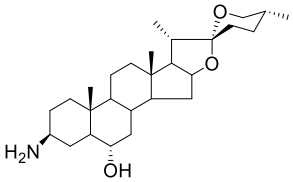
khasianina: R = Gli–Rha



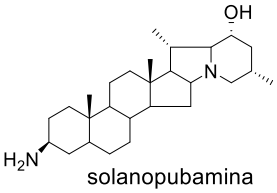
((22*R*,25*R*)-3β-amino-5α-spirosolano)



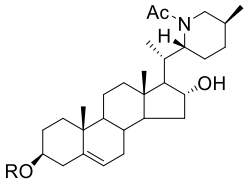
((22*R*,25*R*)-3β-amino-5α-spirosoleno)



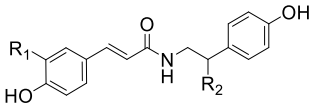
isojuripidina



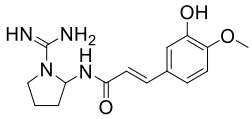
solanopubamina



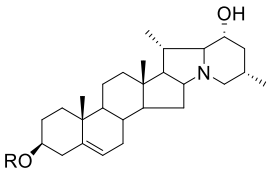
espiralósido A: R = Rha
espiralósido B: R= H
espiralósido C: R = Gli

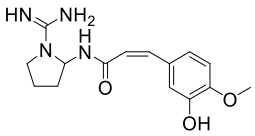


N-trans-p-coumaroil octopamina: $R_1 = H$, $R_2 = OH$
N-trans-p-feruloil-octopamina: $R_1 = H_3CO$, $R_2 = OH$
N-trans-p-coumaroiltiramina: $R_1 = H$, $R_2 = H$
N-trans-p-ferulotiramina: $R_1 = H_3CO$, $R_2 = H$



cernumidina





isocernumidina

leptinidina: R = H
leptinidina 3-O-β-D-gli: R = Gli
leptinina I: R= α-L-Rha-(1 ➔ 4)-[α-L-Rha-(1 ➔ 2)]-β-D-Gli
leptinina II: R = β-D-Gli-(1 ➔ 3)]-[α-L-Rha-(1 ➔ 2)-β-D-Gla

Fonte: autora.

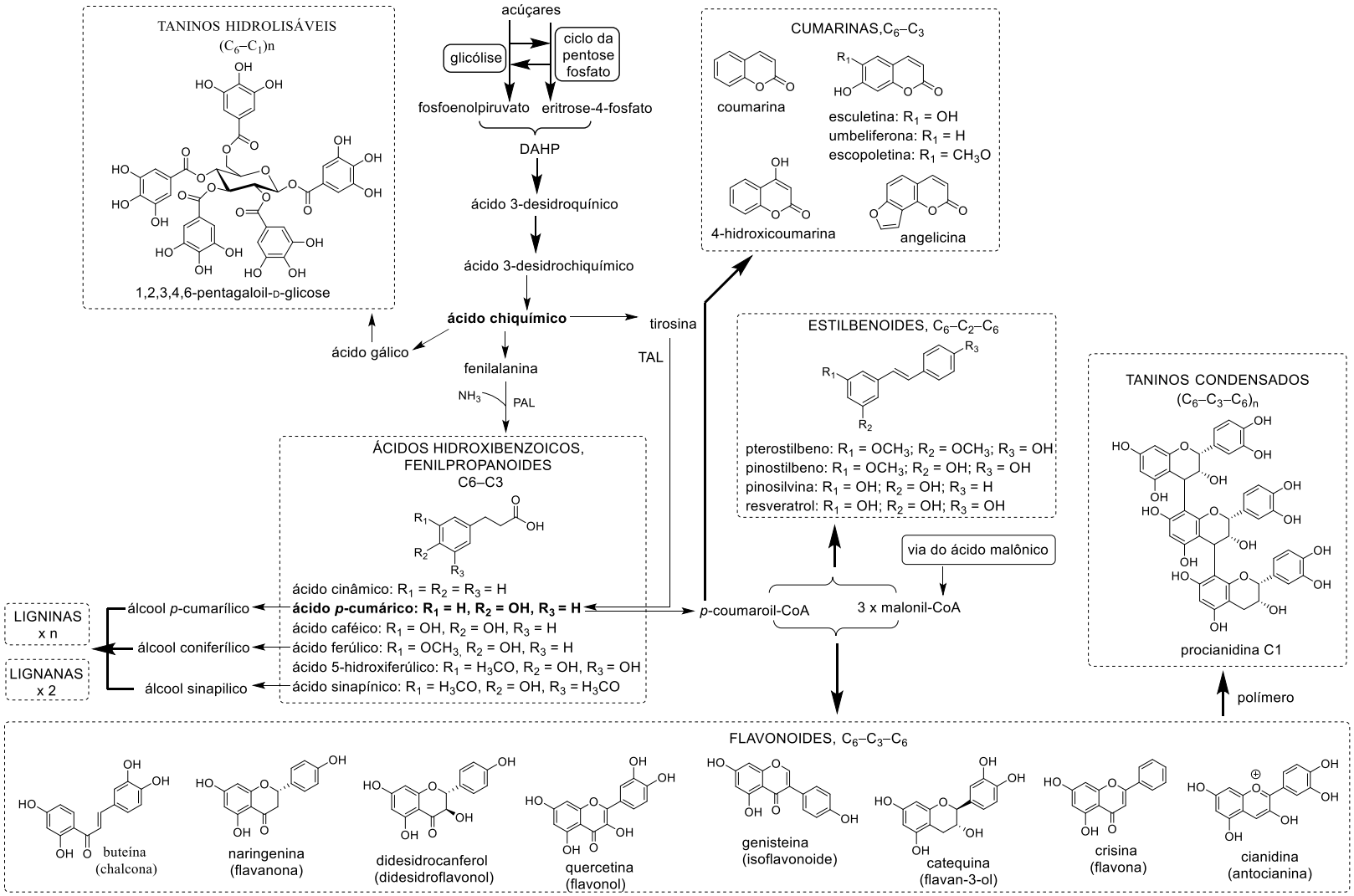
2.2.2 Compostos fenólicos

O consumo de frutas e outros vegetais são benéficos para a saúde humana e animal. Estes alimentos contêm substâncias antioxidantes distintas, cujas atividades têm sido comprovadas nos últimos anos. Uma classe destes metabolitos são os compostos fenólicos, que possuem um grupo hidroxila diretamente ligado a um anel aromático. O alto grau de polimerização destes compostos contribui para uma diversidade estrutural com aproximadamente 10.000 polifenóis (DE LA ROSA et al., 2019). São produzidos pelos vegetais com diversas funções, como proteção contra vários fatores bióticos e abióticos, além de apresentarem uma vasta quantidade de atividades, como a antioxidante e antifúngica (ALSEEKH et al., 2018; PONTES et al., 2019).

A Figura 11 ilustra um esquema da biossíntese dos compostos fenólicos que são derivados de duas vias: do ácido chiquímico e a via do acetato-malonato. Na rota do ácido chiquímico, o ácido fosfoenolpirúvico reage com eritrose 4-fosfato, e forma os taninos hidrolisáveis a partir do ácido gálico e dos ácidos hidroxibenzoicos, já os fenilpropanoides são obtidos a partir da fenilalalina. Nesta rota também são produzidas as ligninas e as lignanas mediante a síntese dos álcoois *p*-cumarílico, coniferílico e sinapílico.

Os fenilpropanoides são os precursores de classes importantes de substâncias fenólicas, tais como, cumarinas (formadas a partir do *p*-coumaroil-CoA), estilbenos, flavonoides e taninos condensados, que são originados da reação do *p*-coumaroil-CoA com o malonil-CoA (a rota do acetato-malonato). A classificação destes compostos é realizada conforme o número e o arranjo dos átomos de carbonos (Figura 11).

Figura 11. Classes de compostos fenólicos produzidos pelas plantas.



Nota: DAHP, ácido 3-desóxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato; PAL, fenilalanina amônia-liase; TAL, tirosina amônia-liase. Fonte: adaptado de Pyne et al. (2019); Moreira (2015).

Do grupo dos ácidos fenólico, se destacam os ácidos hidroxicinâmicos, sendo os seus principais representantes são o ácido cafeico e o ácido ferúlico, que são formados pela esterificação de ácidos transcinâmicos juntamente com ácido quínico, sendo conhecidos, nesta forma, como ácidos clorogênicos (CLIFFORD et al., 2017). No gênero *Solanum* os ácidos fenólicos foram identificados nos extratos de *S. paniculatum*, *S. incanum* e *S. nigrum,* e os mesmos apresentaram atividade antioxidante (AL-FATIMI et al., 2007; RIBEIRO et al., 2007).

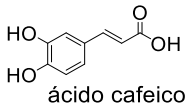
Além dos ácidos fenólicos no gênero *Solanum* foram isolados também uma grande quantidade de flavonoides relacionados com muitas atividades, como anticâncer contra o carcinoma de Ehrlich K562 (leucemia eritrocítica crônica) (ESTEVES-SOUZA et al., 2002); hepatoprotetora e curativa contra lesão hepática (HAWAS et al., 2013); antiviral contra o vírus da hepatite C *in vitro* (RASHED et al., 2014) e antioxidante (HURTADO et al., 2009). Alguns ácidos fenólicos e flavonoides encontrados no gênero estão na Tabela 1 e as estruturas na Figura 12.

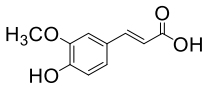
Tabela 1. Ácidos fenólicos e flavonoides de espécies de *Solanum.*

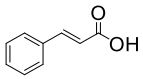
Espécies	Ácidos fenólicos	Referências
S. melongena	ácido cafeico ácido ferúlico	(SCORSATTO et al., 2017)
S. spirale	ácido cinâmico	(KEAWSA-ARD et al., 2012)
Espécies	**Flavonoides**	**Referências**
S. asperum	*trans*-tilirosídeo canferol-7-*O*-α-L-Rha canferol-3-*O*-[β-D-Gli-(1→6)-α-L-Rha]-7-*O*-α-L-Rha	(PINTO et al., 2011)
S. crinitum	astragalina canferol	(CORNELIUS et al., 2010; ESTEVES-SOUZA et al., 2002)
S. elaeagnifolium	isoquercitrina rutina *cis*-tilirosídeo quercetina hiperina canferol-8-*C*-β-Gal canferol-7-*O*-β-D-Gli canferol-6-*C*-Gli quercetina-3-*O*-β-D-apiofuranosil-(1→2)-β-D-Gal canferol-3-O-(6''-*O*-*cis*-*p*-cumaroil)-*O*-β-Gal ramnocitrina cumatacenina 3-*O*-metilquercetina 3,7,8-tri-*O*-metilherbacetina 3,7,8,3',4'-penta-*O*-metilgossipetina 3,7,8,4'-tetra-*O*-metilgossipetina	(ELABBAR, BOZKEHA, EL-TUONSIA, 2014; HAWAS et al., 2013)
S. rantonnetii	8-*O*-metilcanferol	(RASHED et al., 2014)
S. elaeagnifolium	vitexina apigenina-6,8-di-*C*-β-D-Gli	(HAWAS et al., 2013)
S. paludosum	genkwanina	(SILVA et al., 2009)
S. rantonnetii	isovitexina	(RASHED et al., 2014)
S. betaceum	delfinidina-3-*O*-(6''-*O*-α-Rha-β-Gli)-3'-*O*-β-Gli delfinidina-3-*O*-(6''-*O*-α-Rha)-β-Gli cianidina-3-O-(6''-*O*-α-Rha)-β-Gli pelargonidina-3-*O*-(6''-*O*-α-Rha)-β-Gli	(HURTADO et al., 2009)

Figura 12. Ácidos fenólicos e flavonoides do gênero *Solanum*.

ÁCIDOS FENÓLICOS:

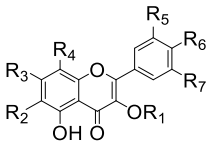

ácido cafeico

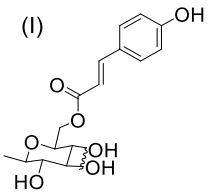

ácido ferúlico

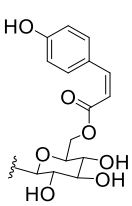

ácido cinâmico

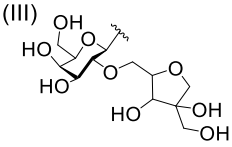
FLAVONOIDES:

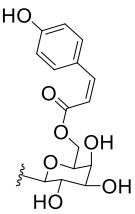
Flavonóis:



(I)


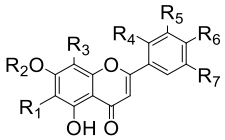
(II)


(III)


(IV)


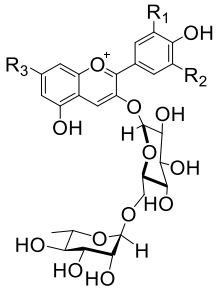
trans-tilirosídeo:R_1 = I; R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = R_6 = OH
canferol-7-*O*-α-L-Rha: R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = Rha; R_6 = OH
astragalina: R_1 = Gli; R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = R_6= OH
canferol: R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = R_6= OH
trans-tilirosídeo R_1 = I; R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = R_6 = OH
cis-tilirosídeo*:* R_1 = II; R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = R_6 = OH
rutina: R_1= 6-*O*-α-L-Rha-D-Gli; R_2 = R_4 = R_7 = H; R_3 = R_5 = R_6 = OH
quercetina: R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = H; R_3 = R_7 = R_6 = OH
hiperina: R_1 = Gal; R_2 = R_4 = R_7 = H; R_3 = R_5 = R_6 = OH
canferol-8-*C*-β-Gal: R_1 = R_2 = R_5 = R_7 = H; R_3 = R_6 = OH; R_4 = Gal
canferol-7-*O*-β-D-Gli: R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = Gli; R_6 = OH
canferol-6-*C*-Gli: R_1 = R_4 = R_5 = R_6 = H; R_2 = Gli; R_3 = R_6 = OH
quercetina-3-*O*-β-D-apiofuranosil-(1→2)-β-D-Gal: R_1 = III; R_2 = R_4 = R_7 = H; R_3 = R_5 = R_6 = OH
canferol-3-*O*-(6''-*O*-*cis*-*p*-cumaroil)-*O*-Gal: R_1 = IV; R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = R_6 = OH
ramnocitrina: R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = OCH_3; R_6 = OH
cumatacenina: R_1 = CH_3; R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = OCH_3; R_6 = OH
3-*O*-metilquercetina: R_1 = CH_3; R_2 = R_4 = R_7 = H; R_3 = R_5 = R_6 = OH
3,7,8-tri-*O*-metilherbacetina: R_1 = CH_3; R_2 = R_5 = R_7 = H; R_3 = R_4 = OCH_3; R_6 = OH
3,7,8,3',4'-penta-*O*-metilgossipetina: R_1 = CH_3; R_2 = R_7 = H; R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = OCH_3
3,7,8,4'-tetra-*O*-metilgossipetina: R_1 = CH_3; R_2 = R_7 = H; R_3 = R_4 = R_6 = OCH_3; R_5 = OH
8-*O*-metilcaempferol: R_1 = R_2 = R_5 = R_7 = H; R_3 = R_6 = OH; R_4 = OCH_3
canferol-3-*O*-[β-D-Gli-(1→6)-α-L-Rha]-7-*O*-α-L-Rha: R_1 = Gli–Rha; R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_3 = Rha; R_6= OH

Flavononas:



vitexina: R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_7; R_3 = Gli; R_6 = OH
apigenina-6,8-di-*C*-β-D-Gli: R_1 = R_3 = Gli; R_2 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_6 = OH
genkwanina: R_1 = R_3 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_2 = CH_3; R_6 = OH
isovitexina: R_1 = Gli; = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_7 = H; R_6 = OH

Antocianinas:



delfinidina-3-*O*-(6''-*O*-α-Rha-β-Gli)-3'-*O*-β-Gli: R_1 = O-Gli; R_2 = OH
delfinidina-3-*O*-(6''-*O*-α-Rha)-β-Gli: R_1 = R_2 = OH
cianidina-3-*O*-(6''-*O*-α-Rha)-β-Gli: R_1 = OH; R_2 = H
pelargonidina-3-*O*-(6''-*O*-α-Rha)-β-Gli: R_1 = R_2 = H

Fonte: autora.

2.2.3 Terpenos

Terpenos ou terpenoides formam uma grande classe de ME, compreendendo mais de 80.000 produtos naturais (CHRISTIANSON, 2018). São moléculas que atuam na defesa da planta mediante ao ataque dos herbívoras, além disso, agem como atrativos (odor, cor) para animais polinizadores e dispersores de sementes (PICHERSKY et al., 2002).

Além destas, apresentam atividades anti-inflamatórios, antioxidantes, antiagregantes plaquetários, anticoagulantes, antitumorais, sedativas, analgésicas, antimicrobiana e antifúngica (PADUCH et al., 2016; ZALEVSKAYA et al., 2020; ZHAO et al., 2016).

Apresentam em sua estrutura unidades de isopreno (2-metilbuta-1,3-dieno), oriunda da junção de cinco átomos de carbono, que são incorporadas em número variado segundo um mecanismo típico cabeça cauda, assim, os terpenos são classificados conforme o número (*n*) de unidades de isopreno, como ilustrado na Figura 13.

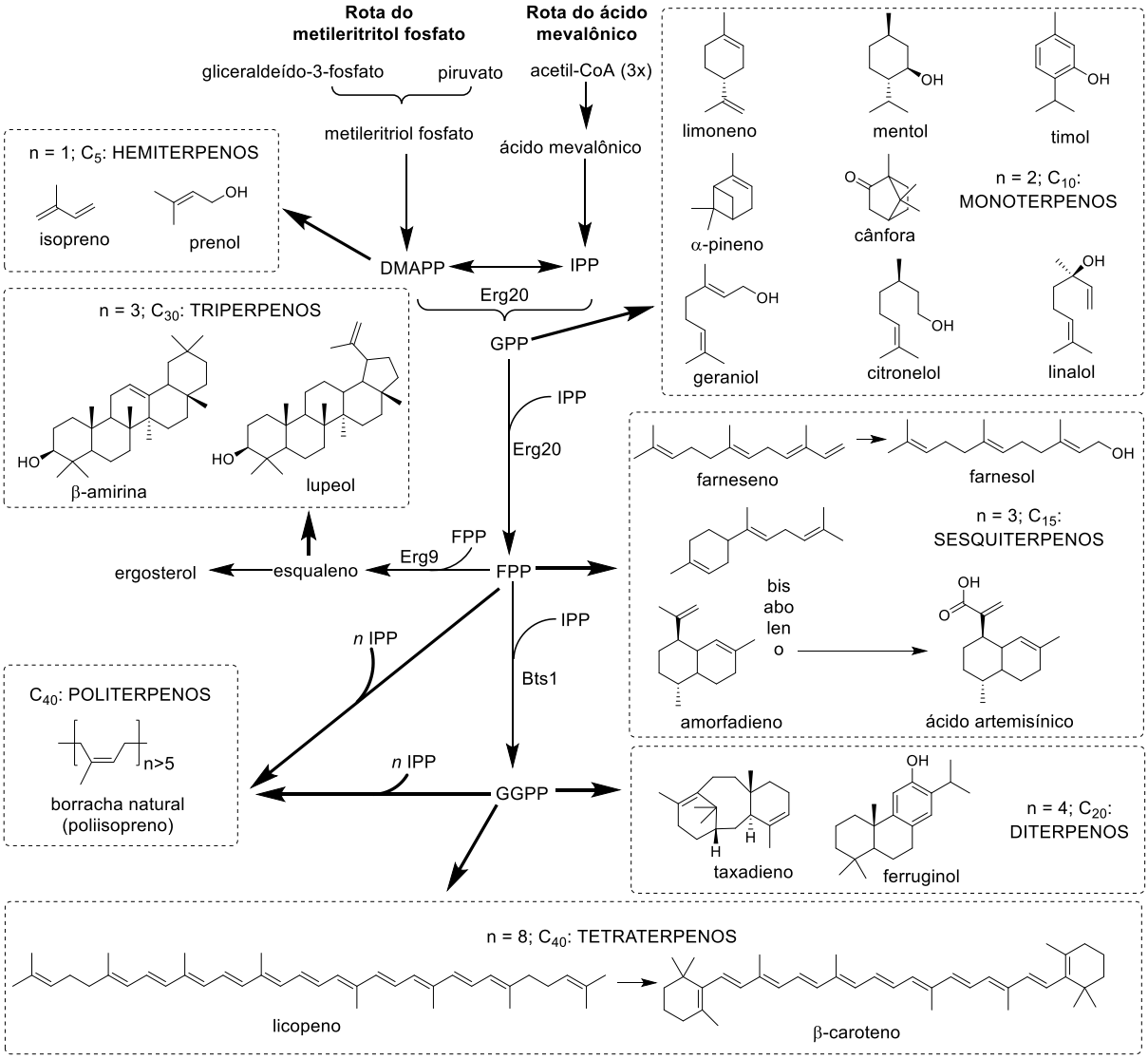
A Figura 13 também ilustra um esquema da síntese dos terpenos que são produzidos a partir dos intermediários 3,3'-dimetilalil pirofosfato (DMAPP) e 3-isopentenil pirofosfato (IPP). Além dos intermediários geranil pirofosfato (GPP), farnesil pirofosfato (FPP), e geranilgeranil pirofosfato (GGPP). Esses compostos são formados por duas vias metabólicas, a do ácido mevalônico e a do metileritritol fosfato.

Na rota do ácido mevalônico, que ocorre no citoplasma e no retículo endoplasmático das células vegetais, três moléculas de acetil-CoA são necessárias para produzir o ácido melavônico e este em sequência, sofre reações de pirofosforilação para produzir o IPP. Ao final, a enzima isomerase converte o IPP em seu isômero DMAPP.

Na rota do metileritritol fosfato (MEP), que ocorre nos cloroplastos e outros plastídios das células, o gliceraldeído-3-fosfato reage com o piruvato para formar o 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato. Em seguida, ocorre a redução desta molécula a MEP que é posteriormente convertido em DMAPP.

O IPP e o DMAPP, são unidades que se unem para formar moléculas maiores (GPP, FPP, GGPP) que irão originar os monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, tripterpenos, tetraterpenos até os politerpenos (Figura 13) (HENRY et al., 2018; PYNE et al., 2019).

Figura 13. Classes de terpenos produzidos pelas plantas.



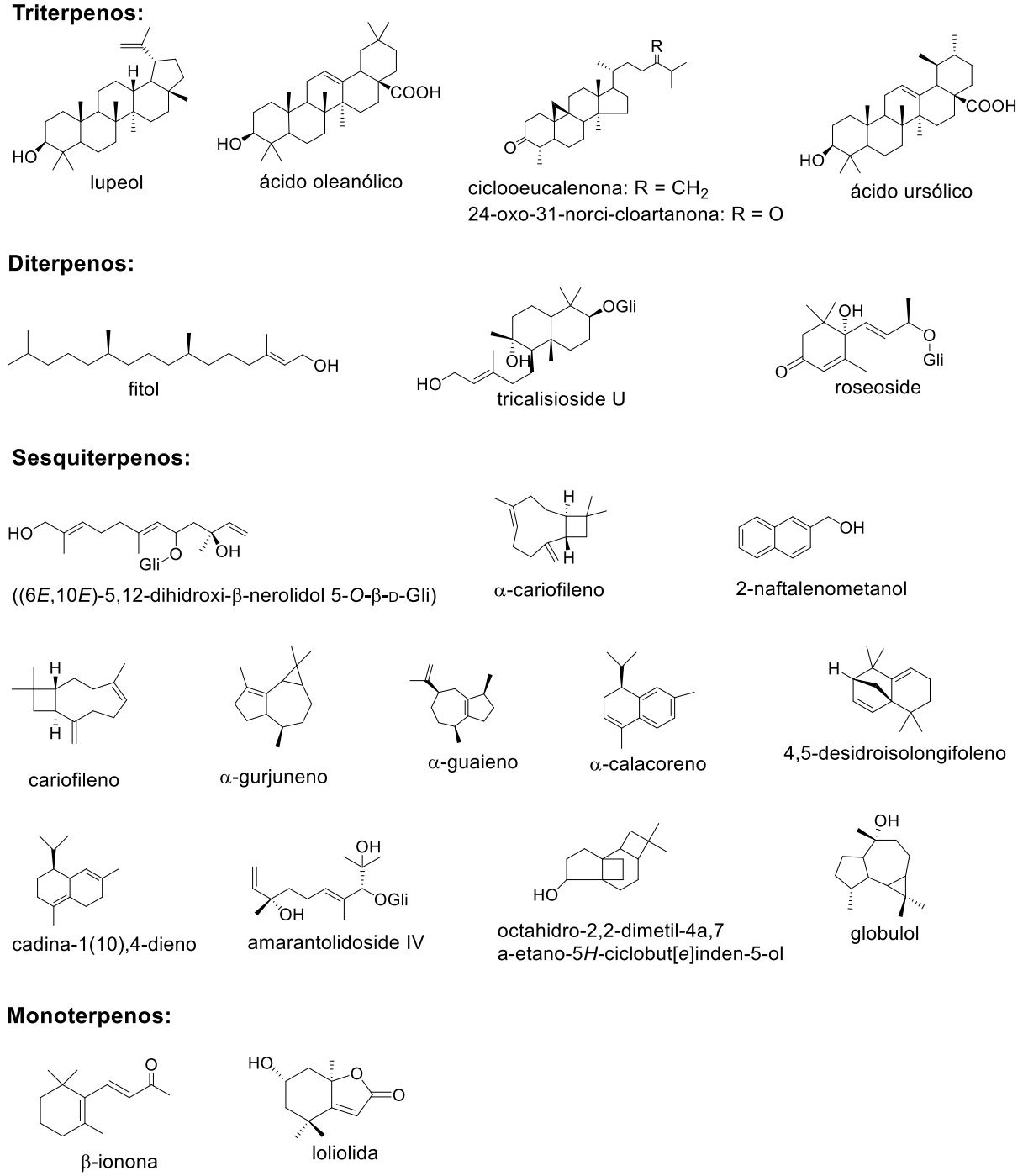
Nota: n, número de unidades de isopreno; DMAPP, 3,3'-dimetilalil pirofosfato; IPP, 3-isopentenil pirofosfato; GPP, geranil pirofosfato; FPP, farnesil pirofosfato; GGPP, geranilgeranil pirofosfato; Bts1, geranilgeranil difosfato sintase; Erg9, esqualeno sintase; Erg20, pirofosfato de farnesil sintetase. Fonte: adaptado de Pyne et al. (2019).

No gênero *Solanum* também foram encontrados terpenoides, alguns exemplos estão na Tabela 2 e na Figura 14. Os terpenos apresentam atividades biológicas diversas como: anti-inflamatórias (LOPES et al., 2014); antifúngica contra *Aspergillus flavus* e *Pencillium notatum* (KODURU et al., 2006); anticâncer contra três linhagens de células, HONE-1 nasofaríngea, carcinoma epidermóide oral KB e células de carcinoma colorretal HT29 (LI et al., 2013) e também anticâncer contra seis linhagens celulares (HepG2, Hep3B, A549, Ca9-22, MDA-MB-231 e MCF-7) (YEN et al., 2012).

Tabela 2. Terpenos presentes em espécies de *Solanum.*

Espécies	Terpenos	Referências
S. schimperianum	lupeol ácido oleanólico	(AL-OQAIL et al., 2012)
S. lyratum	ácido ursólico	(LI et al., 2013)
S. cernuum	ciclooeucalenona 24-oxo-31-norcicloartanona	(LOPES et al., 2014)
S. violaceum	tricalisioside U	(YEN et al., 2012)
S. erianthum	roseoside ((6*E*,10*E*)-5,12-diidroxi-β-nerolidol 5-*O*-β-D-Gli) amarantolidoside IV cariofileno cadina-1(10),4-dieno α-gurjuneno globulol α-guaieno α-calacoreno 2-naftalenometanol octahidro-2,2-dimetil-4a,7a-etano-5*H*-ciclobut[*e*]inden-5-ol 4,5-desidroisolongifoleno α-cariofileno	(MAHADEV et al., 2012; PENG et al., 2017)
S. pseudocapsicum	fitol loliolida β-ionona	(ALIERO et al., 2006)

Figura 14. Terpenos presentes do gênero *Solanum* ilustrado na Tabela 2.



Fonte: autora.

2.3 Atividades medicinais no gênero *Solanum*

O nome do gênero *Solanum* tem origem na etimologia do latim *solari* (que significa consolar, aliviar), devido aos efeitos calmantes ou sedativos associados a muitas de suas espécies (EDMONDS, HELLER, ENGELS, 1997). Assim, as plantas do gênero *Solanum* são

empregadas na medicina popular para o tratamento de diversas doenças (Tabela 3). São vários os fatores que influenciam na demanda diferenciada de plantas para cura de enfermidades. E entre eles, está o fácil acesso das plantas e as dificuldades encontradas por parte da população com os cuidados à saúde, como o elevado valor de grande parte dos medicamentos comerciais (OLIVEIRA et al., 2020).

Tabela 3. Espécies de *Solanum* utilizadas na medicina popular.

Nome cientifíco/ nome popular	**Parte usada**	**Indicações**	**Preparo**
S. aculeatissimum / juá-bravo	a. toda a planta b. frutos	a. nas afecções cutâneas, tuberculose e edemas b. nas manchas da pele e furúnculos	a. banho ou compressa b. compressa
S. americanum / maria-pretinha	toda a planta	a. sedativa, expectorante, analgésico, depurativo e afrodisíaca b. queimaduras, dermatoses, eczemas e furúnculos	a. decocto b. compressa
S. cernuum / panaceia	a. raízes b. ramos floridos c. folhas e flores d. folhas secas	a. anti-hemorrágica b. nos males do fígado c. sudorífica, depurativo, nas blenorragias, afecções de pele, diurética e vermífugo d. diurética, nas afecções da pele e nas úlceras	a. decocto ou infuso b. decocto c e d. infuso
S. lycocarpum / lobeira	a. folhas b. flores e frutos	a. emoliente, anti-reumática. b. contra asma, gripes, resfriados e tônica	a. banho ou compressa b. infuso
S. paniculatum / jurubeba	a. raízes b. folhas c. frutos e. raízes, folhas e frutos	a. na diabete, icterícia, hepatite, febre e falta de transpiração b. cicatrizante c. problemas de fígado e de estômago, nas inflamações do baço e da bexiga, tônica d. contra tumores internos	a. infuso b. pomada c. suco d. infuso

Fonte: Rodrigues e Carvalho (2001).

As espécies do gênero *Solanum* apresentam uma ampla gama de atividades biológicas que tem despertado o interesse de vários grupos de pesquisa. A partir dos usos na medicina popular os cientistas selecionam as matrizes vegetais, na sequência realizam estudos químicos (com o auxílio de técnicas cromatográficas e espectrométricas) e farmacológicos de plantas, visando conhecer e obter compostos com propriedades terapêuticas, entre outras a antioxidante e a antifúngica. A Tabela 4 ilustra algumas das atividades relatadas na literatura do gênero *Solanum*.

Tabela 4. Atividades biológicas de plantas do gênero *Solanum.*

Espécies	**Parte da planta**	**Atividade**	**Referências**
S. betaceum	frutos	inibitória das enzimas α-glicosidase, α-amilase e lipase	(ORQUEDA et al., 2017)
S. cernuum	folhas	antigenotóxico	(DAMASCENO et al., 2016)
S. crinitum	galhos frutos	citotóxica contra o carcinoma de Ehrlich K562	(ESTEVES-SOUZA et al., 2002)
S. elaeagnifolium	partes aéreas	hepatoprotetoras curativas induzido pelo paracetamol	(HAWAS et al., 2013)
S. havanense	folhas	antiprotozoária contra *Leishmania amazonenses*	(MONZOTE et al., 2016)
S. lycocarpum	frutos	antioxidante	(MORAIS et al., 2015)
S. nudum	frutos		
S. paniculatum	folhas galhos	antiulcerosa	(VIEIRA JÚNIOR et al., 2015)
S. paniculatum	folhas	antioxidante	(MARTINS et al., 2021)
S. rantonnetii	partes aéreas	anti-hepatite C	(RASHED et al., 2014)
S. schimperianum	partes aéreas	citotóxica contra células Vero e LLC-PK11 (células epiteliais de rim de porco). Antifúngica contra *Candida albicans* e *C. tenuis*	(AL-OQAIL et al., 2012; AL-REHAILY et al., 2013)

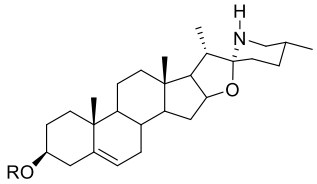
No gênero *Solanum* foram isolados compostos com muitas atividades biológicas, como a atividade antifúngica frente a uma diversidade de leveduras (KAUNDA et al., 2019). São exemplos: a solamargina e a solasonina que foram ativas frente *Candida albicans, C. parapsilosis, Trichophyton rubrum, T. mentagrophytes, Microsporum canis* e *M. gypseum* (PINTO et al., 2011); e a saponina SC-2, ativa contra cepas de *C. albicans* e *não-albicans* (Tabela 5, Figura 15) (HERRERA-ARELLANO et al., 2004; HERRERA-ARELLANO et al., 2009; ZAMILPA et al., 2002).

Tabela 5. Moléculas com atividades antifúngicas isoladas no gênero *Solanum.*

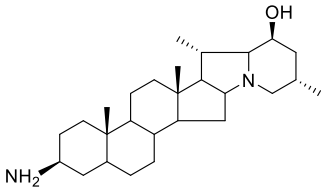
Espécies	**Parte da planta**	**Compostos**	**Referências**
S. asperum	frutos	solamargina solasonina	(PINTO et al., 2011)
S. schimperianum	partes aéreas	solanopubamina	(AL-REHAILY et al., 2013)
S. chrysotrichum	folhas	saponina SC-2 saponina SC-3 saponina SC-4 saponina SC-5 saponina SC-6	(HERRERA-ARELLANO et al., 2004; HERRERA-ARELLANO et al., 2009; ZAMILPA et al., 2002)
S. torvum	folhas	torvoside K	(ABHISHEK et al., 2015)
S. abutiloides	raízes	3β-hydroxisolavetivona solavetivona lubimin	(YOKOSE et al., 2004)
S. capsicoides	sementes	carpesterol	(PETREANU et al., 2016)
S. xanthocarpum	frutos	éter metílico de carpesterol; éter etílico de carpesterol; stigmast-7-en-6-ona, 3-*β*-D-)-22-hidroxi-4-metil-(3*β*, 4*α*, 5α, 22*R*); stigmast-7-en-6-ona, 3-*β*-*D*-glicosiloxi)-22-metoxi-4-metil-(3*β*, 4*α*, 5*α*, 22*R*)	(SINGH et al., 2007)

Figura 15. Compostos isolados no gênero *Solanum* com atividade antifúngica.

Alcaloides:

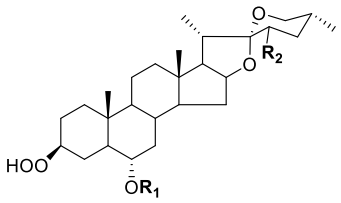


solamargina: R = Rha–Gli–Rha
solasonina: R = Rha–Gal–Gli

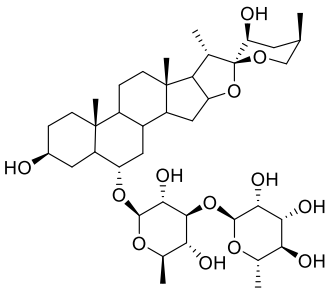


solanopubamina

Saponinas:

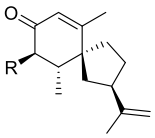


	R_1	R_2
SC-2	S	H
SC-3	Xil	H
SC-4	Qui	H
SC-5	S_9	H
SC-6	S_9	OH

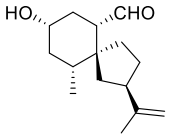


torvoside K

Sesquiterpenos:

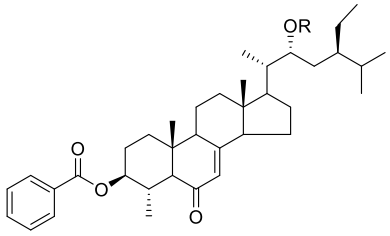


3β-hidroxisolavetivona R=OH
solavetivona R= H

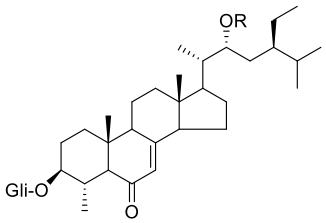


lubimin

Esteróis:



carpesterol R = H;
éter metílico de carpesterol R = CH_3
éter etílico de carpesterol R = C_2H_5



stigmast-7-en-6-ona, (3-Gli)22-hidroxi-4-metil R = H
stigmast-7-en-6-ona, (3-Gli)22-metoxi-4-metil R = CH_3

Fonte: autora.

2.4 *Solanum subumbellatum*

Solanum subumbellatum foi a planta escolhida para o presente estudo, sendo conhecida popularmente como velame-do-cupim, jurubeba-de-cupim ou jurubebinha. Ocorre no Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo e Tocantins, habitando especialmente em cerrados e campos rupestres. Floresce e frutifica o ano todo, sendo que os frutos vermelhos e amarelados na maturidade são características que a distinguem de outras plantas. É um arbusto com cerca de 0,3 a 1,5 metro de altura (FELICIANO, 2008). Todas as partes da espécie são utilizadas na medicina popular na forma de xarope contra gripe, resfriado, bronquite, asma e diurético (RODRIGUES; CARVALHO, 2001). A Figura 16 ilustra as folhas, galhos e flores, onde se pode observar um cupim próximo à planta, o que justifica o seu nome popular.

Figura 16. Fotografias de *Solanum subumbellatum.*

Fonte: a autora.

Esta planta foi escolhida, pois na literatura não há relatos de estudos fitoquímicos. Foi realizado apenas um estudo sobre o efeito alelopática (antiproliferativo) das folhas de *S. subumbellatum* em relação a germinação de gergelim, que mostraram redução significativa da germinabilidade de extratos preparados na época de seca (OLIVEIRA, 2009). Além disso, espécies do mesmo gênero já demostraram potenciais medicinais como as atividades antioxidante e antifúngica. Ainda, como dito anteriormente, é utilizada na medicina tradicional. O Sr. Honorico (88 anos e avô da autora) fez uso das cascas das raízes da jurubebinha, na forma de chá desde a sua infância para dores no estômago e como diurético. Assim, este trabalho visa valorizar o conhecimento popular acerca das plantas medicinais.

2.5 Atividade antioxidante

Os radicais livres são átomos, moléculas ou íons com um ou mais elétrons desemparelhados em sua camada externa, que apresentam tempo de meia-vida curto e mostram a capacidade de reagir com outras moléculas a fim de alcançar sua estabilidade, custando a oxidação de biomoléculas. São produzidos por fontes endógenas do sistema enzimático e pela exposição a fatores exógenos (alimentação, tabagismo, álcool, poluição, entre outros).

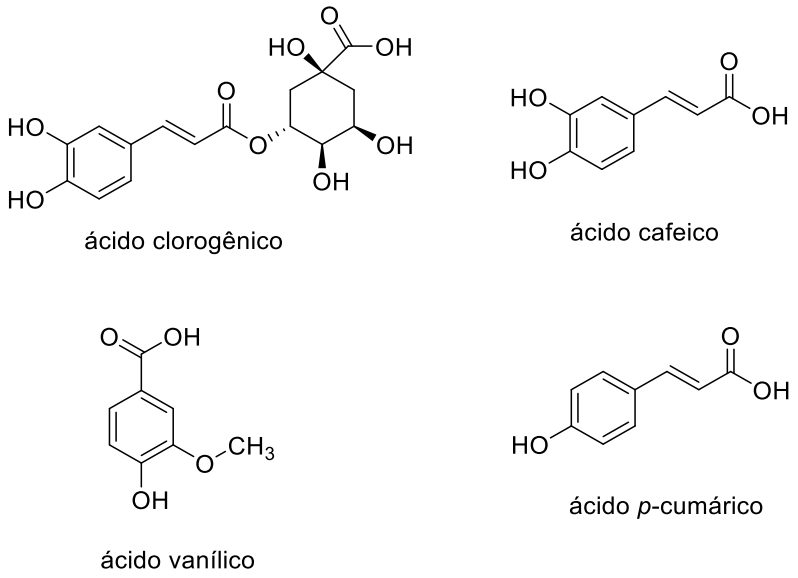
Derivam dos elementos oxigênio, nitrogênio e enxofre, produzindo espécies reativas que em excesso no organismo podem causar sérios problemas celulares, como destruição de membrana celular e danos ao DNA (ANRAKU et al., 2018). Por exemplo, os radicais livres de oxigênio são conhecidos como espécies reativas de oxigênio (ERO) e incluem os radicais superóxido ($O_2^{\bullet}$), hidroxil ($HO^{\bullet}$), peroxil ($ROO^{\bullet}$), alcoxil ($RO^{\bullet}$) e óxido nítrico ($NO^{\bullet}$). Além desses radicais ERO, em organismos vivos, existem outros ERO não radicais, como o oxigênio singlete ($^1O_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso (HOCl) (GULCIN, 2020).

As plantas produzem um conjunto heterogêneo de substâncias formado por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais que podem levar à ativação de vias de sinalização intracelular relacionadas ao estresse oxidativo, através de sua capacidade em estimular e ativar a expressão de genes que expressam proteínas responsáveis pela proteção celular. Dessa forma, as substâncias presentes em baixas concentrações são capazes de atrasar ou inibir as taxas de oxidação recebem o nome de antioxidantes (APAK et al., 2016).

Assim, os antioxidantes são encontrados nos vegetais, hortaliças, frutas e cereais integrais, e estudos têm demostrado a relação do consumo desses alimentos com a redução do risco de câncer e doenças cardiovasculares. São exemplos de antioxidantes, os ácidos fenólicos que foram encontrados em grãos de soja, óleo de oliva, alecrim e a batata (SOARES, 2002). A

batata é do gênero *Solanum* (*S. tuberosum*) e foram isolados em diferentes partes (tubérculo, polpa e casca) os seguintes compostos que apresentam potencial antioxidante: ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido vanílico e o ácido *p*-cumárico (Figura 17) (KIM et al., 2019).

Figura 17. Antioxidantes presentes na batata (*Solanum tuberosum*).



Fonte: a autora.

O estresse oxidativo é o resultado de um desequilíbrio entre os radicais livres e as defesas dos antioxidantes. Este estresse pode resultar na deterioração de biomoléculas essenciais para o funcionamento do organismo e proporcionar o desenvolvimento ou agravamento de doenças, incluindo artrite, disfunção cerebral, aterosclerose, cardiopatias, diabetes, enfisema, catarata, envelhecimento, esclerose múltipla, câncer, inflamações crônicas e doenças do sistema imune (ANRAKU et al., 2018; APAK et al., 2016; GULCIN, 2020).

Quando há um desequilíbrio entre as espécies oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de espécies reativas ou, em detrimento da velocidade de remoção desses pelo sistema de defesa antioxidante, ocorrerá o estresse oxidativo favorecendo a ocorrência de danos oxidativos às biomoléculas. Diante disso, os danos crônicos às biomoléculas desencadeadas pelo estresse oxidativo tem sido associado à etiologia de diversas patologias, incluindo câncer, doença cardiovascular, isquemia cerebral, doenças neurodegenerativas, além do envelhecimento.

Os antioxidantes são frequentemente empregados para prevenir o processo de oxidação que afeta especialmente os ácidos graxos. É um fenômeno que ocorre por reações radicalares em cadeia e envolvem as etapas de iniciação, propagação e terminação.

O início do processo de oxidação lipídica, a iniciação, é promovido pelo calor ou pela luz e decorre da ação de iniciadores, que podem ser o radical peroxila ($HO^{\bullet}$) ou o radical hidroperoxila ($HOO^{\bullet}$), que reagem com o ácido graxo insaturado. Através de uma reação homolítica (reação 1, Figura 18) ocorre à retirada de um átomo de hidrogênio do carbono metilênico adjacente à ligação dupla do ácido graxo insaturado (RH), formando um radical alquilo ($R^{\bullet}$).

Na etapa seguinte a propagação, os radicais formados na iniciação, reagem com o oxigênio formando o radical peróxido (ROO•) (reação 2). O radical peróxido se unem a outro lipídeo insaturado retirando um hidrogênio de uma posição alílica e produz o hidroperóxido (ROOH) e o radical alquilo (R•) (reação 3).

Ao final do processo, na etapa de terminação, os radicais livres se unem para formar moléculas estáveis (reações 4, 5 e 6). A principal característica desta etapa é a diminuição do consumo de oxigênio e a redução de peróxidos (RAMALHO et al., 2006). A Figura 18 ilustra as etapas de um processo de oxidação lipídica no qual são formados radicais livres.

Figura 18. Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.

Iniciação:

Reação 1: $RH \rightarrow R\bullet + H\bullet$

Propagação:

Reação 2: $R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$

Reação 3: $ROO\bullet + RH \rightarrow ROOH + R\bullet$

Terminação:

Reação 4: $R\bullet + R\bullet \rightarrow RR$

Reação 5: $R\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR$

Reação 6: $ROO\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR + O_2$

RH – ácido graxo insaturado

$R^{\bullet}$ - radical alquilo

ROO• - radical peróxido

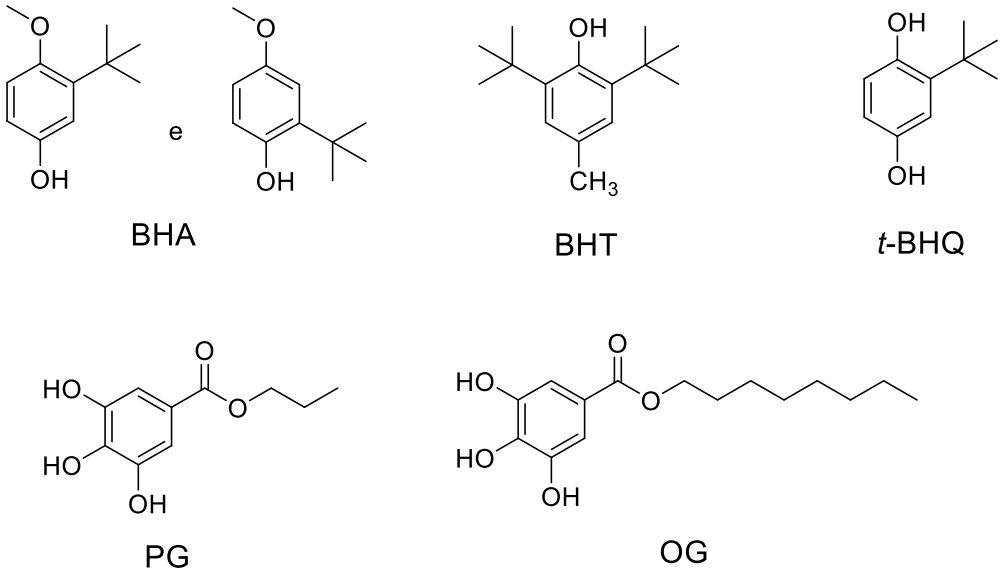
ROOH - hidroperóxido

Fonte: adaptado de Ramalho et al. (2006).

Atualmente, são utilizados em grande escala os seguintes antioxidantes: hidroxianisol butilado (BHA), butilidroxitolueno (BHT), *terc*-butilidroquinona (*t*-BHQ), galato de propila (PG) e galato de octila (OG) (Figura 19) (GULCIN, 2020). O BHA e o BHT têm aplicações alimentares e farmacológicas e são usados também como aditivos alimentares. O BHA é uma

mistura de dois isômeros, o 2-*terc*-butil-4-hidroxianisole o 3-*terc*-butil-4-hidroxianisol, e é um antioxidante mais eficaz no controle da oxidação em relação ao BHT, devido à presença de dois grupos *terc*-butil na molécula do BHT levando a um impedimento estérico durante as reações. O TBHQ é um conservante eficaz aplicado em óleos vegetais insaturados e carnes. O PG é um antioxidante empregado para estabilizar alimentos e materiais de embalagem de cosméticos, alimentos contendo gorduras e como aditivo em gorduras comestíveis, óleos, maionese, gorduras, adesivos sensíveis à pressão, produtos de panificação, aditivos de óleo lubrificante e óleos. O OG é o éster de octan-1-ol e ácido gálico, utilizado como um antioxidante e conservante de alimentos.

Figura 19. Estruturas de antioxidantes.



Fonte: autora.

Todavia, estudos recentes mostram que estas substâncias são responsáveis por um aumento de toxicidade hepática (condição que afeta o fígado) e carcinogênese quando usado em níveis elevados em animais de laboratório. Em suma, na literatura há vários relatos que associa o uso destes antioxidantes a problemas à saúde do homem, dos animais e ao meio ambiente, sendo inclusive evidenciado como causadores de danos ao DNA (SHAHIDI et al., 2015).

Assim, pesquisas envolvendo compostos antioxidantes oriundos de fontes naturais têm sido desenvolvidas em diferentes centros de estudos devido à sua importância na prevenção do desencadeamento das reações oxidativas, podendo ser fontes alternativas a compostos convencionais já utilizados (APAK et al., 2016; GULCIN, 2020).

2.6 Atividade antifúngica

As doenças infecciosas são um problema de saúde pública mundial. Entre os agentes patogênicos estão as bactérias, os parasitas, os vírus e os fungos. As doenças provocadas por fungos, por exemplo, causam sérios efeitos na saúde do homem, levando ao aumento da taxa de mortalidade, hospitalização do paciente e custos de saúde. Anualmente, mais de 150 milhões de casos graves de infecções fúngicas ocorrem em todo o mundo, resultando em aproximadamente 1,7 milhões de mortes por ano (KAINZ et al., 2020). Vale ressaltar, que os números de casos de óbitos por doenças fúngicas vêm aumentando constantemente (HOUŠŤ, SPÍŽEK, HAVLÍČEK, 2020).

Com a aplicação terapêutica de longo prazo e o uso profilático destes medicamentos antifúngicos em pacientes de alto risco, houve nas últimas décadas uma intensificação da resistência antimicrobiana, devido ao desenvolvimento de patógenos resistentes e também ao surgimento outros fungos eucarióticos multirresistentes aos fármacos, incluindo cepas do gênero *Candida* (REVIE et al., 2018).

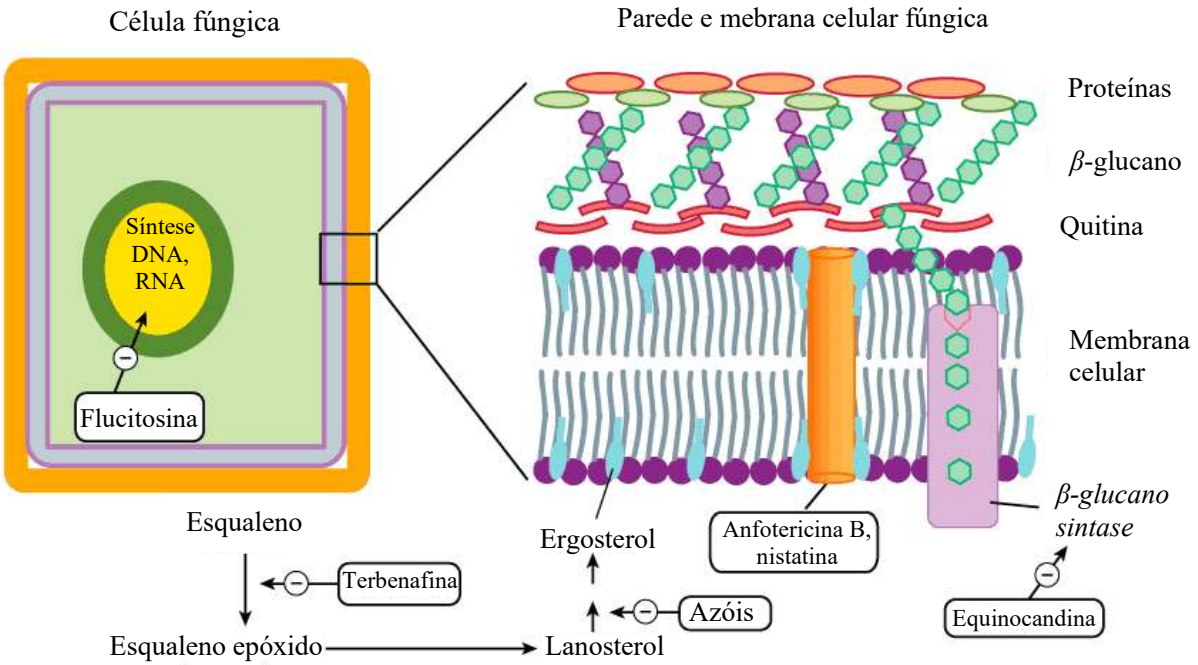
São conhecidos mais de 20 tipos de espécies de *Candida*, sendo *C. albicans* a mais comum. São leveduras que fazem parte da microbiota normal do organismo e estão presentes na superfície de mucosas, como a cavidade bucal, pele e órgãos genitais. Entretanto, pode ocorrer um desequilíbrio da flora microbiana o que é responsável pela candidíase e por infecção na corrente sanguínea (candidemia). Os sintomas da candidíase oral e vaginal incluem manchas brancas na boca, língua, garganta e coceira ou queimação na genitália. O diagnóstico envolve análise microscópica e de cultura (BHATTACHARYA, SAE-TIA, FRIES, 2020).

Outro fungo causador de doenças é o *Cryptococcus neoformans* encontrado em excrementos de pássaros, especialmente de pombos. É o principal agente etiológico da criptococose, e que é caracterizada por uma infecção pulmonar, cujos sintomas incluem pneumonia e meningite. Pode gerar infecções potencialmente fatais do sistema nervoso central (CNS), cujos sintomas são dor de cabeça, febre, vômito e confusão mental. O diagnóstico é clínico e microscópico confirmado por amostras de cultura (HOLE et al., 2016).

O desenvolvimento destas doenças ocorre principalmente em pacientes com o sistema imunológico enfraquecido, como em pacientes imunocomprometidos, que inclui receptores de transplante e de implante, queimados, portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e indivíduos com câncer. Além disso, o risco de estar infectado aumenta para pacientes diabéticos, devido ao impacto da glicose no metabolismo (NAMI et al., 2019; VAITKIENĖ et al., 2021).

Essas infecções são tratadas empregando antifúngicos que têm como alvo diferentes vias biossintéticas do patógeno. A Figura 20 ilustra o mecanismo de ação das moléculas frente a célula fúngica (composta por três camadas primárias: proteínas, β-glucano e a quitina). Entre as classes de antifúngicos, podemos destacar os polienos (como a terbinafina, anfotericina B, nistatina e os azóis) que atuam como inibidores da biossíntese do ergosterol por meio da inibição do esqualeno epóxido; as pirimidinas (como a flucitosina), que atuam na síntese DNA/ RNA; e as equinocadinas (como a anidulafungina) que inibem a produção da parede celular fúngica, interferindo na síntese de β-glucano) (KATZUNG, KNUIDERING-HALL, TREVOR, 2018).

Figura 20. Mecanismo de ação dos antifúngicos frente a célula fúngica.



Fonte: Katzung, Knuidering-Hall e Trevor (2018).

Os polienos; azóis; alilaminas; pirimidinas e as equinocandinas são as principais classes de antifúngicos amplamente utilizados. Suas estruturas estão ilustradas na Figura 21.

Dentre estas, os polienos foram os primeiros compostos utilizados no tratamento de infecções fúngicas, (por volta de 1950) e inibem várias espécies de *Candida*, *Aspergillus* e *Cryptococcus*. Como ilustrado na Figura 20 o modo de ação dos polienos, representado anfotericina B (AmB) e pela nistatina consiste na ligação do antifúngico ao ergosterol das membranas celulares dos fungos levando a formação de poros que aumentam a permeabilidade

da membrana, em seguida íons monovalentes e divalentes (K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} e Cl^-) entram nestes canais da membrana citoplasmática levando a morte celular (HOUŠŤ, SPÍŽEK, HAVLÍČEK, 2020; REVIE et al., 2018).

A anfotericina B (AmB) e a nistatina (Figura 21), são substâncias estruturalmente parecidas, exceto pelo número de ligações duplas conjugadas, a AmB tem sete duplas na região do polieno, enquanto a nistatina tem quatro duplas conjugadas. Com isso, a AmB apresenta maior potencial fúngico, devido a uma interação hidrofóbica mais eficiente com esteróis de membrana. (BRAUTASET et al., 2011).

Os azóis são outra classe de fármacos antifúngicos, que se caracterizam por apresentar um imidazólico livre unido a outros anéis aromáticos por ligações C-N (Figura 21). São classificadas de acordo com a quantidade de nitrogênio na molécula: os imidazólicos apresentam 2 átomos de N e os triazóis têm 3 átomos de N em sua estrutura cíclica, são exemplos o miconazol e o fluconazol, respectivamente. O mecanismo de ação dos azóis é baseado na inibição da 14-α-desmetilase, enzima do microssomo citocromo P450, impedindo a conversão de lanosterol em ergosterol por meio da remoção oxidativa do grupo 14-α-metil do lanosterol, e levando assim, ao efeito fungicida desejado (destruição da estrutura celular fúngica). Os azóis têm um amplo espectro de atividade sendo empregados, por exemplo, contra espécies de *Candidas, Cryptococcus neoformans,* micoses endémicas e dermatófitos e contra *Aspergillus* (HOUŠŤ, SPÍŽEK, HAVLÍČEK, 2020; REVIE et al., 2018).

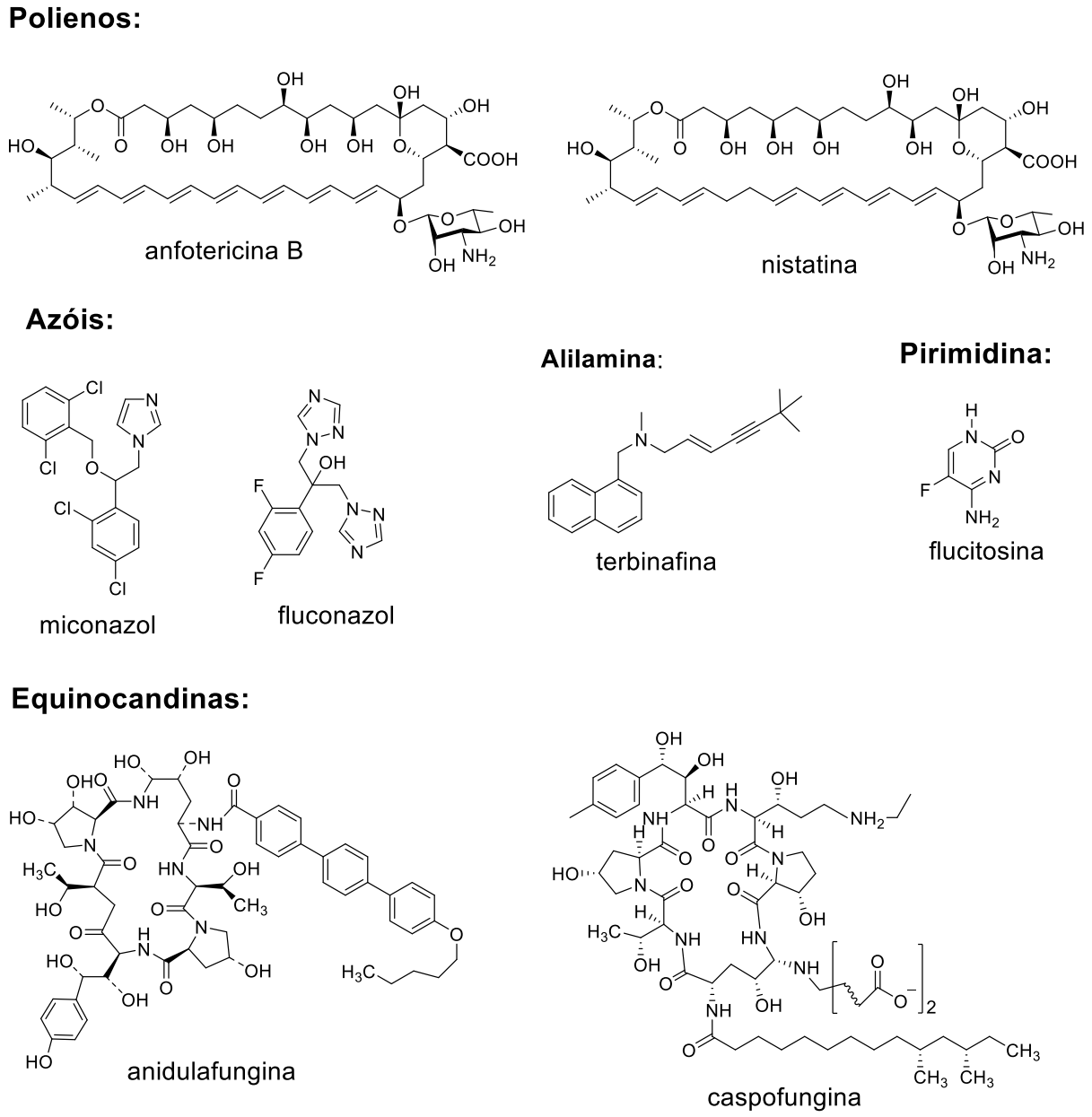
A alilamina é uma amina insaturada de fórmula molecular igual a $C_3H_5NH_2$, é considerada a base para a síntese de alguns compostos antifúngicos que bloqueia a síntese de ergosterol por meio da inibição do esqualeno epoxidase, enzima codificada pelo gene ERG1. O exemplo mais citado é a terbinafina que é empregada em infecções de pele e unha causadas por *Aspergilose*, *Cromoblastomicose* e *Esporotricose* (KATZUNG, KNUIDERING-HALL, TREVOR, 2018).

As pirimidinas são moléculas menores e formadas por um único anel de carbono e nitrogênio que inibem espécies de *Candidas*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* e de *Torulopsis*. A flucitosina é o antifúngico mais conhecido dessa classe e é um inibidor da síntese de ácidos nucleicos, RNA e DNA (HOUŠŤ, SPÍŽEK, HAVLÍČEK, 2020). O mononucleotídeo não natural é biotransformado a trinucleotideo, sendo incorporado ao RNA do fungo, onde desorganiza a síntese de ácidos nucleicos e proteínas.

As equinocandinas são moléculas maiores e incluem a anidulafungina e a caspofungina, que são fármacos peptídico cíclicos (hexapeptídicos) com átomo de N ligadas a suas cadeias. As cadeias agem como âncoras na membrana celular dos fungos, facilitando a atividade

(DENNING, 2003). Inibem a síntese da β-(1,3)-D-glucano, enzima codificada pelo gene FKS1, induzindo um estresse severo da parede celular e levando a morte do fungo. São fungicidas contra espécies de *Candida* e de *Aspergillus fumigatus* (ROBBINS et al., 2017).

Figura 21. Estruturas dos antifúngicos utilizados atualmente.



Fonte: autora.

Atualmente, há inúmeros relatos na literatura da resistência aos antifúngicos convencionais, que podem ocorrer devido a alterações na parede celular fúngica, modificações na biossíntese de ergosterol e evolução genética dos fungos (BHATTACHARYA, SAE-TIA, FRIES, 2020; HOUŠŤ et al., 2020; REVIE et al., 2018). Além da resistência antifúngica, há

preocupação com relação aos efeitos adversos apresentada pelo uso prolongado destes fármacos, podendo causar desconfortos gastrointestinal (náuseas, vómitos, dor, distensão abdominal e diarreia), e problemas graves da função hepática, função renal e alterações na produção de células do sangue (HOUŠŤ, SPÍŽEK, HAVLÍČEK, 2020).

Assim, é necessário desenvolver antifúngicos que sejam eficazes, levando em consideração a qualidade do sistema imunológico dos hospedeiros, nível de infecção e farmacocinética dos medicamentos. Além disso, os pesquisadores devem buscar por compostos seguros que apresentem menores efeitos colaterais, que eliminem as células fúngicas, sem que ataque, ou prejudique as células humanas. Uma alternativa, é procurar nas plantas por novos antifúngicos, visto que inúmeros compostos promissores como antifúngicos foram isolados de plantas do gênero *Solanum*, como *S. schimperianum* (AL-REHAILY et al., 2013), *S. asperum* (PINTO et al., 2011), *S. chrysotrichum* (HERRERA-ARELLANO et al., 2009) e *S. aculeastrum* (KODURU et al., 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar a análise química e avaliar as atividades antifúngica e antioxidante das raízes, galhos e folhas de *Solanum subumbellatum*.

3.2 Objetivos específicos

- Preparar os extratos das raízes, galhos e folhas e frações das raízes externas, a FH-CR, FD-CR, FAE-CR e a FHM-CR, de *S. subumbellatum*.
- Avaliar os teores de fenóis, proantocianidinas e flavonoides dos extratos e da FH-CR, FD-CR, FAE-CR e da FHM-CR
- Realizar o estudo químico dos extratos e frações bioativas de *S. subumbellatum* por CLAE-EM-IES.
- Realizar o fracionamento cromatográfico da fração bioativa visando o isolamento dos compostos.
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos e frações pelo método da capacidade de absorção do radical de oxigênio (ORAC) e do 2,2-difenil-1-picrilidrazila ($DPPH^{\bullet}$).
- Realizar a determinação estrutural do composto isolado através de métodos de CG -EM e por RMN de ^{1}H, ^{13}C, DEPT 135, RMN por correlações HMBC, HSQC, COSY.
- Determinar a atividade antifúngica frente a espécies de *Candida* e *Cryptococcus neoformans* dos extratos, das frações e composto isolado pelo método da microdiluição em caldo.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Solventes e reagentes

- Os solventes usados para o preparo dos extratos e frações, hexano, etanol, diclorometano e acetato de etila foram adquiridos de marcas diversas: Vetec, Êxodo cientifica, Dinâmica e Synth.
- O hexano, etanol e o acetato de etila foram destilados para maior grau de pureza.

Os reagentes, marcas e o número CAS, dos solventes utilizados nos ensaios estão na Tabela 6.

Tabela 6. Reagentes utilizadas no desenvolvimento da pesquisa.

Reagentes	**Marca**	**CAS**
ácido gálico	Vetec Química Fina	149-91-7
anisaldeído	Vetec Química Fina	123-11-5
bicarbonato de sódio	Cultilab	144-55-8
C_{18} sílica gel	Sorbent Techologies	-
catequina	Sigma-Aldrich	7295-85-4
cloreto de alumínio	Vetec Química Fina	7446-70-0
clorofórmio deuterado	Combridge Isotope Laboratories	865-49-6
difenilborato aminoetanol (NP)	Sigma-Aldrich	524-95-8
2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH)	Sigma-Aldrich	1898-66-4
2,6-di-tercbutil-4-metilfenol (BHT)	Sigma-Aldrich	128-37-0
Folin Ciocalteau	Cromoline	521-24-4
iodeto de potássio	Chemicals	7758-05-6
nitrato de bismuto	Isofar	1304-85-4
quercetina	Arborvita	117-39-5
polietilenoglicol 400 (PEG-400)	Vetec Química Fina	25322-68-3
sulfato cérico	Vetec Química Fina	10294-42-5
vanilina	Vetec Química Fina	121-33-5

4.2 Instrumentação

- Banho de aquecimento Fisatom modelo 550.
- Balança analítica Shimadzu modelo AUW220D;
- Balança de luz infravermelha Kett modelo FD-600;
- Placa aquecedora Fisatom modelo 550;
- Evaporador rotatório IKA modelo RV 10;
- Banho de ultra-som Unique modelo USC 750;
- Liofilizador Terroni modelo LS3000;
- Câmara de luz ultravioleta com irradiação de luz com $\lambda = 254$ e $\lambda = 365$ nm;
- Espectrofotômetro Thermo Scientific, modelo Genesys 10S.
- Espectrofotômetro Molecular Devices, modelo Menlo Park.
- Espectrofotômetro BioTek, modelo Epoch.
- Microplacas de 96 poços Corning Costar Corporation.
- Cromatógrafo a líquido acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução (CLAE-EM) Agilent modelo Infinity 1260, acoplada a um espectrômetro de massa de alta resolução tipo *Quadrople* Q-TOF (*Quadrople Time o f Fligth*) da marca Agilent, modelo 6520 B com fonte de ionização por *electrospray* (IES).
- Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM) da marca Agilent Technologies modelo 7890B GC System, modelo 5977B.
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) Bruker modelo Ascend ™ 400 Avance III HD (9,4 Tesla).

4.3 Técnicas cromatográficas

4.3.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Como fase estacionária foram utilizadas placas comerciais de sílica gel 60 com indicador de fluorescência ($\lambda = 254$ nm), 0,20 mm de espessura, marca Macherey-Nagel e modelo Polygram (número de referência: 805023). Para as visualizações das cromatoplacas foram feitas por nebulização de revelador específico (item 4.8) ou por inspeção em radiação ultravioleta ($\lambda = 254$ nm ou $\lambda = 366$ nm).

4.3.2 Cromatografia em coluna (CC)

A fase estacionária para as separações cromatográficas em coluna aberta foi de Sílica gel (SiO_2) para cromatografia (63–200 µm, diâmetro de poro 60 Å) Sigma-Aldrich.

4.3.3 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

A análise por CG-EM foi realizada no Laboratório de Nanobiotecnologia Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho, campus Umuarama, em colaboração com a Dra. Arlene B. dos S. Nossol.

Foi utilizando um cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM) da marca Agilent Technologies modelo 7890B GC System/5977B CG-EM, equipado com uma coluna capilar Agilent 19091S-433 HP-5ms (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm). A temperatura do injetor foi de 274 °C. O gás de arraste utilizado foi hélio de alta pureza a uma taxa de fluxo constante de 0,9 mL min^{-1}. Foram feitas injeções de 1 µL. O detector de massas operou com energia de impacto de 70 eV e foram registrados os fragmentos de 35 a 550 *m/z* com uma contagem de 150 limiar e atraso de solvente de 3 min. O quadrupolo foi mantido a 150 °C com a fonte de íons a 280 °C. A temperatura do forno foi programada para aquecer de 60 a 246 °C mantendo a essa temperatura por 30 min. O padrão certificado utilizado foi obtido pela Supelco (C7-C40 *Saturated Alkanes Standard*) na concentração de 1000 µg mL^{-1} em hexano.

4.3.4 Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (CLAE-EM)

As análises por CLAE-EM em alta resolução foram realizadas no Laboratório Nanobiotecnologia Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho, campus Umuarama, em colaboração com o Dr. Mário M. Martins.

Foi empregado um cromatógrafo líquido (marca Agilent modelo Infinity 1260) acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução tipo *Quadrople* Q-TOF da marca Agilent® modelo 6520 B com fonte de ionização por *electrospray* (IES).

Os parâmetros cromatográficos para análise das frações foram: coluna Agilent modelo Poroshell C_{18}, 2,1 mm de diâmetro interno, 10 cm de comprimento, partículas de 2,7 µm, a fase móvel: água dopada com ácido fórmico (0,1% v v^{-1}) (A) e metanol (B), com o gradiente: 2% de B (0 min), 98% de B (0–10 min); 100% de B (10–17 min). Os parâmetros de ionização

foram: pressão do nebulizador de 20 psi, gás secante (N_2) a 8,0 L min^{-1} a uma temperatura de 220 ºC e no capilar foi aplicado uma energia de 4,5 KV.

As análises de espectrometria de massas sequencial (EM/EM) foram realizadas em diferentes energias de colisão para os modos positivo $[M + H]^+$ e negativo $[M - H]^-$.

Os dados foram analisados utilizando o software Mass Hunter Qualitative (Agilent). O erro em ppm foi calculado considerando os valores medidos de alta resolução de massa e comparadas com a massa exata, obtida do programa ChemDraw 15.0 com a seguinte equação:

$$\text{Erro}_{\text{ppm}} = \frac{\text{massa experimental} - \text{massa exata}}{\text{massa exata}} \times 10^6$$

A anotação dos compostos foi realizada a partir do estudo dos fragmentos e da massa de alta resolução comparando com padrões de fragmentação de compostos conhecidos já descritos na literatura.

4.4 Técnica espectroscópica: ressonância magnética nuclear (RMN)

As análises foram realizadas no laboratório multiusuário do Instituto de Química, da UFU, campus de Santa Mônica, no espectrômetro da marca Bruker modelo Ascend™ 400 Avance III HD (9,2 Tesla) operando em frequências de 400 MHz para os núcleos de hidrogênio e 100 MHz para o carbono. Os experimentos foram realizados a 25 ºC, utilizando TMS como padrão interno (δ_{TMS} = 0,00).

Foram realizadas análises de RMN de ^1H e ^{13}C, DEPT 135 (*distortionless enhancement by polarization transfer*), COSY (*homonuclear correlation spectroscopy*, $^1H \rightarrow {}^1H$), HSQC (*heteronuclear single quantum coherence*, $^1H \rightarrow {}^{13}C$) e HMBC (*heteronuclear multiplebond coherence*, $^1H \rightarrow {}^{13}C$).

4.5 Material vegetal

A identificação botânica, foi feita pelo Dr. João Renato Stehmann da UFMG, em seguida foi feita a coleta das raízes, galhos e folhas de *S. subumbellatum.* O material vegetal foi coletado na Fazenda Chapadão, Água Limpa, Patrocínio, Minas Gerais, Brasil (coordenada geográfica: –18º77’78.92’’S, –46º90’12.95’’ O) e encaminhadas ao Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais (NuPPeN) do Instituto de Química da UFU, campus Santa Mônica. A

exsicata do espécime foi depositada no Herbário Uberlandense da UFU com número 73031. Esta planta foi registrada no Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Genéticos e Conhecimento Tradicional Associado para Pesquisa (SYSGEN).

4.6 Preparo dos extratos das raízes, galhos e folhas de *S. subumbellatum*

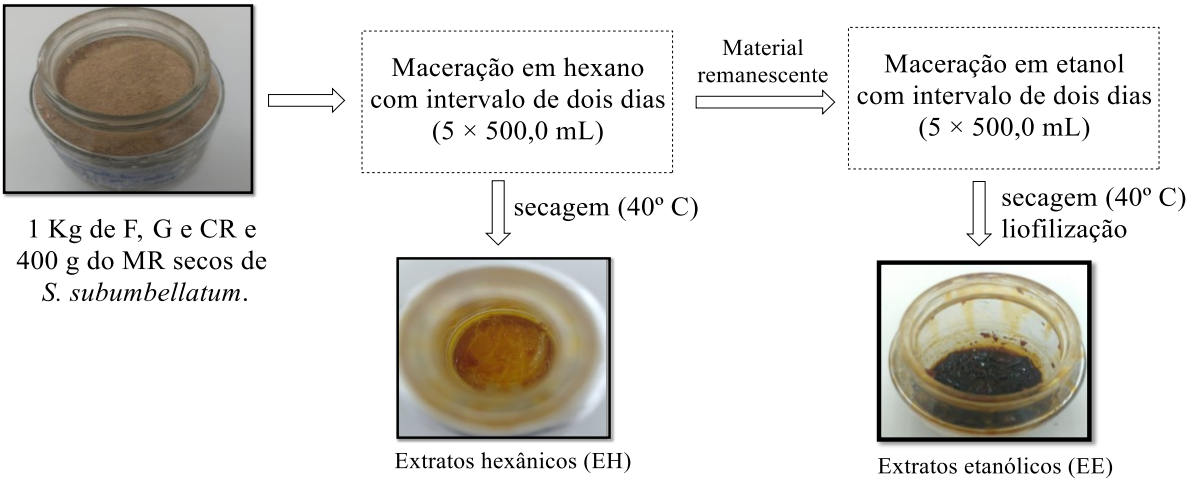
Para o preparo dos extratos das raízes, galhos e folhas da *S. subumbellatum* o material vegetal foi levado para o NuPPeN. As raízes foram separadas em duas partes: cascas das raízes e miolo das raízes devido a suas diferenças morfológicas. Após a separação das partes da planta o material vegetal foi colocado em uma estufa a 35º C, até atingir um teor de umidade inferior a 10% seguindo o procedimento realizado por Silva et al. (2019) (Tabela 7). Para a determinação do teor de umidade cerca de 1,0 g de material vegetal foi monitorado a 105 ºC por 15 min em uma balança de luz infravermelha.

Tabela 7. Teor de umidade das cascas das raízes, miolo das raízes, galhos e folhas de *S. subumbellatum.*

Parte da planta	Teor de umidade (%)
Cascas das raízes (CR)	7,0
Miolo das raízes (MR)	7,5
Galhos (G)	6,0
Folhas (F)	5,5

Após retirar o material vegetal da estufa, folhas e galhos foram triturados utilizando um liquidificador, enquanto CR e MR foram triturados um moinho de facas. Posteriormente, 1 Kg de F, G e CR e 400 g do MR foram submetidos a extração com hexano (5 × 500,0 mL). O processo de extração foi repetido por cinco vezes com intervalo de dois dias (48 h) entre as extrações. Ao final do processo de extração, o solvente foi evaporado utilizando um evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo assim os extratos hexânicos (EH). Posteriormente, foi obtido os extratos etanólicos (EE) sendo adicionado etanol (5 × 500,0 mL) ao material remanescente da extração em hexano e repetido o mesmo procedimento por cinco vezes. Após a remoção dos solventes, o EE foi congelado e liofilizado para remoção de água (Figura 22).

Figura 22. Fluxograma de preparo dos extratos.

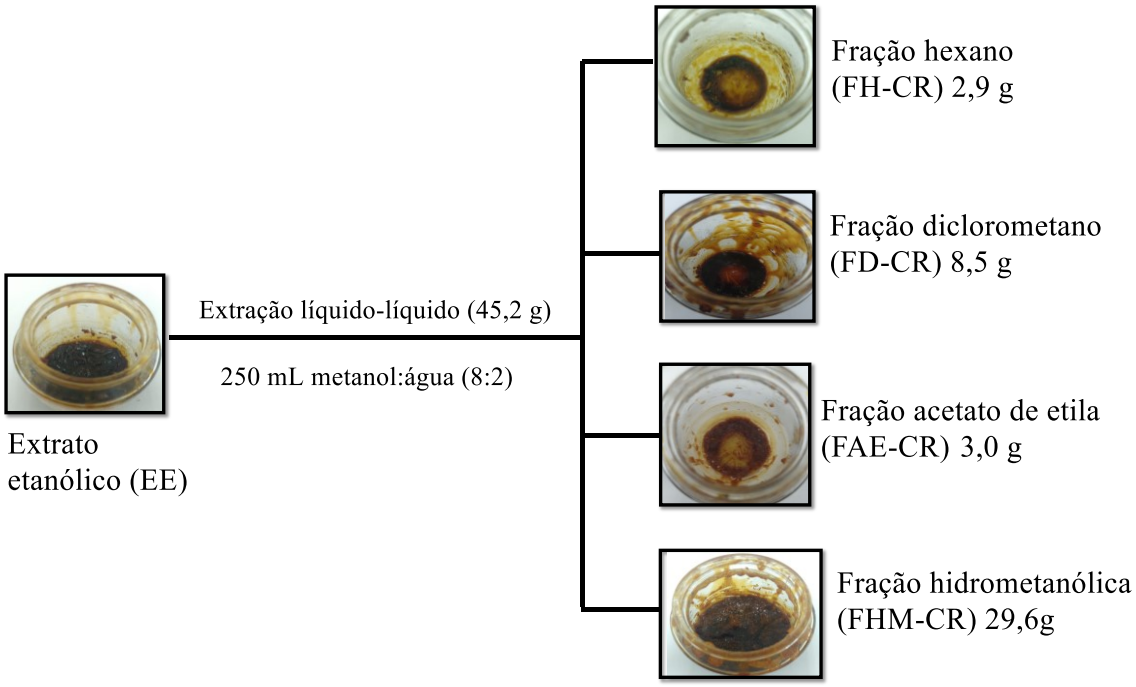


Fonte: a autora.

4.7 Extração líquido-líquido do EE-CR de *S. subumbellatum*

O extrato EE-CR foi dissolvido em 250,0 mL de metanol:água (8:2) e submetido ao fracionamento via extração líquido-líquido sequencial com solventes de polaridade crescente: hexano (5 × 250,0 mL), dicloromentano (5 × 250,0 mL) e acetato de etila (5 × 250,0 mL), sucessivamente, restando a fração hidrometanólica (Figura 23).

Figura 23. Esquema do processo de extração líquido-líquido do EE-CR de *S. subumbellatum.*



Fonte: a autora.

4.8 Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica foi realizada considerando a técnica de cromatografia em camada delgada (CCD) (NUNES et al., 2016; WAGNER et al., 1996). Os extratos e frações foram solubilizados em metanol (1,0 mg mL^{-1}) e aplicadas em cromatoplacas. Foram preparadas duas fases móveis, a primeira fase móvel foi diclorometano, metanol, hidróxido de amônio (9: 1: 0,3), e a segunda fase móvel foi acetato de etila, ácido acético, ácido fórmico, água (10: 1: 1: 2,5).

Para as visualizações em placas cromatográficas foram preparadas soluções específicas. Seguem os reveladores utilizados:

- *Detecção de compostos fenólicos em geral: solução de sulfato cérico*

Preparada a partir de 0,7 g de sulfato cérico dissolvida em solução contendo 20,0 mL de água destilada. Após a eluição foi borrifado sobre as cromatoplacas solução aquosa de ácido sulfúrico 7% (m v^{-1}).

- *Detecção de flavonoides:* difenilborato aminoetanol (NP) com polietilenoglicol (PEG):

Solução A: solução metanólica de difenilborato aminoetanol (NP) 1% (m v^{-1}).
Solução B: de polietilenoglicol (PEG) 5% (m v^{-1}).
Solução spray: Mistura das soluções A e B (10:8).
As cromatoplacas foram inspecionadas em câmara de luz UV (365 nm).

- *Detecção de terpenoides, esteroides e saponinas: Liebermann-Burchard e Anisaldeído*

  - ✓ Liebermann-Burchard:

Reagentes: anidrido acético, ácido sulfúrico concentrado, etanol (5:5:50), sob banho de gelo. As cromatoplacas foram borrifadas com o revelador e aquecidas a 100 ºC por 5 a 10 min.

✓ Anisaldeído:

Reagentes: anisaldeído 5% (v v^{-1}): ácido acético, metanol, ácido sulfúrico (0,5:10:85:5). As cromatoplacas foram borrifadas com o revelador e aquecidas a 100 ºC por 5 a 10 min.

- *Detecção de alcaloides: Iodocloroplatinato (ICPt) e Dragendorff*

✓ ICPt:

Solução A: Solução aquosa a 5% (m m^{-1}), de ácido hexacloroplatínico (IV).
Solução B: Solução aquosa a 10% (m m^{-1}), de iodeto de potássio.
Solução spray: Misturar solução A, solução B e água (1:9:10).

✓ *Dragendorff:*

Solução A: 0,8 g de nitrato de bismuto numa mistura de 10,0 mL de ácido acético e 40,0 mL de água.
Solução B: 8,0 g de iodeto de potássio em 20,0 mL de água.
Solução estoque: Misturar A e B (1: 1)
Solução spray: Misturar solução estoque: ácido acético: água (1: 2: 10).

4.9 Determinação do teor de fenóis totais

Em um tubo (5,0 mL) foram adicionados 0,5 mL de uma solução em metanol dos extratos ou frações (500 µg mL^{-1}), 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 10% (v v^{-1}) e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 7,5% (m v^{-1}). A reação foi mantida a 50 ºC por 5 min, e a absorbância foi registrada a 760 nm utilizando um espectrofotômetro da marca Genesyis, modelo 10S UV-Vis. O teor de fenóis totais foi expresso em *mg* de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de extrato. Para isso, foi obtida uma curva analítica com soluções de ácido gálico dissolvidas em metanol (5; 10; 20; 40 e 60 µg mL^{-1}) (MARTINS et al., 2019).

4.10 Determinação do teor de proantocianidinas

Em um tubo (5,0 mL) foram adicionados 2,0 mL de uma solução em metanol dos extratos ou frações (500 µg mL^{-1}) e de 3,0 mL de vanilina (5,0 mg mL^{-1}) diluída em uma solução de ácido sulfúrico 70% (m m^{-1}). A reação foi mantida a 50 ºC por 15 min e a absorbância foi registrada a 500 nm. O teor de proantocianidinas foi expresso em *mg* de equivalente de catequina (EC) por grama de extrato. Para isso, foi obtida uma curva analítica com soluções de catequina dissolvidas em metanol (1; 5; 10; 15 e 20 µg mL^{-1}) (MARTINS et al., 2019).

4.11 Determinação do teor de flavonoides

Em um tubo (5,0 mL) foram adicionados 2,0 mL de uma solução em metanol dos extratos ou frações (500 µg mL^{-1}), 1,0 mL de solução de cloreto de alumínio 5% (m v^{-1}) e 2,0 mL de metanol. A reação foi mantida à temperatura ambiente por 30 min e a absorbância foi registrada a 425 nm. O teor de flavonoides foi expresso em *mg* de equivalente de quercetina (EQ) por grama de extrato. Para isso, foi obtida uma curva analítica com soluções de quercetina dissolvidas em metanol (0,5; 1; 5; 10; 15 e 30 µg mL^{-1}) (MARTINS et al., 2019).

4.12 Determinação da atividade antioxidante

Os ensaios da atividade antioxidante foram realizados no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do Instituto de Biotecnologia da UFU, com a colaboração do professor Dr. Foued Salmen Espindola. As análises foram feitas pela autora com a supervisão do Dr. Allisson Benatti Justino.

4.12.1 Método do sequestro do radical DPPH$^{\bullet}$

O procedimento foi realizado segundo a metodologia proposta por Yildirim, et al. (2001) utilizando o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH$^{\bullet}$). Os extratos/ frações foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO). 250 µL de extratos/ frações foram solubilizadas em 750 µL de solução metanólica de DPPH (0,06 mmol L^{-1}). A mistura contendo extratos/ frações foi incubada a 30º C, na ausência de luz, por 20 min. A redução na absorbância

da mistura foi medida em espectrofotômetro (Molecular Devices, Menlo Park) a 517 nm. O controle foi realizado substituindo o extrato por metanol e o branco substituindo a solução de DPPH por metanol. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo. Os cálculos do percentual do radical livre foram efetuados a partir da seguinte equação:

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = \left[\frac{Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})}{Abs_{controle}} \right] \times 100$$

Onde: $Abs_{controle}$ é a absorbância inicial da solução metanólica de DPPH; $Abs_{amostra}$ é a absorbância da mistura reacional (DPPH + amostra) e Abs_{branco} é a absorbância da amostra em metanol.

Foi plotado um gráfico da porcentagem de DPPH sequestrado versus as concentrações das amostras nas cubetas e por meio da equação de reta foi calculada a concentração efetiva (CE_{50}), que corresponde à concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais de DPPH. Todas as análises foram realizadas em duplicada com diferentes concentrações de cada amostra para a determinação dos valores de CE_{50}.

4.12.2 Método do sequestro do radical peroxil (ORAC)

A capacidade antioxidante foi avaliada de acordo com a eficácia de absorção dos radicais de oxigênio (ORAC), do inglês "*Oxygen radical absorbance capacity*", considerando a metodologia descrita por Prior et al. (2003).

Os extratos/frações foram diluídos em DMSO na concentração de 20 µg mL^{-1}. Todos os reagentes foram preparados em tampão fosfato a 75 mmol L^{-1}, pH 7,4. Inicialmente, 25 µL de extrato foram misturados a 150 µL de fluoresceína (0,085 nmol L^{-1}) e incubados à temperatura ambiente por 15 min. Na sequência, a reação foi iniciada com 30 µL da solução de 2,2'-azobis(2-amidinopropano)diidrocloreto (AAPH). A intensidade de fluorescência foi medida a 37 ºC em um espectrofluorímetro, com excitação à 485 nm e emissão à 528 nm, sendo verificada a cada 1 min e 30s durante 90 min. O branco foi realizado substituindo os extratos/ frações por tampão fosfato. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo. A perda de fluorescência da fluoresceína foi medida utilizando o cálculo da área sob a curva, e a capacidade antioxidante foi determinada por meio de uma curva analítica construída com ácido 6-hidroxi-

2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox). Todas as análises foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos como µmol equivalente de Trolox por grama de amostra.

4.13 Determinação da atividade antifúngica

O ensaio da atividade antifúngica foi realizado no Laboratório de Biologia de Fungos do Departamento de Microbiologia e Imunologia, da UNESP, campus Botucatu em parceria com a Dra. Fabiana Furtado com orientação do Prof. Dr. Eduardo Bagagli.

Foram utilizados os seguintes microrganismos: *Candida krusei* (CFP 338), *Candida albicans* (CFP65), *Candida guilliermondii* (ATCC 22017), *Candida orthopsilosis* (ATCC 96141) e *Cryptococcus neoformans* (CFP 57). As cepas CFP foram as fornecidas pelo FioCruz, da Coleção de Fungos Patogênicos.

Para o ajuste do inóculo, foram feitas contagens em câmara de Neubauer (da marca Knittel Gläser). Para isso, as leveduras foram previamente cultivadas em ágar Sabouraud a 37 °C por 48 horas e *C. neoformans* a 37 °C por 72 horas, e então ressuspendidas em solução salina (0,9%). Depois de contagem, os inóculos foram ajustados com diluição no meio RPMI-1640 para alcançar uma concentração final de 2,5 x 10^3 leveduras por mL.

O ensaio de microdiluição foi realizado como recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* com algumas adaptações (CLSI, 2008a; CLSI, 2008b). Ensaios foram realizados em microplacas (marca Costar) de 96 poços com RPMI-1640 suplementado com glutamina sem bicarbonato de sódio.

Os extratos e frações foram dissolvidas em dimetilsulfóxido e uma diluição em série foi realizada para atingir concentrações que variam de 2,44 a 5000 µg mL^{-1} para as frações e 0,17 a 350 µg mL^{-1} para as sub-frações e isolado. Após adição dos inóculos, as placas foram incubadas em atmosfera úmida, com agitação a 37 °C por 48 horas para *Candida spp*. e 72 horas para *C. neoformans*. Para o ajuste de inóculo das formas leveduriformes (*Candida* spp., *C. neoformans*), foram feitas contagens microscópicas com um hematocitômetro de contagem de células (câmara de Neubauer, Knittel Gläser) do crescimento inicial no meio RPMI-1640.

O experimento foi realizado em duas vezes e a inibição do crescimento foi determinada pela medida de turbidez do meio de cultura a 530 nm usando um espectrofotômetro (BioTek, modelo Epoch). Anfotericina B foi usada como controle positivo. Foram feitos controles de esterilidade do meio, controle do inóculo, dos extratos, frações e isolado do DMSO (3%).

4.14 Fracionamento cromatográfico da FD das CR de *S. subumbellatum*

A FD-CR de *S. subumbellatum* foi uma das frações que apresentou melhores resultados nos ensaios biológicos e por isso foi submetida ao fracionamento utilizando em especial as técnicas de cromatografia em coluna (CC) e cromatografia em camada delgada (CCD). Em todas as etapas, as frações oriundas das separações por CC foram analisadas por CCD e reagrupadas de acordo com a similaridade dos valores do fator de retenção (R*f*). Para visualização dos compostos separados nas cromatoplacas foi utilizada inspeção em câmara com luz ultravioleta (UV 254 e 365 nm) e revelação com Liebermann-Burchard, anisaldeído, iodocloroplatinato (ICPt) e Dragendorff.

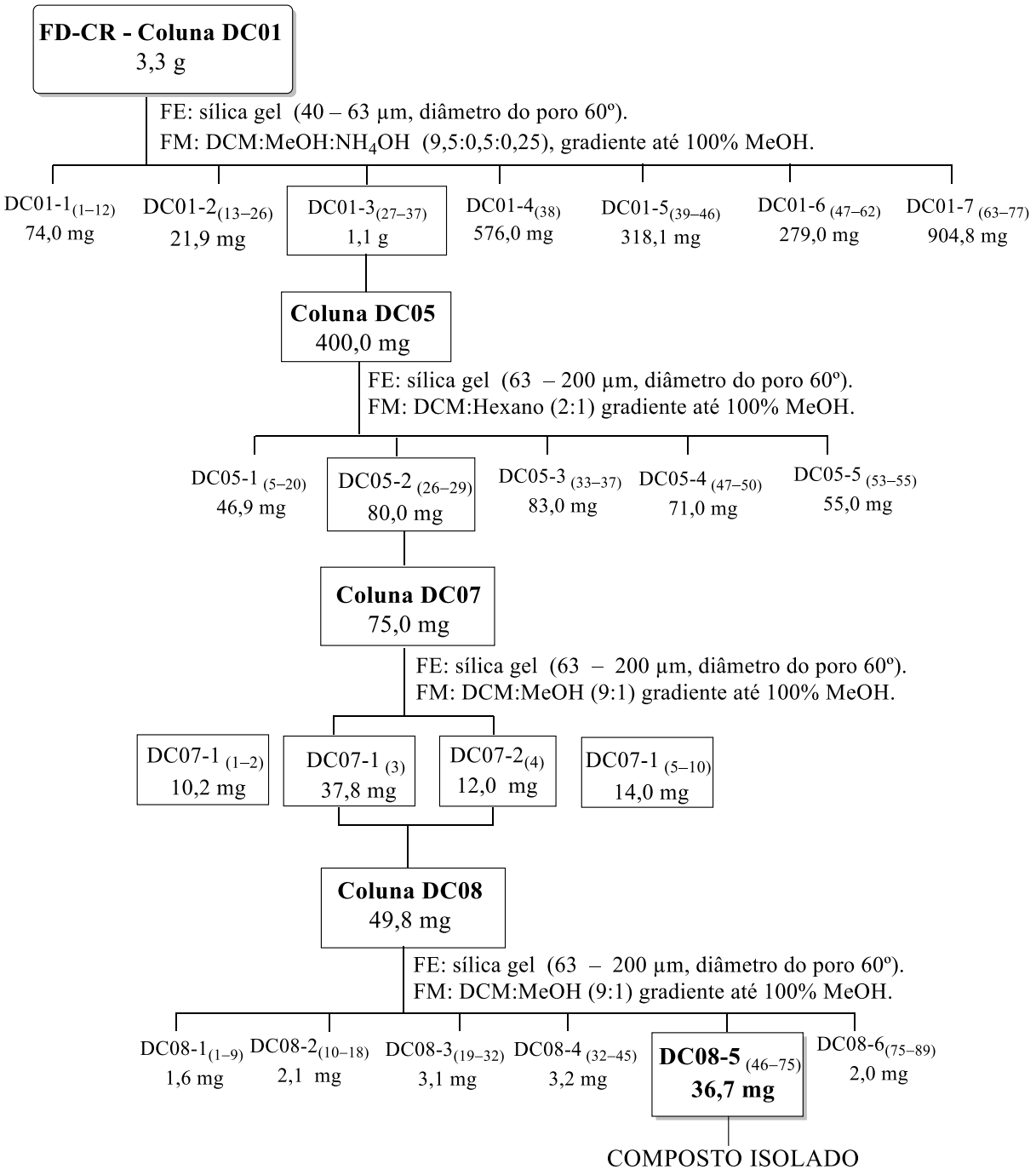
A Figura 24 ilustra os procedimentos cromatográficos realizados para obter o composto isolado. Inicialmente, 3,3 g da FD-CR foi submetida à uma coluna cromatográfica denominada de DC01, utilizando como fase estacionária (FE) sílica gel (40 – 63 µm, diâmetro do poro 60º, 154,4 g, altura (h) = 40 cm, diâmetro (Ø) = 2,5 cm) e fase móvel (FM) uma mistura de diclorometano, metanol e hidróxido de amônio (DCM:MeOH:NH_4OH) (95:5:0,25) até 100% MeOH no sistema de gradiente.

Na sequência, foi realizada outra coluna com a DC01-2, cuja FE foi -sílica gel (63 – 200 µm, diâmetro do poro 60º, 0,4013 g, h = 28,5 cm, Ø = 3,0 cm) e a FM foi DCM:Hexano (2: 1) gradiente até 100% MeOH. Esta coluna foi nomeada de DC05.

A DC05-2 oriunda da DC05 foi submetida a CC utilizando como FE: sílica gel (63 – 200 µm, diâmetro do poro 60º, 0,4013 g, h = 20,0 cm, Ø = 3,0 cm) e FM: DCM:MeOH (9:1) gradiente até 100% MeOH, tal coluna foi denominada de DC07.

Com a união das frações DC07-1 e DC07-2 foi realizada uma nova coluna denominada de DC08, cuja FE foi sílica gel (63 – 200 µm, diâmetro do poro 60º, 0,4013 g, h = 18,0 cm, Ø = 3,0 cm) e a FM foi DCM:MeOH (100:1) gradiente até 100% MeOH. Após a inspeção por CCD, por CG-EM e por RMN conclui-se que a DC08-5 se trata de um composto isolado.

Figura 24. Fluxograma do fracionamento da FD das CR de *S. subumbellatum*.



Fonte: a autora.

4.15 Análise estatística

Para avaliar estatisticamente os resultados foi utilizado o programa Sigma Plot 14.0. Foi aplicado o método de Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de comparação múltipla de Bonferroni e de Tukey para analisar a semelhança entre os dados, sendo considerados os valores

com nível de significância menor ou igual 0,05 (5 %) para denotar diferença estatística significativa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Obtenção dos extratos e frações das cascas das raízes de *S. subumbellatum*

Para a extração dos metabólitos especializados (ME) presentes nas raízes, galhos e folhas de *S. subumbellatum* foi considerado o método da maceração que é uma técnica simples e adequada para material vegetal termolábil. O pó vegetal seco foi colocado em recipiente em contato com o solvente extrator, fechado e mantido a temperatura ambiente (ABUBAKAR, HAQUE, 2020). O extrato etanólico (EE) das cascas das raízes (CR) foi obtido em maior rendimento (Tabela 8).

Uma observação interessante é que na medicina popular se faz uso somente das raízes. No trabalho optou-se por trabalhar também com os galhos e as folhas a fim de discutir o uso popular, mas tal resultado corrobora com o uso tradicional. Assim, como no uso popular as raízes passaram por uma técnica de separação, sendo divididas em cascas das raízes e miolo das raízes, visto que ela apresenta uma película externa (uma casca) de cor mais amarronzada. Não se trabalhou com as flores devido ao baixo rendimento.

Tabela 8. Rendimento dos EH e EE das raízes, galhos e folhas de *S. subumbellatum.*

Extratos	Código	Massa da amostra após secagem (g)	Massa de extrato obtida (g)	Rendimento (%)
Extrato hexânico do miolo das raízes	EH-MR	482,1	0,6	0,1
Extrato etanólico do miolo das raízes	EE-MR		26,8	5,5
Extrato hexânico das cascas das raízes	EH-CR	1330,4	2,5	0,2
Extrato etanólico das cascas das raízes	EE-CR		90,4	6,8
Extrato hexânico dos galhos	EH-G	1406,4	2,7	0,2
Extrato etanólico dos galhos	EE-G		16,4	1,2
Extrato hexânico das folhas	EH-F	1342,7	20,5	1,5
Extrato etanólico das folhas	EE-F		59,7	4,4

O EE-CR apresentou maior massa, desta forma 45,2 g do EE-CR foi solubilizado em metanol:água (8:2) e fracionado através da extração líquido-líquido utilizando solventes de polaridade crescente: hexano, diclorometano, acetato de etila e ao final da extração foi obtida a fração hidrometanólica (FHM). Pode ser observado na Tabela 9 que a FHM, seguida da fração diclorometano foram as frações com maior rendimento, o que indica maior concentração de compostos polares.

Tabela 9. Rendimento da extração líquido-líquido das EE-CR de *S. subumbellatum.*

Fração	Rendimento (%)
Fração hexano (FH-CR)	6,4
Fração diclorometano (FD-CR)	18,8
Fração acetato de etila (FAE-CR)	6,6
Fração hidrometanólica (FHM-CR)	65,5

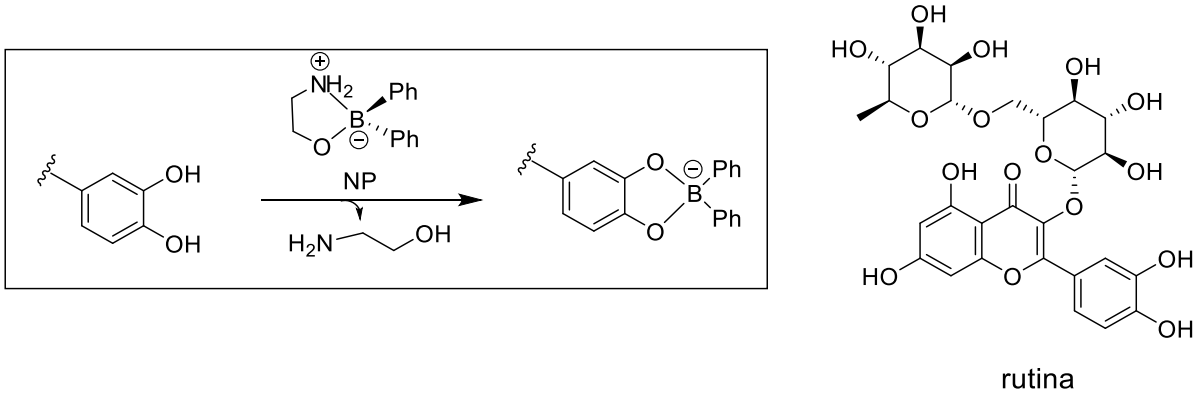
5.2 Prospecção química dos extratos e frações de *S. subumbellatum*

Para realizar a prospecção química das amostras das raízes, galhos e folhas de *S. subumbellatum* foi utilizada a técnica de CCD e diferentes reveladores, como descrito no item 4.8.

O reagente sulfato cérico, $Ce(SO_4)_2$, foi empregado na detecção de compostos em geral como os flavonoides, terpenos, esteroides, saponinas e alcaloides. O íon cérico é um forte agente oxidante e ao reagir com um ácido forte (H_2SO_4) foi possível detectar a presença dos compostos nas amostras por meio da formação de manchas de cores cinza e marrom claro (WAGNER et al., 1996).

Os flavonoides foram identificados utilizando o revelador conhecido como NP/PEG. Os flavonoides reagem com o difenilborato aminoetanol (*Natural Product Reagent* A - NP) formando complexos fluorescentes de cores características (alaranjado e amarelo) em $\lambda = 365$ nm. O polietilenoglicol (PEG) é empregado como intensificador de fluorescência. A Figura 25 ilustra ume exemplo da reação dos flavonoides (no caso a rutina) com o NP (MATTEINI et al., 2011).

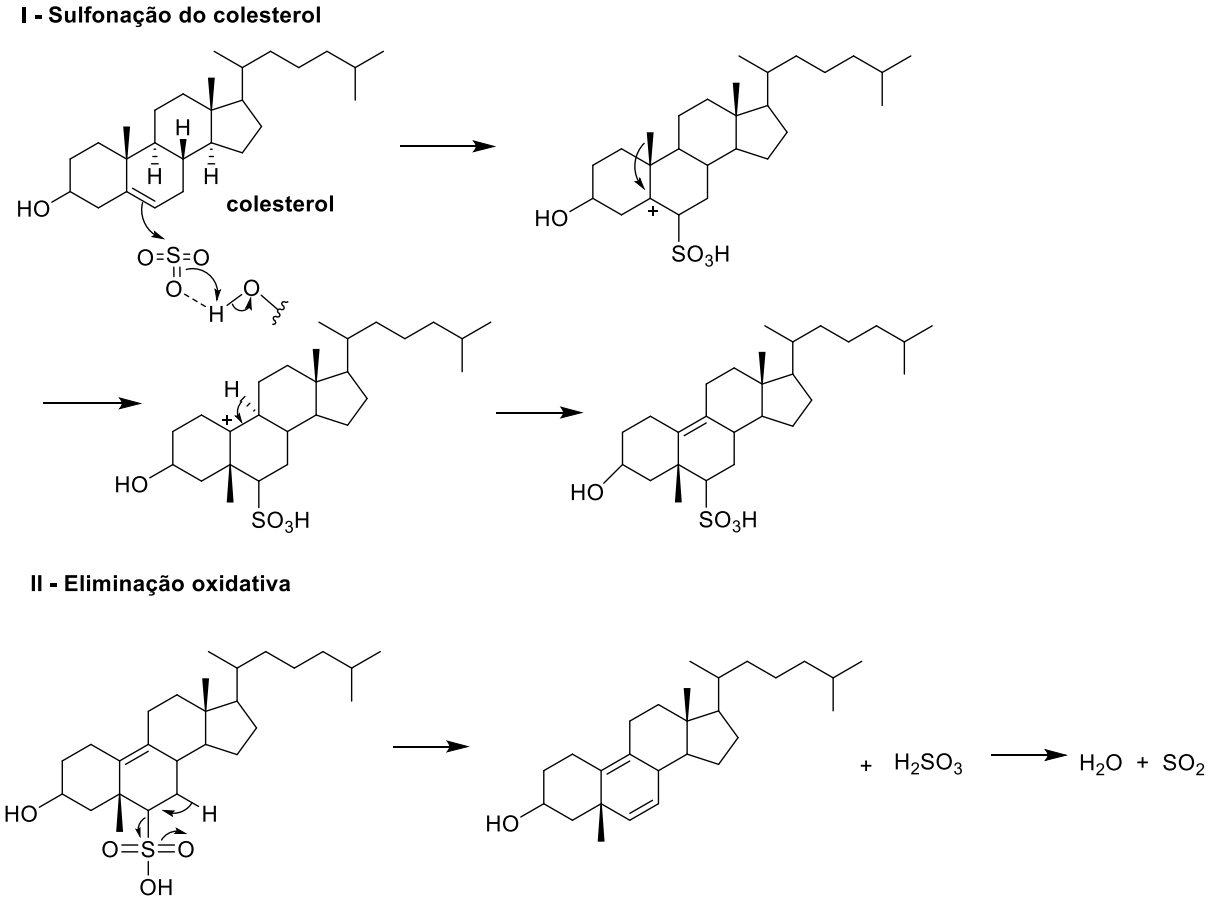
Figura 25. Reação entre a rutina e o reagente difenilborato aminoetanol (NP).



Nota: Ph = grupo fenila. Fonte: adaptado de Matteini et al. (2011).

Foi possível identificar terpenos, esteroides e saponinas considerando os reveladores Liebermann-Buchard e anisaldeído. O revelador de Liebermann-Burchard é utilizado na identificação de terpenos, saponinas e para a detecção do colesterol, que após reação resulta na formação de um composto de coloração verde-escura. O colesterol é o percursor de alguns alcaloides esteroidais, conforme discutido no item 2.2.1 da introdução. A Figura 26ilustra um mecanismo para a reação do colesterol com o reagente de Liebermann-Buchard. Em I) ocorre a sulfonação do colesterol e em seguida a formação de derivados de sulfato e acetato em várias posições da cadeia carbônica, que se rearranjam e formam compostos insaturados. Em II) é proposta a eliminação oxidativa do grupo ácido sulfônico ($–SO_3H$), resultando na formação de duplas ligações. Estas reações ocorrem várias vezes até a formação de polienos, e posteriormente a formação de esteroides aromáticos (XIONG, WILSON, PANG 2007).

Figura 26. Reação do colesterol com o reagente de Liebermann-Buchard.



Fonte: adaptado de Xiong, Wilson e Pang (2007).

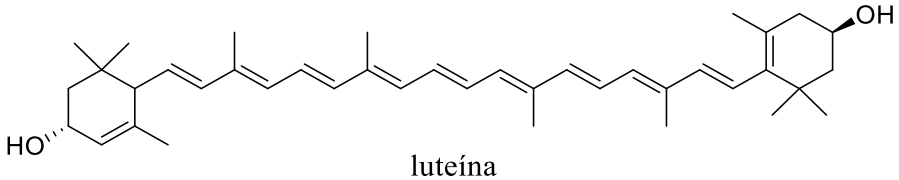
Ao se utilizar o revelador anisaldeído em meio ácido (H_2SO_4), também foi possível detectar terpenos, esteroides e saponinas (SCHOFIELD, MBUGUA, PELL, 2001) devido ao aparecimento de manchas coloridas (amarelo, verde e violeta).

A coloração dos compostos pode ser explicada analisando suas estruturas. Compostos que apresentam um sistema conjugado, que é um sistema formado por ligações covalentes com pelo menos uma ligação π deslocalizada, resultam em cores intensas (MARTINS et al., 2015). A luteína, por exemplo, é um tetraterpeno da classe dos carotenoides que apresenta tonalidade amarelo-limão. Sua estrutura apresenta além dos anéis ciclohexenol, 10 ligações duplas conjugadas que foram a base dos cromóforos, que são partes que absorvem a luz da molécula e que pode causar a coloração do composto (Figura 27).

Quando uma molécula absorve energia (fóton de luz), ocorre a promoção de elétrons do orbital ligante (HOMO, do inglês *highest occupied molecular orbital*, orbital de mais alta energia preenchido) para orbitais antiligantes (LUMO, do inglês *lowest unoccupied molecular orbital*, orbital de mais baixa energia desocupado). Tal descolamento eletrônico promove a

liberação de energia na forma de luz visível. A luz liberada em cada caso será em um comprimento de onda também diferente, que corresponde a cada cor formada, sendo que quando maior for o número de ligações múltiplas conjugadas que os compostos contêm, maior será o comprimento de onda na qual ele absorve a luz (Tabela 10) (MARTINS et al., 2015).

Figura 27. Sistema conjugado na luteína.



luteína

Nota: A luteína é um antioxidante presente em vegetais verde-escuros como espinafre, abobrinha, couve-flor, ervilha e brócolis. Fonte: a autora.

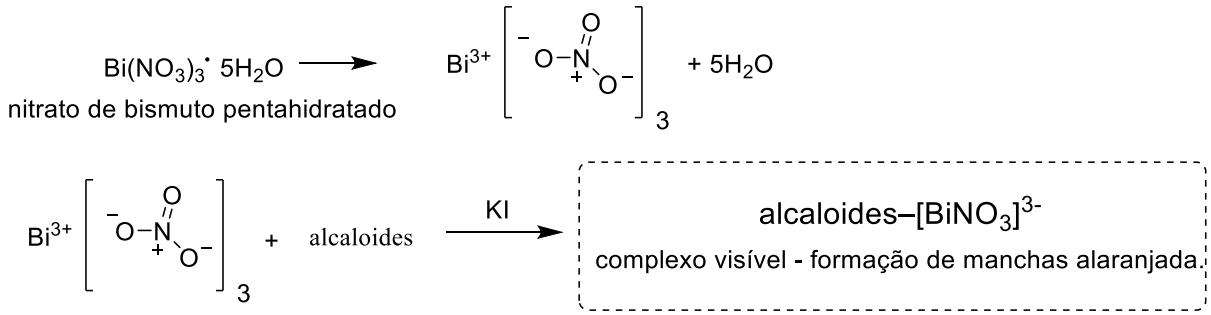
Tabela 10. Faixas do espectro visível.

Cor	Comprimento de onda (nm)
Vermelho	625 – 740
Laranja	590 – 625
Amarelo	565 – 590
Verde	500 – 565
Ciano	485 – 500
Azul	440 – 485
Violeta	380 – 440

Fonte: Martins et al., (2015).

A presença de alcaloides foi confirmada utilizando os reveladores Dragendorff e iodocloroplatinato (IClPt). Com o Dragendorff foi observado o surgimento de manchas de coloração alaranjada, formadas pela complexação entre a bismuto e os compostos nitrogenados (Figura 28) (TANZEY et al., 2020).

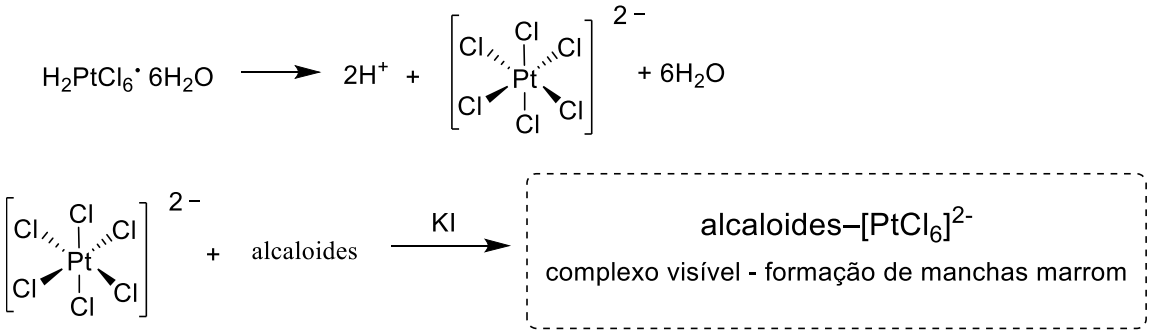
Figura 28. Esquema da formação do complexo nitrogenado com o bismuto.



Fonte: a autora.

Utilizando o relevador IClPt, foi observado o surgimento de manchas de coloração marrom, formadas pela complexação entre a platina e os compostos nitrogenados (Figura 29) (WAGNER et al., 1996).

Figura 29. Esquema da formação do complexo nitrogenado com a platina.



Fonte: a autora.

Dessa forma, ao analisar as cromatoplacas de CCD e considerando os princípios dos reveladores descrito acima foram observados uma diversidade de classe de ME presentes nos extratos de *S. subumbellatum*, como pode ser verificado na Tabela 11. Nas cascas das raízes (CR) e miolo (MR) foram observado o seguinte perfil: EH-CR foi verificado a presença de flavonoides; em todas os extratos foram detectados terpenos, esteroides e saponinas e nos extratos etanólicos de CR e MR foram observados a presença de alcaloides. Nos galhos foi observado a presença de flavonoides no EE; além de terpenos, esteroides e saponinas em ambos os extratos (EH e EE). E nos extratos das folhas foram detectados flavonoides, terpenos, esteroides e saponinas. Não foi observado alcaloides nos extratos dos galhos e folhas.

Tabela 11. Prospecção química dos extratos de *S. subumbellatum.*

Reveladores	EH-MR	EE-MR	EH-CR	EE-CR	EH-G	EE-G	EH-F	EE-F
Sulfato Cérico[a]	+	+	+	+	+	+	+	+
NP/PEG[b]	–	–	+	–	–	+	+	+
Liebermann-Buchard[c]	+	+	+	+	+	+	+	+
Anisaldeído[c]	+	+	+	+	+	+	+	+
ICPT[d]	–	+	–	+	–	–	–	–
Dragendorff[d]	–	+	–	+	–	–	–	–

Nota: [a]Geral; [b]Flavonoides; [c]Terpenos, Esteroides e Saponinas; [d]Alcaloides.

Foi realizada a extração líquido-líquido do EE-CR, pois foi o extrato com maior rendimento e também apresentou atividade antifúngica contra as espécies de *Candida* e contra a *Cryptococcus neoformans* (item 5.5). Além disso, no mesmo extrato foi verificado a presença de alcaloides, moléculas com um amplo espectro de atividades (ADAMSKI et al., 2020). A Tabela 12 ilustra que em todas as frações do EE-CR de *S. subumbellatum* foram verificados a presença de terpenos, esteroides, saponinas e alcaloides, contudo não foi detectado flavonoides.

Tabela 12. Prospecção química do EE e frações das CR de *S. subumbellatum.*

Reveladores	EE-CR	FH-CR	FD-CR	FAE-CR	FHM-CR
Sulfato Cérico[a]	+	+	+	+	+
NP/PEG[b]	–	–	–	–	–
Liebermann-Buchard[c]	+	+	+	+	+
Anisaldeído[c]	+	+	+	+	+
ICPT[d]	+	+	+	+	+
Dragendorff[d]	+	+	+	+	+

Nota: [a]Geral; [b]Flavonoides; [c]Terpenos, Esteroides e Saponinas; [d]Alcaloides.

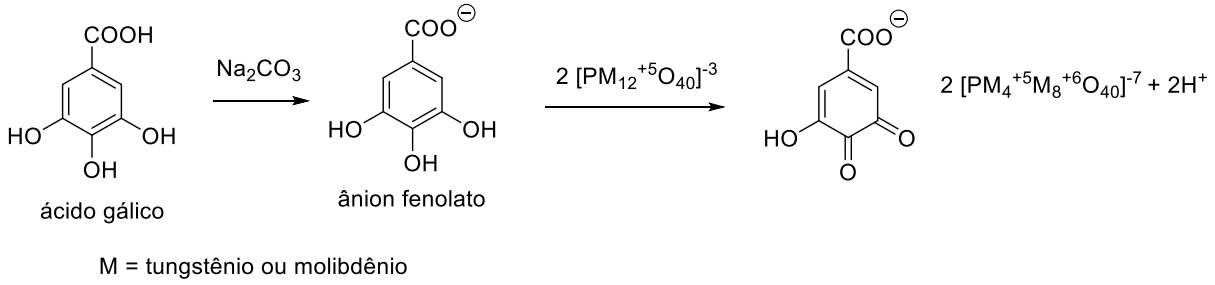
5.3 Teores de fenóis totais, flavonoides e proantocianidinas dos extratos e frações

Os extratos das raízes, galhos e folhas de *S. subumbellatum* e todas as frações das cascas das raízes (FH-CR, FD-CR, FAE-CR e FHM-CR) foram analisadas quanto aos teores de fenóis

totais, flavonoides e proantocianidinas, que são ME produzidos pelas plantas visando o crescimento e reprodução. Se tratam de substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos (DE LA ROSA et al., 2019). Esses compostos estão relacionados a várias atividades, como a antioxidante e a antifúngica (ALSEEKH et al., 2018; PONTES et al., 2019). Assim, a determinação de seus teores é relevante e foi realizada considerando métodos analíticos simples e rápidos, conforme descrito a seguir.

O teor de fenóis totais foi quantificado utilizado o reagente de Folin-Ciocalteau que consiste em uma mistura dos ácidos fosfomolibídico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) e fosfotungstico ($H_3PW_{12}O_{40}$), cuja coloração é amarela e os metais estão no estado de oxidação +6. Com a adição de carbonato de sódio aquoso o meio ficou básico, ocorrendo uma reação de transferência de elétrons. Em seguida, ocorreu uma reação de oxirredução entre os ânions gerados e o reagente de Folin, no qual os compostos fenólicos presentes nas amostras foram oxidados e o molibdênio reduzido (com estado de oxidação +5), formando complexos de molibdênio-tungstênio de coloração azul e com absorbância intensa próxima a 760 nm (Figura 30) (MUNTEANU, APETREI, 2021; AGBOR, VINSON, DONNELLY, 2021).

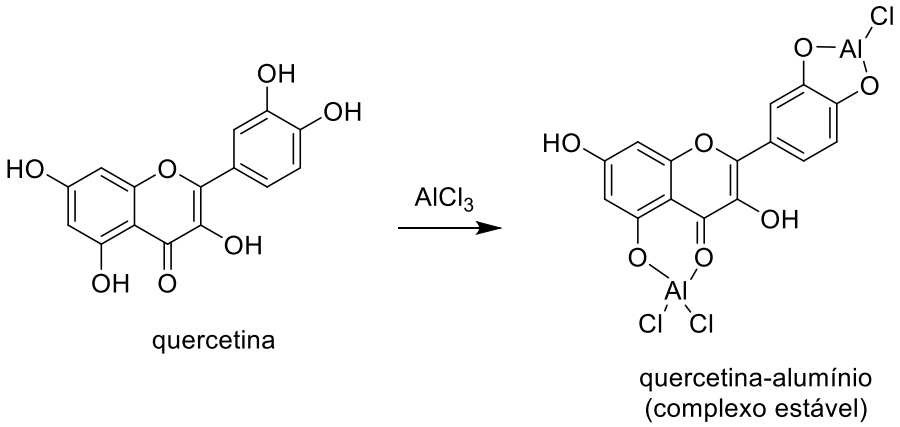
Figura 30. Reação entre os compostos fenólicos e os derivados dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolíbdico em meio básico.



Fonte: adaptado de Munteanu; Apetrei (2021).

A quantificação do teor de flavonoides se baseia em uma reação do cloreto de alumínio com os flavonoides, formando complexos estáveis (Figura 31). O complexo formado flavonoide-Al^{3+} é estável, mostra coloração amarela e apresenta absorção em comprimento de onda maior que o flavonoide não complexado, assim foi feito o monitoramento dos descolamentos químicos a 425 nm (MABRY, MARKHAM, THOMAS, 1970).

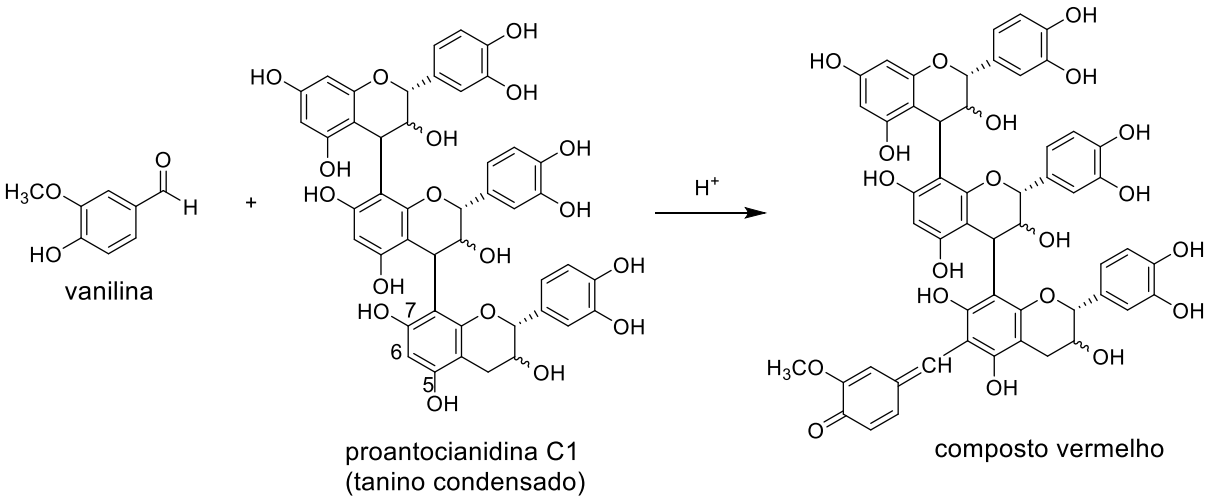
Figura 31. Reação de complexação da quercetina com o cloreto de alumínio.



Fonte: Mabry, Markham e Thomas (1970).

Para quantificar o teor de proantocianidina, foi considerado o método da vanilina sulfúrica que se baseia na reação dos taninos condensados com a vanilina, em meio ácido, formando um composto vermelho cuja intensidade aumenta linearmente a 500 nm (Figura 32) (SCHOFIELD, MBUGUA, PELL, 2001).

Figura 32. Reação entre a vanilina a proantocianidina formando um composto vermelho.

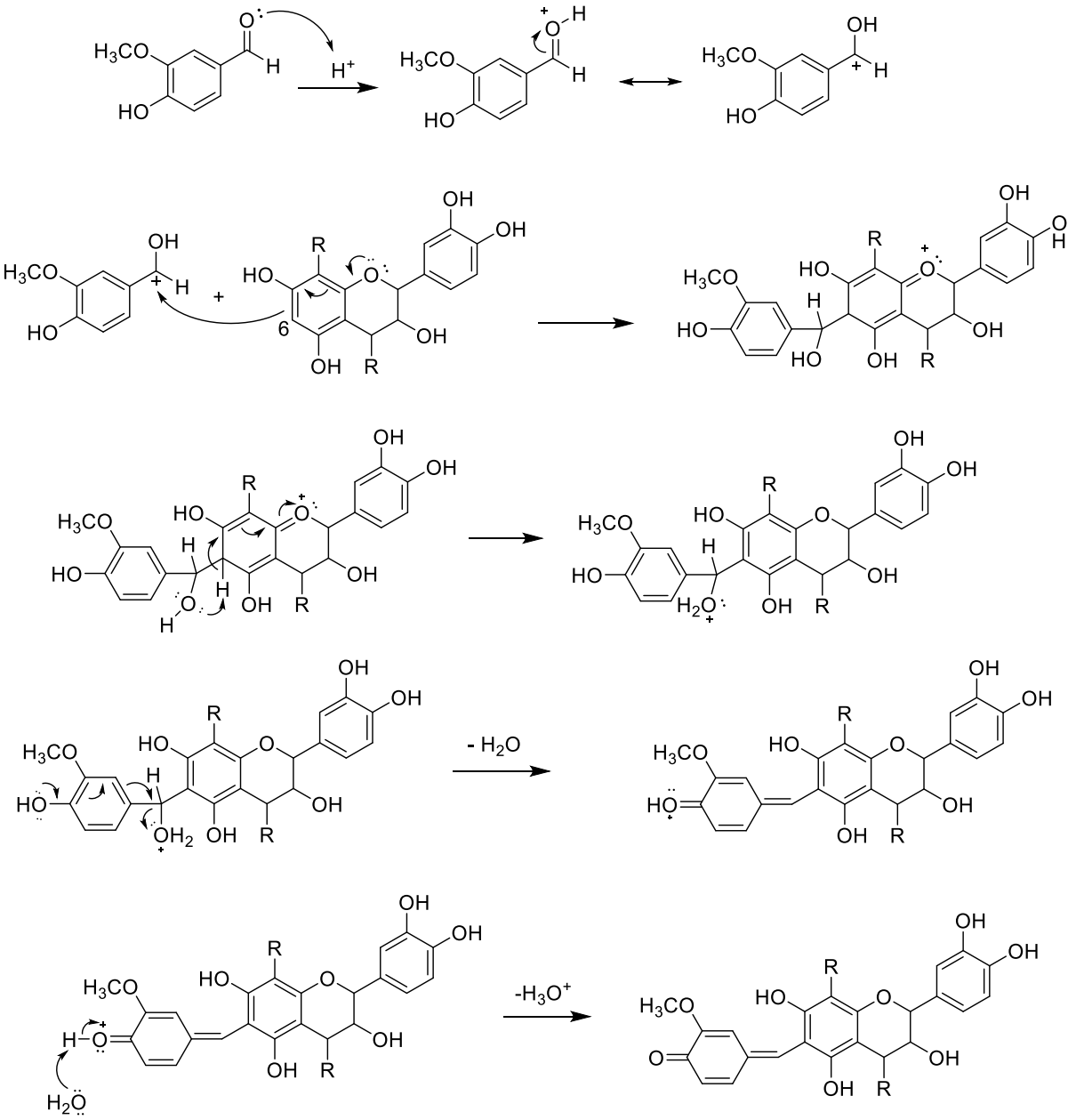


Fonte: Schofield, Mbugua e Pell (2001).

A reação entre a proantocianidina (um tanino catéquino) e a vanilina ocorre inicialmente com a formação da vanilina acidificada (o eletrófilo- cátion oxônio). Em seguida, o cátion oxônio admite o par de elétrons do nucleófilo (catequina) por meio de uma reação de substituição eletrofílica aromática. Na sequência, a protonação de um grupo hidroxila leva à eliminação da água e a formação de cátion oxônio altamente reativo. E por fim, há formação de um complexo vermelho através da eliminação de um próton do cátion. A substituição irá ocorrer

preferencialmente no C-6, pois este é o único C que é ativado duplamente por estar em *orto* em relação às duas hidroxilas dos carbonos C5 e C7 e na posição *para* em relação ao oxigênio do anel diidropirano (SOUSA, 2015). O mecanismo encontra-se na Figura 33.

Figura 33. Mecanismo da reação entre a vanilina e um monômero do tanino catéquico.



Fonte: adaptado de Sousa (2015).

Os teores de fenóis totais, flavonoides e proantocianidinas, foram calculados a partir de equações da reta da curva analítica construída com ácido gálico (y= 0,0163x + 0,0236; R = 0,9901); com a quercetina (y= 0,0309x + 0,0082; R = 0,9925) e com a catequina (y= 0,0163x + 0,00236; R = 0,9901), respectivamente. Os resultados estão expressos em *mg* de equivalente

de ácido gálico (EAG), catequina (EC) ou quercetina (EQ) por g de extrato. Quanto maior este valor, maior a concentração de compostos presentes nas amostras.

O EE-CR, o EE-F e o EH-F apresentaram maiores teores de fenóis totais, flavonoides e de proantocianidinas, respectivamente (Tabela 13).

Tabela 13. Teores de fenóis totais, flavonoides e proantocianidinas dos extratos de *S. subumbellatum.*

Amostras	Fenóis totais (mg EAG g^{-1})	Flavonoides (mg EQ g^{-1})	Proantocianidinas (mg EC g^{-1})
EH-MR	14,4 ± 0,2[b; c]	3,2 ± 0,0[a]	47,7 ± 1,2[a]
EE-MR	75,8 ± 1,4[a]	4,6 ± 0,1	6,4 ± 0,1[b]
EH-CR	14,0 ± 0,8[c]	3,6 ±0,1[a]	32,9 ± 0,5
EE-CR	79,7 ± 2,3[a]	4,7 ± 0,3[a]	7,1 ± 1,8[b]
EH-G	18,4 ± 0,6[b]	12,3 ± 0,3	44,4 ± 3,5[a]
EE-G	69,4 ± 0,8	16,9 ± 0,2	22,2 ± 1,4
EH-F	31,3 ± 0,3	28,6 ± 0,6	64,1 ± 1,2
EE-F	76,9 ± 2,2[a]	78,1 ± 0,7	43,0 ± 0,5[a]

Nota: Letras iguais na mesma coluna apresentaram semelhança estatística significativa ($p < 0,05$). EAG - Ácido gálico, EC - catequina, EQ - quercetina.

Ao se comparar os resultados dos EE da *S. subumbellatum* com EE da *S. nigrum* (Tabela 14), podem ser feitas as seguintes observações: os EE das raízes de *S. subumbellatum* apresentaram maior teor de flavonoides e menores teores de fenóis totais e proantoancinidinas em relação ao EE da *S. nigrum*. Para os extratos dos galhos e também para as folhas foram verificados que a *S. subumbellatum* apresentou maiores teores de flavonoide e menores teores de fenóis totais e proantoancinidinas (GBADAMOSI; AFOLAYAN, 2016).

Tabela 14. Comparação dos teores de fenóis totais, flavonoides e proantocianidinas dos extratos etanolicos de *S. subumbellatum* e de *S. nigrum.*

Plantas	Amostras	Fenóis totais (mg EAG g^{-1})	Flavonoides (mg EQ g^{-1})	Proantocianidinas (mg EC g^{-1})
S. subumbellatum	EE-MR	75,8 ± 1,4	4,6 ± 0,1	6,4 ± 0,1
	EE-CR	79,7 ± 2,3	4,7 ± 0,3	7,1 ± 1,8
S. nigrum	**EE- RAIZ**	**307,2 ±13,1**	**1,9 ± 0,0**	**92,6 ± 4,9**
S. subumbellatum	EE-G	69,4 ± 0,8	16,9 ± 0,2	22,2 ± 1,4
S. nigrum	**EE-G**	**242,2 ± 0,6**	**1,9 ± 0,2**	**183,1 ± 8,4**
S. subumbellatum	EE-F	76,9 ± 2,2	78,1 ± 0,7	43,0 ± 0,5
S. nigrum	**EE-F**	**233,1 ± 2,4**	**2,3 ± 0,5**	**186,2 ± 11,3**

Fonte: a autora; Gbadamosi e Afolayan (2016).

Entre as frações obtidas da extração líquido-líquido com a FAE-CR seguido da FD-CR foram a que apresentaram maiores teores de fenóis, FD-CR apresentou maior concentrações de flavonoides e a FH-CR apresentou a maior concentração de proantocianidinas (Tabela 15).

Tabela 15. Teores de fenóis totais, flavonoides e proantocianidinas dos extratos e frações das CR de *S. subumbellatum.*

Amostras	Fenóis totais (mg EAG g^{-1})	Flavonoides (mg EQ g^{-1})	Proantocianidinas (mg EC g^{-1})
EH	14,0 ± 0,8	3,6 ±0,1[a;b]	32,9 ± 0,5
EE	79,7 ± 2,3	4,7 ± 0,3	7,1 ± 1,8[a]
FH-CR	31,7 ± 0,44	4,0 ± 0,1[a]	26,5 ± 0,7
FD-CR	103,4 ± 1,1	5,6 ± 0,1	15,4 ± 0,5
FAE-CR	137,6 ± 5,3	3,3 ± 0,1[b]	1,0 ± 0,4
FHM-CR	66,2 ± 0,3	3,7 ± 0,2[a;b]	7,3 ± 0,3[a]

Nota: Letras iguais na mesma coluna apresentaram semelhança estatística significativa ($p < 0,05$).

5.4 Determinação da atividade antioxidante

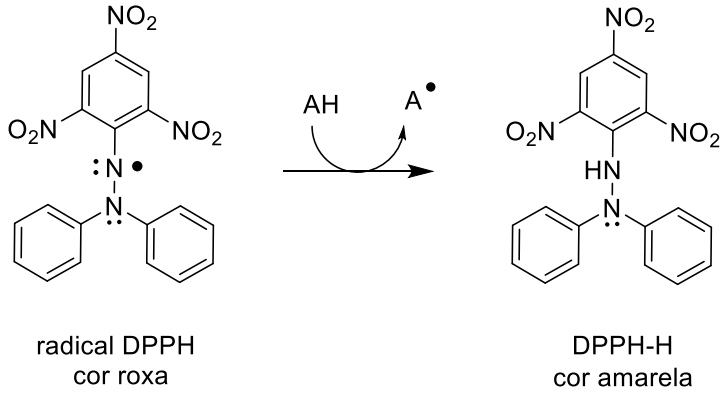
Nas últimas décadas, houve um interesse crescente nos estudos acerca dos antioxidantes de alimentos e dietas devido às implicações dos radicais livres de oxigênio no desenvolvimento

de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, envelhecimento e câncer. Com este propósito, muitos procedimentos foram propostos para testar a capacidade antioxidante (GULCIN, 2020). Nesse trabalho foram considerados dois ensaios *in vitro*: o método do sequestro do DPPH• e o método da capacidade de absorção do radical de oxigênio (ORAC).

O método do sequestro do DPPH é baseado na medida do consumo do radical pelos compostos presentes nos extratos ou frações. Esses compostos atuam como espécies inibitórias de radicais devido à estabilização por ressonância dos radicais fenoxil (FOTI, 2015).

Durante a reação dos extratos e frações com o DPPH• foi observado um acentuado descoloramento das soluções. Quando a solução de DPPH• (de cor roxo) foi misturada com uma molécula antioxidante (AH), ocorreu a doação de um átomo de hidrogênio, e deu origem à forma reduzida 2,2-difenilpicrilidrazina (de cor amarelo) (DPPH-H). A absorbância foi medida em um espectrofotômetro em 517 nm, comprimento de onda no qual esse radical apresenta máximo de absorção e o DPPH–H apresenta mínimo de absorção (Figura 34) (FOTI, 2015).

Figura 34. Reação do DPPH• com a eliminação por um antioxidante (AH).

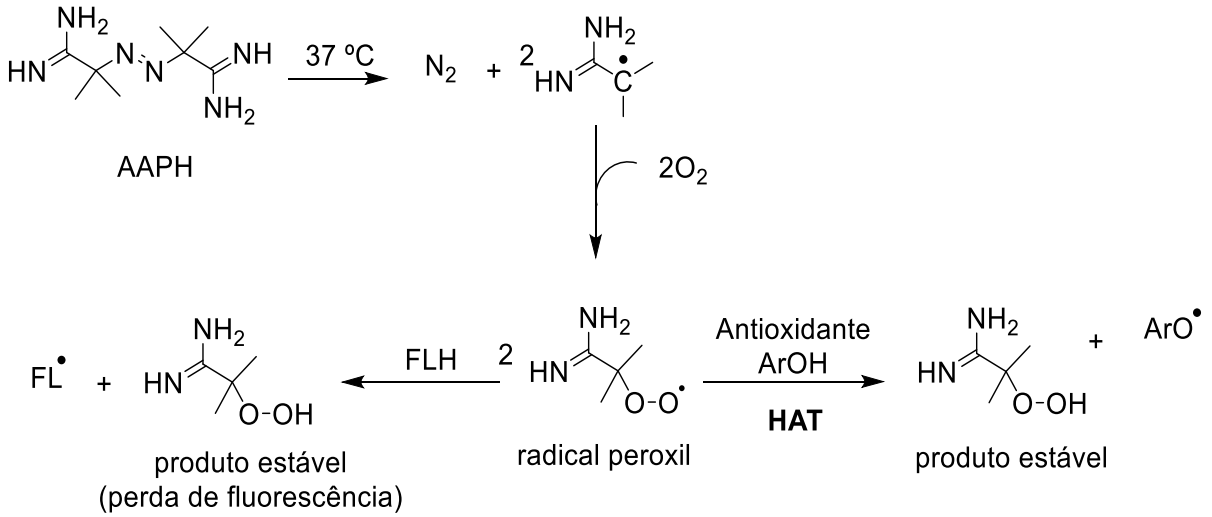


Fonte: adaptado de Gulcin (2020).

O método ORAC é baseado na inibição da oxidação pelo radical peroxil (ROO•) iniciada pela decomposição térmica de 2,20-azobis-(2-amidino-propano) dicloridrato (AAPH). A fluoresceína é utilizada como sonda fluorescente, e a perda de sua fluorescência é avaliada ao longo do tempo, na ausência e presença de antioxidante. Em suma, o método do ORAC mede a capacidade dos antioxidantes em reagir com o ROO• inibindo a perda da intensidade da fluoresceína e assim, atuar protegendo os danos oxidativos (ALVES et al., 2010). A reação do radical peroxil com o antioxidante ocorre através do mecanismo de transferência de átomos de hidrogênio (HAT) (do inglês "*hydrogen atom transfer*"), em que o ROO• abstrai um átomo de

hidrogênio do antioxidante (ArOH) formando um radical antioxidante estável (ArO•) (APAK et al., 2013; SCHAICH et al., 2015). A Figura 35 ilustra um diagrama da reação do AAPH durante o teste com o ORAC.

Figura 35. Reação do radical AAPH durante o ensaio com o ORAC.



Nota: FLH = fluoresceína; ArOH = fenol. Fonte: adaptado de SCHAICH et al. (2015).

Os antioxidantes podem reagir com os radicais livres por dois mecanismos diferentes que podem ocorrer simultaneamente. O mecanismo da reação pode depender da estrutura, solubilidade do antioxidante, do coeficiente de partição e da polaridade do solvente (FOTI, 2015). O mecanismo DPPH• ocorre por transferência de elétron (SPLET) (do inglês "*sequential próton loss electron transfer*"), enquanto o mecanismo ORAC ocorre por transferência de átomos de hidrogênio (HAT) (LIU, 2010; SCHAICH et al., 2015).

Sendo que no SPLET um ou mais elétrons são transferidos para reduzir o radical alvo:

$$ROO^{\cdot} + AH/ArOH \rightarrow ROO^{-} + AH^{+}/ArOH^{+} \xrightarrow{H_2O} A^{\cdot}/Ar-O^{\cdot} + H_3O^{+}$$

$$ROO^{-} + H_3O^{+} \rightarrow ROOH + H_2O$$

$$M(III) + AH/ArOH \rightarrow AH^{+}/ArOH^{+} + M(II)$$

E no mecanismo por HAT o hidrogênio é transferido para o radical alvo. Conforme as reações abaixo:

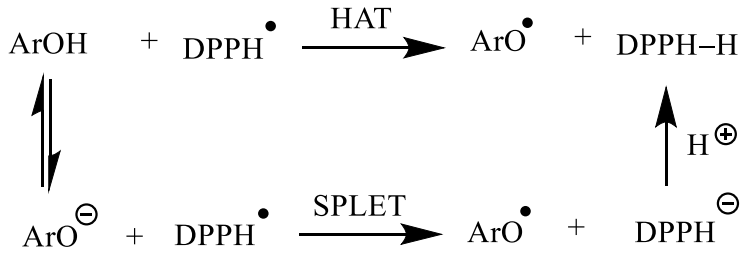
$$ROO^{\cdot} + AH/ArOH \rightarrow ROOH + A^{\cdot}/Ar-O^{\cdot}$$

$$ROO^{\cdot} + A^{\cdot} \rightarrow ROOA$$

Onde: AH é qualquer antioxidante com hidrogênio doável, ArOH é fenol ou polifenol, e M é o metal redox-ativo.

A Figura 36 ilustra um esquema resumido do mecanismo de reação entre o radical DPPH e os compostos fenólicos.

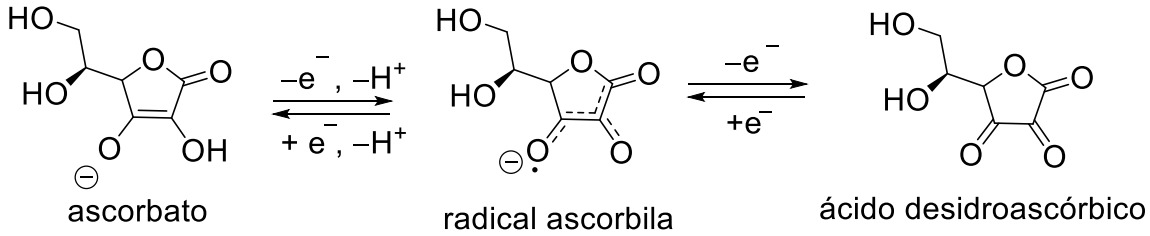
Figura 36. Reação entre o radical DPPH e os compostos fenólicos.



Nota: ArOH = fenol. Fonte: adaptado de Liu (2010).

Como controle positivo foi considerado o ácido ascórbico (vitamina C) que é um poderoso antioxidante, pois se trata de um agente redutor eficaz e se comporta como um ácido carboxílico, onde os elétrons na ligação dupla, o par isolado do grupo hidroxila e a ligação dupla da carbonila formam um sistema conjugado formado estruturas de ressonância estáveis (GULCIN, 2020). Os produtos da oxidação do ascorbato por um elétron (e^-) forma o radical ascorbila, que ao ser oxidado novamente, gera o ácido desidroascórbico (Figura 37). O radical ascorbila, é relativamente não reativo, quando comparado a outros radicais livres, tal propriedade torna o ácido ascórbico um ótimo antioxidante, capaz de eliminar os radicais livres e de formar um radical de reatividade baixa (CERQUEIRA et al., 2007).

Figura 37. Mecanismo da ação antioxidante do ácido ascórbico.



Fonte: Cerqueira et al. (2007).

No método do DPPH• o potencial antioxidante foi expresso em CE_{50}. O CE_{50} corresponde à concentração eficiente de amostra necessária para reagir com 50% de DPPH• assim, quanto menor esse valor, maior a atividade antioxidante. No método do ORAC os resultados foram expressos em µmol de equivalente do antioxidante trolox por grama de extrato ou partição (µmol trolox eq g^{-1} amostra) assim, quanto maior o valor maior é a atividade

antioxidante.

Os resultados das atividades antioxidantes dos extratos estão na Tabela 16. O EE-F e EE-MR foram os extratos com menores valores de CE_{50} respectivamente, assim melhor atividade antioxidante em relação aos demais extratos. Ao analisar o ensaio pelo método do ORAC foi observado que os extratos: EE-MR; EE-CR; EE-G e EE-F obtiveram valores maiores do que o controle positivo (ácido ascórbico).

Tabela 16. Atividade antioxidante dos EH e EE de *S. subumbellatum*.

Amostras	**DDPH**	**ORAC**
	CE_{50} µg mL^{-1}	**µmol trolox eq g^{-1}**
EH-MR	> 200[a]	2002,5 ± 110,4
EE-MR	81,7 ± 11,0	3870,3 ± 31,0[a]
EH-CR	> 200[a]	1972,5 ± 102,2[b]
EE-CR	309,7 ± 33,5	3879,15 ± 65,9[a]
EH-G	> 200[a]	1766,9 ± 153,5[b]
EE-G	164,6 ± 17,0	3814,7 ± 127,7[a]
EH-F	> 200[a]	1154,7 ± 25,2
EE-F	42,5 ±7,5	3769,1 ± 147,3[a]
ácido ascórbico	4,1 ± 1,2	2576,0 ± 109,0

Nota: Letras iguais na mesma coluna apresentaram semelhança estatística significativa. ($p < 0,05$).

O estudo sobre a atividade antioxidante de outras espécies de *Solanum* tem sido alvo de alguns pesquisadores. Os extratos de *S. subumbellatum*, apresentaram valores de CE_{50} promissores em relação aos valores de CE_{50} de extratos de folhas de *S. anguivi* (208,5 ± 5,6 µg mL^{-1}) e de extratos de folhas de *S. sisymbrifolium* (406,6 ± 59,5 µg mL^{-1}) (HANMANTRAO, BADAMI, SEKAR, 2008).

Entre as frações do EE-CR, a FAE-CR apresentou menor CE_{50}, mostrando uma atividade antioxidante. Seguindo de uma atividade para a FD-CR. Isso foi observado no ensaio do ORAC a FAE-CR e a FD-CR obtiveram valores maiores do que o ácido ascórbico (Tabela 17). Tais resultados corroboram com os mostrados na quantificação dos teores de fenóis totais, uma vez que FAE-CR e a FD-CR apresentaram as maiores concentrações.

Tabela 17. Atividade antioxidante dos extratos e frações das CR de *S. subumbellatum.*

Amostras	DDPH CE_{50} µg mL^{-1}	ORAC µmol trolox eq g^{-1}
EH	> 200[a]	1972,5 ± 102,2[b]
EE	309,7 ± 33,5	3879,15 ± 65,9[a]
FH-CR	> 200[a]	2619,152 ± 414,65
FD-CR	82,8 ± 17,2	3920,3 ± 27,1[a]
FAE-CR	32,5 ± 5,4	3862,5 ± 98,6[a]
FHM-CR	116,2 ± 24,3	3858,04 ± 49,1[a]
ácido ascórbico	4,1 ± 1,2	2576,0 ± 109,0[b]

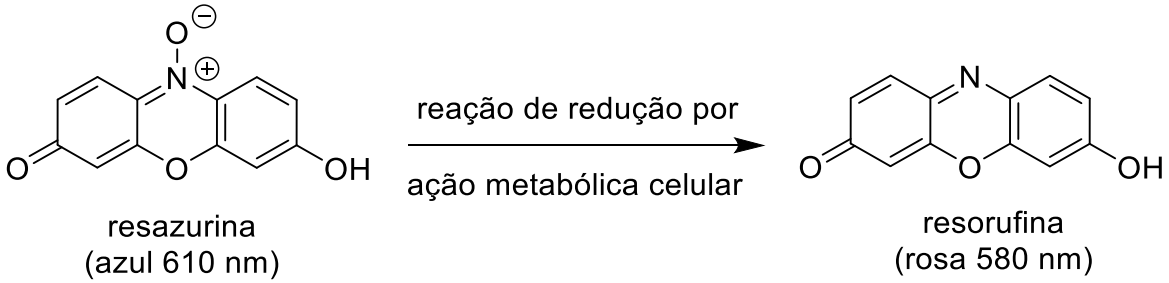
Nota: Letras iguais na mesma coluna apresentaram semelhança estatística significativa. ($p < 0,05$).

5.5 Atividade antifúngica

A atividade antifúngica foi expressa pelo valor da concentração inibitória mínima (CIM), que corresponde a mínima concentração de amostra necessária para inibir o crescimento microbiano.

Nesse método, é utilizado a resazurina como agente revelador das cromatoplacas. A resazurina atua como aceptor de elétrons, mudando de cor na presença da enzima desidrogenase ativa. Na forma oxidada a resazurina de coloração azul representa ausência de crescimento, enquanto que na forma reduzida de coloração rosa é interpretada como presença de crescimento de levedura (Figura 38) (ELSHIKH et al., 2016).

Figura 38. Reação química de redução da resazurina para resorufina.



Fonte: adaptado de Elshikh et al. (2016).

A avaliação da atividade antifúngica foi realizada considerando leveduras do gênero *Candida* que estão entre os dez primeiros patógenos que causam mais infecções da corrente

sanguínea e foi realizado com o fungo *Cryptococcus neoformans*, principal causador da criptococose (HOLE, WORMLEY, 2016; SEYOUM, BITEW, MIHRET, 2020).

De acordo com Kuete (2010) valores CIM abaixo de 100 µg mL^{-1} são considerados significantes para a atividade antifúngica; entre 100 e 625 µg mL^{-1} são considerados moderados e superior a 625 µg mL^{-1} são considerados fraco.

A Tabela 18 ilustra os resultados obtidos de CIM dos extratos e a anfotericina B foi utilizada como controle positivo. Em relação aos extratos das cascas das raízes, o EH-CR apresentou atividade fraca para todas as leveduras testadas e o EE-CR apresentou atividade moderada, para *Candida albicans, C. guilliermondii*, *C. orthopsilosis* e *Cryptococcus neoformans*. Entre os extratos do miolo das raízes, o EH-MR apresentou atividade moderada frente a *C. neoformans* e o EE-MR apresentou atividade moderada frente a *C. krusei* e *C. orthopsilosis*. Com os extratos dos galhos, foi observado que a EE-G apresentou atividade fraca para todas as leveduras avaliadas e o EE-G apresentou atividade moderada para *C. orthopsilosis.* Para os extratos das folhas, o EH-F e o EE-F, foi observado atividade fraca para os fungos testados.

Tabela 18. CIM (µg mL^{-1}) da atividade antifúngica dos EH e EE da *S. subumbellatum*.

Leveduras	**EH-CR[a]**	**EE-CR[a]**	**EH-MR[a]**	**EE-MR[a]**	**EH-G[a]**	**EE-G[a]**	**EH-F[a]**	**EE-F[a]**	**A.**
Candida krusei	2500	>5000	625	312,5	>5000	1250	5000	2500	1,0
C. albicans	>5000	625	5000	5000	>5000	5000	>5000	5000	0,5
C. guilliermondii	>5000	312,5	625	1250	>5000	2500	5000	>5000	0,5
C. orthopsilosis	2500	312,5	625	312,5	>5000	312,5	5000	5000	0,5
Cryptococcus neoformans	2500	156,2	312,5	2500	>5000	2500	5000	5000	0,5

Nota: [a]Estudo estatístico: mostrou os extratos são igualmente ativos frente aos microrganismos.
A = Anfotericina B, controle positivo.

Foi observado um valor moderado de CIM para *C. albicans* do EE-CR da *S. sulumbelatum*. O EE de outras espécies do gênero *Solanum* também foram avaliadas contra *C. albicans* (Tabela 19) sendo que a *S. coagulans* apresentou menor CIM (400 µg mL^{-1}, valor considerado moderado) (ALAJMI et al., 2018; KUETE, 2010).

Tabela 19. CIM da atividade antifúngica do EE de espécies do gênero *Solanum*.

EE de *Solanum*	*C. albicans* (CIM µg mL^{-1})
S. sulumbelatum	625
S. schimperianum	> 3200
S. villosum	> 3200
S. coagulans	400
S. glabratum	800
S. incanum	800
S. nigrum	800

Entre as frações do EE-CR, FD-CR e a FHM-CR apresentaram valores de CIM abaixo de 100 µg mL^{-1} frente a *C. albicans* (CIM = 19,5 µg mL^{-1}) e frente a *Cryptococcus neoformans* (CIM = 78,1 µg mL^{-1}), respetivamente (Tabela 20), indicando promissoras atividades antifúngicas.

Tabela 20. CIM (µg mL^{-1}) dos extratos e frações das CR de *S. subumbellatum.*

Leveduras	EH[a]	EE[a]	FH-CR[a]	FD- CR[b]	FAE- CR[a]	FHM-CR[b]	A
Candida krusei	2500	>5000	>5000	625	1250	312,5	1,0
C. albicans	>5000	625	>5000	19,5	1250	312,5	0,5
C. guilliermondii	>5000	312,5	>5000	156,2	1250	156,2	0,5
C. orthopsilosis	2500	312,5	>5000	156,2	625	312,5	0,5
Cryptococcus neoformans	2500	156,2	1250	156,2	625	78,1	0,5

Nota: A estatística mostrou que a FD-CR e a FHM-CR (b) são frações igualmente ativas frente aos microrganismos; as demais foram consideradas iguais com relação a atividade, sendo igualmente menos ativas (a). A = Anfotericina B, controle positivo.

A FD-CR da *S. subumbellatum*, por exemplo, apresentou boa atividade antifúngica frente a *C. albicans* (CIM = 19,5 µg mL^{-1}) em comparação com as FD da *S. deflexiflorum* e da *S. sycophanta*, cujo CIM para *C. albicans* foi igual a 620 e 2.500 µg mL^{-1}, respectivamente (NIÑO et al., 2006).

5.6 Anotação dos metabólitos especializados da FD, FAE e FHM das cascas das raízes de *S. subumbellatum*.

As frações das cascas das raízes FD-CR, FAE-CR e a FHM-CR foram selecionadas nesta etapa, pois se destacaram nos ensaios realizados. Como discutido acima no item 5.3 no ensaio do ORAC foi observado que a FAE-CR (3862,5 ± 98,6 µmol trolox eq g^{-1}) e a FD-CR (3920,3 ± 27,1 µmol trolox eq g^{-1}) apresentaram resultados superiores ao controle positivo ácido ascórbico (2576,0 ± 109,0 µmol trolox eq g^{-1}) e no método DPPH$^{\bullet}$ a FAE-CR apresentou maior atividade antioxidante (CE_{50} = 32,5 ± 5,4 µg mL^{-1}) em relação ao controle positivo ácido ascórbico (CE_{50} = 4,1 ± 1,2 µg mL^{-1}). No ensaio antifúngico (item 5.4) foi observado que FD- CR apresentou atividade antifúngica significativa contra *Candida albicans* (CIM = 19,5 µg mL^{-1}), além de atividade moderada para os demais fungos analisados, com CIM entre 156,2 µg mL^{-1} e 625,0 µg mL^{-1}, sendo FHM-CR a mais ativa contra a *Cryptococcus neoformans* (CIM = 78,0 µg mL^{-1}), conforme os parâmetros propostos por Kuete (2010).

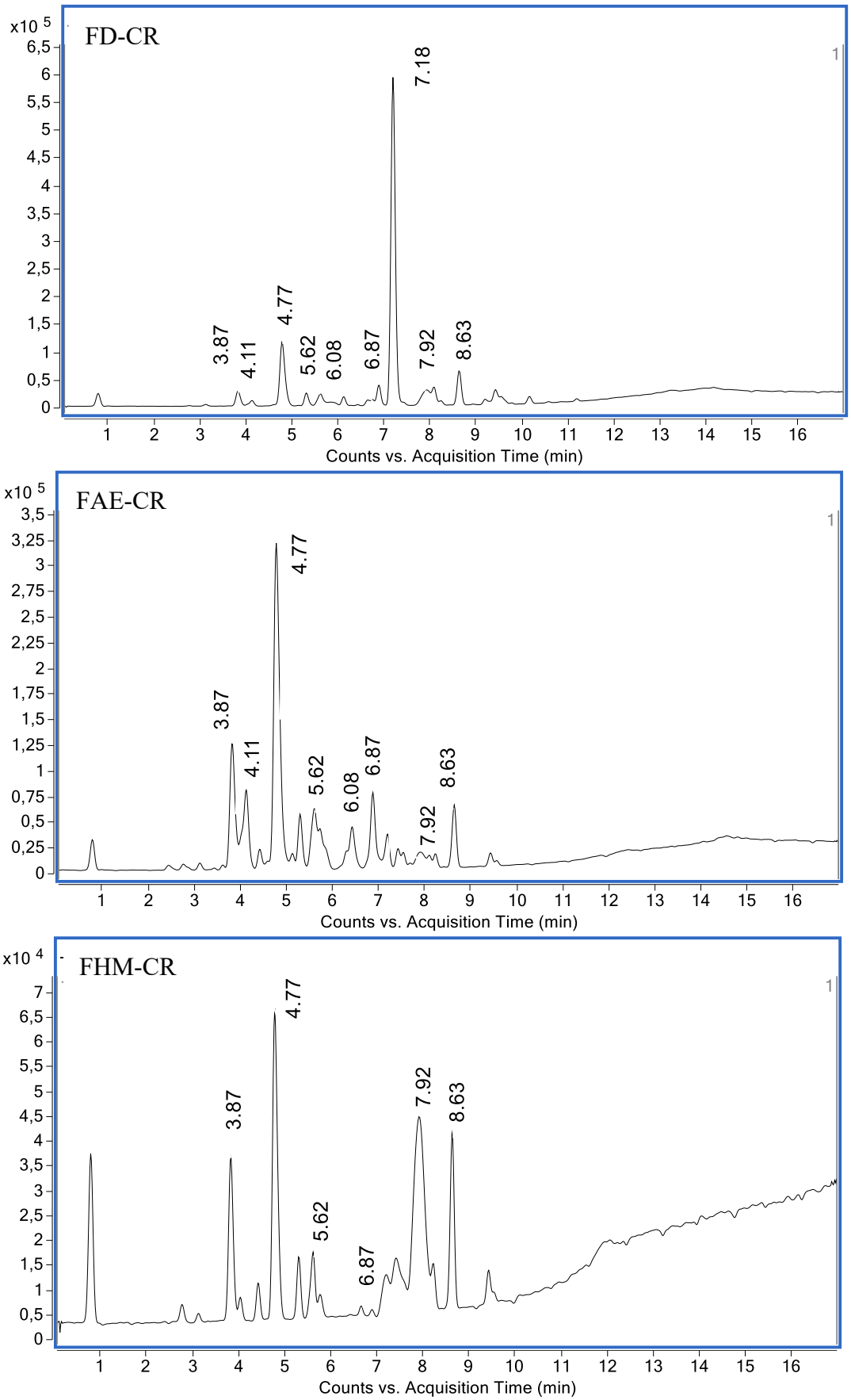
Assim, a FD-CR, FAE-CR e a FHM-CR foram submetidas à cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM) com ionização por *eletrospray* (IES). A EM-IES é uma análise de *fingerprint* ou "impressão digital" química, que permite avaliar de forma rápida um grande número de metabólitos de extratos de origem natural. A análise por infusão direta como fonte de ionização por *eletrospray* (IES) é uma técnica de caracterização para a análise de produtos químicos oriundos de misturas complexas, devido à sua capacidade inigualável de separar por massa e carga (*m/z*), detectar, contar e caracterizar moléculas de vários tipos, composições e tamanhos, desde compostos maiores até moléculas de baixo peso molecular (< 1000 Da). Nos últimos anos o uso desse método e as publicações de artigos ilustrando a impressão digital de matrizes naturais aumentou muito, e através de um estudo de comparação de tais dados é possível determinar de forma qualitativa confiável a composição química da (s) amostra (s) de interesse (CABRAL et al., 2013; DETTMER et al., 2007).

Além disso, essa técnica de IES apresenta sítios ácidos ou básico, visto que a ionização é obtida pela desprotonação $[M–H]^-$ ou protonação $[M+H]^+$ dos compostos. No trabalho foi considerado os dois modos de leitura de íons, negativo e positivo. De acordo com Rijke et al., (2006) na análise no modo negativo os íons gerados incluem aqueles formados pela perda de um próton (deprotonação), $[M–H]^-$ e fornece a melhor sensibilidade, contudo, o modo positivo

também deve ser analisado uma vez que informações complementares úteis são obtidas frequentemente em estudos relacionados com a anotação de compostos desconhecidos.

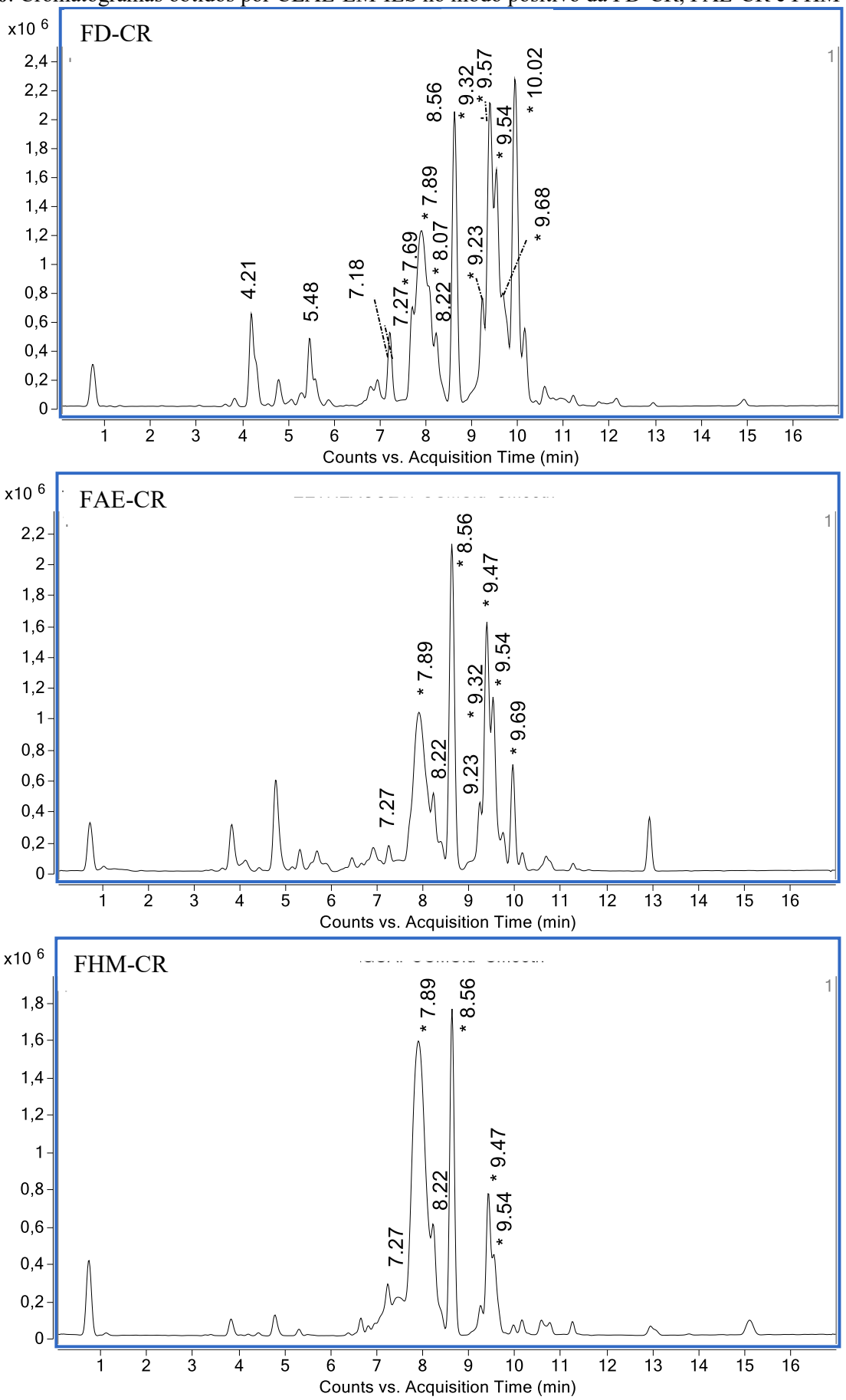
A Tabela 21 resume os tempos de retenção (t_R), as massas em alta resolução $[M - H]^-$ e $[M + H]^+$, as fórmulas moleculares, os erros (ppm) entre os valores teóricos e medidos, os principais e mais importantes íons fragmentos EM^2 e os compostos anotados. Os espectros EM/EM dos compostos não detectados (n.d.) encontram-se no Apêndice. Os cromatogramas no modo negativo e no modo positivo estão ilustrados nas Figura 39 e na Figura 40. As fórmulas estruturais dos compostos anotados se encontram na Figura 41.

Figura 39. Cromatogramas obtidos por CLAE-EM-IES no modo negativo da FD-CR, FAE-CR e FHM-CR.



Nota: Condições CLAE: Coluna C_{18} (12,1 mm × 10 cm × 2,7 µm); fase móvel: ácido fórmico (0,1% v v^{-1}) (A) e metanol (B), com 2% de B (0 min), 98% de B (0–10 min); 100% de B (10–17 min). Fonte: a autora.

Figura 40. Cromatogramas obtidos por CLAE-EM-IES no modo positivo da FD-CR, FAE-CR e FHM-CR.



Nota: Condições CLAE: Coluna C_{18} (12,1 mm × 10 cm × 2,7 µm); fase móvel: ácido fórmico (0,1% v v^{-1}) (A) e metanol (B), com 2% de B (0 min), 98% de B (0–10 min); 100% de B (10–17 min). Fonte: a autora.

Tabela 21. Proposta da composição química FD[a], da FAE[b] e da FHM[c] do EE-CR de *S. subumbellatum* por CLAE-ME/ME-IES-(–/+) (continua).

t_R (min)	(*m/z*) $[M - H]^-$	(*m/z*) $[M + H]^+$	Erro (Δ) (ppm) – /+	Fragmentos EM/EM – /+	Fórmula molecular	Anotação	Referências
3,87	353,0883	–	1,4	191, 179, 135	$C_{16}H_{18}O_9$	ácido 5-*O*-cafeoilquínico[a;b;c]	(BENDER et al., 2018; GOBBO-NETO, LOPES, 2008)
4,21	–	374,2815	–	356, 328, 308, 277, 190, 159, 138, 114	–	n.d.[a]	–
4,11	179,0352	–	1,1	135	$C_9H_8O_4$	ácido cafeico[a;b]	(SINOSAKI et al., 2020)
4,77	367,1038	–	0,8	191, 173	$C_{17}H_{20}O_9$	ácido 4-*O*-feruloilquínico[a;b;c]	(GOBBO-NETO, LOPES, 2008; GU et al., 2012)
5,48	–	358,2855	–	316, 275, 233, 178, 138	–	n.d.[a]	–
5,62	667,1884	–	–	623, 581, 499, 443, 428, 377, 290, 255, 290, 223, 205, 167, 109	–	n.d.[a;b;c]	–

Tabela 21. Proposta da composição química FD[a], da FAE[b] e da FHM[c] do EE-CR de *S. subumbellatum* por CLAE-MS/MS-IES-(–/+) (continua).

t_R (min)	(*m/z*) $[M - H]^-$	(*m/z*) $[M + H]^+$	Erro (Δ) (ppm) – /+	Fragmentos EM/EM – /+	Fórmula molecular	Anotação	Referências
6,08	193,0504	–	–1,0	178, 149, 134	$C_{10}H_{10}O_4$	ácido ferúlico [a;b]	(SINOSAKI et al., 2020)
6,87	599,1457	–	–	525, 397, 335, 277, 223, 123	–	n.d. [a;b;c]	–
7,18	207,0664	209,0811	0,5/ 1,4	179, 135/ 163, 145	$C_{11}H_{12}O_4$	cafeato de etila[a]	(HAMDAN et al., 2021; RUAN et al., 2019)
7,27	–	594,4010	1,6	576, 397, 379, 283, 253	$C_{33}H_{55}NO_8$	(25*R*)-3*β*-amino-furost-5-eno-22*α*, 26-diol-*O*-(26)-*β*-D-Gli (fatimagraino) ou isômero [a;b;c]	(GAZOLLA et al., 2019; SILVA et al., 2020)
7,69	–	316,2646	–	299, 281, 255, 239, 225, 211, 199, 177, 161, 145, 135, 121	–	n.d.[a]	–
7,89	–	596,4171	2,3	578, 561, 399, 381, 285, 255	$C_{33}H_{57}NO_8$	(25*R*)-3*β*-amino-5*α*-furostano-22α, 26-diol-*O*-(26)-*β*-D-Gli (jurubina)[a;b;c]	(GAZOLLA et al., 2019; SILVA et al., 2020)

Tabela 21. Proposta da composição química FD[a], da FAE[b] e da FHM[c] do EE-CR de *S. subumbellatum* por CLAE-MS/MS-IES-(–/+) (continua).

t_R (min)	(*m/z*) $[M - H]^-$	(*m/z*) $[M + H]^+$	Erro (Δ) (ppm) – /+	Fragmentos EM/EM – /+	Fórmula molecular	Anotação	Referências
7,92	640,4063	–	–	594, 550, 449, 410, 379, 209, 170, 101	–	n.d.[a;b;c]	–
8,07	–	223,0969	–	206, 177, 162, 53, 149, 145 135, 122, 117, 114, 107	–	n.d.[a]	–
8,22	–	610,4319	–0,8	592, 556, 508, 430, 299	$C_{34}H_{60}NO_8^-$	3-amino-hidroxi-desidro-furostan-22-ol-*O*-(26)-*β*-D-Gli [a;b;c]	(SILVA et al., 2020)
8,56	–	578,4052	0,2	561, 399, 381, 339, 285, 255	$C_{33}H_{55}NO_7$	(25*R*)-3β-amino-furost-22-en, 26-ol-*O*-(26)-*β*-D-Gli (batachariaino) ou isômero [a;b;c]	(GAZOLLA et al., 2019; SILVA et al., 2020)
9,23	–	448,3431	–	430, 399, 381, 357, 289, 255, 231, 169, 149, 121	–	n.d.[a;b]	–
9,32	–	432,3480	1,8	415, 397, 379, 271, 253	$C_{27}H_{45}NO_3$	3-aminospirostan-6-ol (isojuripidina)[a;b]	(GAZOLLA et al., 2019)

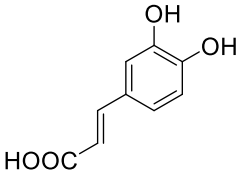
Tabela 21. Proposta da composição química FD[a], da FAE[b] e da FHM[c] do EE-CR de *S. subumbellatum* por CLAE-MS/MS-IES-(–/+) (conclusão).

t_R (min)	(*m/z*) $[M - H]^-$	(*m/z*) $[M + H]^+$	Erro (Δ) (ppm) – /+	Fragmentos EM/EM – /+	Fórmula molecular	Anotação	Referências
9,47	–	594,4006	1,0	576, 490, 448, 414, 397, 253	$C_{33}H_{55}NO_8$	fatimagraino ou isômero [a;b;c]	(GAZOLLA et al., 2019; SILVA et al., 2020)
9,57	–	578,4069	3,1	561, 432, 397, 379, 255	$C_{33}H_{55}NO_7$	batachariaino ou isômero [a;b;c]	(GAZOLLA et al., 2019; SILVA et al., 2020)
9,69	–	416,3530	0,7	399, 381, 285, 255	$C_{27}H_{45}NO_2$	3-aminospirostano (jurubidina)[a;b]	(GAZOLLA et al., 2019)
10,02	–	416,3525	0,2	399, 381, 285, 255	$C_{27}H_{45}NO_2$	isômero da jurubidina[a]	(GAZOLLA et al., 2019; SILVA et al., 2020)

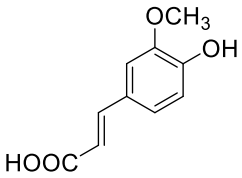
Nota: T_R: Tempo de retenção (mim); n.d. = não detectado. [a]Fração diclorometano do extrato etanólico das cascas das raízes (FD-CR). [b]Fração acetato de etila do extrato etanólico das cascas das raízes (FAE-CR). [c]Fração hidrometanólica do extrato etanólico das cascas das raízes (FHM-CR).

Figura 41. Compostos anotados por CLAE-EM/EM-IES-(–/+).

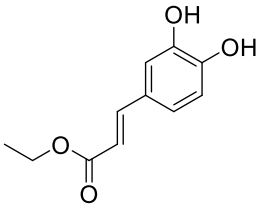
Ácidos orgânicos:



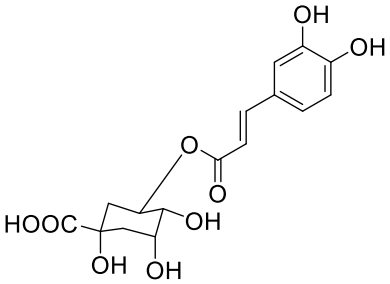
$[M - H]^-$ (*m/z* 179)
ácido cafeico



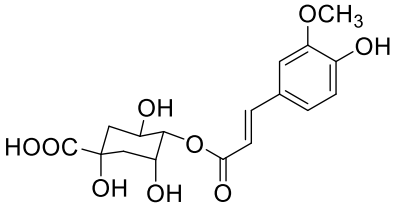
$[M - H]^-$ (*m/z* 193)
ácido ferúlico



$[M - H]^-$ (*m/z* 207)
$[M + H]^+$ (*m/z* 209)
cafeato de etila

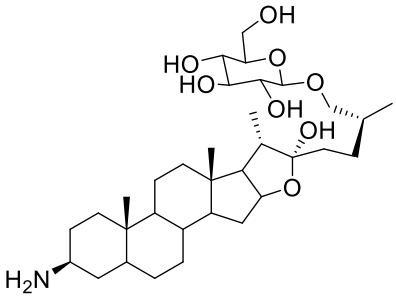


$[M - H]^-$ (*m/z* 353)
ácido 5-*O*-cafeoilquínico

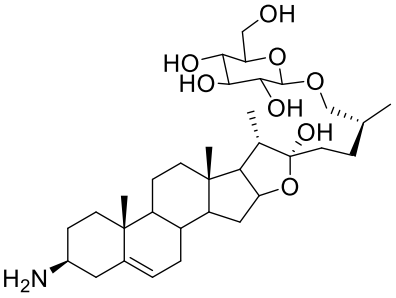


$[M - H]^-$ (*m/z* 367)
ácido 4-*O*-feruloilquínico

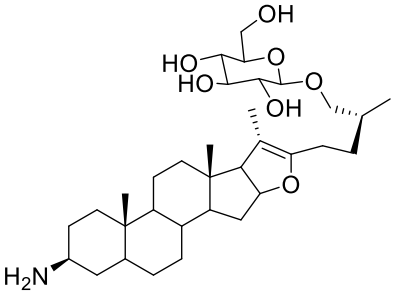
Alcaloides esteroidais:



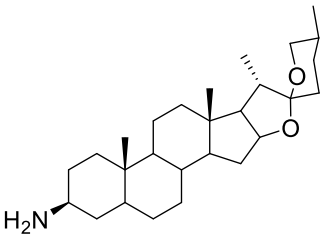
$[M + H]^+$ (*m/z* 596)
jurubina



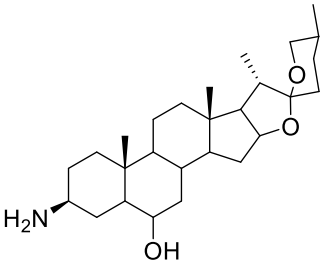
$[M + H]^+$ (*m/z* 594)
fatimagraino



$[M + H]^+$ (*m/z* 578)
batachariaino



$[M + H]^+$ (*m/z* 416)
jurubidina



$[M + H]^+$ (*m/z* 432)
isojuripidina

Fonte: a autora.

No modo negativo, foram anotados ácidos clorogênicos que são formados pela esterificação do ácido quínico com os derivados do ácido cinâmico (ácidos cafeico, ferúlico, *p*-cumárico ou sináptico). Podem ser classificados de acordo com o tipo, número e posição dos resíduos acila: mono ésteres (ácidos cafeiolquínicos e feruloilquínicos); di, tri e tetra ésteres (CLIFFORD et al., 2017).

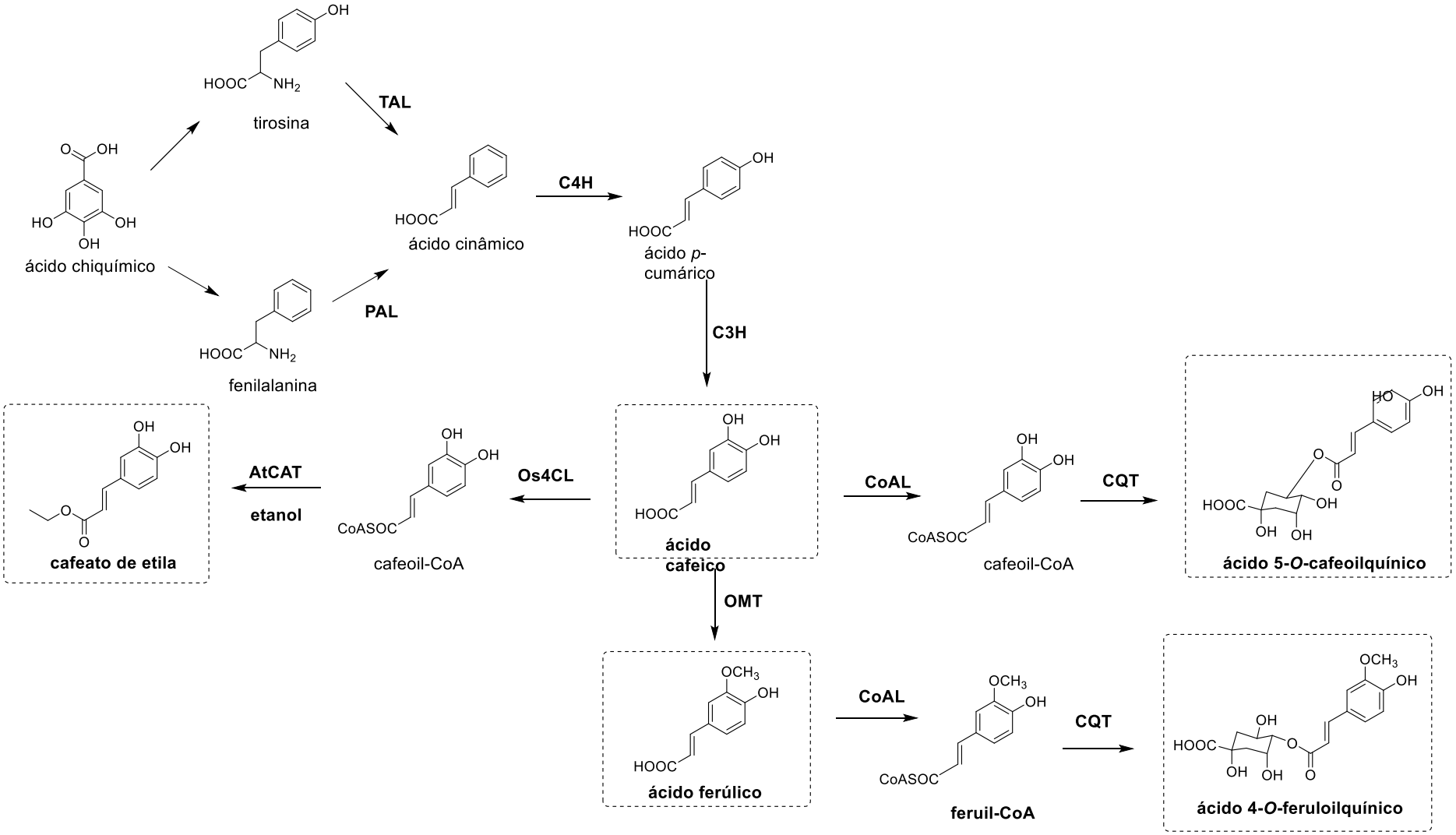
Os ácidos clorogênicos estão presentes nas plantas em quantidades significativas na parede celular e são metabólitos formados a partir de um conjunto de reações químicas que ocorre continuamente em cada célula. A presença de enzimas específicas garante certa direção a essas reações, estabelecendo o que se denomina de rotas metabólicas. Conhecer as rotas biossintéticas é importante para aperfeiçoar a produção dos compostos de interesse industrial e aprimorar as técnicas de controle de qualidade de fitoterápicos (LIMA, 2016).

Dessa forma, a Figura 42 ilustra um esquema de biossíntese dos ácidos anotados que são formados por meio da via do ácido chiquímico (CLIFFORD et al., 2017; KOSHIRO et al., 2007). Inicialmente, ocorre a formação dos aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina. A fenilalanina é convertida no ácido cinâmico por meio da catálise por fenilalanina amônia-liase (PAL), com a eliminação do grupo NH_3. E a tirosina é ativada a ácido cinâmico através da tirosina amônia-liase (TAL) com a eliminação do grupo NH_3.

Na sequência o ácido *p*-cumárico é formado pela enzima cinamato 4-hidroxilase (C4H) e posteriormente irá sofrer uma hidroxilação na posição 3 pela *p*-cumaroil 3-hidroxilase (C3H) e formar o ácido cafeico. O ácido cafeico, por sua vez, irá formar o ácido 5-*O*-cafeoilquínico pela esterificação com o ácido quínico sendo que a enzima hidroxicinamoil CoA:quinato hidroxicinamoil transferase (CQT) está envolvida na reação. Através da enzima *O*-metiltransferase (OMT) o ácido cafeico sofre uma metilação na hidroxila de posição 3 para produzir o ácido ferúlico. O ácido ferúlico irá formar o ácido 4-*O*-feruloilquínico pela esterificação do ácido quínico e a CQT será a enzima envolvida. O ácido ferúlico irá formar também o cafeato de etila ativado pela enzima OMT.

O ácido cafeico também irá formar o cafeato de etila. Lee et al. (2021) apresentaram a biossíntese do cafeato de etila que foi sintetizado considerando as enzimas tirosina amônia-liase (TAL) e o ácido *p*-cumárico que foram introduzidos em *Escherichia coli* (bactéria gram negativa) juntamente com 4-coumaroil CoA ligase (4CL) e acil transferase (AtCAT), clonadas de *Arabidopsis thaliana* (planta da família Brassicaceae). A síntese foi finalizada na presença de etanol obtendo o cafeato de etila.

Figura 42. Rota biossintética dos ácidos clorogênicos anotados.

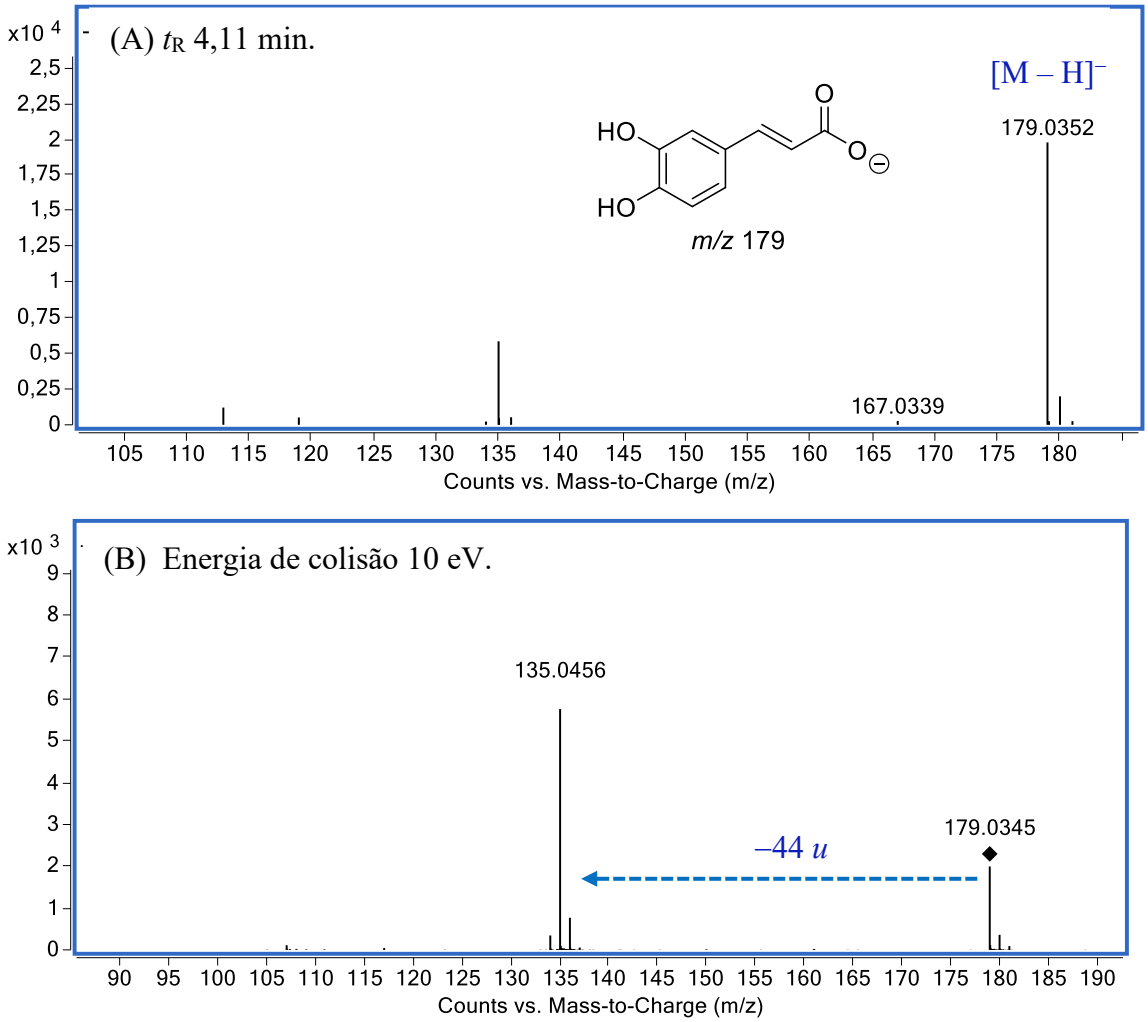


Nota: Abreviaturas das enzimas: PAL, fenilalanina amônia-liase. TAL, tirosina amônia-liase. C4H, cinamato 4-hidroxilase. C3H, *p*-cumaroil 3-hidroxilase. CoAL, CoA ligase. CQT, cafeoil-CoA: cafeoil transferase de ácido quínico (hidroxicinamoil-CoA: quinato hidroxicinamoil transferase) ou feruil-CoA. OMT, *O*-metiltransferase Os4CL: *Oryza sativa* ligada a coumaroil CoA ligase (4CL). AtCAT: acil transferase. Fonte: adaptado de Clifford et al. (2017), Koshiro et al. (2007), Lee et al. (2021).

O ácido cafeico (t_R 4,11 min) e o ácido ferúlico (t_R 6,08 min) foram anotados no modo negativo nas FD-CR e FAE-CR, não sendo observado na FHM-CR de *S. subumbellatum*.

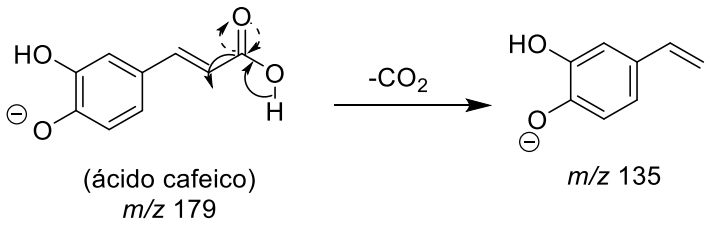
O ácido cafeico apresentou pico referente à molécula desprotonada em *m/z* 179,0352 $[M – H]^-$ (Δ 1,1 ppm) (Figura 43A). Para confirmar a estrutura proposta, do ácido cafeico, foi realizada a análise por espectrometria de massas sequencial no modo negativo (–). O EM-IES-(–) (Figura 43B), obtido da dissociação induzida por colisão do íon *m/z* 179 $[M - H]^-$ com N_2, gerou como principal fragmento o íon em *m/z* 135 que pode ser atribuído a uma eliminação neutra de CO_2 (44 *u*) a partir do íon molecular (Figura 44) (SINOSAKI et al., 2020).

Figura 43. A) EM-IES-(–) em alta resolução do ácido cafeico; B) EM/EM-IES-(–).



Fonte: a autora.

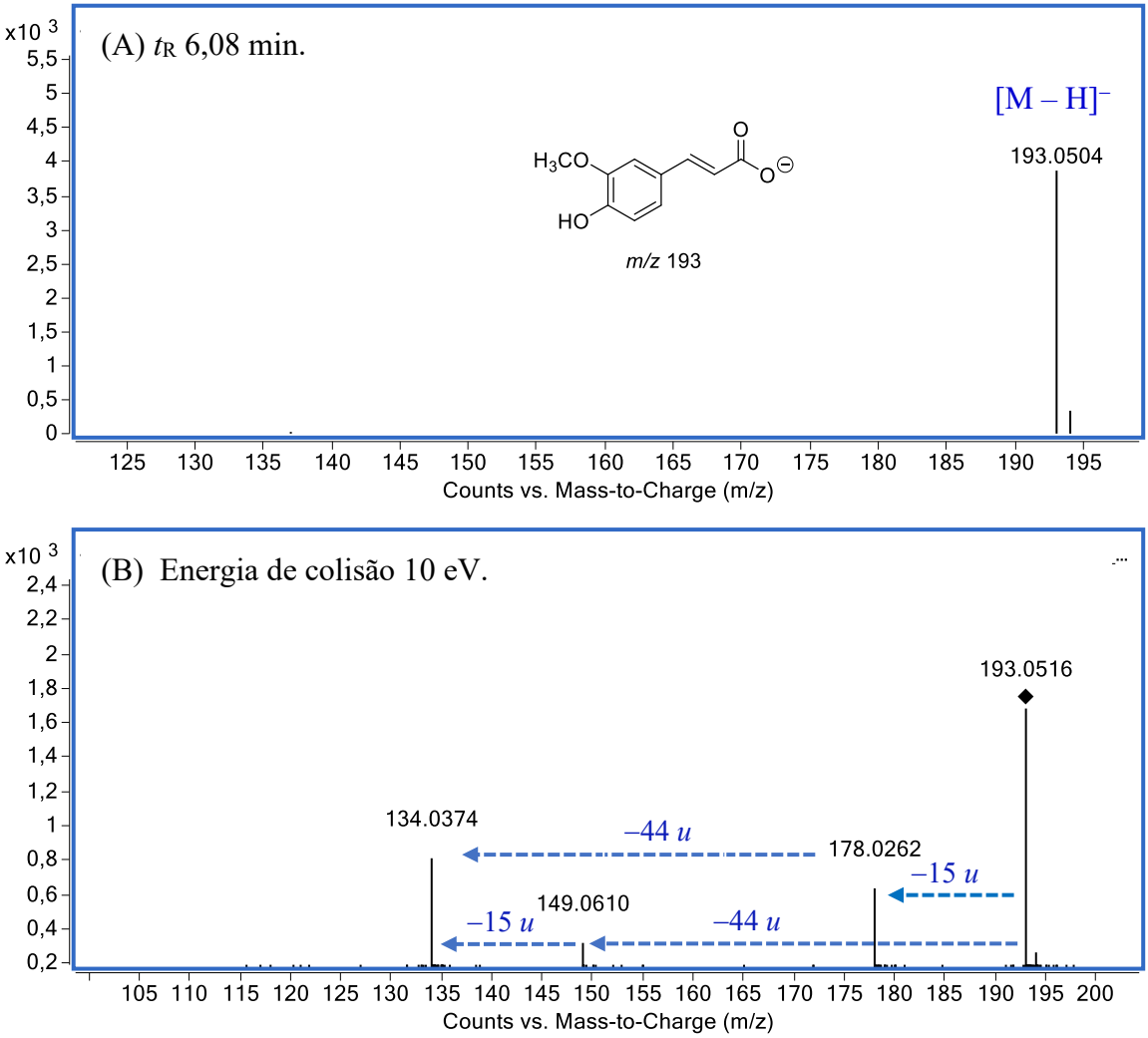
Figura 44. Proposta de fragmentação para o ácido cafeico anotado por EM/EM-IES-(–) na FD e FAE das cascas das raízes de *S. subumbellatum.*



Fonte: adaptado de Sinosaki et al. (2020).

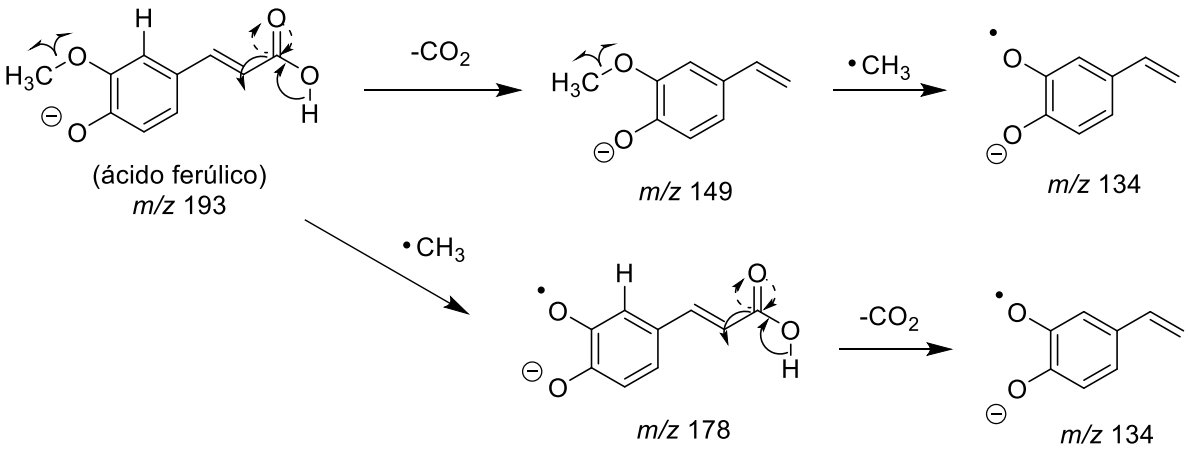
O ácido ferúlico apresentou o sinal referente a molécula desprotonada em *m/z* 193,0504 $[M-H]^-$ (Δ –1,0 ppm) (Figura 45A) e principais íons fragmentos em *m/z* 178, 149 e 134 (Figura 45B). A diferença de massa entre a molécula desprotonada e o fragmento *m/z* 149 é de 44 *u*, o que está de acordo com a eliminação de uma molécula de CO_2, conforme mecanismo proposto (Figura 46). Na sequência, o íon fragmento de *m/z* 134 foi proposto a partir da clivagem homolítica entre o oxigênio e o carbono da metila, ligado ao C-3', levando a eliminação da metila (15 *u*). A sequência de eliminações também pode ser invertida e iniciar com a clivagem homolítica e eliminação da metila, levando ao íon fragmento de *m/z* 178, e em seguida a eliminação de CO_2, que leva ao íon fragmento de *m/z* 134 (SINOSAKI et al., 2020) (Figura 46).

Figura 45. A) EM-IES-(–) em alta resolução do ácido ferúlico; B) EM/EM-IES-(–).



Fonte: a autora.

Figura 46. Proposta de fragmentação para o ácido ferúlico anotado por EM/EM-IES-(–) na FD e FAE das cascas das raízes de *S. subumbellatum.*



Fonte: adaptado de Sinosaki et al. (2020).

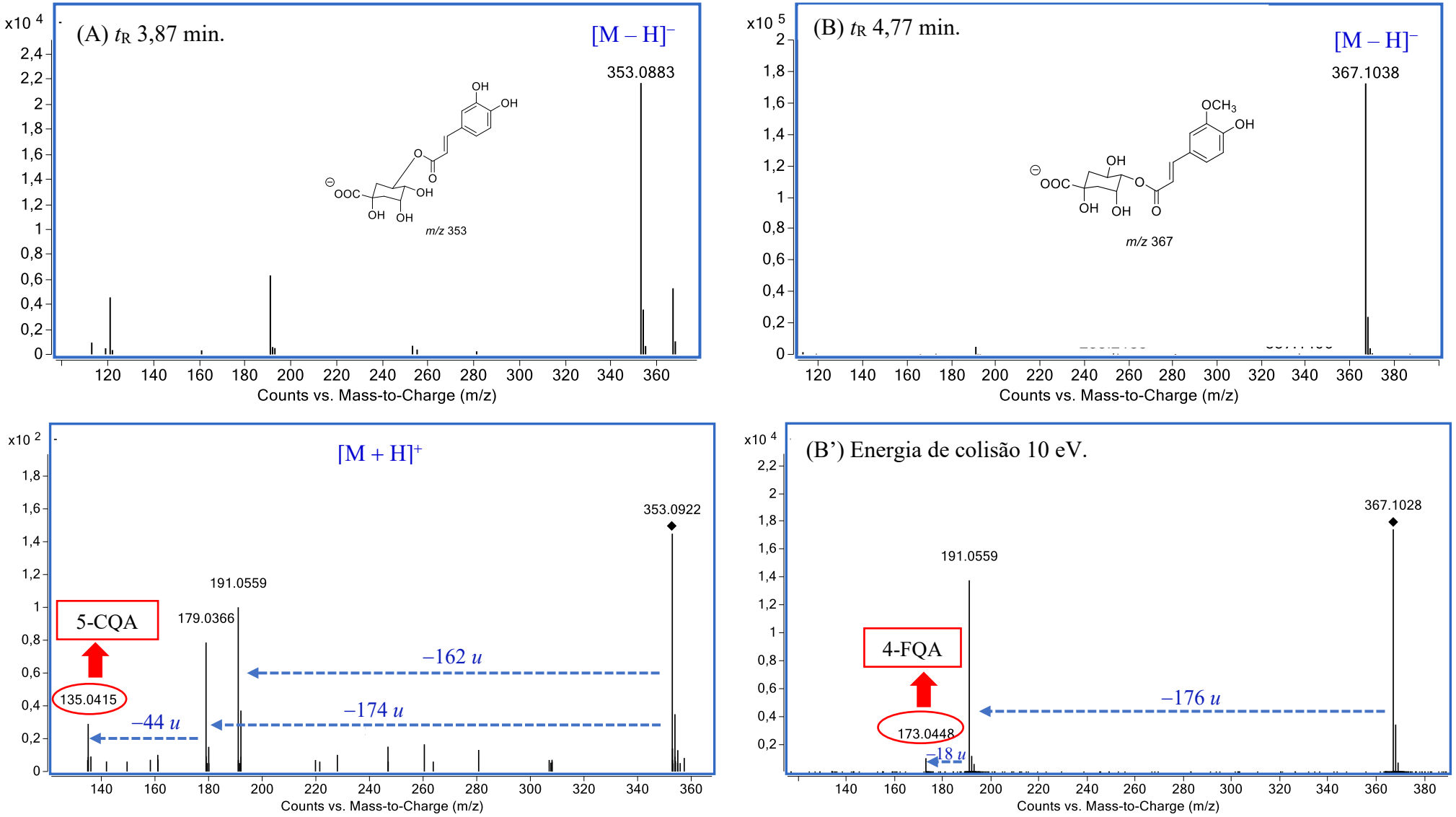
No modo negativo foram anotados ainda o ácido 5-*O*-cafeoilquínico (5-*O*-CQA) (t_R 3,87 min, *m/z* 353,0883 $[M - H]^-$, Δ 1,4 ppm) e o ácido 4-*O*-feruloilquínico (4-*O*-FQA) (t_R 4,77 min, *m/z* 367,1038 $[M - H]^-$, Δ 0,8 ppm), ambos presentes nas três frações FD-CR, FAE-CR e FHM-CR.

O ácido cafeoilquínico (CQA) apresenta três isômeros principais, o 3-*O*-cafeoilquínico (3-*O*-CQA), 4-*O*-cafeoilquínico (4-*O*-CQA) e o 5-*O*-cafeoilquínico (5-*O*-CQA). Dados da literatura indicam que a presença de íons na análise sequencial (EM/EM) irá distinguir a posição do grupo cafeoil. A presença do pico *m/z* 135 indica a posição 5. Assim, considerando o padrão de fragmentação descrito na literatura e o EM/EM (Figura 47A') sugere que o composto de *m/z* 353 se trata do 5-*O*-CQA (RUAN et al., 2019; ZHANG et al., 2018).

Já na análise de EM/EM do ácido feruloilquínico (FQA) (Figura 47B') foi observado o íon fragmento de *m/z* 173 que é um indicativo de acilação na posição 4, assim o composto de *m/z* 367 foi atribuído ao 4-*O*-FQA (RUAN et al., 2019; ZHANG et al., 2018).

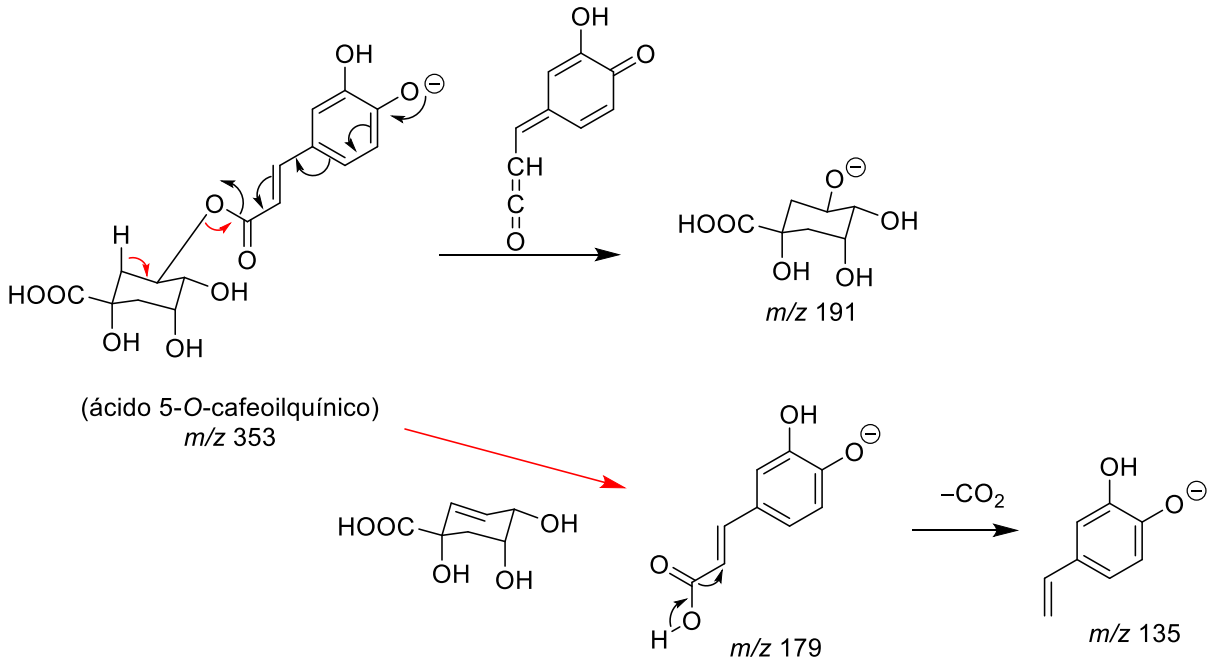
O 5-*O*-CQA e o 4-*O*-FQA foram submetidos a EM/EM. O 5-*O*-CQA (Figura 47A') resultou nos íons fragmentos de *m/z* 191 $[M - H - \text{cafeoil}]^-$, 179 $[M - H - \text{ácido quínico}]^-$ e 135 $[M - H - \text{ácido quínico} - CO_2]^-$ (Figura 48) (RUAN et al., 2019). Já o 4-*O*-FQA (Figura 47B') apresentou padrão de fragmentação semelhante ao do 5-*O*-CQA (Figura 49) (RUAN et al., 2019).

Figura 47. EM-IES-(–) em alta resolução dos ácidos 5-*O*-CQA (A) e do 4-*O*-FQA (B); EM/EM-IES-(–) do 5-*O*-CQA (A') e 4-*O*-FQA (B').



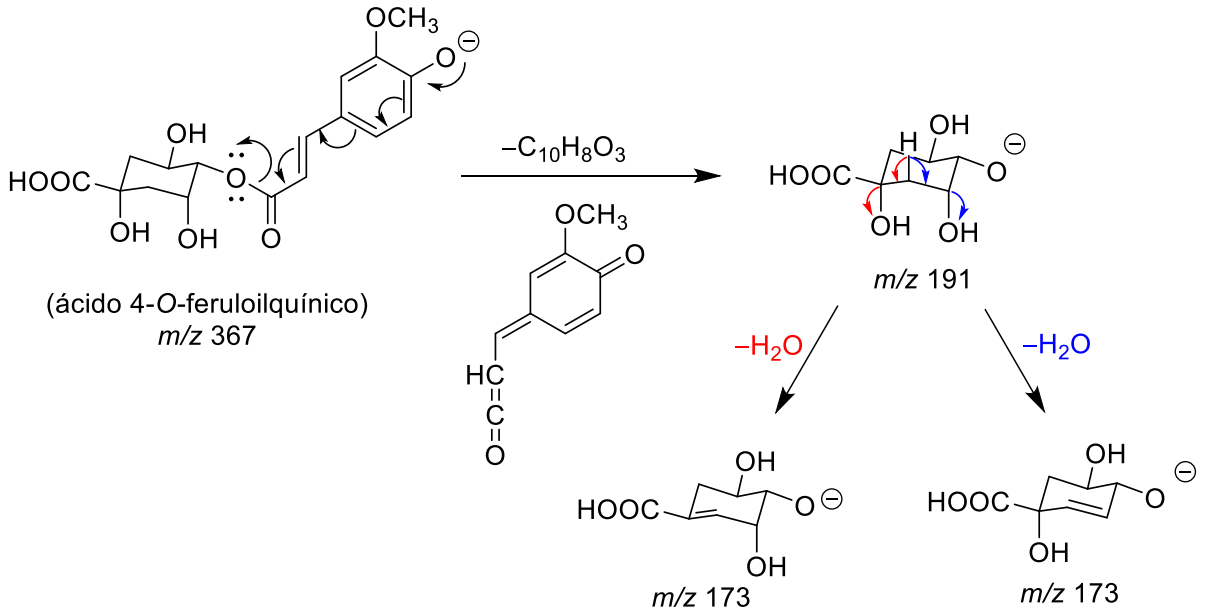
Fonte: autora.

Figura 48. Proposta de fragmentação para o 5-*O*-CQA anotado por EM/EM-IES-(–) nas frações FD, FAE e FHM das cascas das raízes de *S. subumbellatum.*



Fonte: adaptado de Ruan et al. (2019) e de Demarque et al. (2016).

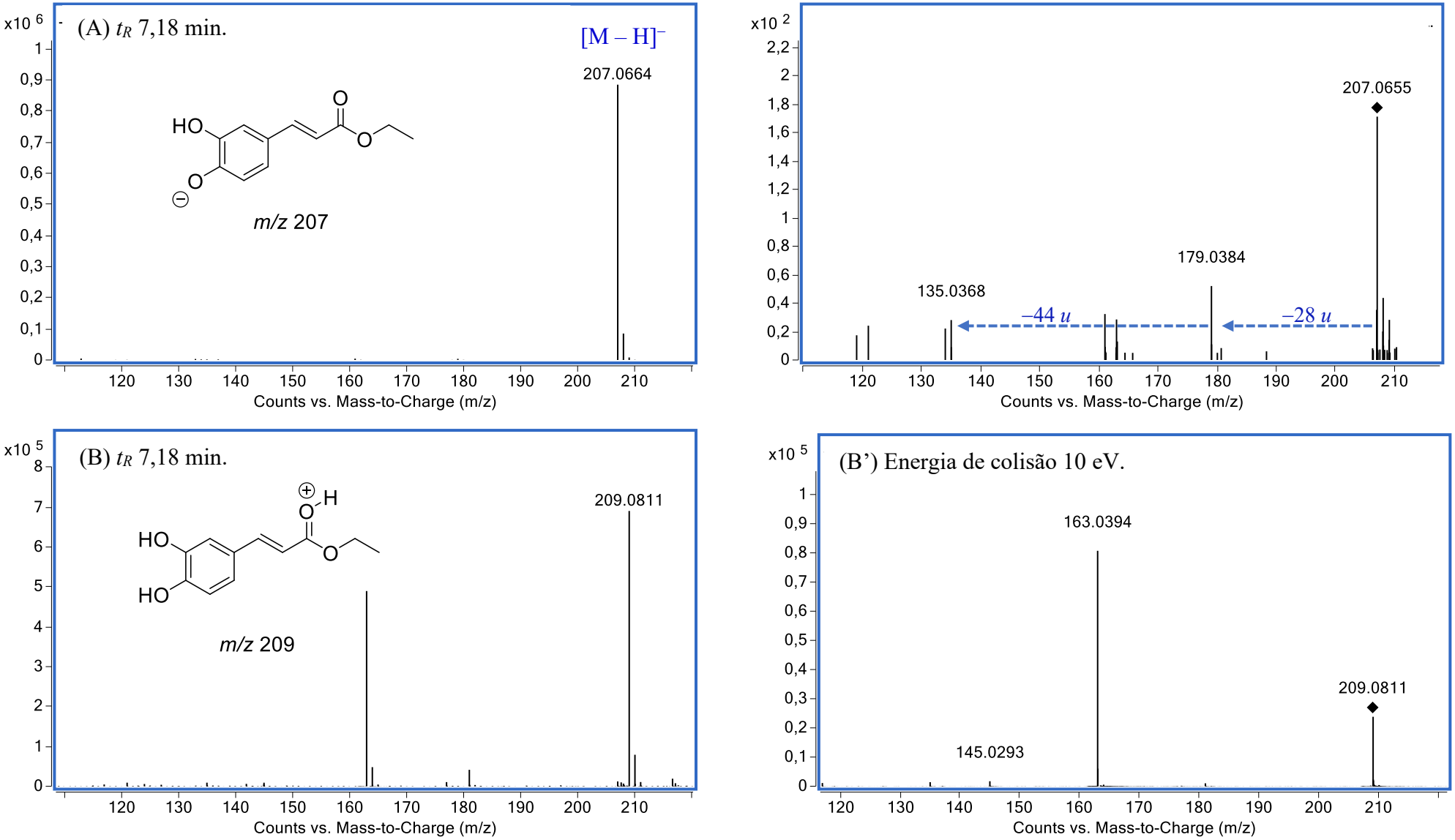
Figura 49. Proposta de fragmentação para o 4-*O*-FQA anotado por EM/EM-IES-(–) na FD, FAE e FHM das cascas das raízes de *S. subumbellatum*.



Fonte: adaptado de Ruan et al. (2019) e de Demarque et al. (2016).

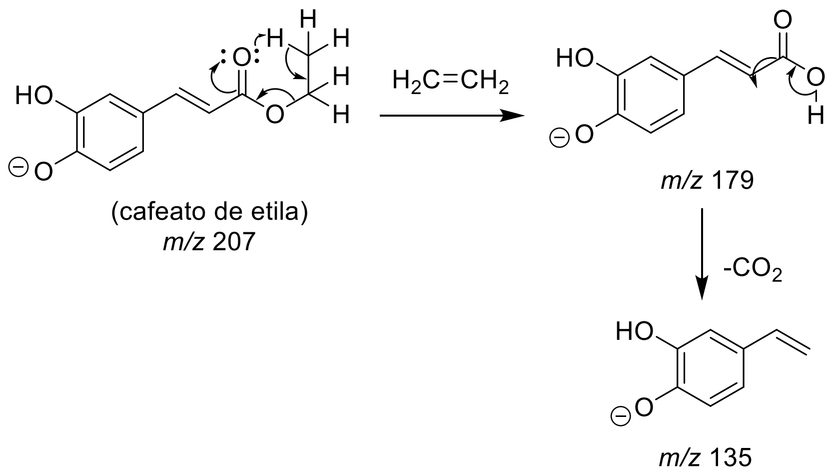
Na análise de EM-IES em alta resolução no modo negativo foi anotado por fim o cafeato de etila, encontrado somente na FD-CR em t_R 7,18 min que apresentou o sinal referente a molécula desprotonada em *m/z* 207,0664 $[M - H]^-$ (Δ 0,5 ppm) (Figura 50A). Esse composto também foi anotado no modo positivo (t_R 7,18 min, *m/z* 209,0811 $[M + H]^+$, Δ 1,4 ppm) (Figura 50B). Quando o sinal de *m/z* 207 foi submetido a EM/EM (Figura 50A'), foram observados como principais fragmentos os íons em *m/z* 179 e 135. O íon fragmento em *m/z* 179 foi atribuído a eliminação neutra de 28 *u* (perda do eteno) a partir do íon molecular. O íon fragmento de *m/z* 135 foi atribuído à eliminação neutra de dióxido de carbono, CO_2 (44 *u*) (Figura 51) (LAMBERT et al., 2015).

Figura 50 EM-IES em alta resolução do cafeato de etila da fração FD, modo negativo (A); modo positivo (B); EM/EM-IES-(–) (A'); EM/EM-IES-(+) (B').



Fonte: a autora.

Figura 51. Proposta de fragmentação para o cafeato de etila anotado por EM/EM-IES-(−) na FD das cascas das raízes de *S. subumbellatum.*



Fonte: a autora.

A análise dos espectros de massas em alta resolução no modo positivo permitiu observar que as frações analisadas apresentam vários íons com massas pares $[M + H]^+$ indicando a presença de alcaloides devido ao número ímpar de nitrogênio. Os alcaloides anotados são do tipo esteroidal e também foram encontrados nas raízes de *S. paniculatum* (Solanaceae) (GAZOLLA et al., 2019; SILVA et al., 2020).

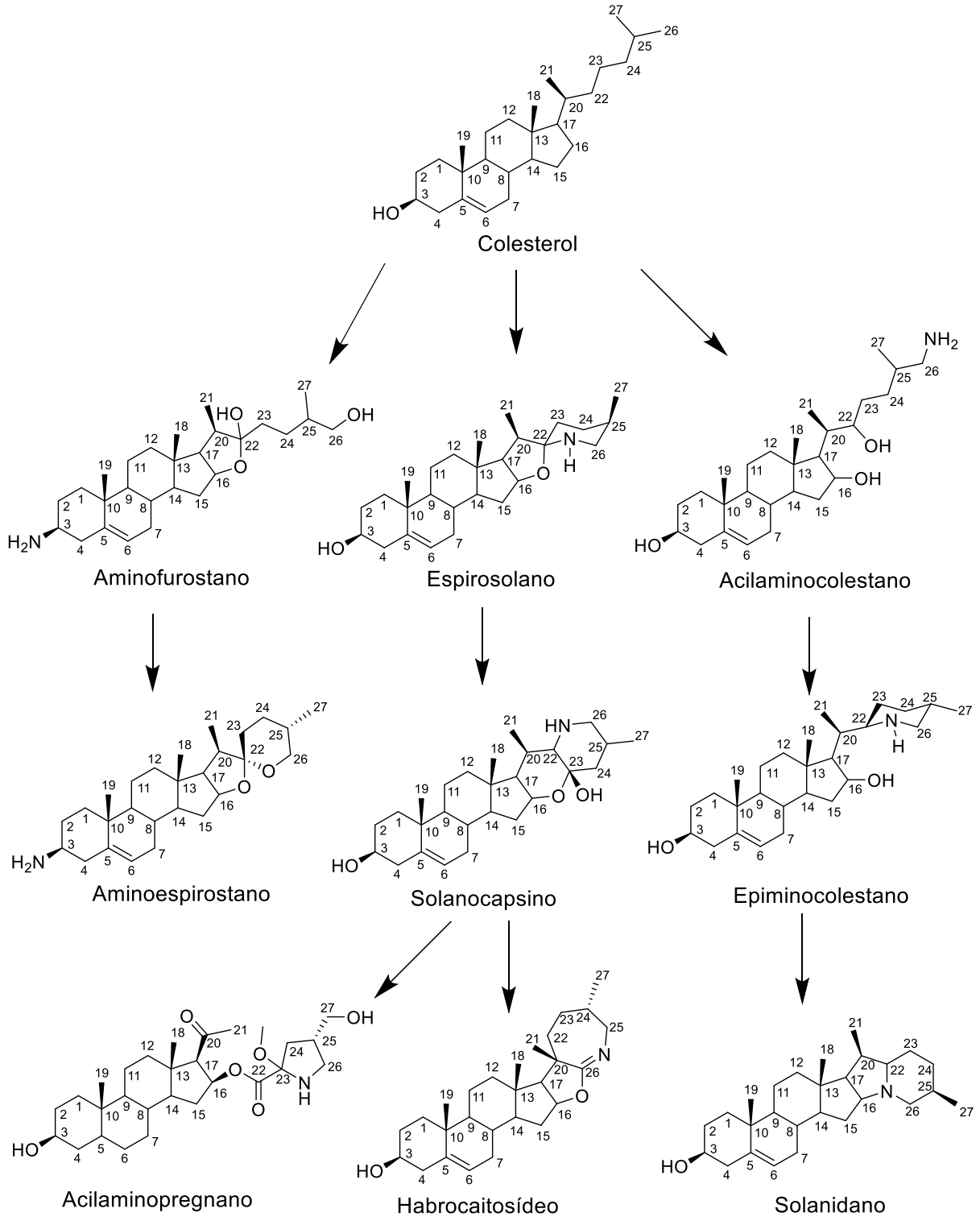
Os alcaloides esteroidais anotados fazem parte de um grupo de produtos naturais em que o nitrogênio está diretamente ligado a uma unidade terpenoídica. Esses compostos exibiram a presença de insaturação, hidroxilas, grupo amino ligado em C-3 e algumas dessas substâncias apresentaram açúcares ligados, como a D-glicose que está conectada à aglicona (do tipo aminofurostano), através do grupo hidroxila tipicamente em C-26 (Figura 52). As designações D e β da glicose foram atribuídas baseadas nos compostos que foram isolados e anotados em outras plantas (GAZOLLA et al., 2019; SILVA et al., 2020). Além disso, sabe-se que a série D de glicosídeos é mais comum na biossíntese (DEWICK, 2009).

Segundo Ramos et al. (2019) a biossíntese de alcaloides esteroidais representa avanço biossintético relacionado com o avanço morfológico. Compreender a biossíntese dos alcaloides é importante para estudar as origens do nitrogênio, no que diz respeito a sua bioprodução ao longo da história evolutiva, e a partir disso pode-se desenvolver/aperfeiçoar uma via metabólica para reciclar nitrogênio para outros fins.

A Figura 52 ilustra um esquema da biossíntese dos alcaloides esteroidais cujo precursor é o colesterol. Sendo que as reações em cada etapa são de hidroxilação, oxidação, transaminação, fechamento de anel, além de posterior glicosilação em alguns casos. Estes

processos são realizados por enzimas específicas do metabolismo dos glicoalcaloides (CÁRDENAS et al., 2015; ITKIN et al., 2013; RAMOS et al., 2019; RAMOS et al., 2021).

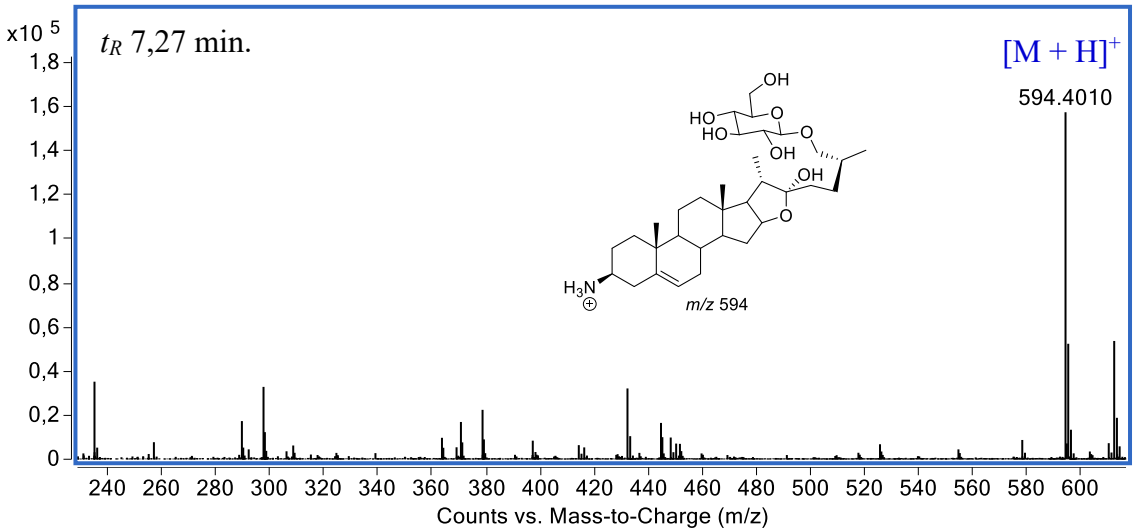
Figura 52. Biossíntese dos alcaloides esteroidais e seus diferentes esqueletos.



Fonte: adaptado de Ramos et al. (2019).

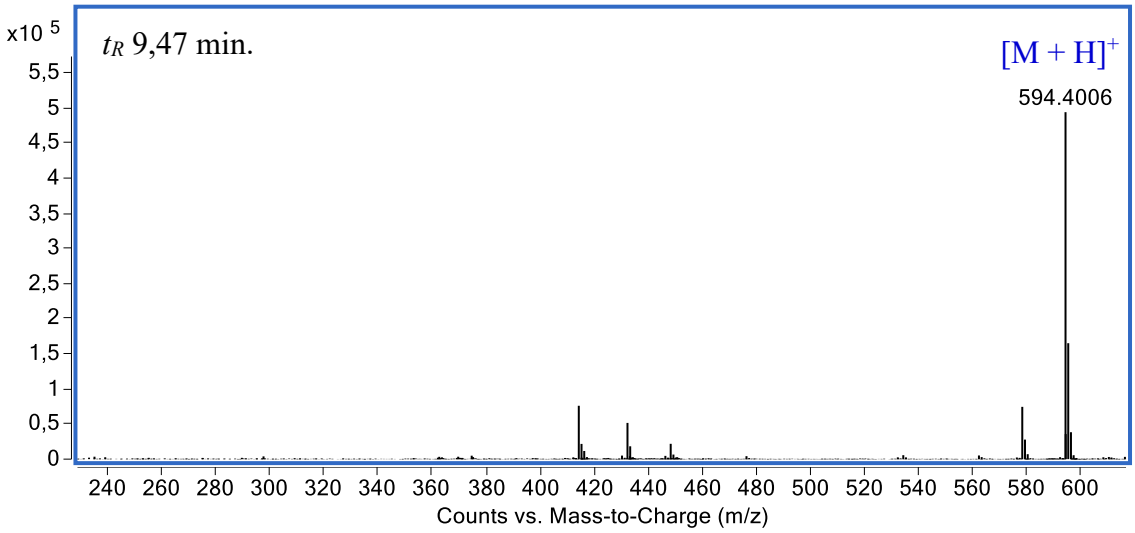
Na FD-CR, FAE-CR e na FHM-CR de *S. subumbellatum* foram anotados no modo positivo, em t_R 7,27 min e em t_R 9,47 min dois alcaloides esteroidais, com a mesma massa molecular *m/z* 594,4010 $[M + H]^+$ (Δ 1,6) (Figura 53) e *m/z* 594,4006 $[M + H]^+$ (Δ 1,0 ppm) (Figura 54) respectivamente, sugere ser o fatimagraino e ou seu isômero.

Figura 53. EM-IES-(+) em alta resolução do fatimagraino ou do isômero.



Fonte: autora.

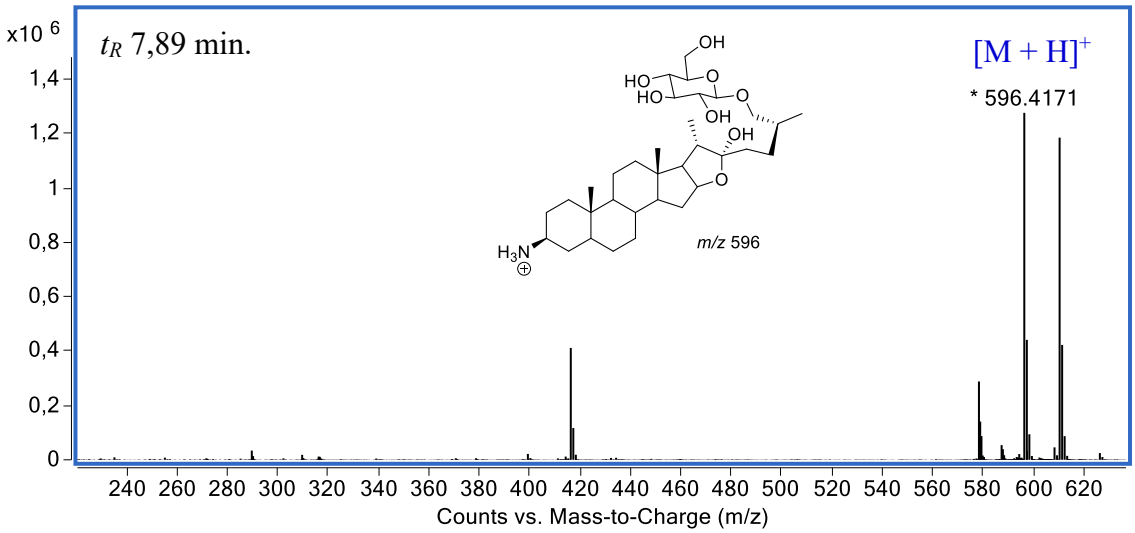
Figura 54. EM-IES-(+) em alta resolução do fatimagraino ou do isômero.



Fonte: autora.

A jurubina foi outro alcaloide estereoidal anotado nas frações analisadas que apresentou pico referente a molécula protonada em *m/z* 596,4171 $[M + H]^+$ (t_R 7,89 min, Δ 2,3 ppm) (Figura 55).

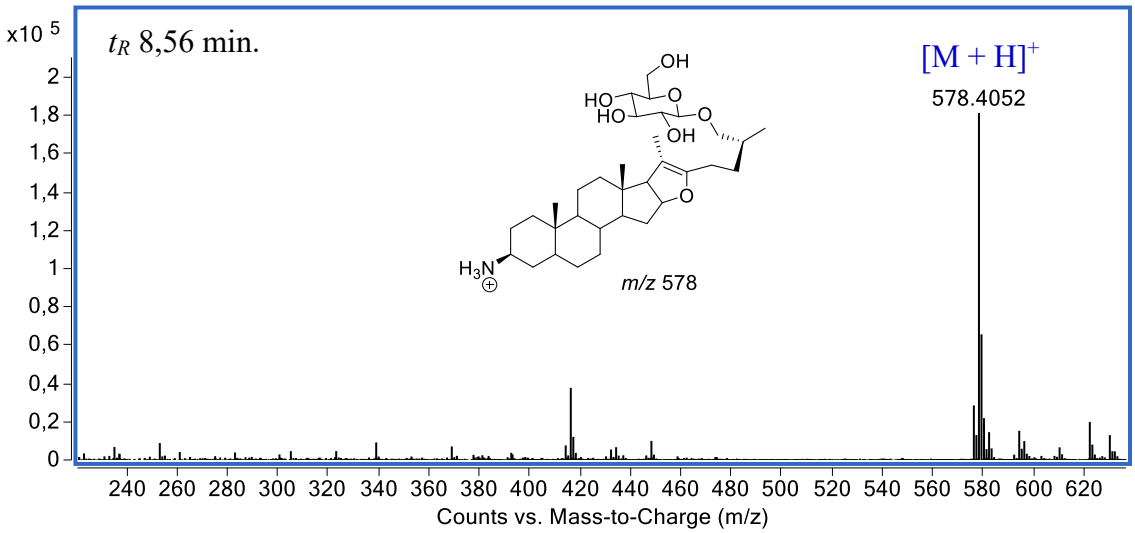
Figura 55. EM-IES-(+) em alta resolução da jurubina.



Fonte: autora.

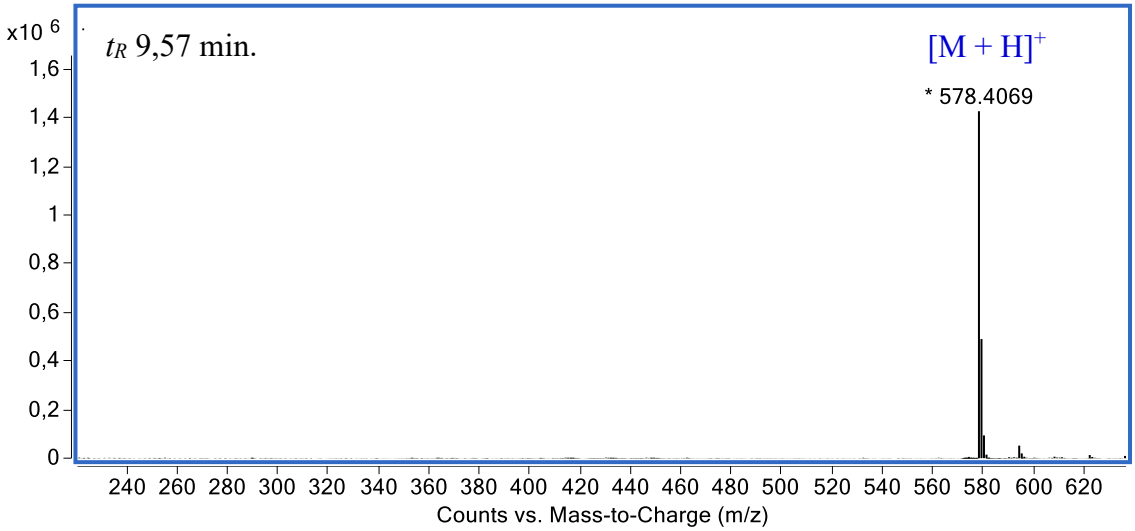
Foram anotados também, o composto (25R)-3*β*-amino-furost-22-eno,26-ol-*O*-(26)-β-D-Gli nomeado por Silva et al. (2020) de batachariaino ou do isômero (t_R 8,56 min, Δ 0,2) (Figura 56). Em t_R 9,57 min foi observado um EM que indica a presença do outro composto com a mesma massa molecular cujo pico referente ao íon molecular $[M + H]^+$ foi identificado em *m/z* 578,4069 (Δ 3,1) (Figura 57).

Figura 56. EM-IES-(+) em alta resolução do batachariaino ou do isômero.



Fonte: autora.

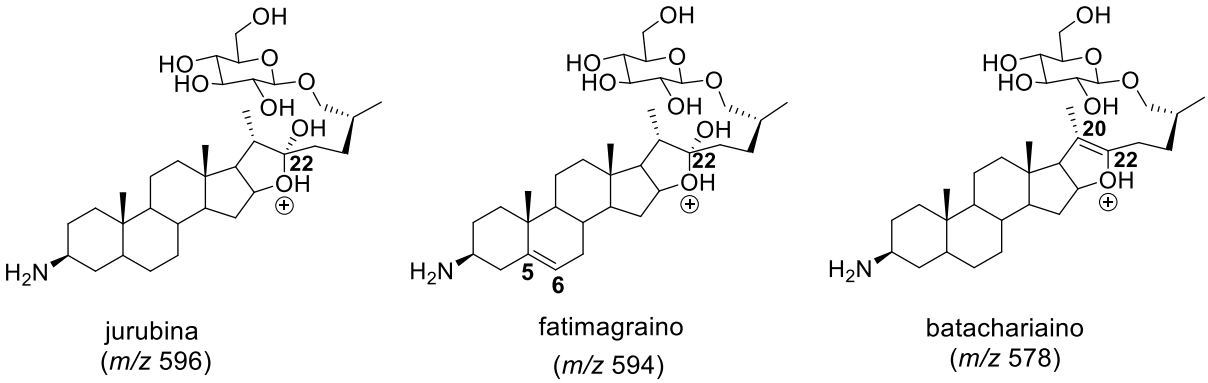
Figura 57. EM-IES-(+) em alta resolução do isômero do batachariaino ou do isômero.



Fonte: autora.

A jurubina, o fatimagraino e o batachariaino apresentaram estruturas com grande semelhança, entretanto, a jurubina não apresenta ligação insaturada em C-5 e C-6 e nem em C- 20 e C-22. O fatimagraino apresenta uma ligação dupla entre C-5 e C-6, já o batachariaino não apresenta o grupo hidroxila em C-22 e apresenta uma ligação dupla entre C-20 e C-22 (Figura 58).

Figura 58. Fórmulas estruturais da jurubina, do fatimagraino e do batachariaino.

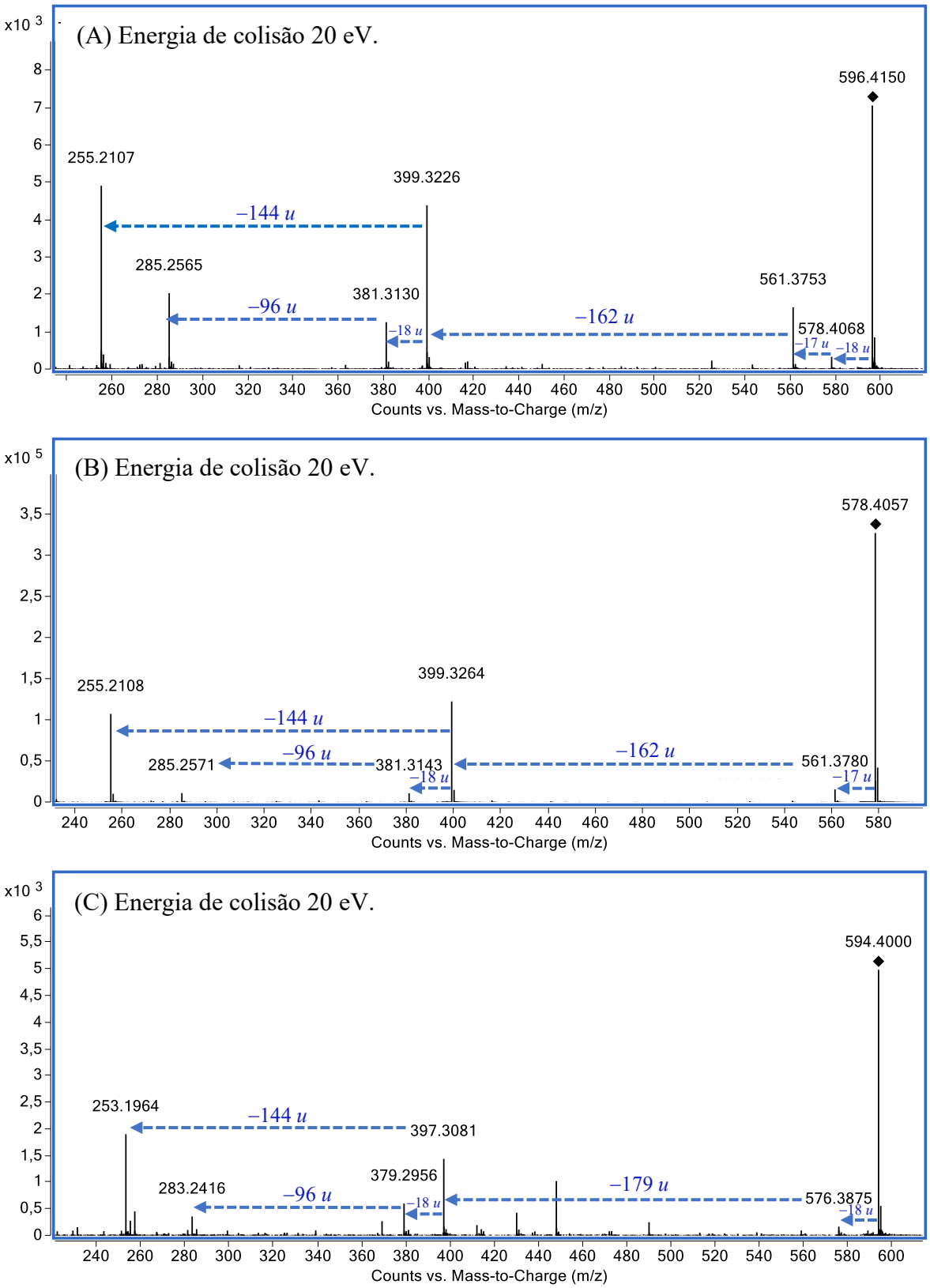


Fonte: autora.

Quando os sinais dos íons de *m/z* 578, *m/z* 596 e do *m/z* 594 foram submetidos à análise de espectrometria de massas sequencial (EM/EM) no modo positivo foi observado padrão de fragmentação semelhante (Figura 59). A proposta de fragmentação está ilustrada na Figura 60 e pode ser observado que o batachariaino (*m/z* 578) pode ser formando a partir da jurubina

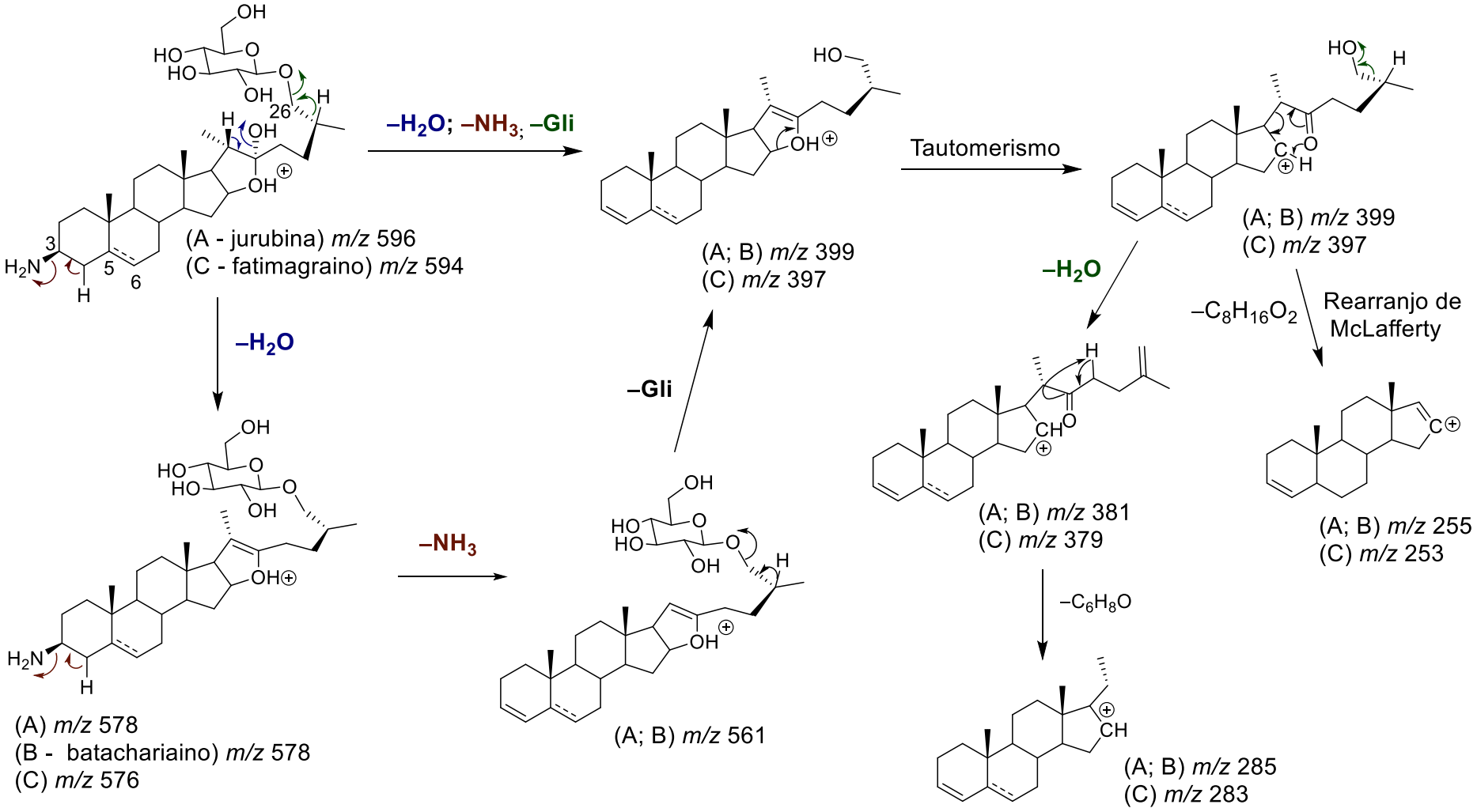
(*m/z* 596), através da eliminação neutra de água $[M + H - H_2O]^+$. Outros fragmentos observados foram os íons em *m/z* 561 e *m/z* 559, atribuídos a eliminação neutra de água (18 *u*) $[M + H - H_2O]^+$ e na sequência de amônia (17 *u*) $[M + H - H_2O - NH_3]^+$; os íons em *m/z* 399 e *m/z* 397 correspondem à perda do glicosil, água e amônia $[M + H - H_2O - NH_3 - glicose]^+$; os sinais de *m/z* 381 e *m/z* 379, foram atribuídos a eliminação de duas moléculas de água, amônia e glicosil $[M + H - 2H_2O - NH_3 - glicose]+$; os íons de *m/z* 285 e *m/z* 283 foram correlacionados com a perda do grupo C_6H_8O (96 *u*); e os fragmentos de íons *m/z* 255 e *m/z* 253 foram atribuídos à eliminação do grupo $C_8H_{16}O_2$ (144 *u*) a partir dos íons de *m/z* 397 e /ou *m/z* 399 através de um rearranjo de McLafferty (Figura 60) (SILVA et al., 2020).

Figura 59. EM/EM-IES-(+) da jurubina (A), batachariaino (B) e do fatimagraino (C).



Fonte: autora.

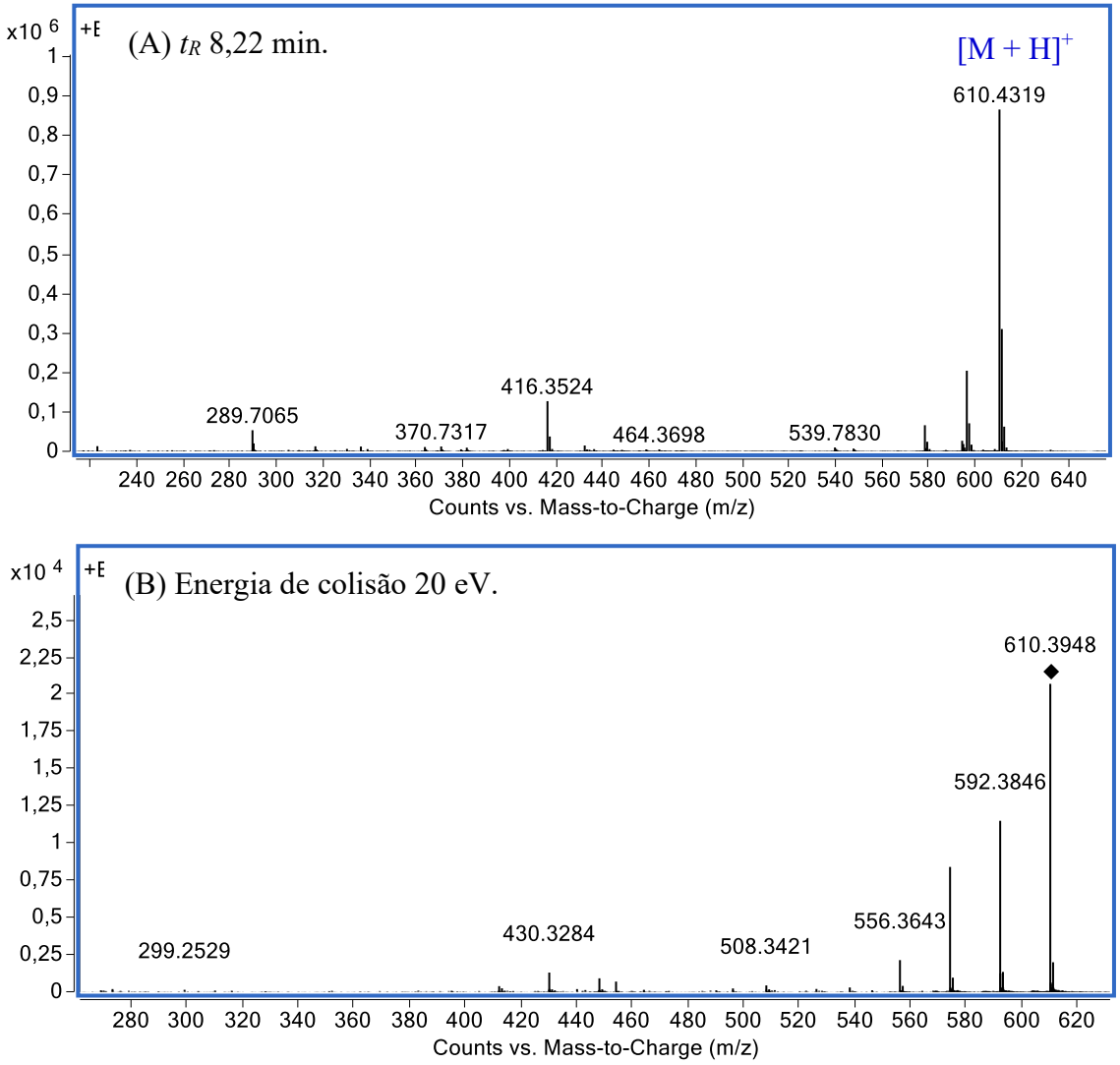
Figura 60. Proposta de fragmentação para a jurubina (A), batachariaino (B) e fatimagraino (C) anotados por EM/EM-IES-(+) na FD, FAE e FHM das CR de *S. subumbellatum.*



Fonte: adaptado de Silva et al. (2020).

O composto anotado no t_R 8,22 min apresentou o sinal referente a molécula protonada em *m/z* 610,4319 ($[M + H]^+$, Δ –0,8 ppm) (Figura 61), sendo consistente com os dados descritos na literatura para o 3-amino-hidroxi-desidro-furostan-22-ol-*O*-(26)-*β*-D-Gli. A fórmula estrutural do *m/z* 610 é semelhante ao dos alcaloides anotados fatimagraino, jurubina e batachariaino, e não será possível apresentar sua estrutura neste trabalho pois não se pode definir a posição da hidroxila sem os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (incluindo 2D) da substância isolada.

Figura 61. A) EM-IES-(+) em alta resolução para o 3-amino-hidroxi-desidro-furostan-22-ol-*O*-(26)-β-D-Gli; B) EM/EM-IES-(+).

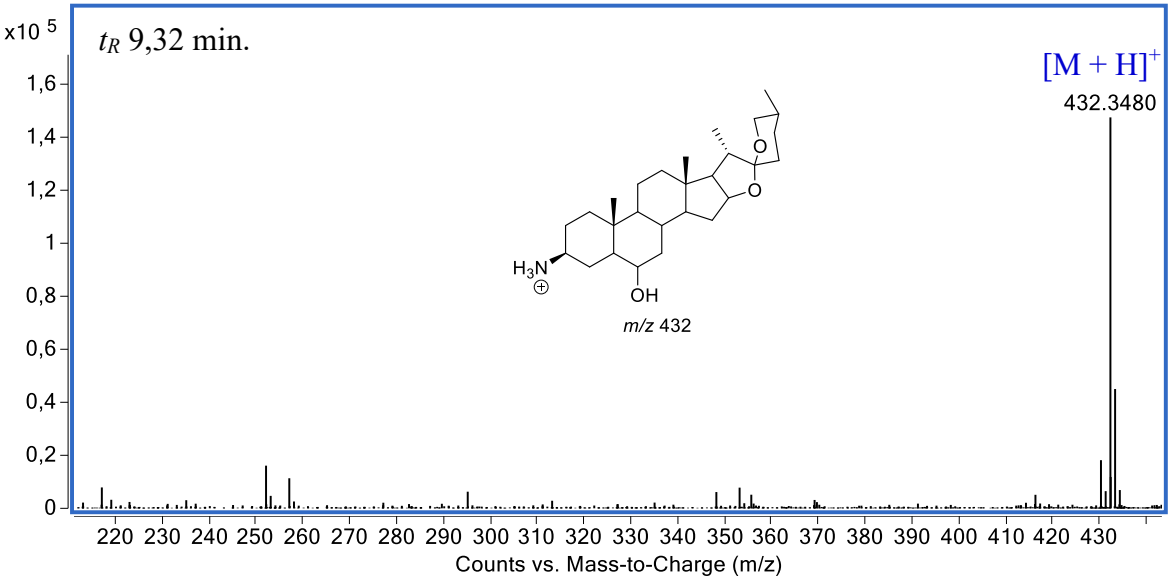


Fonte: a autora.

Na FD-CR e na FAE-CR de *S. subumbellatum* foram anotados no modo positivo, ainda, a isojuripidina (t_R 9,32 min) e a jurubidina (t_R 9,69 min) que apresentaram os picos referente ao íon molecular $[M + H]^+$ em *m/z* 432,3480 (Δ 1,8 ppm) e em *m/z* 416,3530 (Δ 1,6 ppm), respectivamente (Figura 62; Figura 63).

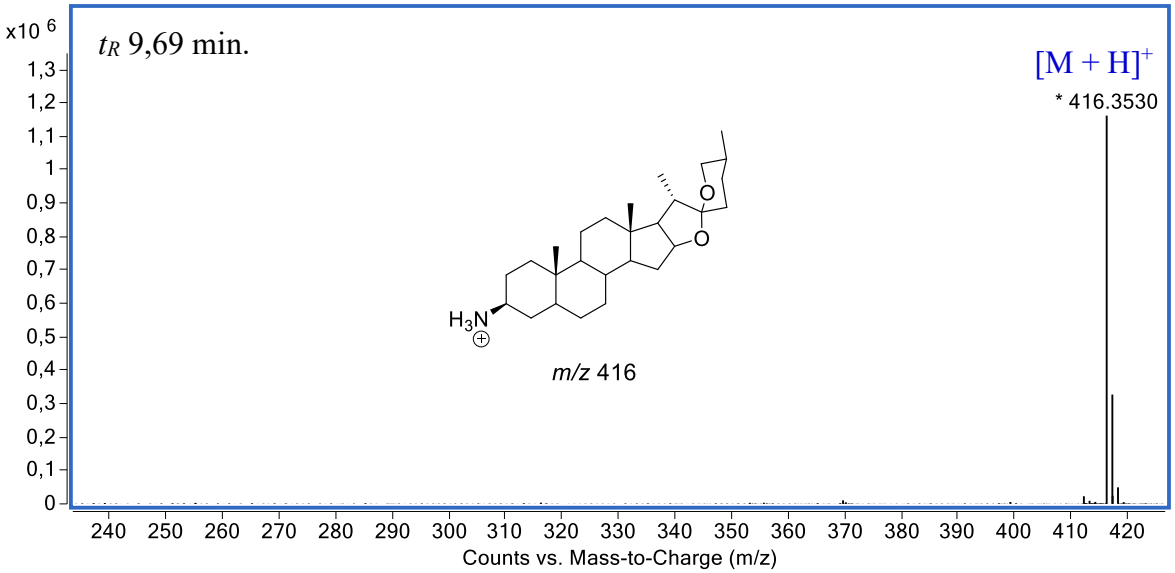
Somente na FD-CR foi anotado em t_R 10,02 min um composto que sugere ser um isômero da jurubidina, o estudo foi realizado através da análise de EM em alta resolução que indicou $C_{27}H_{45}NO_2$ como a fórmula desse íon de *m/z* 416,3525 ($[M + H]^+$, Δ 0,2 ppm) (Figura 64).

Figura 62. EM-IES-(+) em alta resolução da isojuripidina.



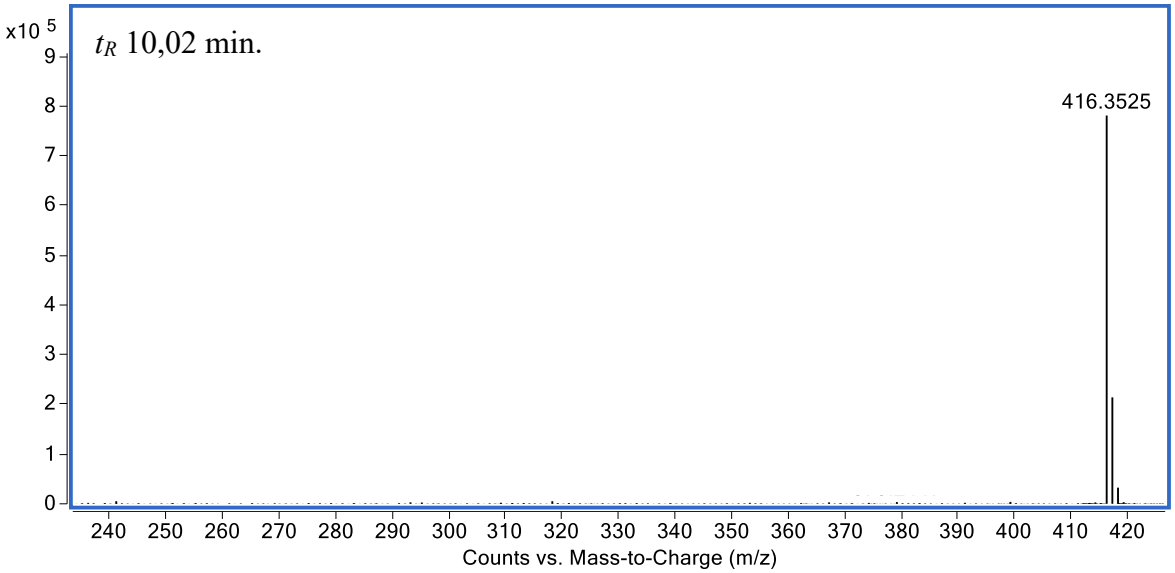
Fonte: a autora.

Figura 63. EM-IES-(+) em alta resolução da jurubidina.



Fonte: autora.

Figura 64. EM-IES-(+) em alta resolução do isômero da jurubidina.

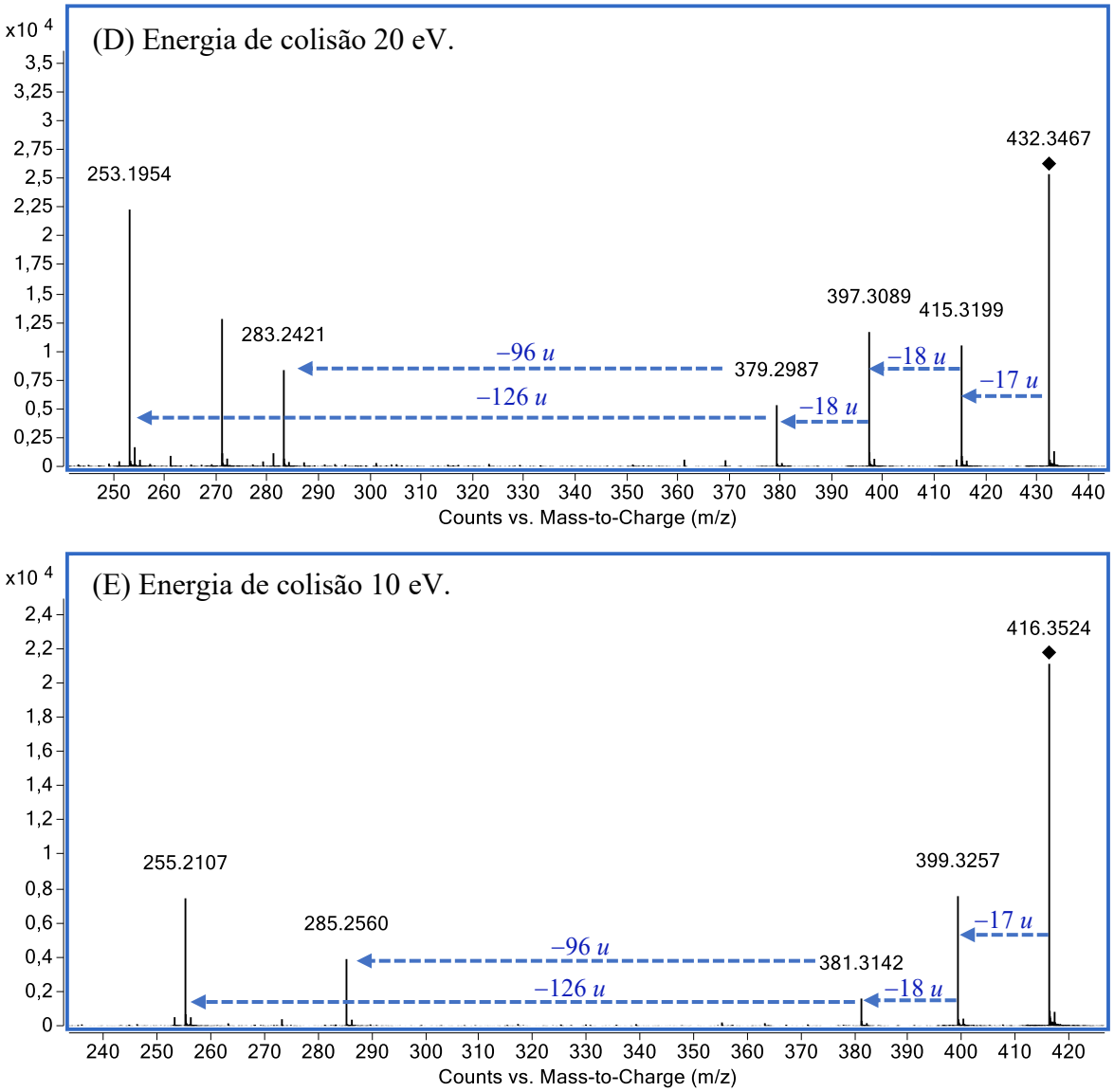


Fonte: autora.

A isojuripidina (*m/z* 432, $[M + H]^+$) e a jurubidina (*m/z* 416, $[M + H]^+$) apresentaram estruturas com grande semelhança, diferindo apenas na hidroxila presente no C-6 da isojuripidina. Quando os íons de *m/z* 432 e *m/z* 416 foram submetidos à análise por EM/EM-(+) foi possível observar grande similaridade no padrão de fragmentação (Figura 65 e Figura 66). Inicialmente ambos apresentam uma eliminação de 17 *u* que leva aos íons de *m/z* 415 e 399, respectivamente, que foram atribuídos a eliminação neutra de uma molécula de amônia.

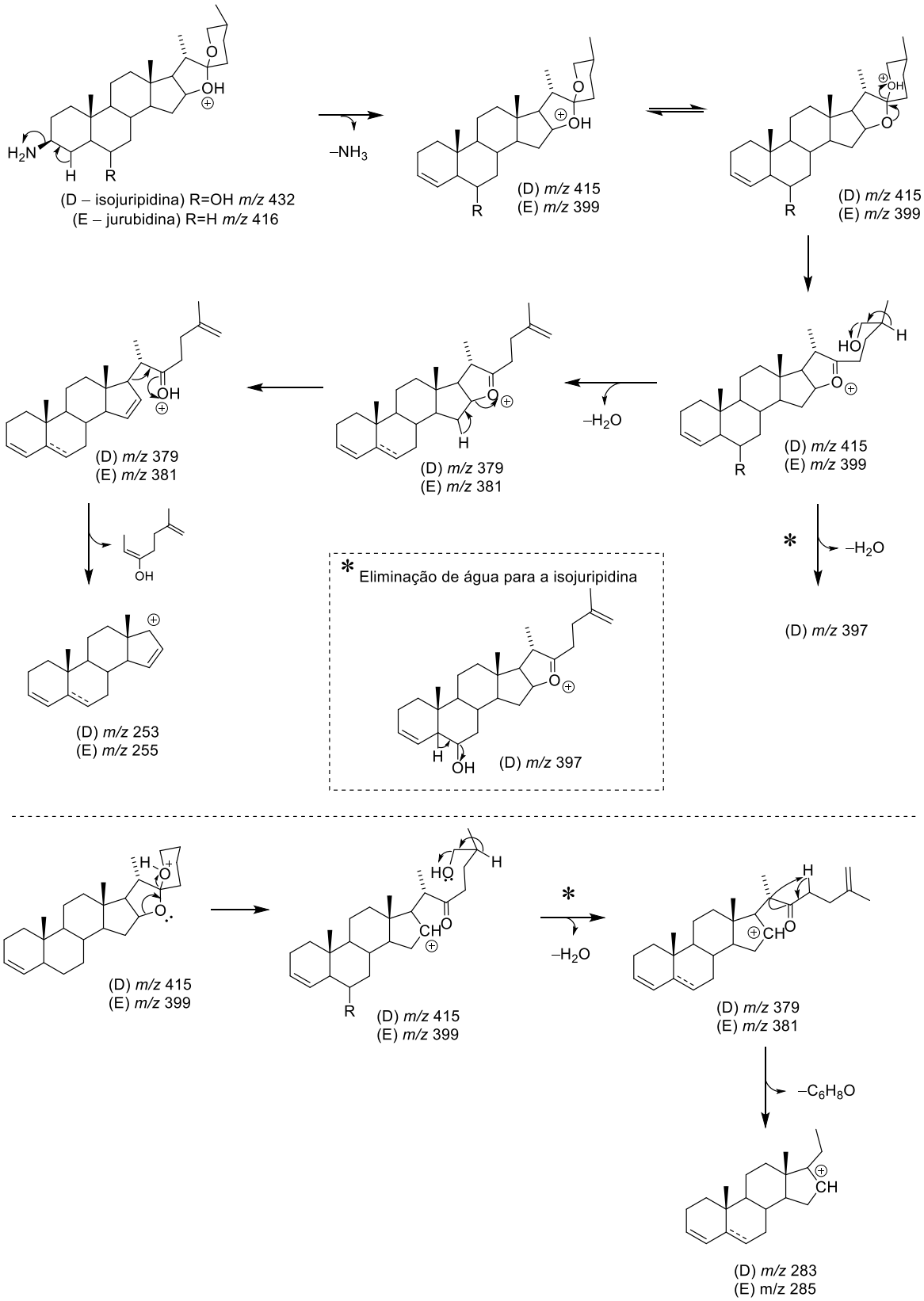
Na sequência, é possível observar um sinal de *m/z* 397, que foi atribuído a eliminação neutra de água (18 *u*) para a isojuripidina. Sinal equivalente a essa eliminação para a jurubidina também é observado, porém de menor intensidade, que pode estar relacionado a eliminação de água a partir da abertura do anel espirostano (E) e subsequente eliminação de água, justificando assim as duas eliminações de 18 *u* para a isojuripidina e apenas uma para a jurubidina. Em seguida, foram observadas duas eliminações, de 96 e 126 *u*, que ocorrem para os dois compostos (Figura 66) (GAZOLLA et al., 2019).

Figura 65. EM/EM-IES-(+) da isojuripidina (D) e da jurubidina (E).



Fonte: autora.

Figura 66. Proposta de fragmentação para a isojuripidina (D) e para a jurubidina (E) anotadas por EM/EM-IES-(+) na FD e FAE das cascas das raízes de *S. subumbellatum.*

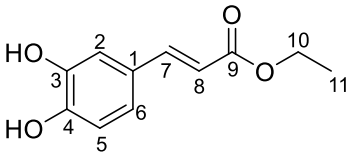


Fonte: adaptado de Gazolla (2019).

5.7 Elucidação estrutural do cafeato de etila

O estudo químico da fração diclorometano obtida do extrato etanólico das cascas das raízes de *S. subumbellatum* (FD-CR), resultou na obtenção da fração DC08-5 pura (item 4.14), que corresponde ao cafeato de etila ((*E*)-3-(3,4-diidroxifenil)acrilato de etila), um éster fenólico de fórmula molecular igual a $C_{11}H_{12}O_4$, massa molecular calculado igual a 208,0736 g mol^{-1} e índice de insaturação igual a 6 (Figura 67). A caracterização estrutural foi feita considerando a interpretação de seus dados espectrais de RMN de ^1H, ^{13}C e DEPT 135, e também experimentos bidimensionais como COSY, HSQC e HMBC, além da análise por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas. Os dados também foram comparados com aqueles descritos na literatura.

Figura 67. Fórmula estrutural do cafeato de etila ((*E*)-3-(3,4-diidroxifenil)acrilato de etila).

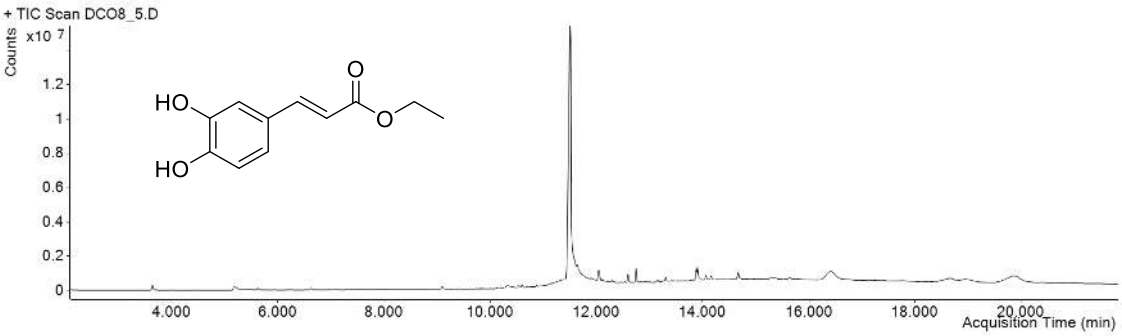


Fonte: a autora.

O cromatograma de íons totais da análise por CG-EM (Figura 68), apresentou um sinal intenso com t_R 11,6 min. O EM-IE (Figura 69) apresentou o sinal do íon molecular ($[M]^{\bullet+}$, 100%) em *m/z* 208, compatível com a fórmula molecular $C_{11}H_{12}O_4$ e a análise dos fragmentos e a revisão na literatura permitiu anotar que o composto isolado se trata do cafeato de etila (UWAI et al., 2008).

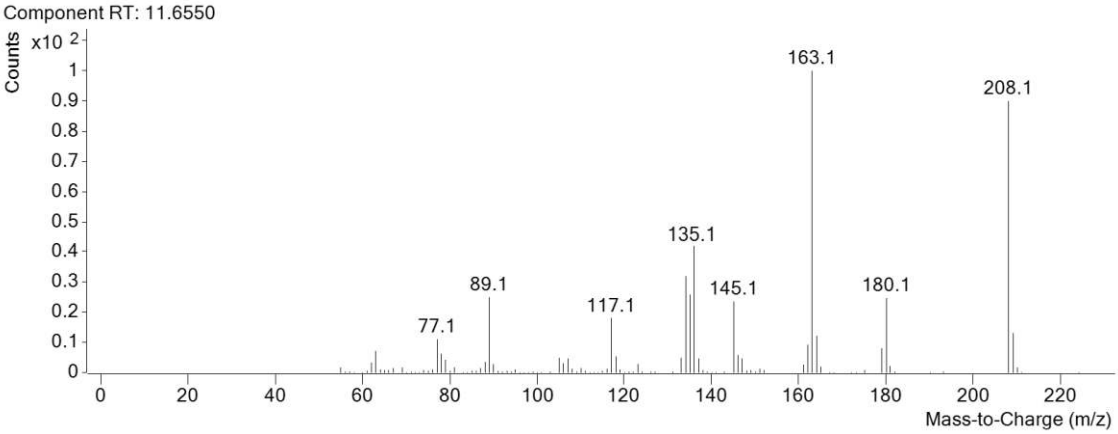
A análise dos fragmentos permitiu observar que o sinal de *m/z* 180 foi correlacionado com a eliminação do grupo eteno (28 *u*), a partir do sinal referente ao íon molecular *m/z* 208, através de um rearranjo de McLafferty com um hidrogênio no átomo do carbono γ em relação à insaturação. Em seguida, foi analisado o sinal de *m/z* 163 que apresentou diferença de 45 *u*, a partir do sinal referente ao íon molecular *m/z* 208, envolvendo a clivagem α à carbonila do éster alifático. Na sequência, o *m/z* 135 foi atribuído a eliminação neutra de monóxido de carbono (28 *u*) a partir do íon *m/z* 136 (Figura 70).

Figura 68. Cromatograma do cafeato de etila obtido por CG–EM.



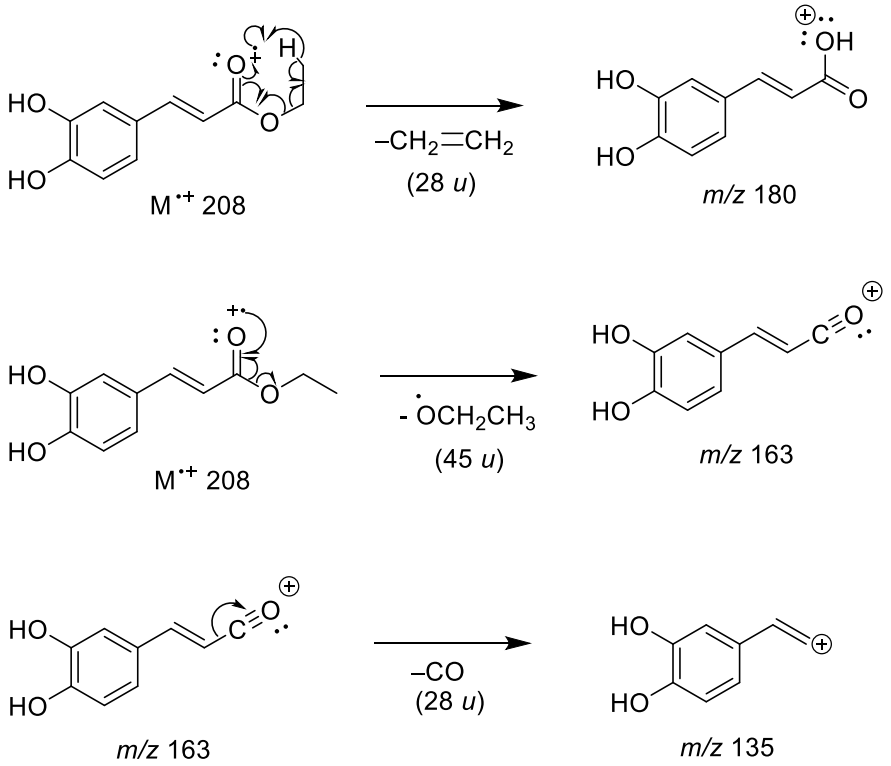
Nota: Condições: Coluna 19091S-433 (0,25 mm ×30 m × 0,25 µm), gradiente: 60–246 °C (3 °C min^{-1}, 30,0 min). C = 1,0 mg mL^{-1}, Volume injetado. = 1,0 µL, fluxo: 3,0 mL min^{-1}, gás de arraste: N_2, e detector EM-IE. Fonte: a autora.

Figura 69. EM–IE do cafeato de etila obtido por CG–EM.



Fonte: a autora.

Figura 70. Proposta de fragmentação para o cafeato de etila por EM-IE isolado da FD-CR de *S. subumbellatum.*



Fonte: a autora.

As atribuições de RMN de ^{1}H (Figura 71; Figura 72 e Tabela 22) foram realizadas com o auxílio do mapa de contorno COSY (Figura 73, Tabela 22), sendo que os valores de deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento estão relacionados com a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído, correlacionado com dois dupletos em δ 7,09 (1H, *J* = 2,1 Hz, H-2) e em δ 6,88 (1H, *J* = 8,3 Hz, H-5) e um duplo dupleto em δ 7,01 (1H; *J* = 8,4; 2,1 Hz; H-6). Dois dupletos em δH 7,58 (1H, *J* = 15,8 Hz, H-7) e em 6,25 (1H; *J* = 15,9 Hz; H-8), característico de hidrogênios olefínicos (α,β-insaturados) com configuração *trans*. A configuração foi confirmada pelo valor da constante de acoplamento. Também temos um quadrupleto em δ 4,25 (2H, *J* = 7,1 Hz, H-10) acoplando com um tripleto em δ 1,33 (3H, *J* = 7,1 Hz, H-11), indicando a presença de um grupo etoxila formando o éster.

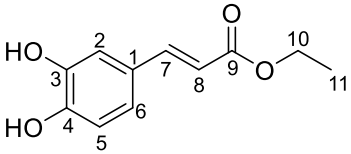
As atribuições dos valores de RMN de ^{13}C (Figura 74; Tabela 23) foram realizadas em conjunto com os experimentos de DEPT 135 (Figura 75) e dos mapas de contorno de HSQC (Figura 76) e de HMBC (Figura 77). Foi observada a presença de presença de 11 átomos de carbonos, sendo que destes, cinco são aromáticos, dois carbonos vinílicos, um carbonílico, um

metilênico e um metílico. Os valores de deslocamentos químicos foram condizentes com a presença de cinco carbonos aromáticos em δ 115,4 (C-5), 114,3 (C-2), 122,3 (C-6), 127,6 (C-1) 146,2 (C-3) e 143,7 (C-4); dois carbonos vinílicos α,β-insaturados da ligação dupla *trans* em δ 144,6 (C-7) e 115,7 (C-8), uma carbonila de éster em δ 167,6 (C-9), um carbono metilênico oxigenado (δ 60,5 C-10) e de um grupo metílico (δ 14,3 C-11).

Ao se analisar o mapa de correlação de HMBC pode-se verificar as correlações a mais de uma ligação entre hidrogênio e carbono ($^{1}H \rightarrow {}^{13}C$) e foi possível relacionar as conectividades dos fragmentos identificados. A Figura 78 ilustra algumas das correlações HMBC do cafeato de etila. O HMBC foi utilizado para determinar a posição na qual o acrilato está ligado ao anel aromático, pois foi observado que o H-7 (δH 7,58) correlaciona com o H-8 (δH 6,25) da ligação dupla com o H-2 (δH 7,09) e com o H-6 (δH 7,01), ambos do anel aromático.

Os dados de RMN de ^{1}H aliados aos de RMN ^{13}C foram comparados com aqueles disponíveis na literatura (SILVA et al., 2015; UWAI et al., 2008) e são condizentes com aqueles da estrutura do etil (*E*)-3-(3,4-diidroxifenil)acrilato de etila, que é um éster de um ácido hidroxicinâmico, também conhecido como cafeato de etila (Tabela 22).

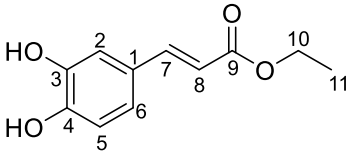
Tabela 22. Dados de RMN de ^{1}H e ^{13}C para o cafeato de etila isolado da FD-CR de *S. subumbellatum* e dados comparativos da literatura.



Posição	(a autora) (400 MHz, $CDCl_3$) ^{1}H δ_H[a] (mult[b], *J* em Hz)	COSY	(a autora) (100 MHz, $CDCl_3$) ^{13}C δ_C[a]	(SILVA et al., 2015) (600 MHz, acetona-*d₆*) ^{1}H δ_H[c] (mult[b], *J* em Hz)	(SILVA et al., 2015) (150 MHz, TMS) ^{13}C δ_C[c]	(400 MHz, acetona-*d₆*) ^{1}H δ_H[c] (mult[b], *J* em Hz)	(UWAI et al., 2008) (100 MHz, acetona-*d₆*) ^{13}C δ_C[c]
1	–	–	127,6	–	127,5	–	127,6
2	7,09 (d; 2,1)		114,3	7,16 (d, 2,0)	115,2	7,16 (d, 2,0)	115,2
3	–	–	146,2	–	146,4	–	146,2
4	–	–	143,7	–	148,7	–	148,6
5	6,88 (d; 8,3)	H-1	115,4	6,87 (d, 8,2)	116,3	6,87 (d, 7,8)	116,3
6	7,01 (dd; 8,3; 2,1)	H-2	122,3	7,04 (dd, 8,2; 2,0)	122,3	7,03 (dd, 2,0; 8,3)	122,5
7	7,58 (d; 15,9)	H-8	144,6	7,54 (d, 15,9)	145,2	7,53 (d, 16,1)	145,5
8	6,25 (d; 15,9)	H-7	115,7	6,27 (d, 15,9)	115,8	6,27 (d 16,1)	115,7
9	–	–	167,6	–	167,4	–	167,4
10	4,25 (q; 7,1)	H-11	60,5	4,18 (q, 7,2)	60,5	4,17 (q 7,3)	60,5
11	1,33 (t; 7,1)	H-10	14,3	1,27 (t, 7,2)	14,7	1,25 (t, 7,3)	14,6

Nota: [a] deslocamentos químicos (δ) em ppm estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). [b]Multiplicidade: d = dupleto, dd = duplo dupleto, t = tripleto, q = quadrupleto. Fonte: a autora.

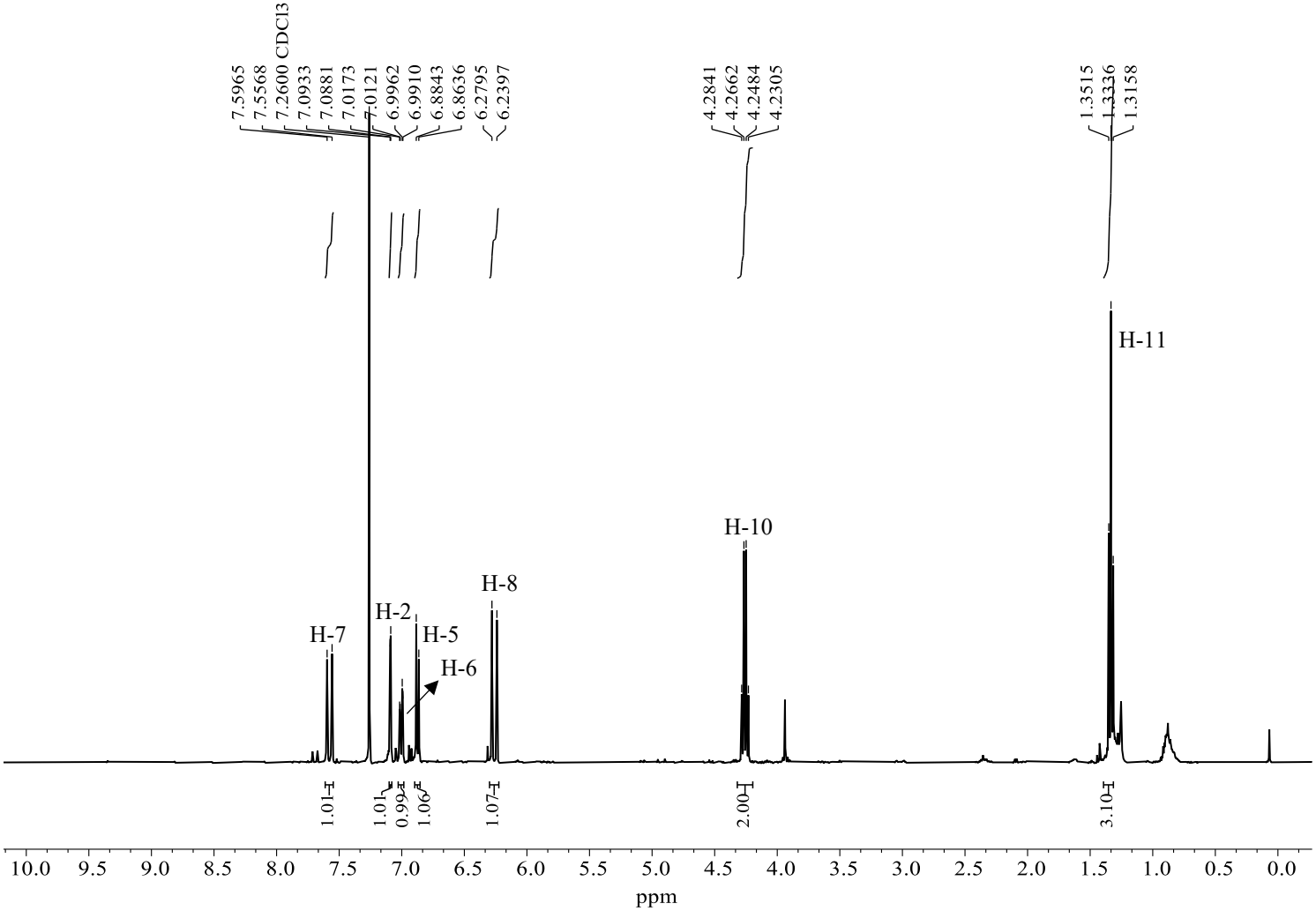
Tabela 23. Correlações observadas nos mapas de DEPT 135, COSY, HSQC e HMBC para o cafeato de etila.



Posição	^{13}C δ_C[a]	DEPT 135	HSQC	HMBC
1	127,6	C	–	H-5, H-7, H-8
2	114,3	CH	H-2	H-5, H-6, H-7
3	146,2	C	–	H-2, H-5
4	143,7	C	–	H-2, H-5, H-6
5	115,4	CH	H-5	H-6, H-7
6	122,3	CH	H-6	H-2, H-7
7	144,6	CH	H-7	H-2, H-5, H-6, H-8
8	115,7	CH	H-8	H-7
9	167,6	C	–	H-7, H-8, H-10
10	60,5	CH_2	H-10	H-11
11	14,3	CH_3	H-11	H-10

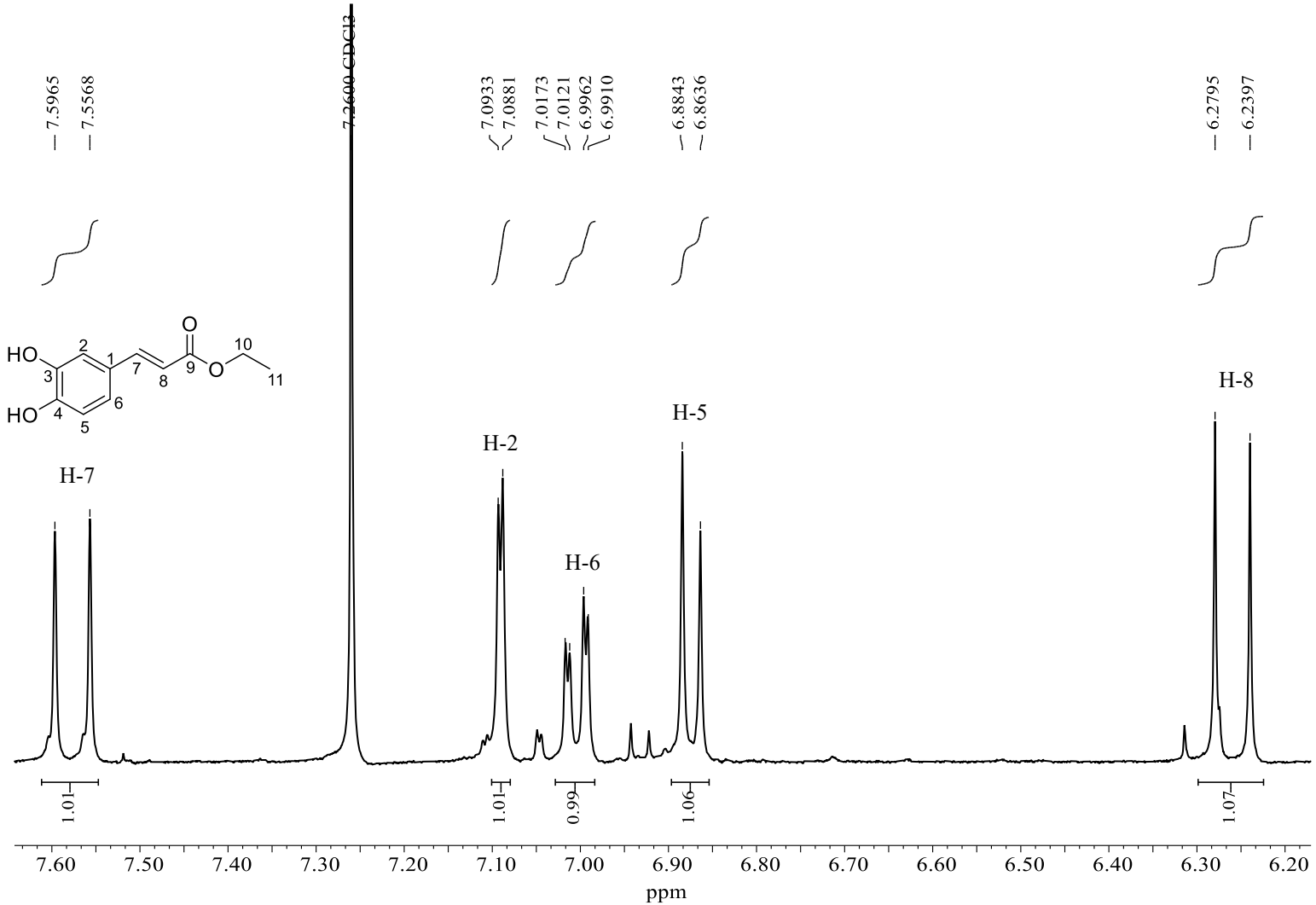
Nota: [a]Experimentos de RMN realizados a 400 (^1H) e 100 (^{13}C) MHz e deslocamentos químicos (δ) em ppm estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). O solvente utilizando foi clorofórmio deuterado ($CDCl_3$). Fonte: a autora.

Figura 71. Espectro de RMN de ^{1}H do cafeato de etila (400 MHz, $CDCl_3$).



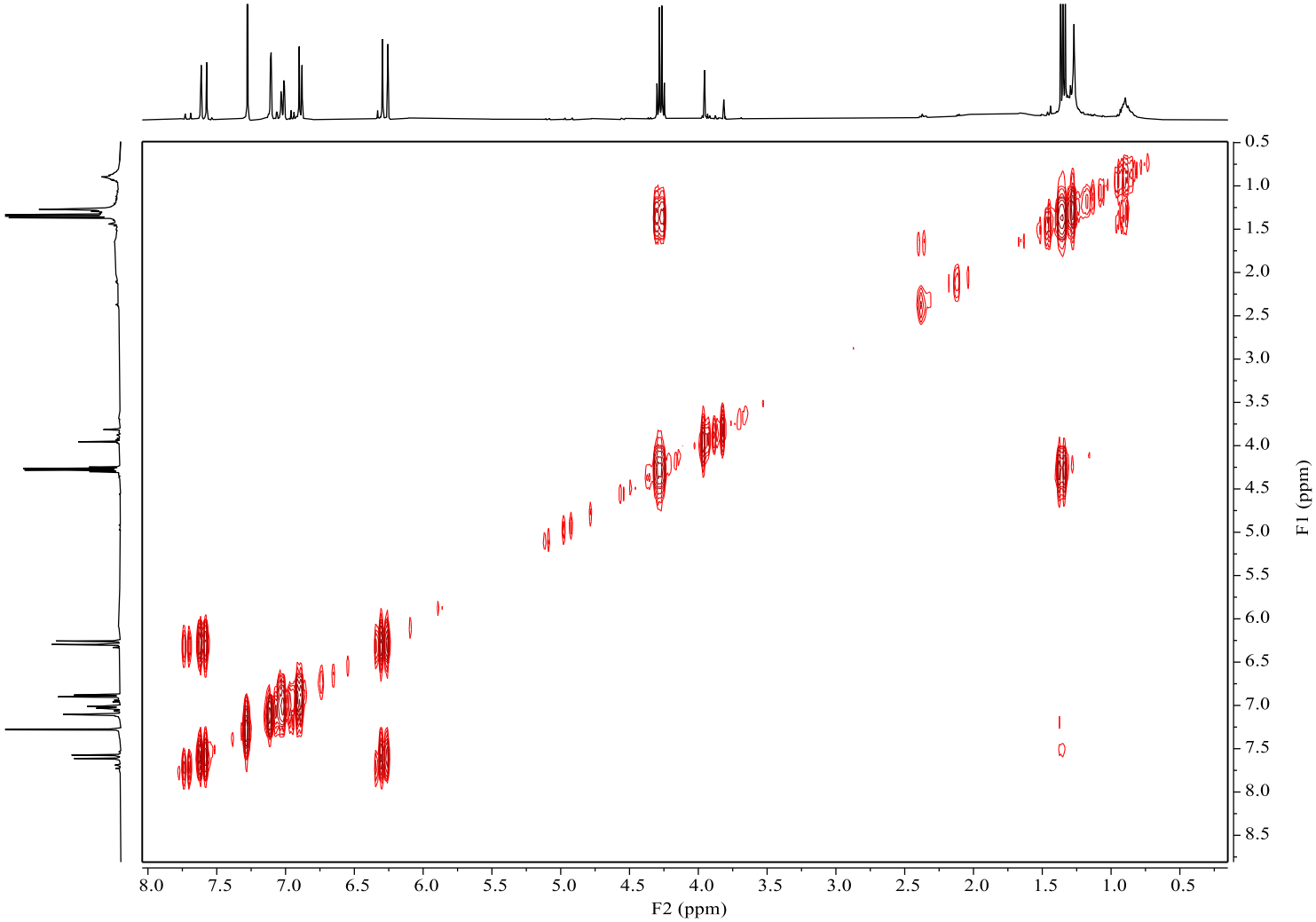
Nota: Deslocamentos químicos (δ) em ppm estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). Fonte: a autora.

Figura 72. Ampliação da Figura 71 (δ 6,20–7,60) do cafeato de etila.



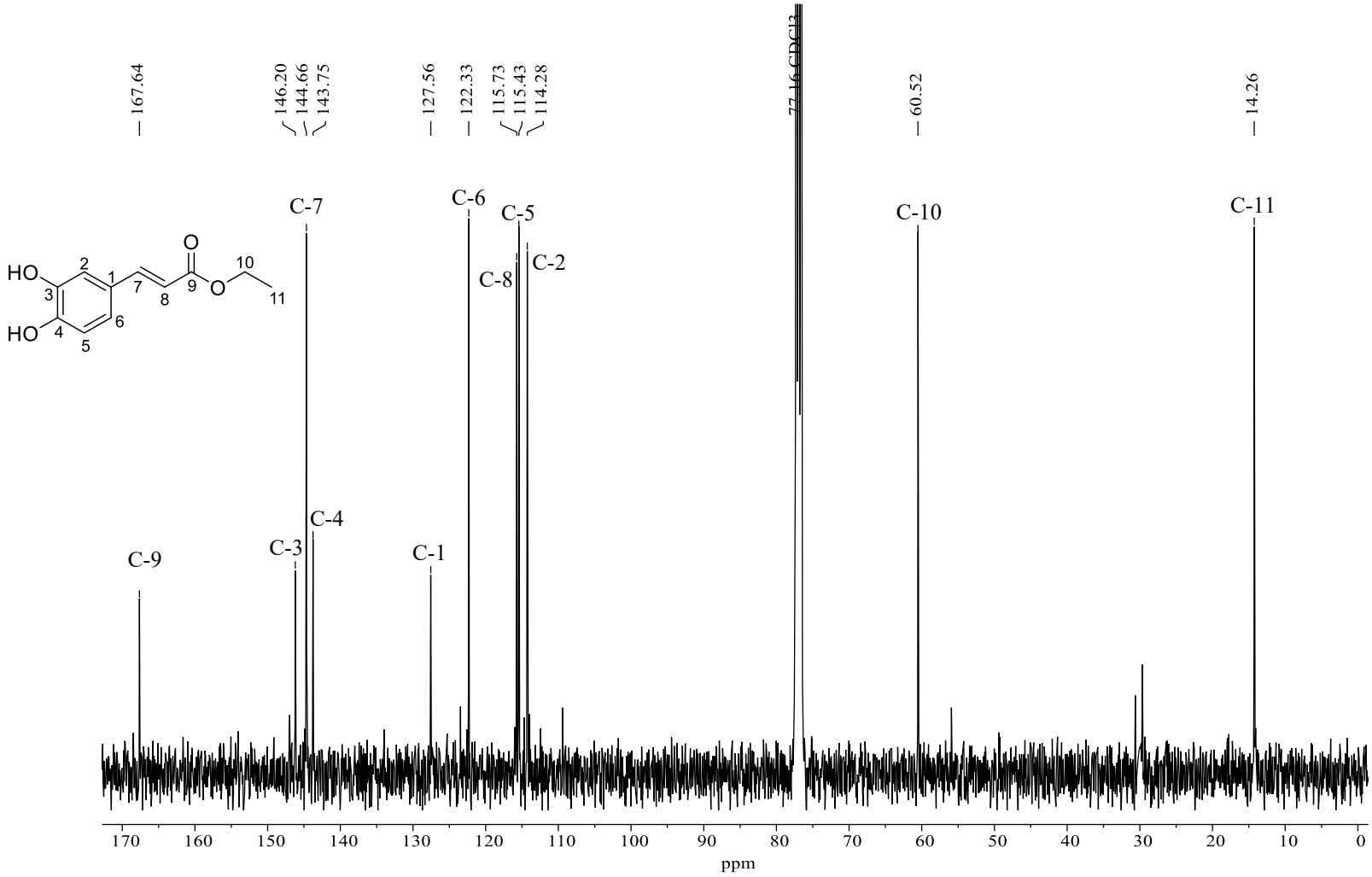
Nota: Deslocamentos químicos (δ) em ppm estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00). Fonte: a autora.

Figura 73. Mapa de contorno COSY do composto cafeato de etila (400 MHz, $CDCl_3$).



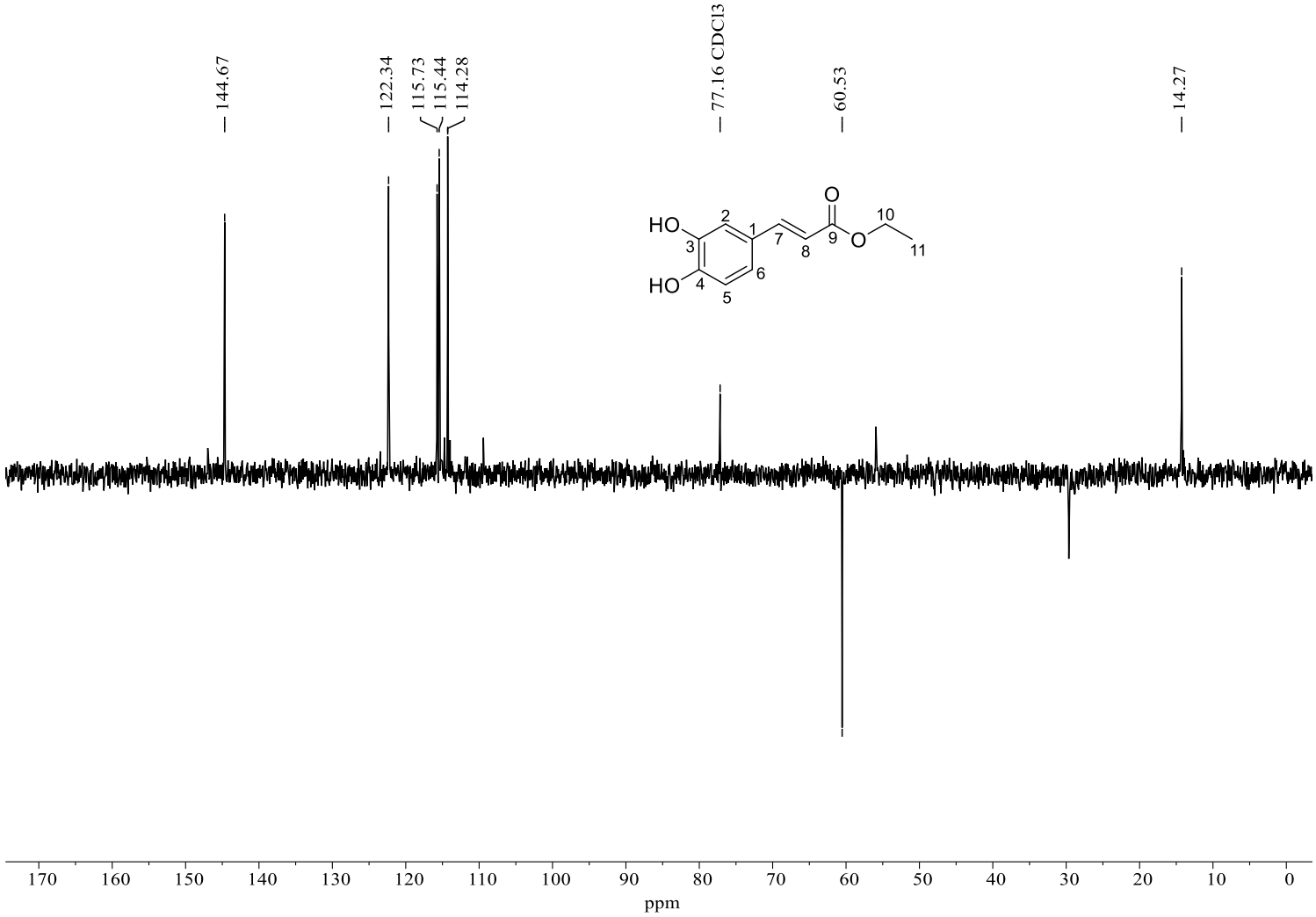
Fonte: a autora.

Figura 74. Espectro de RMN de ^{13}C do composto cafeato de etila (100 MHz, $CDCl_3$).



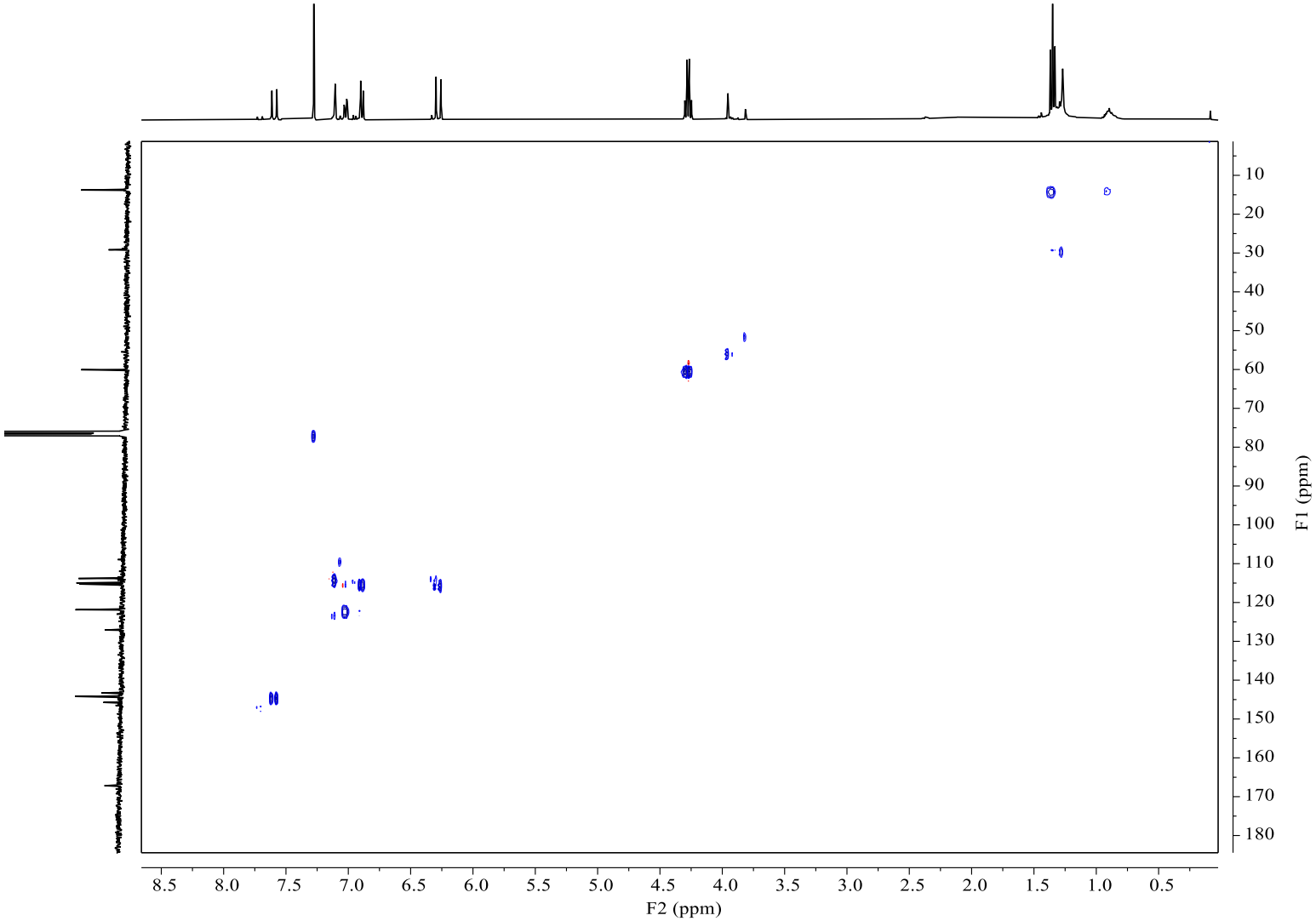
Nota: O sinal em δ_C 77,16 é referente ao solvente $CDCl_3$. Fonte: a autora.

Figura 75. Espectro de DEPT 135 do composto cafeato de etila (100 MHz, $CDCl_3$).



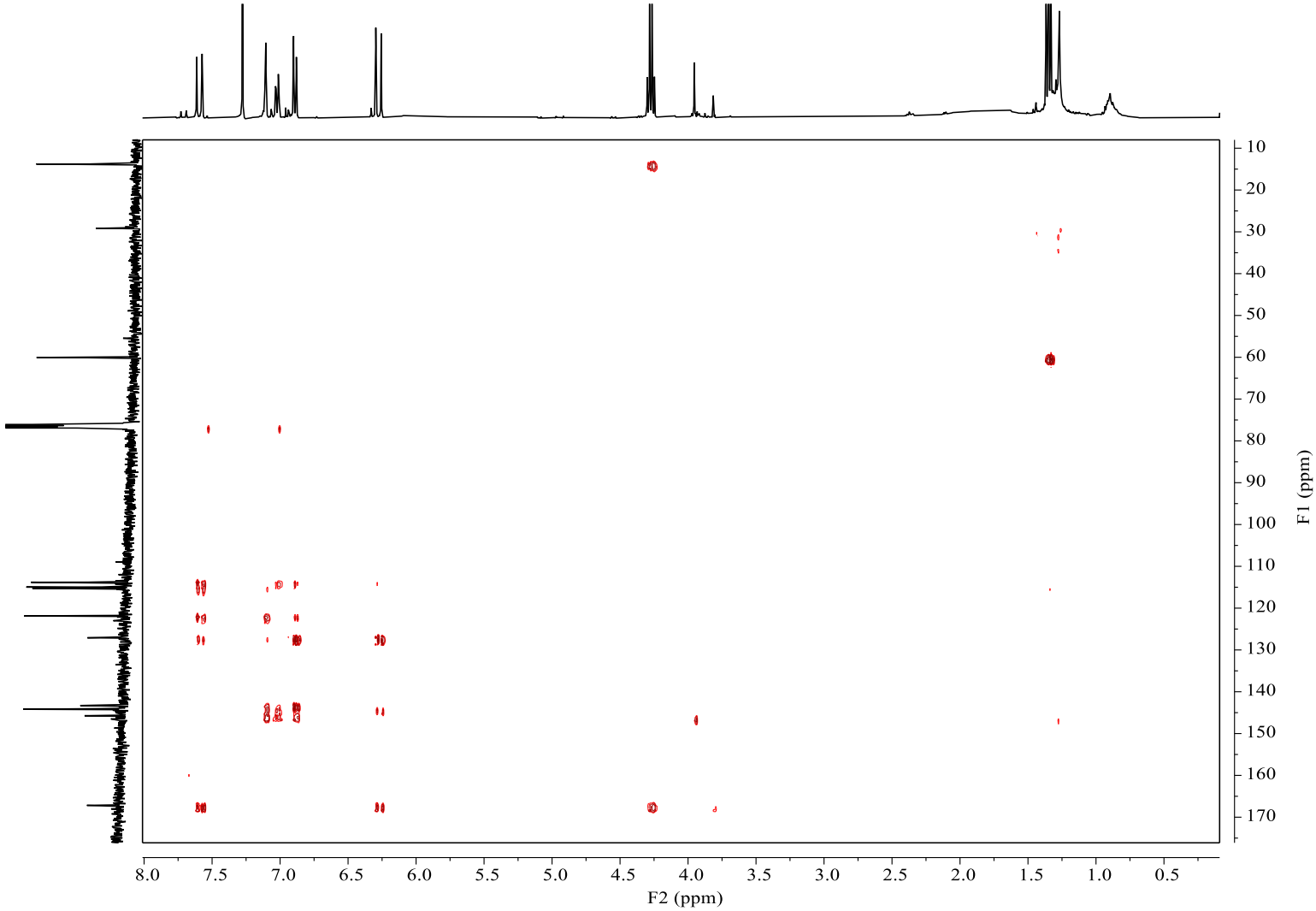
Fonte: a autora.

Figura 76. Mapa de contorno HSQC do composto cafeato de etila (400 MHz, $CDCl_3$).



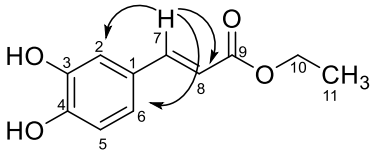
Fonte: a autora.

Figura 77. Mapa de contorno HMBC do composto cafeato de etila (400 MHz, $CDCl_3$).



Fonte: a autora.

Figura 78. Representação de algumas correlações entre $^{1}H \rightarrow {}^{13}C$ (HMBC) do cafeato de etila isolada da FD-CR de *S. subumbellatum.*



Fonte: a autora.

5.8 Relação dos potenciais farmacológicos dos compostos presentes na FD, FAE e FHM das cascas das raízes de *S. subumbellatum*.

Através dos resultados obtidos em relação a atividade antifúngica dos extratos e frações (Tabela 18 e Tabela 20, item 5.5) da *S. subumbellatum* verificou-se que nas frações mais ativas foram anotados ácidos fenólicos e alcaloides. Estes compostos estão relacionados a inúmeras atividades biológicas. Entre os compostos fenólicos anotados nas frações (FD-CR, FAE-CR e FHM-CR) estão os ácidos fenólicos, com destaque para os ácidos cafeico e ferúlico. Estas substâncias se caracterizam por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos hidroxila na molécula, conferindo assim, propriedades antioxidantes (KUMAR et al., 2019; SON et al., 2002). O ácido cafeico, por exemplo, anotado no modo negativo é um importante composto fenólico comumente encontrado em plantas e em amostras de própolis. Agüero et al., (2011) realizou anteriormente o ensaio com a FD de uma amostra de própolis e obteve CIM igual a 62,5 μg mL^{-1} para *C. albicans.*

No modo positivo, foram anotados os alcaloides esteroidais que são dominantes na biossíntese micromolecular do gênero *Solanum*, ou seja, são os marcadores quimiossistemáticos do gênero e normalmente são os responsáveis pelas atividades biológicas e também toxicológicas de várias espécies (RAMOS et al., 2019; RAMOS et al., 2021).

Muito dos alcaloides anotados na *S. subumbellatum* também foram observados na *S. paniculatum,* ambas conhecidas como jurebeba, sendo que a *S. paniculatum* é considerada a verdadeira jurebeba e é empregada tradicionalmente para doenças de fígado. São exemplos, a jurubina, a jurubidina e a isojuripidina identificadas nessas duas espécies de *Solanum,* e que são compostos relacionadas a atividade hepatoprotetora apresentadas por frações ricas em alcaloides das raízes de *S. paniculatum*, corroborando seu uso tradicional (GAZOLLA et al., 2019).

Além disso, os alcaloides observados não apresentam até o momento estudos na literatura dos seus potenciais antifúngicos. Assim, este primeiro estudo acerca deste contexto sugere um efeito sinérgico destes alcaloides presentes nas frações. Outros alcaloides esteroidais foram anotados e isolados de espécies de *Solanum* e apresentam propriedades antifúngicas. Por exemplo, a solanopubamina (Figura 10, item 1), um alcaloide esteroidal isolado de *S. schimperianum*, apresentou boa atividade contra *C. albicans* com CIM igual a 12,5 μg mL^{-1} (AL-REHAILY et al., 2013). Já a solamargina e a solasonina (Figura 10, item 1), que são glicoalcaloides predominantes nas espécies de *Solanum* foram isoladas de frutos de *S. asperum*, apresentaram atividade antifúngica frente *C. albicans* com CIM igual 125 μg mL^{-1} e 62,5 μg mL^{-1}, respectivamente (PINTO et al., 2011).

5.9 Potencial farmacológico do cafeato de etila isolado da FD-CR de *S. subumbellatum*.

A fração DC08-5 oriunda da FD-CR, foi analisada por RMN e por CG-EM e o estudo mostrou que a fração se trata do cafeato de etila. A literatura apresenta uma vasta quantidade de suas atividades biológicas que incluem, entre outras, a anti-inflamatória quando isolado de *Biden pilosa* (Asteraceae) (CHIANG et al., 2005), antioxidante quando isolado de *Incarvillea mairei* (Bignoniaceae) (CHEN et al., 2015), antitumoral (câncer de ovário humano) quando isolado de *Ligularia fischeri* (Asteraceae) (CHEN et al., 2015) e inibidor da fibrose hepática (antifibrótica), obtido de *Vitis vinifera* (uva utilizada na produção dovinho branco) (BOSELLI et al., 2009).

Devido a pouca massa obtida do cafeato de etila não, foi possível realizar ensaios da sua atividade antioxidante. Entretanto, ZHOU et al. (2017) isolou o cafeato de etila de folhas de *Elsholtzia densa* (da família Lamiaceae) e ao analisar seu potencial antioxidante pelo método do DPPH obteve valor de CE_{50} igual a 9,2 μg mL^{-1}, valor mais promissor do que o controle positivo utilizado, que foi a rutina com CE_{50} igual a 12,8 μg mL^{-1}.

A mesma foi submetida a análise da atividade antifúngica pelo método da microdiluição em caldo contra *Candida* spp. e contra a *Cryptococcus neoformans*. Foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) em μg mL^{-1} e para a análise dos valores de CIM será considerado o trabalho de Alves et al. (2021) que realizou um uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, Scopus, Web of Science, Lilacs e SciFinder no período de janeiro de 2015 a abril de 2020, utilizando como critério de inclusão compostos orgânicos testados pela técnica de microdiluição de acordo com o protocolo do *Clinical and Laboratory Standards*

Institute contra cepas de referência do gênero *Candida,* e assim propôs uma classificação de potencial antifúngico para compostos puros (Tabela 24).

Tabela 24. Esquema de classificação para composto isolado de acordo com os valores de CIM para atividade antifúngica.

CIM (µg mL^{-1})	**Intensidade da bioatividade**
< 3,515	Muito forte
3,516–25	Forte
26–100	Moderado
101–500	Fraca
500–2000	Muito fraca
>2000	Sem bioatividade

Fonte: Alves et al. (2021).

Dessa forma, observando a Tabela 25 para as espécies de *Candida*, os valores de CIM's são menores que 25,0 µg mL^{-1}, o que indica uma forte atividade antifúngica. Além disso, o valor de CIM para a *Cryptococcus neoformans* foi o melhor entre os fungos testados, o que mostra muito bioatividade frente a essa levedura.

Tabela 25. CIM (µg mL^{-1}) da atividade antifúngica do cafeato de etila da *S. subumbellatum*.

Leveduras	**Cafeato de etila (DC08-5)[a]**	**Anfotericina B [b]**
Candida albicans (CFP 65)	15,6	0,1
C. guilliermondii (ATCC 22017)	18,7	1,0
C.krusei (CFP 338)	4,7	3,9
C. orthopsilosis (ATCC 96141)	18,7	1,9
Cryptococcus neoformans (CFP 57)	4,7	0,5

Nota: [a;b]Estudo estatístico: Letras iguais mostram não haver diferenças estatísticas entre os grupos. Anfotericina B, controle positivo.

A *C. albicans* é a principal espécie responsável pela candidíase na maioria das situações clínicas (ARMSTRONG-JAMES et al., 2017). É um patógeno que reside na flora oral e conjuntival, bem como nos tratos gastrointestinal e geniturinário (NAMI et al., 2019). *C. albicans* apresenta uma plasticidade morfológica que permite, a fixação em superfícies sólidas

formando estruturas tridimensionais rodeadas por uma matriz extracelular (polissacarídeos, proteínas e ácido nucleicos), denominada de biofilme. Esse biofilme tem a capacidade em ser resistente a defesas imunológicas, bem como a ação dos agentes antifúngicos (PEREIRA et al., 2021). O cafeato de etila apresentou pelo método de microdiluição em caldo CIM igual a 256,0 μg mL^{-1} contra o biofilme em formação de C. *albicans* (ATCC 10231) e também CIM igual a 256,0 μg mL^{-1} para o biofilme maduro (24 horas) de *albicans* (ATCC 10231) (DE VITA et al., 2014), valor considerado fraco em bioatividade.

Em outro trabalho, foi investigado o potencial antifúngico do cafeato de etila obtido sinteticamente a partir do ácido cafeico e foi obtido pelo método de microdiluição em caldo CIM igual a 31,2 μg mL^{-1} frente a *C. albicans* (ATCC 90028) (SARDI et al., 2016), valor considerado moderado por Alves et al. (2021).

O cafeato de etila foi obtido ainda por Farias et al. (2016) via síntese a partir do ácido cafeico e além da avaliação anti-C. *albicans* foi realizado o ensaio contra a espécie *C. krusei*. O cafeato de etila foi submetido ao método microdiluição em microplacas e foi determinado CIM que foi igual a 1024 μg mL^{-1} contra *C. krusei* (LM08 e LM13) e também frente a C. *albicans* (ATCC 76645, LM 120 e LM 106) (FARIAS et al., 2016), valor considerado muito fraco por Alves et al. (2021).

Não foi encontrado relatos na literatura da atividade antifúngica do cafeato de etila frente a *Candida guilliermondii*, *Candida orthopsilosis* e *Cryptococcus neoformans*, sendo, portanto, este o primeiro estudo com essas espécies de leveduras.

No gênero *Solanum* o cafeato de metila, por exemplo, é outro éster de fenilpropanoides que foi isolado a partir do extrato metanólico dos frutos de *S. torvum* e apresentou para *C. albicans* CIM igual a 250 μg mL^{-1}, valor considerado fraco em bioatividade (BALACHANDRAN et al., 2012).

6 CONCLUSÃO

Devido ao uso na medicina popular de *S. subumbellatum* e a presença de compostos com atividades biológicas de espécies do gênero *Solanum*, foram realizados o estudo fitoquímico e farmacológico da espécie.

Foi avaliada a atividade antioxidante pelos métodos do DPPH e do ORAC. No método do radical DPPH, a FAE-CR apresentou a maior atividade antioxidante em relação ao controle positivo ácido ascórbico. E no método do ORAC, a FAE-CR e a FD-CR apresentaram valores

superiores ao controle positivo. Tais resultados corroboram com os observados na quantificação dos teores de fenóis totais, uma vez que FAE-CR e a FD-CR apresentaram as maiores concentrações.

A atividade antifúngica foi avaliada pelo método da microdiluição em caldo e os valores de CIM indicaram que a FD-CR foi a fração mais ativa contra *Candida albicans* e a FHM-CR foi a mais ativa contra a *Cryptococcus neoformans*, quando comparada com o controle positivo anfotericina.

Através da CLAE-EM-IES-(–/+) foram anotados os seguintes compostos: ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido 5-*O*-cafeoilquínico, ácido 4-*O*-feruloilquínico, cafeato de etila, amino-hidroxi-desidro-furostan-22-ol-*O*-(26)-*β*-D-Gli, fatimagraino, jurubina, batachariaino, isojuripidina e a jurubidina.

O cafeato de etila foi isolado da FD-CR e apresentou bioatividade contra *Candida krusei*, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. orthopsilosis* e *Cryptococcus neoformans*. Na literatura há relatos do potencial antifúngico do cafeato de etila frente a *C. krusei* e a *C. albicans*, mas este trabalho é o primeiro estudo da atividade antifúngica do cafeato de etila contra *C. guilliermondii*, *C. orthopsilosis* e *Cryptococcus neoformans*.

Não foram encontrados trabalhos sobre a atividade antifúngica e antioxidante de extratos de *S. subumbellatum*, sendo descritos pela primeira vez neste trabalho. Além disso, os extratos de *S. subumbellatum* se mostraram promissores para a produção de novos antifúngicos e antioxidantes. Este trabalho foi importante por ter sido identificado as frações mais bioativas contribuindo para trabalhos futuros. Portanto, as informações discorridas neste trabalho poderão conduzir futuras explorações científicas para o desenvolvimento de novos e eficazes fármacos.

REFERÊNCIAS

ABHISHEK, R. U.; THIPPESWAMY, S.; MANJUNATH, K.; MOHANA, D. C. Antifungal and antimycotoxigenic potency of *Solanum torvum* Swartz. Leaf extract: isolation and identification of compound active against mycotoxigenic strains of *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 6, p. 1624–1636, 2015. DOI: https://doi.org/10.1111/jam.12956.

ABUBAKAR, A. R.; HAQUE, M. Preparation of medicinal plants: basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. **Journal of Pharmacy and Bioallied sciences**, v. 12, n. 1, p. 1–10, 2020. DOI: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS17519.

ADAMSKI, Z.; BLYTHE, L. L.; MILELLA, L.; BUFO, S. A. Biological activities of alkaloids: from toxicology to pharmacology. **Toxins**, v. 12, n. 4, p. 1–4, 2020. DOI: https://doi.org/10.3390/toxins12040210.

AGBOR, G.; VINSON, J.; DONNELLY, P. Folin-Ciocalteau reagent for polyphenolic assay. **International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics**, v. 3, n. 801, p. 145–156, 2014. DOI: http://dx.doi.org/10.19070/2326-3350-1400028.

AGÜERO, M. B.; SVETAZ, L.; SÁNCHEZ, M.; LUNA, L.; LIMA, B.; LÓPEZ, M. L.; ZACCHINO, S.; PALERMO, J.; WUNDERLIN, D.; FERESIN, G. E.; TAPIA, A. Argentinean Andean propolis associated with the medicinal plant *Larrea nitida* Cav. (Zygophyllaceae). HPLC-MS and GC-MS characterization and antifungal activity. **Food and Chemical Toxicology** v. 49, n. 9, p. 1970–1978, 2011. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.05.008.

AGUIAR, S.; SANTOS, I. D. S.; ARÊDES, N.; SILVA, S. Biome-networks: information and communication for sociopolitical action in eco-regions. **Revista Ambiente & Sociedade**, v. 19, n. p. 231–248, 2016. DOI: https://doi.org/10.1590/1809-4422ASOC20140004V1932016.

AL-FATIMI, M.; WURSTER, M.; SCHRÖDER, G.; LINDEQUIST, U. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 657–666, 2007. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.01.018.

AL-OQAIL, M.; H.B.HASSANA, W.; S.AHMAD, M.; J.AL-REHAILYA, A. Phytochemical and biological studies of *Solanum schimperianum* Hochst. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 20, n. 4, p. 371–379, 2012. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.010.

AL-REHAILY, A. J.; AHMAD, M. S.; MUSTAFA, J.; AL-OQAIL, M. M.; HASSAN, W. H.; KHAN, S. I.; KHAN, I. A. Solanopubamine, a rare steroidal alkaloid from *Solanum schimperianum*: synthesis of some new alkyl and acyl derivatives, their anticancer and antimicrobial evaluation. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 17, n. 1, p. 67–76, 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jscs.2011.10.003.

AL-SINANI, S.; ELTAYEB, E. The steroidal glycoalkaloids solamargine and solasonine in *Solanum* plants. **South African Journal of Botany**, v. 112, n. 2017, p. 253–269, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.06.002.

ALAJMI, M. F.; ALAM, P.; REHMAN, M. T.; HUSAIN, F. M.; KHAN, A. A.; SIDDIQUI, N. A.; HUSSAIN, A.; KALAM, M. A.; PARVEZ, M. K. Interspecies anticancer and antimicrobial activities of genus *Solanum* and estimation of rutin by validated UPLC-PDA method. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, n. 2, p. 1–13, 2018. DOI: https://doi.org/10.1155/2018/6040815.

ALBUQUERQUE, U. P. D.; JÚNIOR, W. S. F.; RAMOS, M. A.; MEDEIROS, P. M. D. **Introdução à Etnobotânica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2022. 148 p.

ALIERO, A. A.; ASEKUN, O.; D.S, G.; AFOLAYAN, A. Chemical composition of the hexane extract from the leaves of *Solanum pseudocapsicum*. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 6, p. 1054–1056, 2006. DOI: https://doi.org/10.3923/ajps.2006.1054.1056.

ALSEEKH, S.; FERNIE, A. R. Metabolomics 20 years on: what have we learned and what hurdles remain? **The Plant Journal**, v. 94, n. 6, p. 933–942, 2018. DOI: https://doi.org/10.1111/tpj.13950.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010. DOI: DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033.

ALVES, D.; FERREIRA, A.; SUCUPIRA DUARTE, A.; MELO, A.; SOUSA, D.; CASTRO, R. Breakpoints for the classification of anti-*Candida* compounds in antifungal screening. **BioMed Research International**, v. 2021, n. p. 1–8, 2021. DOI: https://doi.org/10.1155/2021/6653311.

ALVES, N. R. F.; MOREIRA, M. J.; BUENO, P. R.; MORAES, M. S. A.; SUDATI, J. H.; VASCONCELOS, L. D. S.; BRUM, A. A.; BRUM, A. N. Contribuições das plantas medicinais e uso de chás no ensino de química orgânica: revisão narrativa de literatura **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 26369–26387, 2022. DOI: https://doi.org/10.34117/bjdv8n4-240.

ANRAKU, M.; GEBICKI, J. M.; IOHARA, D.; TOMIDA, H.; UEKAMA, K.; MARUYAMA, T.; HIRAYAMA, F.; OTAGIRI, M. Antioxidant activities of chitosans and its derivatives in in vitro and in vivo studies. **Carbohydrate polymers**, v. 199, n. p. 141–149, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.016.

ANTINORI, S.; MILAZZO, L.; SOLLIMA, S.; GALLI, M.; CORBELLINO, M. Candidemia and invasive candidiasis in adults: a narrative review. **European Journal of Internal Medicine**, v. 34, n. p. 21–28, 2016. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejim.2016.06.029.

ANTONELLI, A. **State of the World's Plants and Fungi**. 1 ed. London: Royal Botanic Gardens Kew, 1, 1.2020. 100 p.

APAK, R.; GORINSTEIN, S.; BÖHM, V.; SCHAICH, K.; ÖZYÜREK, M.; GÜÇLÜ, K. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 5, p. 957–998, 2013. DOI: https://doi.org/10.1351/PAC-REP-12-07-15.

APAK, R.; ÖZYÜREK, M.; GÜÇLÜ, K.; ÇAPANOĞLU, E. Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (et)-based assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 5, p. 997–1027, 2016. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739.

ARMSTRONG-JAMES, D.; BROWN, G. D.; NETEA, M. G.; ZELANTE, T.; GRESNIGT, M. S.; VAN DE VEERDONK, F. L.; LEVITZ, S. M. Immunotherapeutic approaches to treatment of fungal diseases. **The Lancet. Infectious diseases.**, v. 17, n. 12, p. e393–e402, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30442-5.

ASHBURN, T. T.; THOR, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 8, p. 673–683, 2004. DOI: https://doi.org/10.1038/nrd1468.

BALACHANDRAN, C.; DURAIPANDIYAN, V.; AL-DHABI, N. A.; BALAKRISHNA, K.; KALIA, N. P.; RAJPUT, V. S.; KHAN, I. A.; IGNACIMUTHU, S. Antimicrobial and antimycobacterial activities of methyl caffeate isolated from *Solanum torvum* swartz. fruit. **Indian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 676–681, 2012. DOI: https://dx.doi.org/10.1007/s12088-012-0313-8.

BARACHUH, J. G. D. V.; FURTADO, D. A.; FRANCISCO, P. R. M.; LIMA, J. L. S.; PEREIRA, J. P. G. **Plantas medicinais de uso comum no Nordeste do Brasil**. 2 ed. Campina Grande: Editora da Universidade Federal de Campina Grande (EDUFCG), 2, 2. 2016. 103 p.

BHATTACHARYA, S.; SAE-TIA, S.; FRIES, B. C. Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 312–331, 2020. DOI: https://doi.org/10.3390/antibiotics9060312.

BOSELLI, E.; BENDIA, E.; DI LECCE, G.; BENEDETTI, A.; FREGA, N. G. Ethyl caffeate from Verdicchio wine: chromatographic purification and in vivo evaluation of its antifibrotic activity. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 21, p. 3585–3590, 2009. DOI: https://doi.org/10.1002/jssc.200900304.

BRASIL. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos Departamento de Assistência Farmacêutica, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf. Acesso em: 20 mar. 2022.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Governo Federal. Criptococose**. 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/criptococose#:~:text=A%20criptococose%20%C3%A9%20uma%20doen%C3%A7a,C. Acesso em: 20 mar. 2022.

BRAUTASET, T.; SLETTA, H.; DEGNES, K. F.; SEKUROVA, O. N.; BAKKE, I.; VOLOKHAN, O.; ANDREASSEN, T.; ELLINGSEN, T. E.; ZOTCHEV, S. B. New nystatin-related antifungal polyene macrolides with altered polyol region generated via biosynthetic engineering of *Streptomyces noursei*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 18, p. 6636–6643, 2011. DOI: http://dx.doi.org/10.1128/AEM.05780-11.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Quimica Nova**, v. 33, n. 1, p. 229–239, 2010. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000100040.

BUSTAMANTE, M. M. C.; METZGER, J. P.; SCARIOT, A.; BAGER, A.; TURRA, A.; BARBIERI, A.; NEVES, A.; BOESING, A. L.; AGOSTINHO, Â. A.; MARQUES, A. C.; DIAS, B.; GRELLE, C. E. V.; DANIEL CAIXETA, D. S.; FABIO SCARANO, F. D. R. S.; FERNANDES, G. W.; QUEIROZ, H.; MIRANDA, H. S.; METZGER, J. P.; SCHONGART, J.; QUINTÃO, J. M. B.; MARTINELLI, L. A.; GOMES, L. C.; CUNHA, M. C. D.; PIEDADE, M. T. F.; SATO, M. N.; VALE, M. M.; MERCEDES M. C. BUSTAMANTE, M. F.; AQUINO, S. D.; VOGT, N.; MAY, P.; FEARNSIDE, P.; PRADO, R. B.; RODRIGUES, R. R.; THOMAZ, S. M.; PIVELLO, V. R.; FONSECA, V. L. I.; FARJALLA, V. F. **1º Diagnóstico Brasileiro de Biodiversidade & Serviços Ecossistêmicos**. 12 dez. 2020 2019. Disponível em:

https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/202255/1/Tendencias-e-impactos-dos-vetores-de-degradacao-2019.pdf. Acesso em: 21 fev. 2022

CABRAL, E.; DA CRUZ, G.; SIMAS, R.; SANVIDO, G.; GONÇALVES, L.; LEAL, R.; SILVA, R.; SILVA, J.; BARATA, L.; CUNHA, V.; FRANÇA, L.; DARODA, R.; SÁ, G.; EBERLIN, M. Typification and quality control of the Andiroba (*Carapa guianensis*) oil via mass spectrometry fingerprinting. **Analytical Methods**, v. 5, n. p. 1385–1391, 2013. DOI: https://doi.org/10.1039/c3ay25743f.

CÁRDENAS, P. D.; SONAWANE, P. D.; HEINIG, U.; BOCOBZA, S. E.; BURDMAN, S.; AHARONI, A. The bitter side of the nightshades: genomics drives discovery in Solanaceae steroidal alkaloid metabolism. **Phytochemistry**, v. 113, n. p. 24–32, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.12.010.

CDC. **Centros de Controle e Prevenção de Doenças. Drug-resistant candida species**. 2019. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7345657/pdf/antibiotics-09-00312.pdf. Acesso em: 31 dez. 2020

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G. D.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441–449, 2007. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200036.

CHEN, B.; YUE, R.; YANG, Y.; ZENG, H.; CHANG, W.; GAO, N.; YUAN, X.; ZHANG, W.; SHAN, L. Protective effects of (E)-2-(1-hydroxyl-4-oxocyclohexyl) ethyl caffeine against hydrogen peroxide-induced injury in PC12 cells. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 3, p. 531–541, 2015. DOI: https://doi.org/10.1007/s11064-014-1498-5.

CHIANG, Y. M.; LO, C. P.; CHEN, Y. P.; WANG, S. Y.; YANG, N. S.; KUO, Y. H.; SHYUR, L. F. Ethyl caffeate suppresses NF-kappaB activation and its downstream inflammatory mediators, iNOS, COX-2, and PGE2 in vitro or in mouse skin. **British Journal of Pharmacology**, v. 146, n. 3, p. 352–363, 2005. DOI: https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706343.

CHRISTIANSON, D. W. Correction to structural and chemical biology of terpenoid cyclases. **Chemical Reviews**, v. 118, n. 24, p. 11795–11795, 2018. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00682.

CLIFFORD, MICHAEL N.; JAGANATH, I. B.; LUDWIG, I. A.; CROZIER, A. Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. **Natural Product Reports**, v. 34, n. 12, p. 1391–1421, 2017. DOI: https://doi.org/10.1039/C7NP00030H.

CLSI. **Clinical and Laboratory Standards Institute. M27-A3 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard**. ed. 3rd ed.; CLSI: Wayne, PA, USA, 2008a. p.

CLSI. **Clinical and Laboratory Standards Institute. M38-A2 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard**. ed. 2nd ed.; CLSI: Wayne, PA, USA, 2008b. p.

COELHO, R. M.; DE SOUZA, M. C.; SARRAGIOTTO, M. H. Steroidal alkaloid glycosides from *Solanum orbignianum*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 3, p. 893–897, 1998. DOI: https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00220-9.

CORNELIUS, M. T. F.; CARVALHO, M. G.; SILVA, T. M. S.; ALVES, C. C. F.; SISTON, A. P. N.; ALVES, K. Z.; SANT'ANNA, C. M. R.; NETO, M. B.; EBERLIN, M. N.; BRAZ-FILHO, R. Other chemical constituents isolated from *Solanum crinitum* Lam. (Solanaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. p. 2211–2219, 2010. DOI: https://doi.org/10.1590/S0103-50532010001200007.

DAMASCENO, J. L.; OLIVEIRA, P. F.; MIRANDA, M. A.; LIMA, M.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. Antigenotoxic and antioxidant properties of *Solanum cernuum* and its alkaloid, cernumidine. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, n. 6, p. 920–926, 2016. DOI: https://doi.org/10.1248/bpb.b15-00638.

DE LA ROSA, L. A.; MORENO-ESCAMILLA, J. O.; RODRIGO-GARCÍA, J.; ALVAREZ-PARRILLA, E. **Phenolic Compounds. Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**. 1 ed. Elsevier, 1. 2019. 510 p.

DE VITA, D.; FRIGGERI, L.; D'AURIA, F. D.; PANDOLFI, F.; PICCOLI, F.; PANELLA, S.; PALAMARA, A. T.; SIMONETTI, G.; SCIPIONE, L.; DI SANTO, R.; COSTI, R.; TORTORELLA, S. Activity of caffeic acid derivatives against *Candida albicans* biofilm. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, n. 6, p. 1502–1515, 2014. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.02.005.

DEMARQUE, D. P.; CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 3, p. 432–455, 2016. DOI: https://doi.org/10.1039/C5NP00073D.

DENNING, D. W. Echinocandin antifungal drugs. **Lancet**, v. 362, n. 9390, p. 1142–1151, 2003. DOI: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14472-8.

DETTMER, K.; ARONOV, P. A.; HAMMOCK, B. D. Mass spectrometry-based metabolomics. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 26, n. 1, p. 51–78, 2007. DOI: https://doi.org/10.1002/mas.20108.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 1 ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd 2009. 539 p.

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303–336, 2012. DOI: https://doi.org/10.3390/metabo2020303.

DING, X.; ZHU, F.; YANG, Y.; LI, M. Purification, antitumor activity in vitro of steroidal glycoalkaloids from black nightshade (*Solanum nigrum* L.). **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 1181–1186, 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.062.

DIXIT, V. P.; GUPTA, R. S. Antispermatogenic/antiandrogenic properties of solasodine ($C_{27}H_{43}O_2N$) obtained from *Solanum xanthocarpum* berries on the male genital tract of dog

(*Canis-familiaris*). **A Histophysiological Approach**. v. 5, n. 3, p. 295–307, 1982. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1982.tb00258.x.

DUPIN, J.; MATZKE, N.; SÄRKINEN, T.; KNAPP, S.; OLMSTEAD, R.; BOHS, L.; SMITH, S. Bayesian estimation of the global biogeographical history of the Solanaceae. **Journal of Biogeography**, v. 44, n. p. 887–899, 2016. DOI: https://doi.org/10.1111/jbi.12898.

EDMONDS, J. M.; HELLER, J.; ENGELS, J. **Black nightshades. *Solanum nigrum* L. and related species**. 1 ed. Rome: Garden Nightshade, 1, 1.1997. 116 p.

ELABBAR, F.; BOZKEHA, N.; EL-TUONSIA, A. Extraction, separation and identification of compounds from leaves of *Solanum elaeagnifolium* Cav. (Solanaceae). **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 3, n. p. 234–239, 2014. DOI: https://doi.org/10.3329/icpj.v3i3.17890.

ELSHIKH, M.; AHMED, S.; FUNSTON, S.; DUNLOP, P.; MCGAW, M.; MARCHANT, R.; BANAT, I. M. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. **Biotechnology Letters**, v. 38, n. 6, p. 1015–1019, 2016. DOI: https://10.1007/s10529-016-2079-2.

ESTEVES-SOUZA, A.; SILVA, T. M. S. D.; ALVES, C. C. F.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHOB, R.; ECHEVARRIA, A. Cytotoxic activities against *Ehrlich carcinoma* and human K562 leukaemia of alkaloids and flavonoid from two *Solanum* species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 6, p. 838–842, 2002. DOI: https://doi.org/10.1590/S0103-50532002000600017.

ESTEVES, C. O.; RODRIGUES, R. M.; MARTINS, A. L. D.; VIEIRA, R. D. A.; BARBOSA, J. L.; VILELA, J. B. F. Medicamentos fitoterápicos: prevalência, vantagens e desvantagens de uso na prática clínica e perfil e avaliação dos usuários. **Revista de Medicina**, v. 99, n. 5, p. 463–472, 2020. DOI: https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v99i5p463-472.

FAN, Y.; LI, Y.; WU, Y.; LI, L.; WANG, Y.; LI, Y. Identification of the chemical constituents in *Simiao Wan* and rat plasma after oral administration by GC-MS and LC-MS. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, n. p. 1–13, 2017. DOI: https://doi.org/10.1155/2017/6781593.

FARIAS, M. O. D.; LIMA, T. C.; PÉREZ, A. A.; SILVA, R.; OLIVEIRA, A.; O. E., L.; SOUSA, D. **Antifungal activity of ester derivatives from caffeic acid against *Candida* species**. p. 151-159, dec 2022. 2016. Disponível em: https://ijppr.humanjournals.com/antifungal-activity-of-ester-derivatives-from-caffeic-acid-against-candida-species/. Acesso em: 12 mar. 2022.

FAROLECO. **Vinca de Madagáscar**. 2012. Disponível em: http://faroleco.blogspot.com/2012/10/vinca-de-madagascar.html. Acesso em: 20 jan. 2021.

FELICIANO, E. A. **Solanaceae A. Juss. Da Serra Negra, Rio Preto, Minas Gerais: tratamento taxonômico e similaridade florística**. 2008. 154 f. (Mestrado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora Juiz de Fora.

FERREIRAI, L. L. G.; ANDRICOPULO, A. D. Medicamentos e tratamentos para a Covid-19. **Estudos Avançados**, v. 34, n. p. 7–27, 2020. DOI: https://doi.org/10.1590/s0103-4014.2020.34100.002.

FLORA. **Salix Alba - Para Que Serve?** , 2018. Disponível em: https://meioambiente.culturamix.com/ecologia/flora/salix-alba-para-que-serve. Acesso em: 15 jan. 2021

FOTI, M. C. Use and abuse of the DPPH$^{\bullet}$ radical. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 40, p. 8765–8776, 2015. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03839.

GAZOLLA, M. C.; MARQUES, L. M. M.; E SILVA, M. G.; ARAÚJO, M. T. M. F.; MENDES, R. L.; DA SILVA ALMEIDA, J. R. G.; VESSECCHI, R.; LOPES, N. P. Characterization of 3-aminospirostane alkaloids from roots of *Solanum paniculatum* L. with hepatoprotective activity. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, Suppl 3, v. 34, n. 3, p. e8705, 2019. DOI: https://doi.org/10.1002/rcm.8705.

GBADAMOSI, I.; AFOLAYAN, A. In vitro anti-radical activities of extracts of *Solanum nigrum* (L.) from South Africa. **Journal of Applied Biosciences**, v. 98, n. p. 9298–9240, 2016. DOI: http://dx.doi.org/10.4314/jab.v98i1.1.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026.

GOOSEN, N. ***Taxus brevifolia***. 2017. Disponível em: https://public.fotki.com/ngoosen/taxaceae/taxus/taxus-brevifolia.html. Acesso em: 15 Jan. 2021.

GULCIN, İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Arch Toxicol**, v. 94, n. 3, p. 651–715, 2020. DOI: https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3.

HAMDAN, D. I.; FAYED, M. A. A.; ADEL, R. Echinops taeckholmiana amin: optimization of a tissue culture protocol, biological evaluation, and chemical profiling using GC and LC-MS. **ACS Omega**, v. 6, n. 20, p. 13105–13115, 2021. DOI: https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00837.

HANMANTRAO, D. S.; BADAMI, S.; SEKAR, M. Cytotoxic and antioxidant properties of four plants belonging to the genus *Solanum*. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 8, n. p. 86–92, 2008. DOI: https://doi.org/10.3742/OPEM.2008.8.1.086.

HAWAS, U. W.; SOLIMAN, G. M.; ABOU EL-KASSEM, L. T.; FARRAG, A. R.; MAHMOUD, K.; LEÓN, F. A new flavonoid C-glycoside from *Solanum elaeagnifolium* with hepatoprotective and curative activities against paracetamolinduced liver injury in mice. **Journal of Biosciences**, v. 68, n. 1, p. 19–28, 2013. DOI: https://doi.org/10.5560/ZNC.2013.68c0019.

HENRY, L. K.; THOMAS, S. T.; WIDHALM, J. R.; LYNCH, J. H.; DAVIS, T. C.; KESSLER, S. A.; BOHLMANN, J.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N. Contribution of isopentenyl phosphate

to plant terpenoid metabolism. **Nature Plants**, v. 4, n. 9, p. 721–729, 2018. DOI: https://doi.org/10.1038/s41477-018-0220-z.

HERRERA-ARELLANO, A.; JIMÉNEZ-FERRER, E.; VEGA-PIMENTEL, A. M.; DE LOS ÁNGELES MARTÍNEZ-RIVERA, M.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, M.; ZAMILPA, A.; TORTORIELLO, J. Clinical and mycological evaluation of therapeutic effectiveness of *Solanum chrysotrichum* standardized extract on patients with *Pityriasis capitis* (dandruff). A double blind and randomized clinical trial controlled with ketoconazole. **Planta Medica**, v. 70, n. 06, p. 483–488, 2004. DOI: https://doi.org/10.1055/s-2004-827145.

HERRERA-ARELLANO, A.; JIMÉNEZ-FERRER, E.; ZAMILPA, A.; MARTÍNEZ-RIVERA MDE, L.; RODRÍGUEZ-TOVAR, A. V.; HERRERA-ALVAREZ, S.; SALAS-ANDONAEGUI, M. L.; NAVA-XALPA, M. Y.; MÉNDEZ-SALAS, A.; TORTORIELLO, J. Exploratory study on the clinical and mycological effectiveness of a herbal medicinal product from *Solanum chrysotrichum* in patients with *Candida* yeast-associated vaginal infection. **Planta Medica**, v. 75, n. 5, p. 466–471, 2009. DOI: http://dx.doi.org/10.1055/s-0029-1185318.

HOLE, C.; WORMLEY, F. L. Innate host defenses against *Cryptococcus neoformans*. **Journal Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 202–211, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/s12275-016-5625-7.

HOUŠŤ, J.; SPÍŽEK, J.; HAVLÍČEK, V. Antifungal Drugs. **Metabolites**, v. 10, n. 3, p. 1–16, 2020. DOI: https://doi.org/10.3390/metabo10030106.

HOWES, M. J. R.; QUAVE, C. L.; COLLEMARE, J.; TATSIS, E. C.; TWILLEY, D.; LULEKAL, E.; FARLOW, A.; LI, L.; CAZAR, M. E.; LEAMAN, D. J.; PRESCOTT, T. A. K.; MILLIKEN, W.; MARTIN, C.; DE CANHA, M. N.; LALL, N.; QIN, H.; WALKER, B. E.; VÁSQUEZ-LONDOÑO, C.; ALLKIN, B.; RIVERS, M.; SIMMONDS, M. S. J.; BELL, E.; BATTISON, A.; FELIX, J.; FOREST, F.; LEON, C.; WILLIAMS, C.; NIC LUGHADHA, E. Molecules from nature: reconciling biodiversity conservation and global healthcare imperatives for sustainable use of medicinal plants and fungi. **Plants, People, Planet**, v. 2, n. 5, p. 463-481, 2020. DOI: https://doi.org/10.1002/ppp3.10138.

HURTADO, N. H.; MORALES, A. L.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L.; ESCUDERO-GILETE, M. L.; HEREDIA, F. J. Colour, pH stability and antioxidant activity of anthocyanin rutinosides isolated from tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). **Food Chemistry**, v. 117, n. 1, p. 88–93, 2009. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.081.

IBGE. **Launches unprecedented map of biomes and coastal-marine system**. 2019. Disponível em: https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/en/agencia-press-room/2185-news-agency/releases-en/25812-ibge-lanca-mapa-inedito-de-biomas-e-sistema-costeiro-marinho-2. Acesso em: 15 Set. 2020.

IBGE. **Estimativas da População**. 2021. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9103-estimativas-de-populacao.html?=&t=resultados. Acesso em: 20 fev. 2022.

IKEDA, T.; TSUMAGARI, H.; HONBU, T.; NOHARA, T. Cytotoxic activity of steroidal glycosides from *Solanum* plants. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 8, p. 1198–1201, 2003. DOI: https://doi.org/10.1248/bpb.26.1198.

ITKIN, M.; HEINIG, U.; TZFADIA, O.; BHIDE, A. J.; SHINDE, B.; CARDENAS, P. D.; BOCOBZA, S. E.; UNGER, T.; MALITSKY, S.; FINKERS, R.; TIKUNOV, Y.; BOVY, A.; CHIKATE, Y.; SINGH, P.; ROGACHEV, I.; BEEKWILDER, J.; GIRI, A. P.; AHARONI, A. Biosynthesis of antinutritional alkaloids in solanaceous crops is mediated by clustered genes. **Science**, v. 341, n. 6142, p. 175–184, 2013. DOI: https://doi.org/10.1126/science.1240230.

KAINZ, K.; BAUER, M. A.; MADEO, F.; CARMONA-GUTIERREZ, D. Fungal infections in humans: the silent crisis. **Microbial Cell**, v. 7, n. 6, p. 143–145, 2020. DOI: https://www.doi.org/10.15698/mic2020.06.718.

KATZUNG, B. G.; KNUIDERING-HALL, M.; TREVOR, A. J. **Pharmacology Examination & Board Review**. 12 ed. New York: Large Medical Books/ McGraw-Hill Education, 2018. 592 p.

KAUNDA, J. S.; ZHANG, Y.-J. The genus *Solanum*: an ethnopharmacological, phytochemical and biological properties review. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 9, n. 2, p. 77–137, 2019. DOI: https://doi.org/10.1007/s13659-019-0201-6.

KEAWSA-ARD, S.; NATAKANKITKUL, S.; LIAWRUANGRATH, S.; TEERAWUTGULRAG, A.; TRISUWAN, K.; CHAROENYING, P.; PYNE, S.; LIAWRUANGRATH, B. Anticancer and antibacterial activities of the isolated compounds from S*olanum spirale* Roxb. Leaves. **Chiang Mai Journal of Science**, v. 39, n. p. 445–454, 2012. Disponível em https://www.thaiscience.info/journals/Article/CMJS/10905263.pdf. Acesso: 15 fev 2022.

KIM, J.; SOH, S. Y.; BAE, H.; NAM, S.-Y. Antioxidant and phenolic contents in potatoes (*Solanum tuberosum* L.) and micropropagated potatoes. **Applied Biological Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 2019. DOI: https://doi.org/10.1186/s13765-019-0422-8.

KODURU, S.; GRIERSON, D. S.; AFOLAYAN, A. J. Antimicrobial activity of *Solanum aculeastrum*. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 4, p. 283–286, 2006. DOI: https://doi.org/10.1080/13880200600714145.

KOSHIRO, Y.; JACKSON, M. C.; KATAHIRA, R.; WANG, M.-L.; NAGAI, C.; ASHIHARA, H. Biosynthesis of chlorogenic acids in growing and ripening fruits of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* plants. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 62, n. 9, p. 731–742, 2007. DOI: https://doi.org/10.1515/znc-2007-9-1017.

KRISHNAMURTI, C.; RAO, S. C. The isolation of morphine by Serturner. **Indian Journal of Anaesthesia**, v. 60, n. 11, p. 861–862, 2016. DOI: https://doi.org/10.4103/0019-5049.193696.

KUETE, V. Potential of *Cameroonian* plants and derived products against microbial infections: a review. **Planta Medica**, v. 76, n. 14, p. 1479–1491, 2010. DOI: https://doi.org/10.1055/s-0030-1250027.

KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology reports**, v. 24, n. p. e00370–e00370, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370.

KUMARA, M. *Solanum* alkaloids and their pharmaceutical roles: a review. **Journal of Analytical & Pharmaceutical Research**, v. 3, n. p. 1–14, 2015. DOI: https://doi.org/10.15406/japlr.2016.03.00075.

KUSHKA. **Plant of the month: strengthen your immune system with *Artemisia annua***. 2020. Disponível em: https://www.dinafem.org/en/blog/plant-month-strengthen-immune-system-artemisia-annua/. Acesso em: 15 Jan. 2021.

LAMBERT, M.; MEUDEC, E.; VERBAERE, A.; MAZEROLLES, G.; WIRTH, J.; MASSON, G.; CHEYNIER, V.; SOMMERER, N. A High-Throughput UHPLC-QqQ-MS method for polyphenol profiling in rosé wines. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 7890–7914, 2015. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules20057890.

LEE, M.-H.; CHENG, J.-J.; LIN, C.-Y.; CHEN, Y.-J.; LU, M.-K. Precursor-feeding strategy for the production of solanine, solanidine and solasodine by a cell culture of *Solanum lyratum*. **Process Biochemistry**, v. 42, n. p. 899–903, 2007. DOI: https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.01.010.

LEE, S.-W.; KIM, H.; AHN, J.-H. Biosynthesis of ethyl caffeate via caffeoyl-CoA acyltransferase expression in *Escherichia coli*. **Applied Biological Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 64–71, 2021. DOI: https://doi.org/10.1186/s13765-021-00643-0.

LI, D.; ZHAO, Y.-L.; QIN, X.-J.; LIU, L.; YANG, X.-W.; CHEN, Y.-Y.; WANG, B.; WEI, X.; LIU, Y.-P.; LUO, X.-D. Spiralosides A–C, three new C27-steroidal glycoalkaloids from the fruits of *Solanum spirale*. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 6, n. 4, p. 225–231, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/s13659-016-0103-9.

LI, G.-S.; YAO, F.; ZHANG, L.; YUE, X.-D.; DAI, S.-J. Two new cytotoxic sesquiterpenoids from *Solanum lyratum*. **Chinese Chemical Letters**, v. 24, n. 11, p. 1030–1032, 2013. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cclet.2013.07.025.

LIMA, R. A. **Estudo químico das cascas de *Maytenus guianensis* Klotzsch ex Reissek e seu potencial antimicrobiano**. 2016. 188 f. (Doutorado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia, Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho.

LIU, Z.-Q. Chemical methods to evaluate antioxidant ability. **Chemical reviews**, v. 110, n. p. 5675-5691, 2010. DOI: https://10.1021/cr900302x.

LOPES, L. C.; DE CARVALHO, J. E.; KAKIMORE, M.; VENDRAMINI-COSTA, D. B.; MEDEIROS, M. A.; SPINDOLA, H. M.; ÁVILA-ROMÁN, J.; LOURENÇO, A. M.; MOTILVA, V. Pharmacological characterization of *Solanum cernuum* Vell.: 31-norcycloartanones with analgesic and anti-inflammatory properties. **Inflammopharmacology**, v. 22, n. 3, p. 179–185, 2014. DOI: https://doi.org/10.1007/s10787-013-0182-8.

LU, Y.; LUO, J.; KONG, L. Steroidal alkaloid saponins and steroidal saponins from *Solanum surattense*. **Phytochemistry**, v. 72, n. 7, p. 668–673, 2011. DOI: https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.028.

MABRY, T.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B. **The systematic identification of flavonoids.** ed. Berlin: Springer, 1970. 354 p. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-88458-0.

MACHABUCA. ***Coffea arábica***. 2006. Disponível em: https://www.flickr.com/search/?text=Coffea%20ar%C3%A1bica. Acesso em: 20 jan. 2021.

MAGALHÃES, L. **Candidíase**. 2022. Disponível em: https://www.todamateria.com.br/candidiase/. Acesso em: 21 maio 2022.

MAHADEV, R.; RAMAKRISHNAIAH, H.; KRISHNA, V.; KUMAR, N. N. Chemical composition of the essential oil from the fruits of *Solanum erianthum* D. Don. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 15, n. 3, p. 387–391, 2012. DOI: https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644065.

MARTINELLI, G.; MESSINA, T.; SANTOS-FILHO, L. **Red Book of the Flora of Brazil-Rare Plants the Cerrado**. 1 ed. Rio de Janeiro: CNC Flora, 1, 1.2014. p.

MARTINS, C.; MORAIS, S.; MARTINS, M.; CUNHA, L.; SILVA, C.; MARTINS, C. H.; LEANDRO, L.; DE OLIVEIRA, A.; AQUINO, F.; NASCIMENTO, E.; CHANG, R. Chemical composition, antifungal, and cytotoxicity activities of *Inga laurina* (Sw.) Willd leaves. **The Scientific World Journal**, v. 2019, n. p. 1–12, 2019. DOI: https://doi.org/10.1155/2019/9423658.

MARTINS, E. A. S.; GONELI, A. L. D.; CARDOSO, C. A. L.; ALMEIDA, G. L.; GONÇALVES, A. A.; SILVA, C. B. D. Post-harvesting of *Solanum paniculatum* L. leaves. Part II: Antioxidant activity and chemical composition. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 25, n. p. 17–22, 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v25n1p17-22.

MARTINS, G. B. C.; SUCUPIRA, R. R.; SUAREZ, P. A. Z. A Química e as Cores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1508–1534, 2015. DOI: https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150082.

MATTEINI, P.; AGATI, G.; PINELLI, P.; GOTI, A. Modes of complexation of rutin with the flavonoid reagent diphenylborinic acid 2-aminoethyl ester. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, v. 142, n. 9, p. 885–893, 2011. https://doi.org/10.1007/s00706-011-0545-z.

MAXWELL, A.; SEEPERSAUD, M.; PINGAL, R.; MOOTOO, D. R.; REYNOLDS, W. F. 3β-Aminospirosolane steroidal alkaloids from *Solanum triste*. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 4, p. 625–628, 1995. DOI: https://doi.org/10.1021/np50118a027.

MILNER, S.; BRUNTON, N.; JONES, P.; O'BRIEN, N.; COLLINS, S.; MAGUIRE, A. Bioactivities of glycoalkaloids and their aglycones from *Solanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. p. 3454–3484, 2011. DOI: https://doi.org/10.1021/jf200439q.

MOHIUDDIN, A. Chemistry of Secondary Metabolites. **Annals of Clinical Toxicology**, v. 2, n. p. 1014–1036, 2019. Disponível em: http://www.remedypublications.com/open-access/chemistry-of-secondary-metabolites-1124.pdf. Acesso em: 15 Jan. 2021.

MONZOTE, L.; JIMÉNEZ, J.; CUESTA-RUBIO, O.; MÁRQUEZ, I.; GUTIÉRREZ, Y.; DA ROCHA, C. Q.; MARCHI, M.; SETZER, W. N.; VILEGAS, W. In vitro assessment of plants growing in Cuba belonging to Solanaceae family against *Leishmania amazonensis*. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 11, p. 1785–1793, 2016. DOI: https://doi.org/10.1002/ptr.5681.

MORAIS, A. **Quina do Cerrado**. 2008. Disponível em: https://timblindim.wordpress.com/arvores/quina-do-cerrado/. Acesso em: 23 jan. 2021.

MORAIS, M. G.; COSTA, G. A. F. D.; ALEIXO, Á. A.; OLIVEIRA, G. T. D.; ALVES, L. F.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; FERREIRA, J. M. S.; LIMA, L. A. R. D. S. Antioxidant, antibacterial and cytotoxic potential of the ripe fruits of *Solanum lycocarpum* A. St. Hil. (Solanaceae). **Natural Product Research**, v. 29, n. 5, p. 480–483, 2015. DOI: https://doi.org/10.1080/14786419.2014.951930.

MOREIRA, F. A. **Perfil da alteração na produção de substâncias fenólicas e açúcares livres na interação entre *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae) parasitada por *Phoradendron crassifolium* (Pohl ex DC.) Eichler (Santalaceae)**. 2015. 112 f. (Dissertação de Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 1–30, 2021.

NAKAMURA, S.; HONGO, M.; SUGIMOTO, S.; MATSUDA, H.; YOSHIKAWA, M. Steroidal saponins and pseudoalkaloid oligoglycoside from Brazilian natural medicine, "fruta do lobo" (fruit of *Solanum lycocarpum*). **Phytochemistry**, v. 69, n. 7, p. 1565–1572, 2008. DOI: https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.003.

NAMI, S.; MOHAMMADI, R.; VAKILI, M.; KHEZRIPOUR, K.; MIRZAEI, H.; MOROVATI, H. Fungal vaccines, mechanism of actions and immunology: a comprehensive review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 109, n. p. 333–344, 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.075.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020. DOI: https://doi.org/10.1021/np200906s.

NIÑO, J.; CORREA, Y. M.; MOSQUERA, O. M. Antibacterial, antifungal, and cytotoxic activities of 11 solanaceae plants from colombian biodiversity. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 1, p. 14–18, 2006. DOI: https://doi.org/10.1080/13880200500509124.

NUNES, B. C.; MARTINS, M. M.; CHANG, R.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; DE OLIVEIRA, A.; CUNHA, L. C. S.; DA SILVA, C. V.; TEIXEIRA, T. L.; AMBRÓSIO, M. A. L. V.; MARTINS, C. H. G.; DE AQUINO, F. J. T. Antimicrobial activity, cytotoxicity and selectivity index of *Banisteriopsis laevifolia* (A. Juss.) B. Gates leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 92, n. p. 277–289, 2016. DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.016.

OHTSUKI, T.; MIYAGAWA, T.; KOYANO, T.; KOWITHAYAKORN, T.; ISHIBASHI, M. Isolation and structure elucidation of flavonoid glycosides from *Solanum verbascifolium*. **Journal Phytochemistry Letters**, v. 3, n. 2, p. 88–92, 2010. DOI: https://doi.org/10.1016/j.phytol.2010.02.002.

OLIVEIRA, K. K. B.; ROCHA, G. M. D. M.; BRITO, M. G. A.; SILVA, M. D. A.; OLIVEIRA, G. A. L. D. Plantas medicinais utilizadas para tratar distúrbios gastrointestinais: revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e438997164–e438997164, 2020. DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7164.

OLIVEIRA R, C.; LIMA, J. T.; RIBEIRO, L. A.; SILVA, J. L.; MONTEIRO, F. S.; ASSIS, T. S.; AGRA MDE, F.; SILVA, T. M.; ALMEIDA, F. R.; SILVA, B. A. Spasmolytic action of the methanol extract and isojuripidine from *Solanum asterophorum* Mart. (Solanaceae) leaves in guinea-pig ileum. **Journal of Biosciences: Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 61, n. p. 799–805, 2006. DOI: https://doi.org/10.1515/znc-2006-11-1205.

OLIVEIRA, S. C. C. **Estudo alelopático de espécies do gênero *Solanum* do Distrito Federal**. 2009. 180 f. (Doutorado) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

OMS. **Antimicrobial resistance**. 2021. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance. Acesso em: 10 maio 2022.

ORQUEDA, M. E.; RIVAS, M.; ZAMPINI, I. C.; ALBERTO, M. R.; TORRES, S.; CUELLO, S.; SAYAGO, J.; THOMAS-VALDES, S.; JIMÉNEZ-ASPEE, F.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; ISLA, M. I. Chemical and functional characterization of seed, pulp and skin powder from chilto (*Solanum betaceum*), an Argentine native fruit. **Food Chemistry**, v. 216, n. 1, p. 70–79, 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.015.

PADUCH, R.; TRYTEK, M.; KRÓL, S. K.; KUD, J.; FRANT, M.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M.; FIEDUREK, J. Biological activity of terpene compounds produced by biotechnological methods. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 6, p. 1096–1107, 2016. DOI: https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1103753.

PAGARE, S.; BHATIA, M.; TRIPATHI, N.; BANSAL, Y. K. Secondary metabolites of plants and their role: overview. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 9, n. p. 293–304, 2015. Retrieved from https://abap.co.in/secondary-metabolites-plants-and-their-role-overview.

PEDROSO, R. D. S.; ANDRADE, G.; PIRES, R. H. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, n. 2, p. 1–19, 2021. DOI: https://doi.org/10.1590/S0103-73312021310218

PENG, S. Y.; LI, H.; YANG, D. P.; BAI, B.; ZHU, L. P.; LIU, Q.; SHEN, J.; ZHAO, Z. M. Solanerioside A, an unusual 14,15-dinor-cyclophytane glucoside from the leaves of *Solanum erianthum*. **Natural Product Research**, v. 31, n. 7, p. 810–816, 2017. DOI: https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1247078.

PEREIRA, R.; DOS SANTOS FONTENELLE, R. O.; DE BRITO, E. H. S.; DE MORAIS, S. M. Biofilm of Candida albicans: formation, regulation and resistance. **Journal of applied microbiology**, v. 131, n. 1, p. 11–22, 2021. DOI: https://doi.org/10.1111/jam.14949.

PETREANU, M.; GUIMARÃES, Á. A. A.; BROERING, M. F.; FERREIRA, E. K.; MACHADO, I. D.; GOIS, A. L. T.; DE CARVALHO, J. E.; MONACHE, F. D.; NIERO, R.; SANTIN, J. R. Antiproliferative and toxicological properties of methanolic extract obtained from *Solanum capsicoides* All. seeds and carpesterol. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 389, n. 10, p. 1123–1131, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/s00210-016-1275-x.

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, n. p. 237–243, 2002. DOI: https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00251-0.

PINTO, F. D. C. L.; UCHOA, D. E. D. A.; SILVEIRAI, E. R.; PESSOAI, O. D. L.; BRAZ-FILHO, R.; SILVA, F. M. E.; THEODORO, P. N. E. T.; ESPÍNDOLA, L. S. Glicoalcaloides antifúngicos, flavonoides e outros constituintes químicos de *Solanum asperum*. **Química Nova**, v. 2, n. 34, p. 284–288, 2011. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000200021.

PONTES, F. C.; ABDALLA, V. C. P.; IMATOMI, M.; FUENTES, L. F. G.; GUALTIERI, S. C. J. Antifungal and antioxidant activities of mature leaves of *Myrcia splendens* (Sw.) DC. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. p. 127–132, 2019. DOI: https://doi.org/10.1590/1519-6984.179829.

PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (oracfl)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3273–3279, 2003. DOI: https://10.1021/jf0262256.

PYNE, M. E.; NARCROSS, L.; MARTIN, V. J. J. Engineering plant secondary metabolism in microbial systems. **Plant Physiology**, v. 179, n. 3, p. 844–861, 2019. DOI: https://doi.org/10.1104/pp.18.01291.

RAMALHO, V.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. p. 755–760, 2006. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000400023.

RAMOS, C.; SOUSA, A.; AL-MEIDA, C.; OLIVEIRA, R. Análise quimiossistemática dos alcaloides esteroidais do gênero *Solanum*. **Revista Virtual de Quimica**, v. 11, n. p. 1–5, 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20190102.

RAMOS, C.; SOUSA, A.; AL-MEIDA, C.; OLIVEIRA, R. Chemophenetics of *Solanum* based on steroidal alkaloids. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 98C, n. p. 104318, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104318.

RASHED, K.; SAHUC, M.-E.; DELOISON, G.; CALLAND, N.; BRODIN, P.; ROUILLÉ, Y.; SÉRON, K. Potent antiviral activity of *Solanum rantonnetii* and the isolated compounds against

hepatitis C virus *in vitro*. **Journal of Functional Foods**, v. 11, n. 1, p. 185–191, 2014. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.09.022.

RENSLO, A. R. Antimalarial drug discovery: from quinine to the dream of eradication. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 4, n. 12, p. 1126–1128, 2013. DOI: https://doi.org/10.1021/ml4004414.

REVIE, N. M.; IYER, K. R.; ROBBINS, N.; COWEN, L. E. Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. **Current Opinion in Microbiology**, v. 45, n. p. 70–76, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.02.005.

RIBEIRO, S. R.; FORTES, C. C.; OLIVEIRA, S. C. C.; DE SOUZA CASTRO, C. F. Avaliação da atividade antioxidante de *Solanum paniculatum* (Solanaceae). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 11, n. 3, p. 179–183, 2007.

RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. T. Analytical separation and detection methods for flavonoids. **Journal of Chromatography A**, v. 1112, n. 1, p. 31–63, 2006. DOI: https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.019.

ROBBINS, N.; CAPLAN, T.; COWEN, L. E. Molecular Evolution of Antifungal Drug Resistance. **Annual Review of Microbiology**, v. 71, n. p. 753–775, 2017. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev-micro-030117-020345.

ROBERTS, M. F.; STRACK, D.; WINK, M. Biosynthesis of Alkaloids and Betalains. *In*: **Annual Plant Reviews Online**, 2018. p. 20–91.https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0424

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 102–123, 2001. Disponível em: https://www.scienceopen.com/document?vid=9556cff0-c69f-42a7-8e36-1bdf5b4d6b14. Acesso em: 14 nov. 2020.

RUAN, J.; YAN, J.; ZHENG, D.; SUN, F.; WANG, J.; HAN, L.; ZHANG, Y.; WANG, T. Comprehensive chemical profiling in the ethanol extract of *Pluchea indica* aerial parts by liquid chromatography/mass spectrometry analysis of its silica gel column chromatography fractions. **Molecules**, v. 24, n. 15, p. 2784–2804, 2019. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules24152784.

SARDI, J. C. O.; SCORZONI, L.; BERNARDI, T.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; MENDES GIANNINI, M. J. S. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. 1, p. 10–24, 2013. DOI: https://doi.org/10.1099/jmm.0.045054-0.

SARDI, J. D. C. O.; GULLO, F. P.; FREIRES, I. A.; PITANGUI, N. D. S.; SEGALLA, M. P.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; ROSALEN, P. L.; REGASINI, L. O.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Synthesis, antifungal activity of caffeic acid derivative esters, and their synergism with fluconazole and nystatin against *Candida* spp. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 86, n. 4, p. 387–391, 2016. DOI: https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.08.002.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 14, n. p. 111–125, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.043.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D. M.; PELL, A. N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, n. 1, p. 21–40, 2001. DOI: https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0.

SCORSATTO, M.; PIMENTEL, A. D. C.; SILVA, A. J. R. D.; SABALLY, K.; ROSA, G.; OLIVEIRA, G. M. M. D. Assessment of bioactive compounds, physicochemical composition, and in vitro antioxidant activity of eggplant flour. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 30, n. 3, p. 235–242, 2017. DOI: https://doi.org/10.5935/2359-4802.20170046.

SEYOUM, E.; BITEW, A.; MIHRET, A. Distribution of *Candida albicans* and non-albicans *Candida* species isolated in different clinical samples and their in vitro antifungal suscetibity profile in Ethiopia. **BMC Infectious Diseases**, v. 20, n. 1, p. 231–240, 2020. DOI: https://doi.org/10.1186/s12879-020-4883-5.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, n. p. 820–897, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018.

SHASHI, P.; ASHOKA, H.; GN, R. **Caffeine extraction and characterization**. 2015. Disponível em: http://ijcrr.com/uploads/555.pdf. Acesso em: 10 Jan. 2021.

SILVA, E. L.; ALMEIDA-LAFETÁ, R. C.; BORGES, R. M.; STAERK, D. Dual high-resolution inhibition profiling and HPLC-HRMS-SPE-NMR analysis for identification of α-glucosidase and radical scavenging inhibitors in *Solanum americanum* Mill. **Fitoterapia**, v. 118, p. 42–48, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.02.002.

SILVA, L. A. L.; FAQUETI, L. G.; REGINATTO, F. H.; DOS SANTOS, A. D. C.; BARISON, A.; BIAVATTI, M. W. Phytochemical analysis of *Vernonanthura tweedieana* and a validated UPLC-PDA method for the quantification of eriodictyol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 4, p. 375-381, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.009/.

SILVA, M.; LIDON, F. An overview on applications and side effects of antioxidant food additives. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 28, p. 2016. DOI: https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-07-806.

SILVA, T. D. C.; JUSTINO, A. B.; PRADO, D. G.; KOCH, G. A.; MARTINS, M. M.; SANTOS, P. D. S.; MORAIS, S. A. L. D.; GOULART, L. R.; CUNHA, L. C. S.; SOUSA, R. M. F. D.; ESPINDOLA, F. S.; DE OLIVEIRA, A. Chemical composition, antioxidant activity and inhibitory capacity of α-amylase, α-glucosidase, lipase and non-enzymatic glycation, in vitro, of the leaves of *Cassia bakeriana* Craib. **Industrial Crops and Products**, v. 140, n. p. 111641-111654, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111641.

SILVA, T. M. S.; SILVA, T. M. G.; AGRA, M. F.; CAMARA, C. A. 3-Ainofurostane alkaloids from *Solanum paniculatum* (Jurubeba Verdadeira) roots. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. p. 1030–1042, 2020. DOI: http://orcid.org/0000-0003-1887-2598.

SILVA, T. M. S. D.; CARVALHO, M. G. D.; BRAZ-FILHO, R. Estudo espectroscópico em elucidação estrutural de flavonoides de *Solanum jabrense* Agra & Nee e *S. paludosum* Moric. **Química Nova**, v. 32, n. p. 1119–1128, 2009. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500008.

SINGH, O. M.; SUBHARANI, K.; SINGH, N. I.; DEVI, N. B.; NEVIDITA, L. Isolation of steroidal glycosides from *Solanum xanthocarpum* and studies on their antifungal activities. **Natural Product Research**, v. 21, n. 7, p. 585–590, 2007. DOI: https://doi.org/10.1080/14786410701369458.

SINOSAKI, N.; TONIN, A.; RIBEIRO, M.; POLISELI, C.; ROBERTO, S.; DA SILVEIRA, R.; VISENTAINER, J.; SANTOS, O.; MEURER, E. Structural study of phenolic acids by triple quadrupole mass spectrometry with electrospray ionization in negative mode and H/D isotopic exchange. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 2, p. 402-408, 2020. DOI: http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190197.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002. 10.1590/s1415-52732002000100008.

SON, S.; LEWIS, B. A. Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure-activity relationship. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 3, p. 468–472, 2002. DOI: https://doi.org/10.1021/jf010830b.

SOUSA, R. M. F. D. **Estudo químico de *Eugenia calycina* cambess e avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e inibidora de alfa-amilase**. 2015. 220 f. (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

STEHMANN, J. R.; MENTZ, L. A.; AGRA, M. F.; VIGNOLI-SILVA, M.; GIACOMIN, L.; RODRIGUES, I. M. C. **Solanaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB225. Acesso em: 14 nov. 2020.

TAHER, Z.; AGOUILLAL, F.; R, L.; MAROF, A.; DAILIN, D.; NURJAYADI, M.; RAZIF, E.; GOMAA, S.; EL ENSHASY, H. Anticancer Molecules from *Catharanthus roseus*. **Indonesian Journal of Pharmacy**, v. 30, n. p. 147–156, 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.14499/indonesianjpharm30iss3pp147.

TANZEY, S. S.; MOSSINE, A. V.; SOWA, A. R.; TORRES, J.; BROOKS, A. F.; SANFORD, M. S.; SCOTT, P. J. H. A spot test for determination of residual TBA levels in 18F-radiotracers for human use using Dragendorff reagent. **Analytical Methods**, v. 12, n. 41, p. 5004-5009, 2020. 10.1039/D0AY01565B.

THEOTHERKEV. **Papoula do Ópio**. 2019. Disponível em: https://pixabay.com/pt/photos/papoula-do-%C3%B3pio-roxo-de-papoula-4294623/. Acesso em: 10 jan. 2021.

TIOSSI, R.; MIRANDA, M.; SOUSA, J.; PRACA, F.; BENTLEY, M.; MCCHESNEY, J. A Validated reverse phase HPLC analytical method for quantitation of glycoalkaloids in *Solanum*

lycocarpum and its extracts. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2012, n. p. 947836–947844, 2012. DOI: https://doi.org/10.1155/2012/947836.

UWAI, K.; OSANAI, Y.; IMAIZUMI, T.; KANNO, S.; TAKESHITA, M.; ISHIKAWA, M. Inhibitory effect of the alkyl side chain of caffeic acid analogues on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW264.7 macrophages. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 16, p. 7795–7803, 2008. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.07.006.

VAITKIENĖ, S.; KULIEŠIENĖ, N.; SAKALAUSKAITĖ, S.; BEKERE, L.; KRASNOVA, L.; VIGANTE, B.; DUBURS, G.; DAUGELAVIČIUS, R. Antifungal activity of styrylpyridinium compounds against *Candida albicans*. v. 97, n. 2, p. 253–265, 2021. DOI: https://doi.org/10.1111/cbdd.13777.

VALADARES, Y. M.; BRANDÃO'A, G. C.; KROON, E. G.; FILHO, J. D.; OLIVEIRA, A. B.; BRAGA, F. C. Antiviral activity of *Solanum paniculatum* extract and constituents. **Zeitschrift für Naturforschung. C, A journal of biosciences**, v. 64, n. 11–12, p. 813-818, 2009. DOI: https://doi.org/10.1515/znc-2009-11-1210.

VALLI, M.; BOLZANI, V. S. Natural Products: perspectives and challenges for use of brazilian plant species in the bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** v. 91, n. p. 1–7, 2019. DOI: https://doi.org/10.1590/0001-3765201920190208.

VIEGAS-JR, C.; BOLZANI, V.; BARREIRO, E. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025.

VIEIRA JÚNIOR, G. M.; DA ROCHA, C. Q.; DE SOUZA RODRIGUES, T.; HIRUMA-LIMA, C. A.; VILEGAS, W. New steroidal saponins and antiulcer activity from *Solanum paniculatum* L. **Food Chemistry**, v. 186, n. 1, p. 160–167, 2015. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.005.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. ed. Berlin: Springer, 1996. 384 p. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9.

WANG, S.; ALSEEKH, S.; FERNIE, A. R.; LUO, J. The structure and function of major plant metabolite modifications. **Molecular Plant**, v. 12, n. 7, p. 899–919, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.06.001.

XIONG, Q.; WILSON, W.; PANG, J. The Liebermann–Burchard reaction: sulfonation, desaturation, and rearrangment of cholesterol in acid. **Lipids**, v. 42, n. p. 87–96, 2007. DOI: https://doi.org/10.1007/s11745-006-3013-5.

YEN, C. T.; LEE, C. L.; CHANG, F. R.; HWANG, T. L.; YEN, H. F.; CHEN, C. J.; CHEN, S. L.; WU, Y. C. Indiosides G-K: steroidal glycosides with cytotoxic and anti-inflammatory activities from *Solanum violaceum*. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 4, p. 636–643, 2012. DOI: https://doi.org/10.1021/np200877u.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus L*. extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 4083–4089, 2001. 10.1021/jf0103572.

YOKOSE, T.; KATAMOTO, K.; PARK, S.; MATSUURA, H.; YOSHIHARA, T. Anti-fungal sesquiterpenoid from the root exudate of *Solanum abutiloides*. **Biosci Biotechnol Biochem**, v. 68, n. 12, p. 2640–2642, 2004. DOI: https://doi.org/10.1271/bbb.68.2640.

YOSHIKAWA, M.; NAKAMURA, S.; OZAKI, K.; KUMAHARA, A.; MORIKAWA, T.; MATSUDA, H. Structures of steroidal alkaloid oligoglycosides, robeneosides A and B, and antidiabetogenic constituents from the Brazilian medicinal plant *Solanum lycocarpum*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 2, p. 210–214, 2007. DOI: https://doi.org/10.1021/np0680580.

ZALEVSKAYA, O.; GUR'EVA, Y.; KUTCHIN, A.; HANSFORD, K. A. Antimicrobial and antifungal activities of terpene-derived palladium complexes. **Antibiotics**, v. 9, n. 5, p. 277–278, 2020. DOI: https://doi.org/10.3390/antibiotics9050277.

ZAMILPA, A.; TORTORIELLO, J.; NAVARRO, V.; DELGADO, G.; ALVAREZ, L. Five new steroidal saponins from *Solanum chrysotrichum* leaves and their antimycotic activity. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 12, p. 1815–1819, 2002. DOI: https://doi.org/10.1021/np020261h.

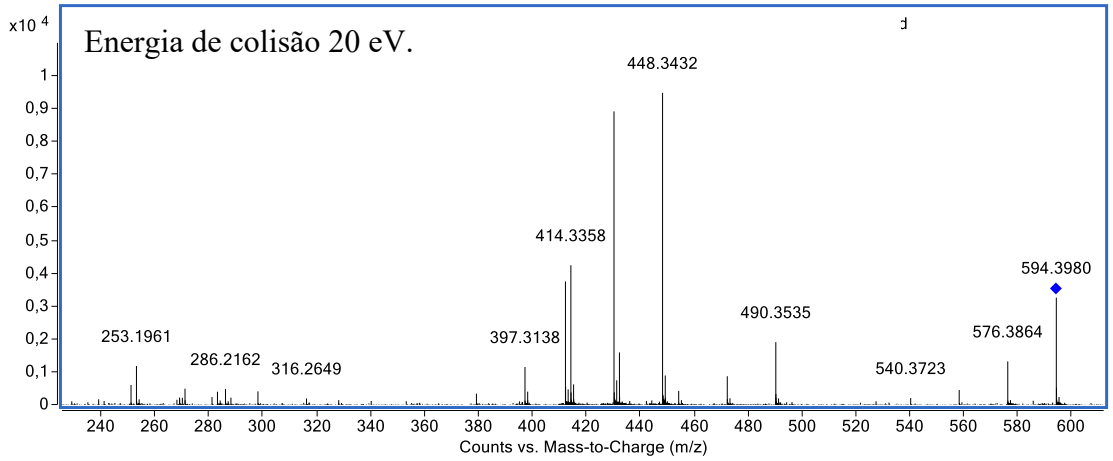
ZHANG, Y.; XIONG, H.; XU, X.; XUE, X.; LIU, M.; XU, S.; LIU, H.; GAO, Y.; ZHANG, H.; LI, X. Compounds identification in semen cuscutae by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography (UPLCS) coupled to Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1199–1215, 2018. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules23051199.

ZHAO, D.-D.; JIANG, L.-L.; LI, H.-Y.; YAN, P.-F.; ZHANG, Y.-L. Chemical components and pharmacological activities of terpene natural products from the genus *Paeonia*. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1362–1376, 2016. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules21101362.

ZHOU, W. N.; OUYANG, J.; WANG, Z. H.; WANG, X. Y.; SUO, Y. R.; ZHANG, Z.; WANG, H. L. Target-guided isolation and purification of antioxidants from *Elsholtzia densa* Benth. var. densa by DPPH antioxidant assay and dual-mode HSCCC. **Acta Chromatographica**, v. 30, n. 3, p. 1–6, 2017. DOI: https://doi.org/10.1556/1326.2017.00192.

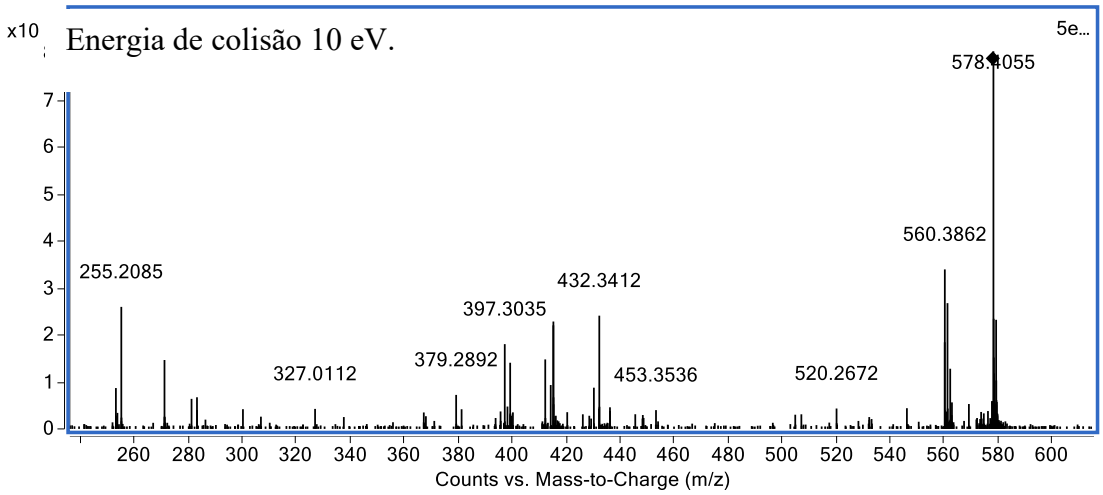
APÊNDICE

Figura 79. EM/EM-IES-(+) do fatimagraino ou do isômero (*m/z* 594).



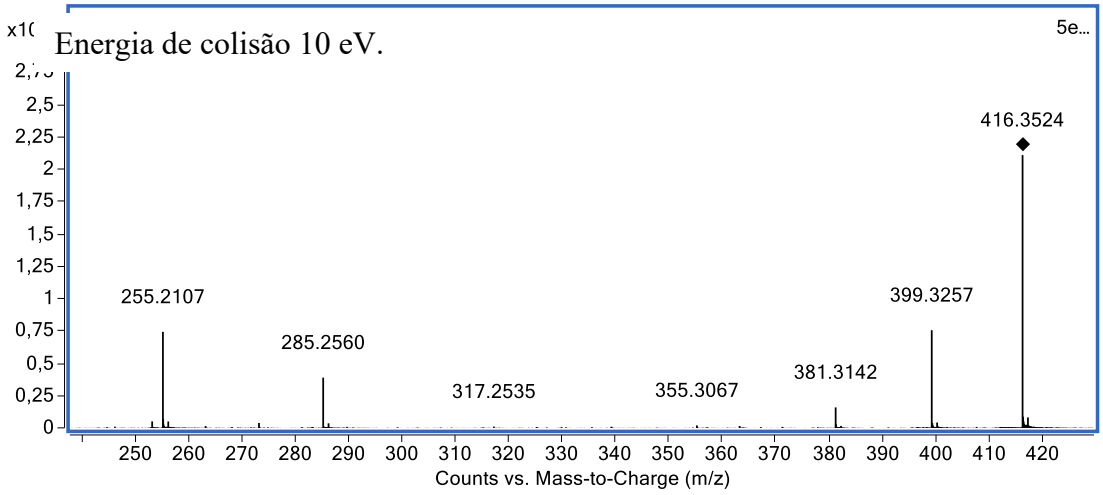
Fonte: a autora.

Figura 80. EM/EM-IES-(+) do batachariaino ou do isômero (*m/z* 578).



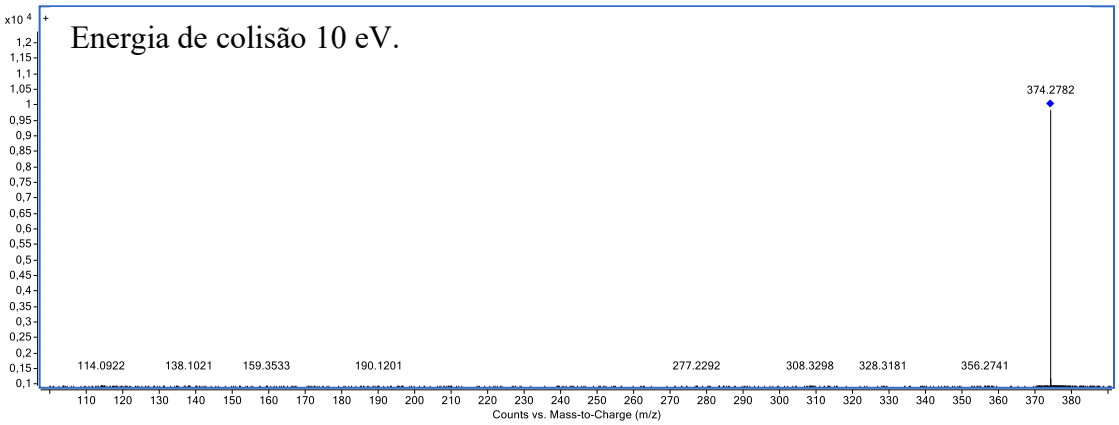
Fonte: a autora.

Figura 81. EM/EM-IES-(+) da jurubidina ou do isômero (*m/z* 416).



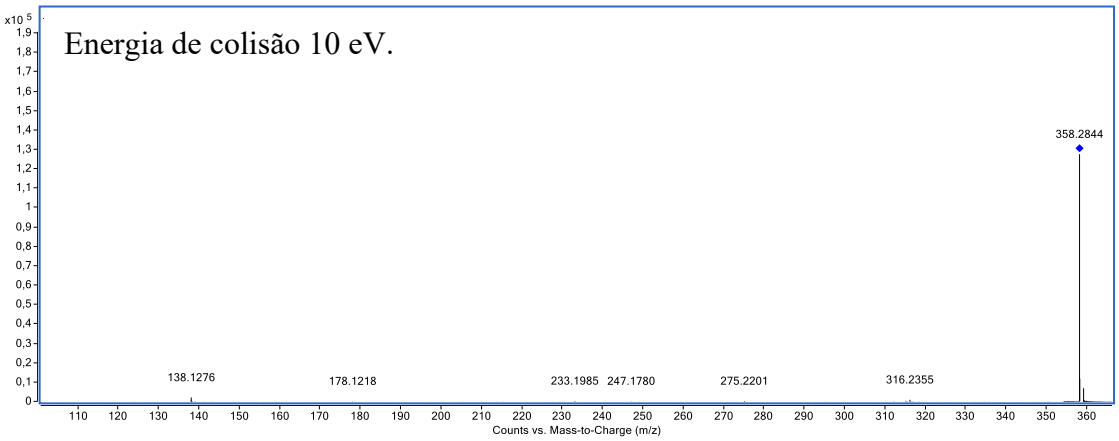
Fonte: a autora.

Figura 82. EM/EM-IES-(+) do composto n.d (*m/z* 374).



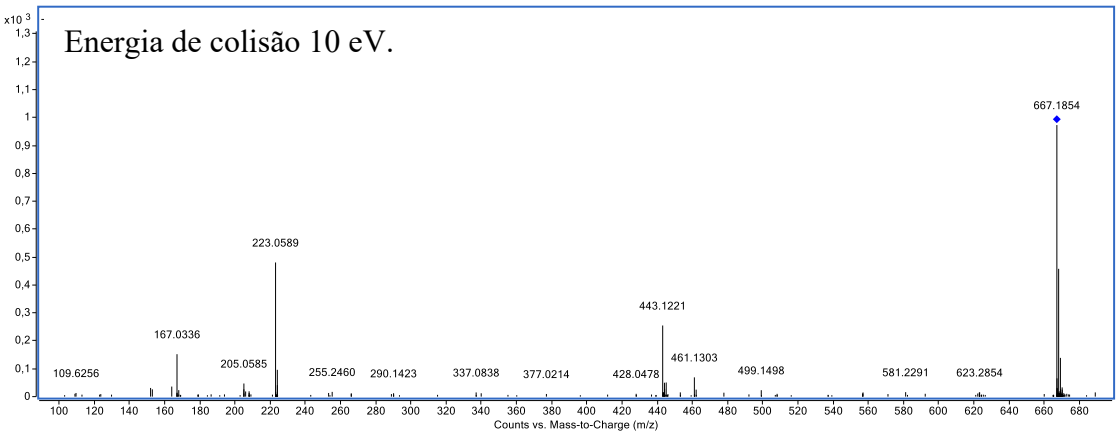
Fonte: a autora.

Figura 83. EM/EM-IES-(+) do composto n.d. (*m/z* 358).



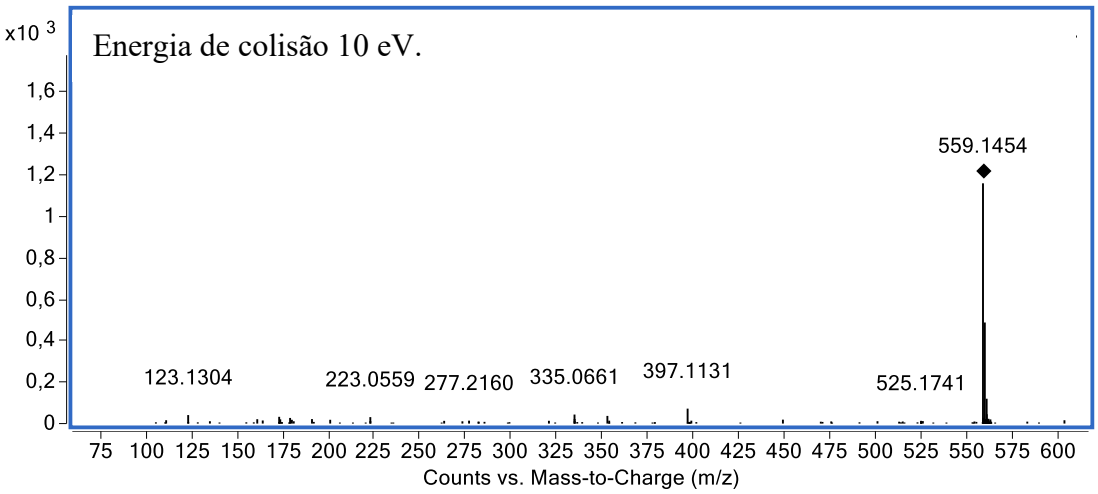
Fonte: a autora.

Figura 84. EM/EM-IES-(–) do composto n.d. (*m/z* 667).



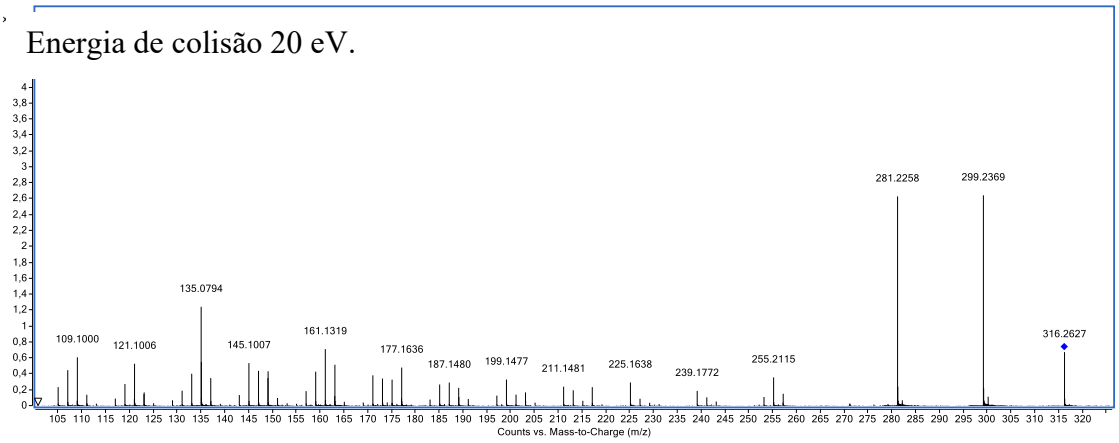
Fonte: a autora.

Figura 85. EM/EM-IES-(–) do composto n.d. (*m/z* 599).



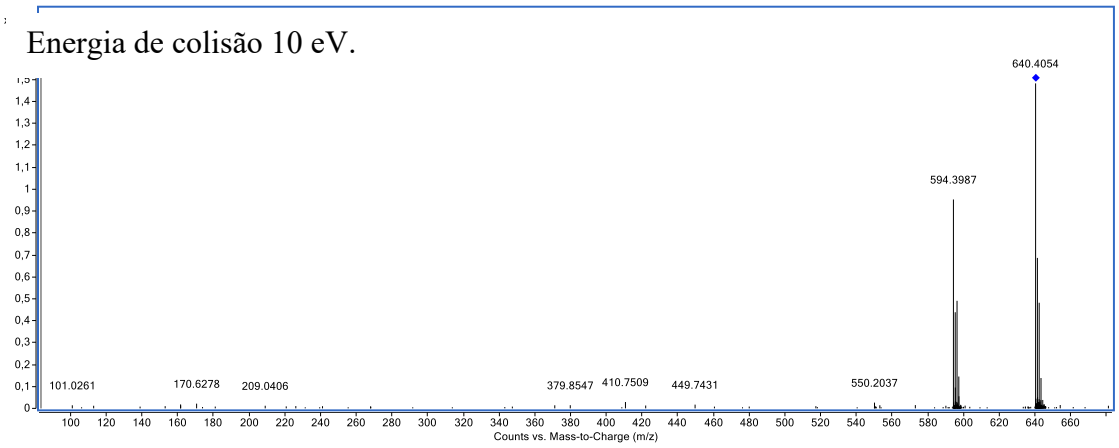
Fonte: a autora.

Figura 86. EM/EM-IES-(+) do composto n.d. (*m/z* 316).



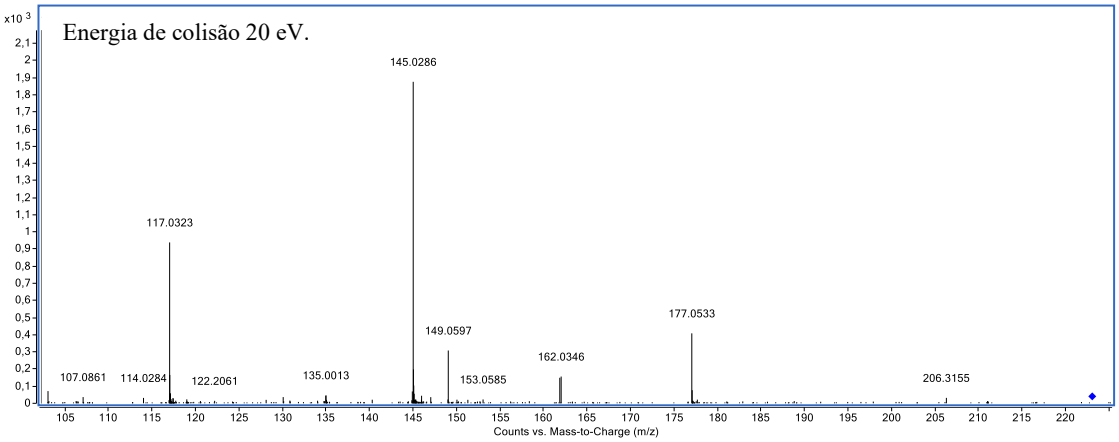
Fonte: a autora.

Figura 87. EM/EM-IES-(–) do composto n.d. (*m/z* 640).



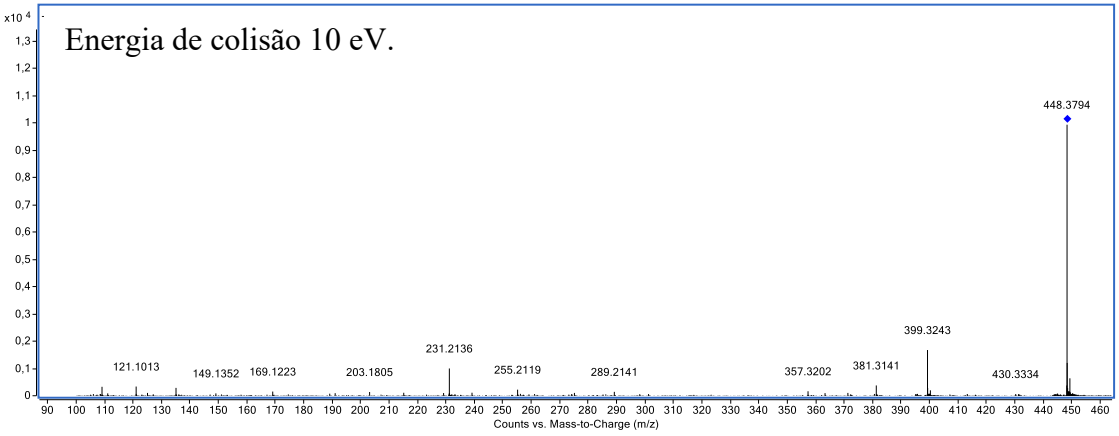
Fonte: a autora.

Figura 88. EM/EM-IES-(+) do composto n.d. (*m/z* 223).



Fonte: a autora.

Figura 89. EM/EM-IES-(–) do composto n.d. (*m/z* 448).



Fonte: a autora.