

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 23/11/2020.



UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

Instituto de Química de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Química

Estudo químico e biológico do extrato etanol 70 % das
folhas de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)

ALEXANDER BÁRBARO VALERINO DÍAZ

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lourdes Campaner dos Santos

Araraquara

2018

UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

Instituto de Química de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Química

Estudo químico e biológico do extrato etanol 70 % das
folhas de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)

ALEXANDER BÁRBARO VALERINO DÍAZ

Tese apresentada ao Instituto
de Química, Universidade
Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do
título de Doutor em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lourdes Campaner dos Santos

Araraquara

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

V163e	<p>Valerino Díaz, Alexander Bárbaro</p> <p>Estudo químico e biológico do extrato etanol 70% das folhas de <i>Solanum paniculatum</i> L (Solanaceae) / Alexander Bárbaro Valerino Díaz. – Araraquara: [s.n.], 2018</p> <p>181 f.: il.</p> <p>Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química</p> <p>Orientador: Lourdes Campaner dos Santos</p> <p>1. Solanaceae. 2. Saponinas. 3. Cromatografia líquida de alta eficiência. 4. Leishmaniose. 5. Citotoxicidade. I. Título</p>
-------	---

Elaboração: Seção Técnica de Tratamento da Informação
Biblioteca do Instituto de Química, Unesp, câmpus de Araraquara


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Estudo químico e biológico do extrato etanol 70% das folhas de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)"

AUTOR: ALEXANDER BARBARO VALERINO DÍAZ

ORIENTADORA: LOURDES CAMPANER DOS SANTOS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Prof^ª Dr^ª LOURDES CAMPANER DOS SANTOS
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. IAN CASTRO GAMBOA
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Dr. NIVALDO BORALLE
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof^ª. Dr^ª. ANNE LIGIA DOKKEDAL BOSQUEIRO
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências - UNESP - Bauru


Prof^ª. Dr^ª. ANA HELENA JANUÁRIO
Departamento de Química / Universidade de Franca - UNIFRAN - Franca

Araraquara, 23 de novembro de 2018.

Dados curriculares

Dados pessoais

Nome: Alexander Bárbaro Valerino Díaz

Filiação: Pedro Juan Valerino Varona e Bárbara Miriam Díaz Chapián

Naturalidade: La Habana/Cuba

E-mail: alexandervalerinodiaz@gmail.com

Formação acadêmica

Graduação

Instituição: Faculdade de Química Universidade da Havana, UH, Cuba.

Título da dissertação: Influencia de la temperatura y la composición en el proceso de hinchamiento en hidrogeles de Poli-[N-isopropil acrilamida-N,N Dimetilacrilamida

Orientador: Dr. Dionisio Zaldivar.

Local: Universidade da Habana, Faculdade de Química.

Curso: Química Licenciatura.

Período: 1996 – 2001.

Pós-graduação:

Mestrado

Instituição: Faculdade de Química Universidade da Havana, UH, Cuba.

Título da dissertação: Estudio fitoquímico y de actividad alelopática del follaje de *Lantana trifolia* L.

Orientador: Dra. Iraida Spengler Salabarria.

Local: Universidade da Habana, Faculdade de Química.

Período: 2004– 2006.

Doutorado

Instituição: Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Instituto de Química de Araraquara.

Título da Tese: Estudo químico do extrato etanol 70 % das folhas de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lourdes Campaner dos Santos

Bolsista: CAPES (período 08/2015 – 03/2019)

Local: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Instituto de Química. Araraquara/SP

Período: 02/2015 – 03/2019

Atuação profissional

- 1) Empresa BRASCUBA Cigarrillos S.A – BRASCUBA (Souza Cruz Brasil - British American Tobacco (BAT))

Período: 2007-2014. Vínculo: Enquadramento funcional: funcionário, Carga horária: 48

h, Regime: Dedicación exclusiva.

Especialista em Manutenção do Produto. Analista de Qualidade do Produto.

2) Instituto de Investigaciones del Tabaco.

Período: 2001-2007. Vínculo: Servidor público. Pesquisador. Carga horária: 44 h,

Regime: Dedicación exclusiva.

Artigos publicados em revistas científicas

1. **VALERINO-DIAZ, A. B.**; GAMIOTE A-TURRO, D.; ZANATTA, C.; VILEGAS, W. GOMES MARTINS, C. H.; SOUZA SILVA, T.; RASTRELLI, L. AND SANTOS L.C. New polyhydroxylated steroidal saponins from *Solanum paniculatum* L. leaf alcohol tincture with antibacterial activity against oral pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 33, p. 8703–8713, 2018.

2. GAMIOTE A-TURRO, D.; CAMAFORTE, N. A. P.; **VALERINO-DIAZ, A. B.**; ORTIZ-NUÑEZ, Y.; RINALDO, D.; BOSQUEIRO, J.R.; DOKKEDAL, A.L. AND SANTOS, L.C. Qualitative and quantitative analysis of ethanolic extract and phenolic fraction of *Jatropha aethiopica* (Euphorbiaceae) leaves and their hypoglycemic potential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 6, p. 1419–1427, 2018.

3. SPENGLER, I.; **VALERINO, A.**; GONZÁLEZ, T.; GAMIOTE A, D.; GARCÍA, T. H. Estudio fitoquímico y de actividad alelopática del extracto de *n*-hexano de hojas de *Lantana trifolia* L. **Revista Cenic. Ciencias químicas**, v. 40, p. 33 - 37, 2009.

4. ALFONSO, M.; **VALERINO-DIAZ, A. B.** *Orobanche ramosa*: Primer reporte en Cuba en la estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas y posteriores investigaciones. **Agrotecnia de Cuba**, v. 31, p.10, 2007.

5. **DÍAZ, A. B. V.**; SPENGLER, I.; MAURICE, T.; GONZÁLEZ, T. Estudio fitoquímico preliminar del extracto de etanol de hojas de *Lantana trifolia* L. Actividad Alelopática. **Revista Cubana de Química**, v. XII, p. 228 - 232, 2005.

6. ESCOBAR, J. L.; GARCÍA, D.; **VALERINO, A.**; ZALDÍVAR, D.; HERNAEZ, E.; KATIME, I. Cephazoline sodium release from poly (N-isopropyl acrylamide-co-N,N-dimethylacrylamide) hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 91, p. 3433 - 3437, 2004.

7. ESCOBAR, J. L.; GARCIA, D. M.; **DÍAZ, A. B. V.**; ZALDÍVAR, D.; HERNAEZ, E.; KATIME, I. Influencia de la temperatura y la composición en el proceso de hinchamiento en hidrogeles de Poli-[N-isopropil acrilamida-N,N Dimetilacrilamida]. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v. 4, p.1 - 13, 2003.

Participação em congressos

1. **Valerino-Díaz, A. B.**; Gamiotea-Turro, D.; Zanatta, A. C.; Vilegas, W. and Santos, L. C. Apresentação Oral. **41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. New steroidal saponins from *Solanum paniculatum* (Solanaceae) leaves. 2018.
2. **Valerino-Díaz, A. B.**; Gamiotea-Turro, D.; Zanatta, A. C.; Vilegas, W. and Santos, L. C. Apresentação painel. **41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. New steroidal saponins from *Solanum paniculatum* (Solanaceae) leaves. 2018.
3. Gamiotea-Turro, D.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Ortiz-Nuñez, Y.; Rinaldo, D., Bosqueiro, J. R.; Camaforte, N. A. and Santos, L. C. Apresentação painel. **41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Chemical characterization of antidiabetic active ethanolic extract from *Jatropha aethiopica* (Euphorbiaceae) leaves. 2018.
4. Pimenta, L. P.; Pedroso, R. C. N.; Souza, W. P.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Santos dos, L. C.; Soares, M. A.; Tavares, D. C.; Silva, M. L. A.; Cunha, W. R.; Pauletti, P. M.; Januário, A. H. Apresentação painel **41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Pentacyclic triterpenes and the cytotoxic potential of *Vochysia divergens* Pohl stem extract. 2018.
5. **Valerino-Díaz, A. B.**; Gamiotea-Turro, D.; Gomes, M. C. H.; Vasconcelos, L. A. M.; Vilegas, W.; Santos dos, L. C. Apresentação Painel. **6th Brazilian Conference on Natural Products**. Antimicrobial Activity of the Ethanol Extract and the Saponin Fraction from *Solanum paniculatum* L. 2017.
6. Gamiotea-Turro, D.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Marcondes, T. H. and Santos, L. C. Apresentação Painel. **XIII Jornada Paulista de Plantas Mediciniais**. Phenolic compounds from *Jatropha aethiopica* used in the folk Cuban medicine. 2017.
7. **Valerino-Díaz, A. B.**; Collantes, J.; Boffill, L.; Souza, V. Apresentação Oral. **IV Workshop do Produto**. Tendências no mercado e principais produtos cubanos. 2014.
8. **Valerino-Díaz, A. B.**; Santos, S.; Boffill, L.; Silva, A. Apresentação Oral **I Workshop de Produto**. Visão Global dos Produtos em Cuba. Perspectivas Futuras. 2012.
9. Gamiotea-Turro, D.; Ruenes-Figueroa, M. E.; Álvarez-Valdés, M. E.; Aguado-Rodríguez, Y.; Lorenzo-Rodríguez, Y.; Ortiz-Nuñez, Y.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Spengler-Salabarría, I. Apresentação Painel. **III Congreso Internacional de Farmacología de Productos Naturales (FAPRONATURA 2012)**. Natural products: Bio-regulators in the seed germination for obtaining innocuous foods. 2012.
10. Gamiotea-Turro, D.; Aguado-Rodríguez, Y.; Ruenes-Figueroa, M. E.; Álvarez-Valdés, M. E.; Ortiz-Nuñez, Y.; Lorenzo-Rodríguez, Y.; **Valerino-Díaz, A. B.** **IV Congreso de Agricultura Tropical**. Extratos vegetais como promotores da germinação de sementes de hortaliças. 2012
11. Gamiotea-Turro, D.; Álvarez-Valdés, M. E.; Perera, W.; Aguado-Rodríguez, Y.; Ortiz-Nuñez, Y.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Spengler-Salabarría, I.; Lorenzo-Rodríguez, Y. **IV Congreso Iberoamericano y del Caribe de Productos y**

- Medicinas Naturales (ProdMedNatur 2010).** Propiedades anti-oxidantes da espécie *Jatropha aethiopica*. 2010
12. Gamiotea-Turro, D.; Álvarez-Valdés, M. E.; Aguado-Rodríguez, Y.; Ortiz-Nuñez, Y.; Lorenzo-Rodríguez, Y. and **Valerino-Díaz, A. B.** Usos etnomédicos de las especies de *Jatrophas* presentes en el Arboretum del INIFAT. **Ier Congreso Internacional LABIOFAM 2010. Ier Simposio de Productos Naturales en la Terapia contra el Cáncer.** 2010.
 13. Gamiotea-Turro, D.; Perera, W.; Álvarez-Valdés, M. E.; Lorenzo-Rodríguez, Y.; Ortiz-Nuñez, Y.; Aguado-Rodríguez, Y.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Spengler-Salabarría, I. Determinación de la capacidad antioxidante y del contenido de fenoles totales de la especie *Jatropha aethiopica*. **XVIII Congresso Ítalo-Latino-americano de Etno medicina. “Juan Tomás Roig y Mesa”. VIII Taller de los Productos Naturales.** 2009.
 14. Gamiotea-Turro, D.; Álvarez-Valdés, M. E.; Lorenzo-Rodríguez, Y.; Ortiz-Nuñez, Y.; Aguado-Rodríguez, Y.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Spengler-Salabarría, I. Propiedades etnomédicas de três espécies de *Jatropha* cultivadas em Cuba. **XVIII Congresso Ítalo- Latino-americano de Etno medicina. “Juan Tomás Roig y Mesa”. VIII Taller de los Productos Naturales.** 2009.
 15. Geada, D. **Valerino-Díaz, A. B.** Bioactive vegetal extracts and developed countries: Total characterization feasibility from an agricultural and biomedical perspective. **XV Congresso Internacional del Centro Nacional de Investigações Científicas.** 2010.
 16. Geada, D. **Valerino-Díaz, A. B.** Orobanche ramosa: Patents and allelopathic knowledge as the keys for a future successful integrate plague management in tobacco industry. **XV Congresso Internacional del Centro Nacional de Investigações Científicas.** 2010.
 17.) Geada, D. **Valerino-Díaz, A. B.** Potencialidades da alelopatía como uma estratégia para a nova gestão de projetos na industria do tabaco. **XV Congresso Internacional del Centro Nacional de Investigações Científicas.** 2010.
 18. Geada, D. **Valerino-Díaz, A. B.** Efeito alelopático do extrato etanol de folhas de *Lantana trifolia* L. em sementes de tabaco. **XVI Fórum da Ciencia y Tecnología del Instituto de Investigaciones del Tabaco.** 2010.
 19. Gamiotea-Turro, D.; Álvarez-Valdés, M. E.; Lorenzo-Rodríguez, Y.; Sánchez, R.; Hernández, Y.; González, M; Ortiz-Nuñez, Y.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Spengler-Salabarría, I. Estudio preliminar de germinación de semillas de interés económico utilizando extractos de plantas. **XVI Congreso Científico Internacional del INCA.** 2008.
 20. **Valerino-Díaz, A. B.**; Morera, T.; Spengler-Salabarría, I.; Maurice, T. Estudo da actividade alelopática de folhas de *Lantana trifolia* L. Isolamiento e caracterização de dois flavonoides. 2006.
 21. **Valerino-Díaz, A. B.**; Morera, T.; Spengler-Salabarría, I.; Maurice, T. Estudio fitoquímico preliminar del extrato de etanol de folhas de *Lantana trifolia* L. Actividade Alelopática. **18 Conferencia de Química,** 2005.
 22. **Valerino-Díaz, A. B.**; Morera, T.; Spengler-Salabarría, I.; Maurice, T. Apresentação Oral. La alelopatía, uma alternativa promissória para o controle de plantas daninhas. **Seminário Iberoamericano. Resistencia de malezas a herbicidas.** 2005.

23. **Valerino-Díaz, A. B.**; Morera, T.; Spengler-Salabarría, I.; Maurice, T. Apresentação Oral. Estudo fitoquímico biodirigido da actividade alelopática das folhas de *Lantana trifolia* L, Parte I. **XVII Congreso de la Asociación Internacional de Malezas**, 2005.
24. Escobar, J. L.; García, D.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Zaldívar, D.; Hernaez, E.; Katime, I. Estudo da transição crítica a baixas temperaturas (LCST) em hidrogéis de Poli N-Isopropil acrilamida- co- N,N dimetil acrilamida. **III Congreso Internacional de Biomateriales**. 2003.
25. Escobar, J. L.; García, D.; **Valerino-Díaz, A. B.**; Zaldívar, D.; Hernaez, E.; Katime, I. Cephazoline sodium release from poly(N-isopropyl acrylamide-co-N,N-dimethylacrylamide) hydrogels. **III Congreso Internacional de Biomateriales**. 2003.

Organização de cursos

1. 1^{ra} Escola de Verão do Instituto de Química de Araraquara (UNESP-SP) (Fevereiro 2018). Prof^a. Dr^a. Lourdes C. dos Santos, Prof^a. Dr^a. Isabele R. Nascimento, **Alexander B. Valerino Díaz**, Daylin Gamiotea-Turro, Ana C. Zanatta, Felipe Hilário, Marcelo Amorim, Mayra Fonseca, Weslei Botero.

Orientações

1. Supervisão no desenvolvimento do TCC do aluno João Pedro Molina Gil, estudante do curso de Bacharelado em Química do Instituto de Química de Araraquara; onde desenvolve o projeto intitulado Estudo Químico do extrato etanol 70 % das folhas de *Solanum Lycocarpum* L. (Solanaceae) com bolsa CNPq.
2. Supervisão no desenvolvimento do TCC da aluna Ivis Menendez Loriet, estudante do Técnico Médio em Química do Instituto Politécnico de Química da Havana, Cuba; onde desenvolveu o projeto intitulado Desenvolvimento de uma técnica analítica para a determinação de ditiocarbamatos em folhas de tabaco, 2003.
3. Supervisão no desenvolvimento do TCC da aluna Yaniris García, estudante de Licenciatura em Química da Faculdade de Química da Universidade da Havana, Cuba; onde desenvolveu o projeto intitulado Estudo fitoquímico e da atividade alelopática do extrato *n*-hexano em folhas de *Lantana trifolia* L, 2006.

“If you can’t fly then run, if you can’t run then walk, if you can’t walk then crawl, but whatever you do you have to keep moving forward.”

Martin Luther King Jr.

“Se você não pode voar, corra, se você não pode correr, caminhe, se você não pode andar, então rasteje, mas o que quer que você faça, você tem que seguir em frente”.

Martin Luther King Jr.

Dedicado a:

Pedro Juan Valerino Varona

O Maior Homem que eu já conheci na minha vida...

Meu Pai

In memoriam

AGRADECIMENTOS

Foram muitas pessoas e instituições que fizeram possível a culminação deste projeto, sem vocês esta caminhada não teria dado lugar.

Agradeço no primeiro lugar a Deus... por iluminar a minha vida e tornar o impossível em possível por isso e muito mais só posso ter gratidão.

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Lourdes Campaner dos Santos, para quem não tenho palavras para expressar a minha gratidão, pela dedicação e empenho na orientação desta tese, por ser um verdadeiro exemplo como pesquisadora, pela confiança dedicada a mim, sobre tudo, por ser mais do que orientadora. Muito obrigado mesmo professora...!!!

Ao professor Prof. Dr. Wagner Vilegas, por permitir desenvolver este projeto de pesquisa com esta maravilhosa espécie.

Às agências de fomento CAPES, FAPESP e CNPq, pelo apoio na realização das pesquisas desenvolvidas.

Aos funcionários do Instituto e Química, da Seção Técnica da Pós-graduação, aos servidores públicos da Biblioteca, da STAEPE, da STI, dos Serviços de Manutenção e Serviços Gerais por tudo o apoio administrativo e demais.

Aos professores, técnicos e doutorandos do Departamento de Química Orgânica por tudo o aprendizado que vocês transmitiram para mim, especialmente por sempre estarem dispostos a ajudar com muita paciência e carinho: Nivaldo Boralle, Lucinéia Vizzotto Marconcini, Ian Castro Gamboa, Ângela Regina Araújo, Isabelle Rodrigues Nascimento, Juliana Rodrigues, João Luiz Bronzel Junior, Mayra Fonseca e Camila Cunha.

Aos colegas do Laboratório de Fitoquímica, por toda a ajuda que vocês deram durante estes 4 anos, por todo o que com vocês aprendi que me ajudou a crescer como profissional, e por recebermos como uma família, muito obrigado mesmo: Wesley Botero, Felipe Hilário, João Pedro, Thayná Marcondes, Pedrinho, Ana Carolina Zanatta Silva (Aninha), Leonice, Henrique, Maiara Borges o meu carinho e amizade para todos!!!.

Aos meus amigos cubanos em Araraquara, a todos e cada uns de vocês minha profunda gratidão por constituir a minha família cubana no Brasil: Mayté Paredes, Celia M. Casado, Jorge R. Chanfrau, Bárbara M. Reyes, Deivys Leandro Portuondo, Alexander Batista, Ana Isa Pérez Cordoves, Leonar D. Granela, Michael Pérez Rodríguez, Yani, Vivian Ruiz, Diógenes Puentes e a sua família, Elsie Pérez e seu esposo Marcos. Aos médicos cubanos Jorge, Yadian e a sua esposa Erika por toda a amizade e carinho quando mais precisei e sempre estiveram dispostos a ajudar.

Aos meus amigos brasileiros que ganhei neste maravilhoso país, vocês desde já fazem parte de minha família por todo o que compartilhei junto a vocês, cada conversa, cada lugar que conheci com vocês, cada coisa que aprendi deste país. Enfim, GRATIDÃO meus amigos, eu levarei cada um de vocês comigo por sempre: Paulo Henrique e a sua família, Marcus Freitas, Marcelo Ferreira e a sua família, Cristiano e Valquíria Silva, Cecilia Onofrio, Profa. Dayana Barinotti, Reinaldo Bento e a sua família, Osmar e a sua família, Sueli Pereiras, Endrigo Zapata. Vocês fizeram os nossos dias no Brasil muito mais lindos!!!.

A mis amigos de siempre, que como digo más que amigos son mis hermanos, la familia que escogí. A pesar de la distancia, muchas gracias por estar siempre presentes en los momentos más difíciles dándome apoyo incondicional, la ayuda necesaria y el consejo oportuno: a Wilmer Perera, Jorge Luis Escobar Ivirico, Dunia García, Abel Gomez, Luis Hanoi Roldán, Maite Loretto. Muchas Gracias !!!.

A Beatriz Leander y mi sobrino Marlon Valerino por siempre estar presente en nuestro día a día a pesar de la distancia, por el apoyo diario, simplemente gracias...!!!

A mi suegra y mi cuñado por estar siempre en los momentos más difíciles apoyando incondicionalmente, en ustedes he encontrado una nueva familia.

A mi querida madre para tí vá especialmente dedicado este trabajo por ser la gran guerrera que eres. Por siempre inculcarme valores como la honestidade, la dedicación y la entrega, y por sobre todas las cosas por nunca dejarme desistir cuando en apariencia todo parecía más difícil. Que Dios te bendiga, muchas gracias mamá!!!!.

A mis hermanos Reynier Valerino y Martin Valerino por todo el apoyo que me han dado en todo este tempo, ya que han sido mi brazo derecho con nuestra madre en Cuba, por eso y mucho más les agradeceré eternamente...

Para minha filha Lauren Valerino meu maior tesouro, meu maior e mais lindo projeto. Minha princesa, minha outra metade, quero que você saiba que papai te ama muito e que você é e será sempre minha maior motivação e minha razão de viver. Eu te amo!!!.

Finalmente mais muito importante, gostaria de agradecer a minha esposa Daylin Gamiotea, por tudo o apoio nesta pesquisa, por me acompanhar nesta caminhada, por acreditar sempre em mim, mas sobre tudo por fazer junto a mim realidade este sonho!!!.

Enfim, sou grato a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que este sonho se tornasse realidade. **Muito Obrigado!!!.**

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.”

Marthin Luther King Jr.

RESUMO

A espécie *Solanum paniculatum* conhecida popularmente como *jurubeba*, é amplamente usada pela população brasileira pelos seus usos medicinais para o tratamento de disfunções digestivas e doenças do fígado. A espécie é a única dentro do gênero *Solanum* que está incluída na lista do Sistema Único de Saúde (SUS) de espécies para o desenvolvimento de formulações de fitoterápicos. Como parte de nossa contribuição ao entendimento em relação ao uso e benefício desta espécie, o objetivo do presente trabalho consistiu no estudo químico do extrato etanol 70 % obtido a partir das folhas de *S. paniculatum*, através da identificação, isolamento e elucidação estrutural dos principais metabólitos presentes no extrato, assim como avaliar as atividades citotóxica do extrato etanol 70% para linhagens tumorais, antibacteriana, leishmanicida, esquistossomosse e de viabilidade celular para células normais, tanto para o extrato como para a fração enriquecida de saponinas (**f'26**). Diferentes técnicas cromatográficas de isolamento e purificação (Sephadex LH-20, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Detector de Arranjo de Diodo (CLAE-DAD), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Detector de Índice de Refracção (CLAE-IR)) foram empregadas, o que possibilitou o isolamento de 11 substâncias que foram caracterizadas utilizando técnicas espectroscópicas (uni e bidimensionais) e a espectrometria de massas. O fracionamento do extrato etanol 70 % levou ao isolamento de 8 saponinas esteroidais inéditas denominadas: 6-O- α -L-ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23R,25S)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano (**1**), 6-O- α -L-ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23R,25R)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano (**2**), 6-O- β -D-xilopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23R,25S)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano (**3**), 6-O- β -D-xilopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23R,25R)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano (**4**), 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23S,25R)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano (**5**), 3-O- β -D-xilopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23S,25R)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano (**6**), 6-O- α -L-ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,25S)-1 β ,3 β ,6 α -triidroxi-5 α -espirostano (**7**), 6-O- β -D-xilopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,25S)-3 β ,4 β ,6 α -triidroxi-5 α -espirostano (**8**), assim como a rutina (**9**), o ácido cafeico (**10**) e o anidrido cafeico (**10a**). Os teores das saponinas (**1-8**) no extrato etanol 70 % foram realizadas por quantificação por UPLC-ESI-IT-MS, e demonstrou-se os altos conteúdos de saponinas que apresentou o extrato etanol 70 % ($333,6 \pm 0,09$ mg.g⁻¹ do extrato). O ensaio de citotoxicidade do extrato etanol 70 % mostrou uma baixa toxicidade com valores de CIM₅₀ superiores a 192,92 μ g mL⁻¹ para cada linhagem testada, no entanto, o extrato etanol 70 %, assim como a fração (**f'26**) mostraram-se ativos no estudo das atividades antibacteriana com valores de CIM entre 6,25-100 μ g/mL, leishmanicida (CI₅₀ menores de 15 μ g/mL) e esquistossomosse (CIM 12,5 μ g/mL). Os testes de viabilidade celular mostraram uma baixa citotoxicidade do extrato e da fração com valores de concentrações superiores a 625 μ g/mL e IC₅₀ de 316 μ g/mL. Os resultados obtidos forneceram dados relevantes em relação à composição química da espécie, avaliação biológica, assim como dos teores das saponinas presentes no extrato etanol 70 % das folhas de *S. paniculatum*.

Palavras chaves: *Solanum paniculatum*, saponina esteroidal, quantificação LC/MS, atividade leishmanicida, atividade antibacteriana.

ABSTRACT

Solanum paniculatum popularly known as *jurubeba*, is a species widely used in the Brazilian folk medicine for the treatment of liver and gastrointestinal disorders. Remarkably important it is the fact that is the only species of the genus *Solanum* that has been included in the Brazilian Health Unique System (SUS in Portuguese) list of medicinal plants of interest for the development of phytotherapeutic formulations. As part of our contribution toward understanding the uses and benefits derived from this species, the aim of the present work was the study of the chemical composition of the ethanolic 70 % extract of the leaves of *S. paniculatum*, through the identification, isolation and structural elucidation of the metabolites present in the extract. We also evaluated the cytotoxic activity of the alcoholic tincture (70 %) as well as, the antibacterial, antileishmanial, antischistosomal activities and cell viability test (normal cells) of the ethanolic 70 % extract and the enriched fraction of saponins (**f'26**). Different chromatographic techniques for isolation and purification were performed (Sephadex LH-20, High Performance Liquid Chromatography coupled to the Diode Array Detector (CLAE-DAD), High Performance Liquid Chromatography coupled to the Refractive Index Detector (HPLC-RI), which led to the isolation of 11 substances, that were characterized using spectroscopic techniques (one and two dimensional) and mass spectrometry. Fractionation of hydroalcoholic [ethanol (70%)] tincture led to the isolation of eight new steroidal saponins named: 6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopyranosyl-(22S,23R,25S)-3 β ,6 α ,23-trihydroxy-5 α -spirostane (**1**), 6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopyranosyl-(22S,23R,25R)-3 β ,6 α ,23-trihydroxy-5 α -spirostane (**2**), 6-O- β -D-xylopyranosyl-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopyranosyl-(22S,23R,25S)-3 β ,6 α ,23-trihydroxy-5 α -spirostane (**3**), 6-O- β -D-xylopyranosyl-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopyranosyl-(22S,23R,25R)-3 β ,6 α ,23-trihydroxy-5 α -spirostane (**4**), 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopyranosyl-(22S,23S,25R)-3 β ,6 α ,23-trihydroxy-5 α -spirostane (**5**), 3-O- β -D-xylopyranosyl-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopyranosyl-(22S,23S,25R)-3 β ,6 α ,23-trihydroxy-5 α -spirostane (**6**), 6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopyranosyl-(22S,25S)-1 β ,3 β ,6 α -trihydroxy-5 α -spirostane (**7**), 6-O- β -D-xylopyranosyl-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopyranosyl-(22S,25S)-3 β ,4 β ,6 α -trihydroxy-5 α -spirostane (**8**), as well as rutin (**9**), caffeic acid (**10**) and caffeic anhydride (**10a**). Saponins (**1-8**) quantification in the 70% ethanol extract were performed by UPLC-ESI-IT-MS, this procedure allowed to determine the high content of saponins in the tincture ($333.6 \pm 0,09 \text{ mg.g}^{-1}$). The antitumor test for the ethanolic 70 % extract showed low activity against the cell tested with MIC values higher than 192.92 $\mu\text{g/mL}$, nonetheless, the ethanolic extract as well as the **f'26** fraction were active in the study of antibacterial (MIC values ranging between 6.25-100 $\mu\text{g/mL}$), leishmanicidal (values of IC_{50} under 15 $\mu\text{g/mL}$) and schistosomicidal activities (MIC 12.5 $\mu\text{g/mL}$). The cell viability test showed a low cytotoxicity of ethanolic 70 % extract and the saponin fraction, with concentrations values up to 625 $\mu\text{g/mL}$ and IC_{50} values from 316 $\mu\text{g/mL}$. The obtained results provided evidence regarding the chemical composition of the species, biological activities as well as the saponins content in the tincture.

Keywords: *Solanum paniculatum*, spirostanic saponins, LC/MS quantification, leishmanicidal activity, antibacterial activity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A549	Linhagens de células de adenocarcinoma humano de pulmão
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ACOH	Ácido acético
BAW	<i>Butanol:Acetic Acid:Water</i> (Butanol: Ácido acético: Água)
^{13}C	Isótopo do carbono 13
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CD_3OD	Metanol deuterado
CHCl_3	Clorofórmio
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE-ESI-MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – Ionização por Electrospray - acoplada a Espectrometria de Massas
CLAE-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Arranjo de diodos
CLAE-IR	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Índice de Refração
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
δ_{H}	Deslocamento químico de hidrogênio
δ_{C}	Deslocamento químico de carbono
D_2O	Água deuterada
DAD	Detector de arranjo de Diodos
DEPT-135	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DPR	Desvio Padrão Relativo
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometria de Massas
ESI	<i>Electrospray ionization</i> (Ionização por electrospray)
ESIMS/MS	<i>Electrospray ionization Mass Spectrometry</i> (Ionização por electrospray – Espectrometria de massas)
ESI-QqTOF-MS	Fonte de ionização por eletrospray, analisador tempo de voo e detector de espectrometria de massas.
EtOH	Etanol

FIA-ESI-IT-MS	<i>Flow Injection Analysis – ElectroSpray - Ion Trap – Mass Spectrometry</i> (Análise de injeção de fluxo – Ionização por Electrospray – Ion Trap – Espectrometria de Massas)
¹ H	Isótopo do hidrogênio
¹ H- ¹ H COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i> ¹ H- ¹ H
H ₂ O	Água
HCl	Ácido clorhídrico
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HepG2	Linhagens de células de carcinoma de fígado hepatocelular humano
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
HRESIMS/MS	<i>High Resolution ElectroSpray Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de massas de alta resolução com fonte de ionização por electrospray)
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
IR	Índice de Refração
IC ₅₀	<i>Midium Inhibitory Concentration</i> (50% da Concentração inibitória mínima)
J	Constante de acoplamento
LC-MS	Liquid Chromatography - Mass Spectrometer (Cromatografia Líquida – Espectrometria de Massas)
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LM3	Linhagem celular: câncer de mama murino
LP-07	Linhagem celular: adenocarcinoma de pulmão murino
MCF-7	Linhagem celular: adenocarcinoma de mama humano
MeOH	Metanol
MRM	<i>Multiple Reaction Monitoring</i> (Monitoramento de Reações Múltiplas)
MTT	Brometo de 3-((4,5-dimetiltiazol)-2, il)-2,5-difeniltetrazólio
m/z	Relação massa/carga
¹⁵ N	Isótopo do nitrogênio
NaHCO ₃	Hidrogeno carbonato de sódio
NH ₄ OH	Hidróxido de amonia
Nm	Nanometros
NOESY - 1D	<i>Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy – One Dimension</i>
NP-PEG	Produto Natural -difenilborato de aminoetanol/polietilenglicol
Ppm	Partes por milhão
PTFE	Politetrafluoroetileno
QqTOF	<i>Quadrupole Time Of Flight</i> (Analisador Quadrupolo e Tempo de vôo)

RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN- ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN- ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RPMI	Meio de cultura para o crescimento de células (<i>Roswell Park Memorial Institute medium</i>)
SIM	<i>Selected Ion Monitoring</i> (Monitoramento de Íon Selecionado)
SPE	<i>Solid Fase Extraction</i> (Extração em fase sólida)
TFA	Ácido Trifluoracético
TOCSY-1D	<i>Total Correlation Spectroscopy One-Dimension</i>
UNESP-SP	Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” – São Paulo
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UPLC-ESI-IT-MS	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography - ElectroSpray Ionization - Ion Trap - Mass Spectrometry</i> (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência - Ionização por ElectroSpray - Ion Trap - Espectrometria de massas)
UPLC-MS	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography - Mass Spectrometry</i> (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência - Espectrometria de massas)
UV	Ultravioleta
XTT	Hidrato de benzenilsulfito 3'-[1-[(fenilamino)-carbonil-3,4-tetrazólio]-bis-(4-metoxi-6-nitro)] de sódio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Substâncias isoladas das folhas de <i>Solanum torvum</i>	26
Figura 2. Espécie de <i>Solanum paniculatum</i> L. (jurubeba).	27
Figura 3. Substâncias isoladas das folhas, frutos e ramos de <i>S. paniculatum</i>	29
Figura 4. Sapogenina alcaloidal.	32
Figura 5. Sapogenina triterpênica.	32
Figura 6. Sapogenina espirostânica.	32
Figura 7. Sapogenina furostânica.....	32
Figura 8. Sapogenina furoespirostânica.	33
Figura 9. Biossíntese de saponinas esteroidais.	34
Figura 10. Distribuição das massas das frações após separação por permeação em gel em Sephadex LH-20 e agrupamentos por CCD.....	44
Figura 11. Distribuição das massas das frações após separação por permeação em gel em Sephadex LH-20 e agrupamentos por CCD do extrato n-butanol.	47
Figura 12. Reação de redução do MTT ao formazan.	50
Figura 13. Fluxograma de preparo e fracionamento do extrato etanol 70% das folhas de <i>S. paniculatum</i>	58
Figura 14. Perfil cromatográfico em CLAE-DAD do extrato etanol 70% das folhas de <i>S. paniculatum</i> e espectros no UV representativos a 270 nm.....	60
Figura 15. Perfil cromatográfico da fração R e espectros no UV representativos a 270 nm.	62
Figura 16. Perfil cromatográfico do extrato <i>n</i> -butanol e espectros no UV representativos a 270 nm.....	63
Figura 17. Perfil cromatográfico do extrato aquoso e espectros no UV representativos a 270 nm.....	64
Figura 18. Perfil cromatográfico da fração f^o26 no CLAE-IR.....	65
Figura 19. Espectro de RMN- ¹ H da substância 1 (14,1 T, CD ₃ OD).	67
Figura 20. Espectro TOCSY-1D da substância 1 . Irradiação em δ _H 4,26.	68
Figura 21. Espectro TOCSY-1D da substância 1 . Irradiação em δ _H 5,13.	68
Figura 22. Espectro de RMN- ¹³ C da substância 1 . (14,1 T, CD ₃ OD).	69
Figura 23. Espectro DEPT-135° da substância 1 . (14,1 T, CD ₃ OD).	70
Figura 24. Mapa de contorno HMBC da substância 1 . (14,1 T, CD ₃ OD).	71
Figura 25. Principais correlações no mapa de contorno HMBC para a aglicona da substância 1	71
Figura 26. Espectro NOESY-1D da substância 1 . Irradiação seletiva em δ _H 3,56.	72
Figura 27. Interação via NOESY- 1D do H-23 com o H-20 na substância 1	72
Figura 28. Espectro NOESY-1D substância 1 . Irradiação seletiva em δ _H 0,81 73	
Figura 29. Espectro NOESY-1D da substância 1 . Irradiação seletiva em δ _H 0,87. (14,1 T, CD ₃ OD).	74
Figura 30. Principais interações observadas no espectro NOESY-1D para a substância 1	74
Figura 31. Correlações ¹ H- ¹ H COSY da substância 1	75
Figura 32. Expansão do espectro ¹ H- ¹ H COSY da substância 1 . (14,1 T, CD ₃ OD).	75
Figura 33. Configuração do estereocentro C-22 para 23-hidroxi-espirostanos.	76
Figura 34. Espectro HRESI-MS da substância 1 . Modo positivo.	78
Figura 35. Espectro ESIMS/MS do íon molecular [M+H] ⁺ <i>m/z</i> 741,4410 da substância 1 . Modo positivo.....	78
Figura 36. Estrutura da substância 1	79
Figura 37. Espectro de RMN- ¹ H da substância 2 (14,1 T, CD ₃ OD).	80
Figura 38. Espectro de RMN- ¹³ C da substância 2 (14,1 T, CD ₃ OD).	80
Figura 39. Espectro ¹ H- ¹ H COSY da substância 2 (14,1 T, CD ₃ OD) 81	
Figura 40. Espectro HSQC da substância 2 (14,1 T, CD ₃ OD).....	81
Figura 41. Mapa de contorno HMBC da substância 2 . (14,1 T, CD ₃ OD).	82

Figura 42. Espectro NOESY-1D da substância 2 . Irradiação seletiva em δ_H 0,81. (14,1 T, CD ₃ OD).....	83
Figura 43. Espectro NOESY-1D da substância 2 . Irradiação seletiva em δ_H 0,87.	83
Figura 44. Espectro NOESY-1D da substância 2 . Irradiação seletiva em δ_H 3,51.	84
Figura 45. Espectro HRESI-MS da substância 2 . Modo positivo.	85
Figura 46. Estrutura da substância 2	85
Figura 47. Espectro de RMN- ¹ H da substância 3 (14,1 T, CD ₃ OD).	86
Figura 48. Espectro de RMN- ¹³ C da substância 3 (14,1 T, CD ₃ OD).	87
Figura 49. Espectro DEPT-135 da substância 3 (14,1 T, CD ₃ OD).	88
Figura 50. Espectro NOESY-1D do composto 3 . Irradiação seletiva em δ_H 3,56.	89
Figura 51. Espectro NOESY-1D da substância 3 . Irradiação seletiva em δ_H 0,86.	89
Figura 52. Espectro NOESY-1D do composto 3 . Irradiação seletiva em δ_H 0,81.	90
Figura 53. Espectro TOCSY-1D do composto 3 . Irradiação em δ_H 4,30.	91
Figura 54. Espectro TOCSY-1D do composto 3 . Irradiação em δ_H 4,47.	91
Figura 55. Espectro HRESI-MS da substância 3 . Modo positivo.	92
Figura 56. Estrutura da substância 3	93
Figura 57. Espectro de RMN- ¹ H da substância 4 (14,1 T, CD ₃ OD).	94
Figura 58. Espectro de RMN- ¹³ C da substância 4 (14,1 T, CD ₃ OD).	94
Figura 59. Espectro DEPT-135° da substância 4 (14,1 T, CD ₃ OD).	95
Figura 60. Espectro NOESY-1D da substância 4 . Irradiação seletiva em δ_H 0,87. (14,1 T, CD ₃ OD).	96
Figura 61. Espectro NOESY-1D da substância 4 . Irradiação seletiva em δ_H 0,81.	96
Figura 62. Espectro NOESY-1D da substância 4 . Irradiação seletiva em δ_H 3,52 (14,1 T, CD ₃ OD).	97
Figura 63. Mapa de contorno HMBC da substância 4 (14,1 T, CD ₃ OD).	98
Figura 64. Espectro TOCSY-1D da substância 4 . Irradiação em δ_H 4,31.	99
Figura 65. Espectro TOCSY-1D da substância 4 . Irradiação em δ_H 4,47.	99
Figura 66. Espectro HSQC da substância 4 . (14,1 T, CD ₃ OD).	100
Figura 67. Espectro HRESI-MS da substância 4 . Modo positivo.	100
Figura 68. Estrutura da substância 4	101
Figura 69. Espectro de RMN- ¹ H da substância 5 (14,1 T, CD ₃ OD).	102
Figura 70. Expansão do mapa de contorno HMBC da substância 5	103
Figura 71. Expansão do espectro ¹ H- ¹ H COSY da substância 5 . (14,1 T, CD ₃ OD). .	104
Figura 72. Interação via NOESY-1D do H-23 δ_H 3,62 com a CH ₃ -21 δ_H 1,15 na substância 5	104
Figura 73. Espectro NOESY-1D da substância 5 . Irradiação seletiva em δ_H 3,62 (14,1 T, CD ₃ OD).	105
Figura 74. Espectro HRESI-MS da substância 5 . Modo positivo.	106
Figura 75. Estrutura da substância 5	106
Figura 76. Espectro de RMN- ¹ H da substância 6 (14,1 T, CD ₃ OD).	107
Figura 77. Expansão do mapa de contorno HMBC da substância 6 (14,1 T, CD ₃ OD).	109
Figura 78. Expansão do espectro ¹ H- ¹ H COSY da substância 6 (14,1 T, CD ₃ OD).	110
Figura 79. Espectro NOESY-1D da substância 6 . Irradiação seletiva em δ_H 3,62	111
Figura 80. Espectro HRESI-MS da substância 6 . Modo positivo.	111
Figura 81. Estrutura da substância 6	112
Figura 82. Espectro de RMN- ¹ H da substância 7 (14,1 T, CD ₃ OD).	113
Figura 83. Espectro de RMN- ¹³ C da substância 7 (14,1 T, CD ₃ OD).	114
Figura 84. Espectro TOCSY-1D da substância 7 . Irradiação em δ_H 4,26.	115
Figura 85. Espectro TOCSY-1D da substância 7 . Irradiação em δ_H 5,13.	116
Figura 86. Mapa de contorno HMBC da substância 7 (14,1 T, CD ₃ OD).	116
Figura 87. Espectro DEPT-135° da substância 7 (14,1 T, CD ₃ OD).	117
Figura 88. Ampliação do mapa de contorno HMBC da substância 7	118
Figura 89. Espectro NOESY-1D da substância 7 . Irradiação seletiva em δ_H 0,85	119

Figura 90. Espectro NOESY-1D da substância 7 . Irradiação seletiva em δ_H 0,87 (14,1 T, CD ₃ OD).....	120
Figura 91. Ampliação do espectro ¹ H- ¹ H COSY da substância 7 (14,1 T, CD ₃ OD) ..	120
Figura 92. Espectro NOESY-1D da substância 7 . Irradiação seletiva em δ_H 2,53 (14,1 T, CD ₃ OD).....	121
Figura 93. Espectro HRESI-MS da substância 7 . Modo positivo.....	122
Figura 94. Espectro HSQC da substância 7 (14,1 T, CD ₃ OD).....	123
Figura 95. Estrutura da substância 7	123
Figura 96. Espectro de RMN- ¹ H da substância 8 (14,1 T, CD ₃ OD).....	124
Figura 97. Espectro de RMN- ¹³ C da substância 8 (14,1 T, CD ₃ OD).....	125
Figura 98. Ampliação do espectro ¹ H- ¹ H COSY da substância 8 (14,1 T, CD ₃ OD) ..	125
Figura 99. Espectro TOCSY-1D da substância 8 . Irradiação em δ_H 4,30	126
Figura 100. Espectro TOCSY-1D da substância 8 . Irradiação em δ_H 4,47	127
Figura 101. Mapa de contorno HMBC da substância 8 (14,1 T, CD ₃ OD).....	128
Figura 102. Espectro NOESY-1D da substância 8 . Irradiação seletiva em δ_H 0,87 ..	129
Figura 103. Espectro NOESY-1D da substância 8 . Irradiação seletiva em δ_H 0,84 (14,1 T, CD ₃ OD).....	129
Figura 104. Espectro NOESY-1D da substância 8 . Irradiação seletiva em δ_H 2,51 (14,1 T, CD ₃ OD).....	130
Figura 105. Espectro HSQC da substância 8 (14,1 T, CD ₃ OD).....	131
Figura 106. Espectro HRESI-MS da substância 8 . Modo positivo.....	131
Figura 107. Estrutura da substância 8	132
Figura 108. Saponinas espirostânicas inéditas (1-8) isoladas do extrato etanol 70 % das folhas de <i>S. paniculatum</i>	139
Figura 109. Espectro de RMN - ¹ H da substância 9 (14,1 T, CD ₃ OD).....	141
Figura 110. Estrutura da substância 9	143
Figura 111. Espectro RMN- ¹ H e ampliação da mistura de 10 + 10a (14,1T, CD ₃ OD).....	145
Figura 112. Estrutura da substância 10	146
Figura 113. Espectro RMN- ¹ H da mistura de 10 + 10a (14,1T, CD ₃ OD).....	147
Figura 114. Estrutura da substância 10a	148
Figura 115. Cromatograma do extrato etanol 70 % das folhas de <i>S. paniculatum</i>	149
Figura 116. Curvas analíticas obtidas pelo método de calibração externa das soluções padrões 1-8	150
Figura 117. Cromatograma de monitoramento de íon selecionado (SIM) <i>m/z</i> 725 correspondente ao extrato etanol 70 %. Cromatogramas dos padrões 3, 4, 6 e 8 ...	154
Figura 118. Cromatograma de monitoramento de íon selecionado (SIM) <i>m/z</i> 739 correspondente ao extrato etanol 70 %. Cromatogramas dos padrões 1, 2, 5 e 7 ...	154
Figura 119. Gráfico comparativo entre os valores de CIM ₅₀ para as linhagens tumorais testadas.....	157
Figura 120. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em µg/mL do extrato etanol 70% e a fração f'26 frente às cepas de bactérias testadas.	159
Figura 121. Reação de redução do XTT ao formazan.....	168
Figura 122. Viabilidade celular de fibroblastos de pulmão de humano (GM07492A) tratadas com diferentes concentrações (µg mL ⁻¹) do extrato etanol 70 %.	168
Figura 123. Viabilidade celular de fibroblastos de pulmão de humano (GM07492A) tratadas com diferentes concentrações (µg mL ⁻¹) da fração f'26	169

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Massa do extrato etanol 70% e rendimento obtidos da percolação das folhas de <i>S. paniculatum</i>	59
Tabela 2. Massas do extrato <i>n</i> -butanol e aquoso e rendimento obtidos na partição líquido-líquido.....	63
Tabela 3. Deslocamentos químicos de hidrogênio para as substâncias 1-8^a	133
Tabela 4. Deslocamentos químicos de carbono (ppm) para as substâncias 1-8^a	136
Tabela 5. Deslocamentos químicos de hidrogênio e ¹³ C da substância 9	142
Tabela 6. Deslocamentos químicos de hidrogênio da substância 10	145
Tabela 7. Deslocamentos químicos de hidrogênio da substância 10a	147
Tabela 8. Níveis de concentrações usados para a construção das curvas analíticas para os padrões 1-8	150
Tabela 9. Parâmetros das curvas analíticas dos padrões 1-8	152
Tabela 10. Valores de limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para os padrões (1-8).....	153
Tabela 11. Desvio padrão relativo (DPR) (%) das áreas calculadas para os picos correspondentes as substâncias 1-8	155
Tabela 12. Teores das saponinas isoladas no extrato etanol 70 % das folhas de <i>S. paniculatum</i>	156
Tabela 13. Valores de citotoxicidade para o extrato etanol 70% das folhas de <i>S. paniculatum</i>	157
Tabela 14. Valores de CIM para o extrato etanol 70% e fração f'26 frente às cepas de bactérias testadas.....	160
Tabela 15. Atividade leishmanicida do extrato etanol 70 % e a fração f'26 contra as formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> e determinação dos valores de concentração inibitória 50 % (CI ₅₀ µg/mL).	163
Tabela 16. Viabilidade dos vermes adultos de <i>S. mansoni</i> (em porcentagem) frente ao extrato etanol 70% e a fração f'26	166
Tabela 17. Valores de IC ₅₀ para linhagem celular (GMO7492A) obtidos após tratamento durante 24 horas com extrato etanol 70 % e fração f'26 das folhas <i>S. paniculatum</i>	169

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	24
1.1 A família Solanaceae.....	25
1.2 Gênero <i>Solanum</i>	25
1.3 <i>Solanum paniculatum</i> L.	27
1.4 Saponinas esteroidais.....	31
1.5 Biossíntese de saponinas esteroidais.....	33
1.6 Quantificação de saponinas esteroidais.	35
2 OBJETIVOS.....	37
2.1 Objetivo geral:.....	37
2.2 Objetivos específicos:	37
3 PARTE EXPERIMENTAL.	38
3.1 Materiais, Reagentes e Soluções.	38
3.2 Procedimentos gerais instrumentais.	38
3.3 Metodologia.	42
3.3.1 Etapa Botânica.....	42
3.3.2 Etapa Farmacognóstica.	42
3.3.3 Etapa Química.....	42
3.3.4 Etapa de avaliação das atividades biológicas.	50
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.	58
4.1 Etapa química.....	58
4.1.1 Obtenção do extrato das folhas de <i>S. paniculatum</i> por percolação. ...	58
4.1.2 Análise do extrato etanol 70% por CLAE-DAD.	59
4.1.3 Análise da fração R por CLAE-DAD.....	61
4.1.4 Extração Líquido-Líquido.....	62
4.1.5 Análise dos extratos <i>n</i> -butanol e aquoso por CLAE-DAD.	63

4.1.6 Separações em CLAE-IR semi-preparativo da fração f'26.....	64
4.2 Elucidação estrutural das substâncias isoladas.....	65
4.2.1 Elucidação estrutural do substância 1.....	65
4.2.2 Elucidação estrutural da substância 2.....	79
4.2.3 Elucidação estrutural da substância 3.....	86
4.2.4 Elucidação estrutural da substância 4.....	93
4.2.5 Elucidação estrutural da substância 5.....	101
4.2.6 Elucidação estrutural da substância 6.....	107
4.2.7 Elucidação estrutural da substância 7.....	112
4.2.8 Elucidação estrutural da substância 8.....	123
4.2.9 Elucidação estrutural da substância 9.....	140
4.2.10 Elucidação estrutural da substância 10 e 10a.....	144
4.3. Quantificação no extrato etanol 70 % das saponinas isoladas.	148
4.3.1 Linearidade e sensibilidade.....	149
4.3.2 Limites de detecção e quantificação.	152
4.3.3 Seletividade.....	153
4.3.4 Precisão.	155
4.3.5 Quantificação das saponinas isoladas.	155
4.4 Atividades biológicas.	156
4.4.1 Determinação da atividade citotóxica.....	156
4.4.2 Avaliação da atividade antibacteriana.....	158
4.4.3 Avaliação da atividade leishmanicida.....	161
4.4.4 Avaliação da atividade esquistossomicida.	164
4.4.5 Avaliação da citotoxicidade em células normais.	167
4 CONCLUSÕES.	170
REFÊRENCIAS.....	172

1 INTRODUÇÃO

A biodiversidade brasileira abriga em seus variados ecossistemas uma grande diversidade de plantas, constituindo-se uma das mais ricas floras do mundo e, portanto, uma fonte promissória de produtos naturais, assim como um arsenal de matéria-prima para a produção de fitofármacos e fitoterápicos (PINTO, 2013).

Todavia até o momento pouco se conhece sobre a composição química de aproximadamente 99,6 % das plantas que pertencem à flora brasileira (PINTO et al., 2001), e segundo os pesquisadores estima-se que pelo menos a metade das espécies vegetais existentes no Brasil, possui alguma propriedade medicinal (CASTRO, GAVILANES, 2000). Portanto os estudos da composição química das espécies a partir da identificação dos grupos de substâncias relevantes, assim como o isolamento e elucidação estrutural, constituem hoje o principal objetivo de pesquisadores pertencentes a muitas áreas do conhecimento como a química, a farmacologia e a biologia (VERMA, SINGH, 2008).

De fato, diversas substâncias com diversificadas e complexas estruturas químicas, já foram identificadas como princípios ativos de vários extratos vegetais pesquisados pela farmacognosia mundial. Uma vertente de pesquisas dentro da farmacognosia que tem sido utilizada com o objetivo de facilitar o processo de descoberta de novas substâncias é a etnofarmacologia. A etnofarmacologia é o ramo da etnobiologia/etnobotânica que associa informações obtidas de comunidades que fazem o uso da flora medicinal com estudos químico-farmacológicos realizados em laboratórios especializados. Não é o interesse principal isolar todas as substâncias de um determinado extrato vegetal, e sim identificar as substâncias responsáveis pela ação farmacológica (ELISABETSHY, 2001). Assim, existe o interesse em conhecer os principais princípios ativos das plantas com potencial uso tanto na medicina humana, quanto na medicina veterinária.

1.1 A família Solanaceae.

A família Solanaceae é uma das maiores entre as Angiospermas, apresentando uma ampla distribuição geográfica em todos os continentes, desde desertos até florestas tropicais, predominando em regiões de clima tropical a clima temperado. Muitas espécies pertencentes à família são encontradas especialmente nas Américas Central e do Sul, onde há um grande centro de diversidade e endemismo (SOARES et al., 2007). A família contém 150 gêneros e cerca de 3000 espécies (SOUZA e LORENZI, 2012), apresentando uma alta diversidade de espécies de importância econômica como a batata (*S. tuberosum* L.), o tomate (*S. lycopersicum* L.) (FRIEDMANN et al., 2005), a berinjela (*S. melongena* L.) (GONÇALVES et al., 2006), o jiló (*S. gilo* L.), o tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (FRIEDMANN et al., 2005), as pimentas verdes e vermelhas (*Capsicum* spp), dentre outras (VAZ, 2008). Algumas espécies de importância medicinal pertencentes à família Solanaceae encontram-se agrupadas nos seguintes gêneros (SHAH et al., 2013): ***Solanum***, *Atropa*, *Capsicum*, *Datura*, *Withania*, *Hyoscyamus*.

Tem sido relatado o uso de muitas espécies pertencentes a estes gêneros para o tratamento de doenças relacionadas com a artrite, problemas gástricos (úlceras gástricas), problemas no intestino, do fígado, câncer de mama, dores de cabeça e náuseas, como analgésicos, como antiviral, dentre muitas outras (SHAH et al., 2013).

1.2 Gênero *Solanum*.

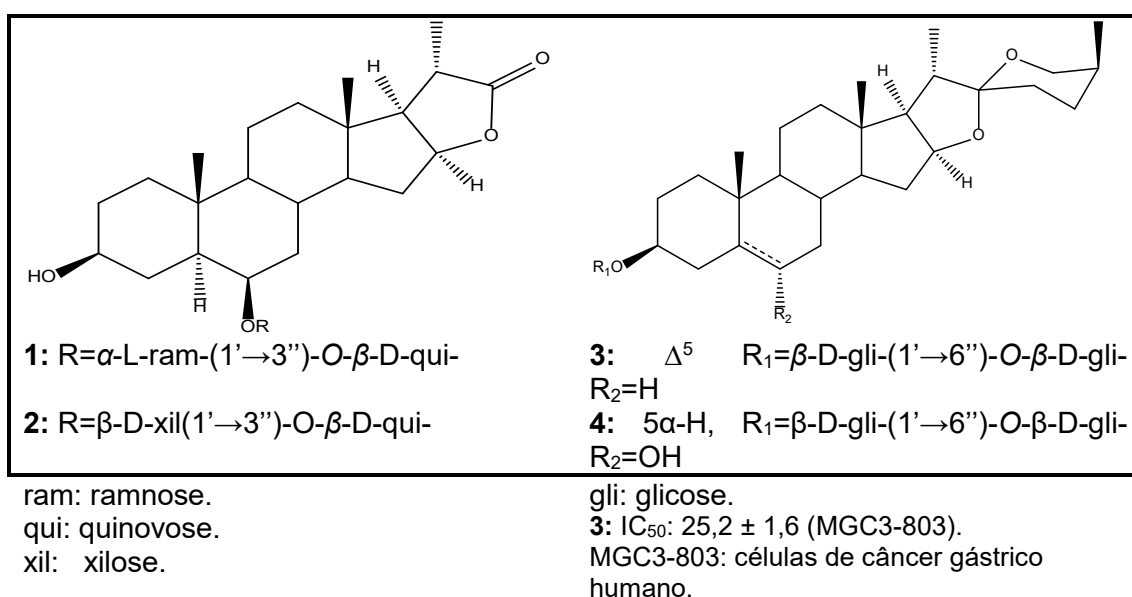
O gênero *Solanum* é um dos mais importantes e complexos dentro da família Solanaceae (PEREIRA et al., 2016), estando entre os mais numerosos do mundo em número de espécies (cerca de 1500 espécies). Além das espécies cultivadas, são relatadas cerca de 200 espécies selvagens, algumas nativas do Brasil. Essas espécies selvagens também apresentam relevância comercial na medida em que podem constituir plantas invasoras ou apresentar potencial medicinal (SILVA et al., 2003)

Estas espécies fazem parte dos sistemas ecológicos pertencentes às regiões tropicais e subtropicais e têm na América do Sul seu centro de diversidade e distribuição (NEE, 1999).

Muitas destas espécies são utilizadas na medicina popular brasileira (AGRA; BHATTACHARYYA, 1999), devido às propriedades biológicas mostradas por várias espécies do gênero, como a atividade antioxidante (*S. tuberosum* e *S. lyratum*), proteção contra as úlceras gástricas (*S. nigrum*), atividade antineoplásica (*S. nigrum*, *S. lyratum*, *S. dulcamara*, *S. capsicastrum*, *S. trilobatum*, *S. indicum*) (AMIR, KUMAR, 2006). As plantas do gênero *Solanum* têm a capacidade de biossintetizar esteroides, alcaloides, livres ou na forma de heterosídeos, saponinas, flavonoides glicosilados, assim como outros metabólitos secundários estruturalmente diversificados e complexos, (IKEDA et al., 2003).

Estudos fitoquímicos preliminares das folhas de espécies pertencentes ao gênero *Solanum* forneceram substâncias do tipo saponinas esteroidais (LI et al., 2014) e alcaloidais com atividade citotóxica (ARTHAN et al., 2002), antiviral (NOHARA, 2004), anti-inflamatória (EMMANUEL et al., 2007) e antifúngica (ROWAN et al., 1983). As substâncias isoladas das folhas de *Solanum torvum* com atividade citotóxica (LU et al., 2009) são mostradas na Figura 1.

Figura 1. Substâncias isoladas das folhas de *Solanum torvum*.

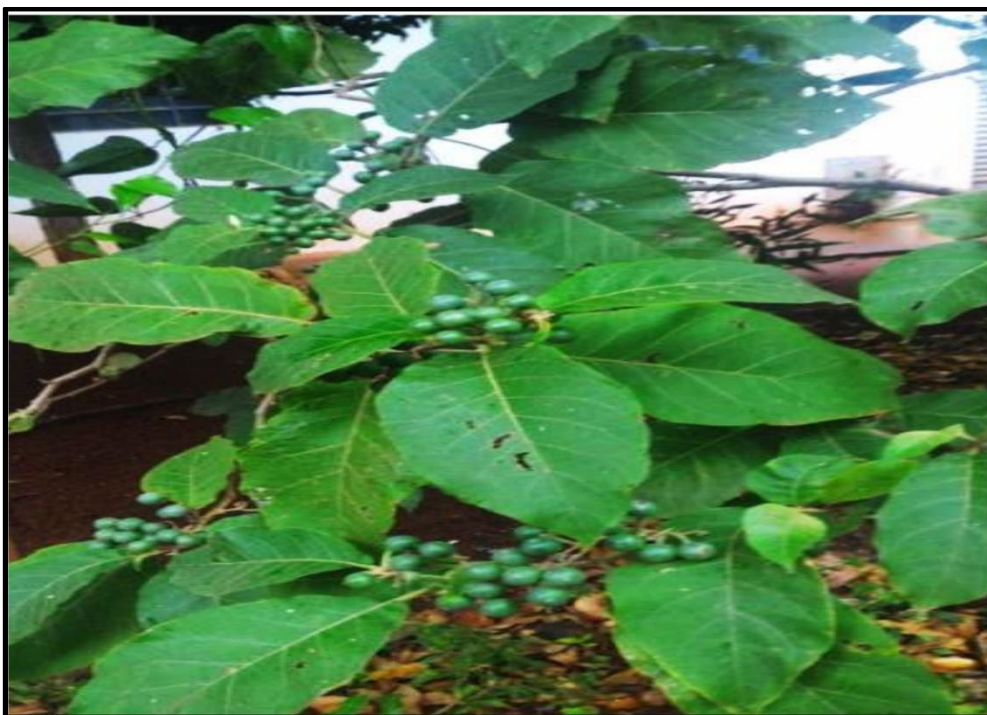


Estas descobertas sugerem que o estudo fitoquímico de algumas destas espécies possam levar a descobertas de novas substâncias com potencial farmacológico para uso da população.

1.3 *Solanum paniculatum* L.

Solanum paniculatum L. (Figura 2) conhecida popularmente como “jurubeba” (LORENZI e MATOS, 2002) é uma planta medicinal de sabor amargo usada em todo o Brasil como tônico e aperitivo há várias décadas. A espécie é a única do gênero *Solanum* que está na relação de plantas do Sistema Único de Saúde (SUS) para o desenvolvimento de fitoterápicos pela farmacopeia Brasileira (FARMACOPÉIA, 1988).

Figura 2. Espécie de *Solanum paniculatum* L. (jurubeba).



Fonte: Imagem fornecida pelo autor.

Esta espécie é muito conhecida pela população brasileira e destaca-se pelos seus diferentes usos medicinais (MIRANDA et al, 2013) e por sua ampla distribuição.

Nativa do Brasil, a espécie é encontrada nas regiões: Norte (Pará), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe), Centro-oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo), Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina) (MINISTÉRIO DE SAÚDE, ANVISA, 2012).

Solanum paniculatum L. é muito utilizada pela população para o tratamento de algumas doenças, sendo as raízes indicadas no tratamento de anemias, desordens hepáticas e digestivas e também são usadas no tratamento da artrite (VIEIRA JÚNIOR et al., 2015).

Por outro lado, as folhas são usadas na medicina popular para o tratamento de afecções como: distúrbios gástricos (fala de apetite, flatulência e azia), cicatrizante, diurético, tônico, tratamento da anemia, artrite, febrífugo, bronquite e tosse, e nos distúrbios hepáticos (hepatites e icterícia) (NURIT-SILVA et al., 2012).

O estudo fitoquímico prévio realizado a partir do extrato etanol 70% dos ramos de *S. paniculatum* mostrou a presença de várias saponinas esteroidais e o ácido caféico, enquanto que do extrato etanol 70% das folhas foram isoladas várias saponinas esteroidais, a rutina, assim como uma mistura de flavonoides rutina e quercetina (VIEIRA JÚNIOR et al., 2015).

Nosso grupo de pesquisa, dentro do Programa Biota-Fapesp (número processo: 2009/52237-9, coordenado pelo Prof. Wagner Vilegas) realizou alguns estudos com o extrato etanol 70 % das folhas, frutos e ramos de *S. paniculatum*, onde foram identificadas as substâncias (22*R*, 23*S*, 25*R*)-3β,6α,23-triidroxi-5α-espirostano-6-*O*-β-*D*-xilopiranosil-(1''''→3''')-*O*-[β-*D*-quinovopiranosil(1''''→2')]-*O*-[α-*L*-ramnopiranosil(1''→3')]-*O*-β-*D*-quinovopiranoside e a yamogenina-3-*O*-β-*D*-glucopiranosil(1''→6')-*O*-β-*D*-glucopiranoside (VIEIRA JÚNIOR et al., 2015).

Algumas das substâncias que foram previamente isoladas do extrato etanol 70 % das folhas de *S. paniculatum*, estão sendo apresentadas na Figura 3.

Figura 3. Substâncias isoladas das folhas, frutos e ramos de *S. paniculatum*.

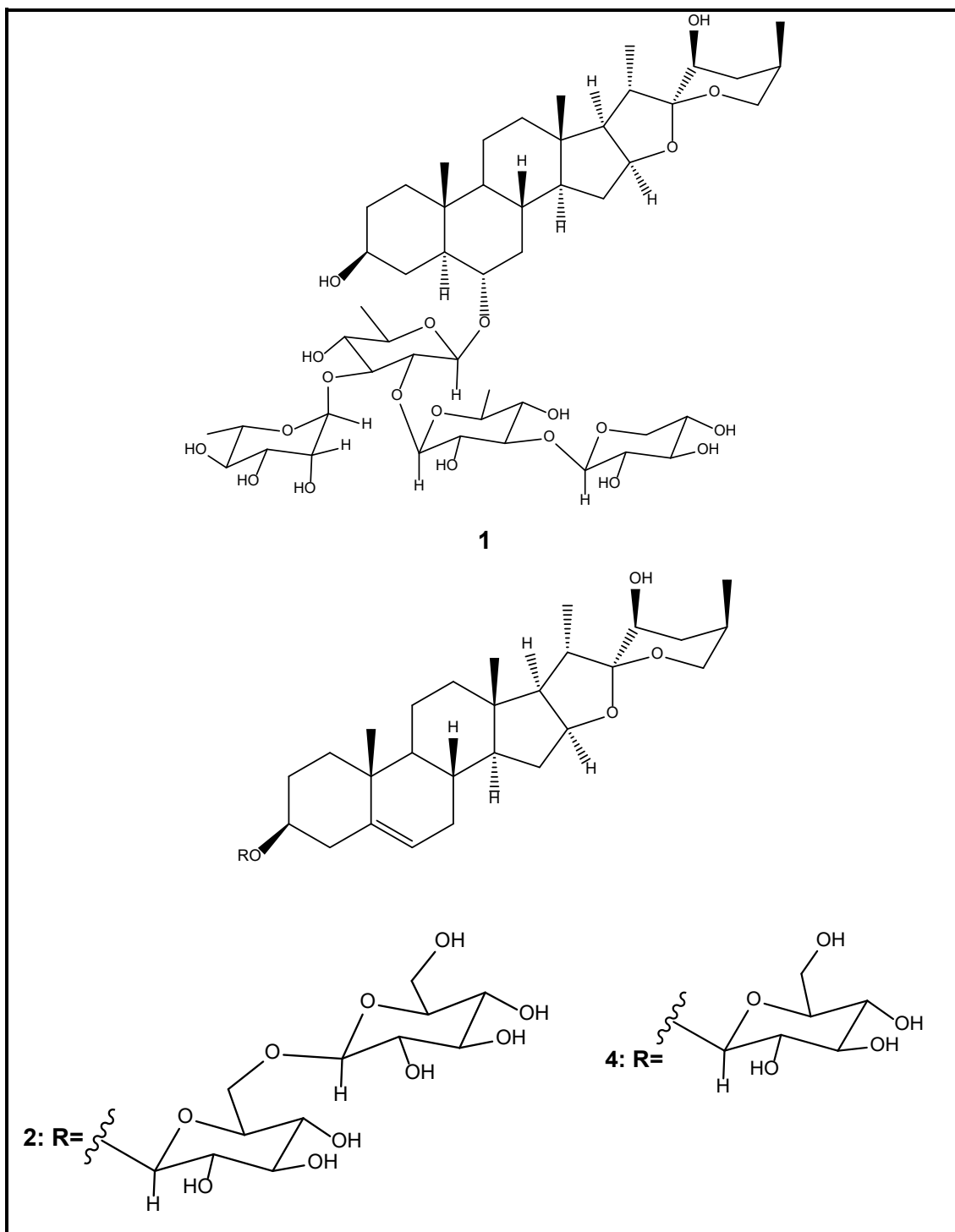
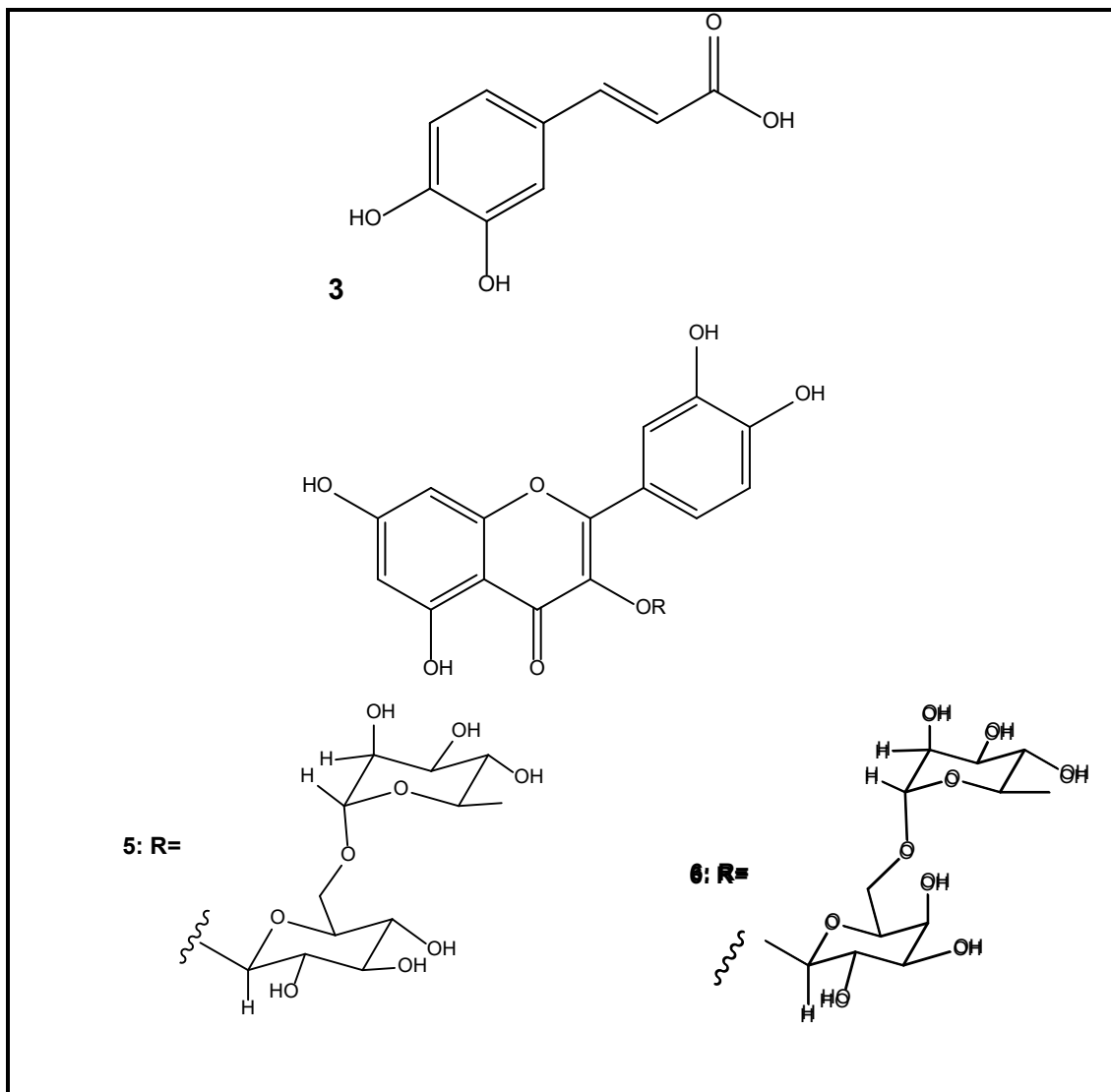


Figura 3. Continuação.



Quanto às atividades biológicas, os resultados farmacológicos obtidos até o presente apontam para uma importante ação farmacológica desta espécie como analgésica, antinociceptiva e antiulcerogênica (VIEIRA JÚNIOR et al., 2015).

Considerando-se, portanto, que esta espécie possui um potencial químico e farmacológico ainda a ser investigado, neste projeto estudamos o extrato etanol 70% das folhas de *S. paniculatum*, com a finalidade de isolar e identificar os metabólitos ainda não conhecidos na espécie. Também foi realizada a quantificação dos marcadores químicos no extrato etanol 70%, assim como os testes de atividades biológicas que ainda não tinham sido realizados

até o momento para a espécie *S. paniculatum*.

1.4 Saponinas esteroidais.

As saponinas constituem uma grande classe de substâncias que apresentam na sua estrutura ao menos um glicosídeo. Muitas saponinas possuem propriedades detergentes, devido a diminuírem a tensão superficial de soluções aquosas e, portanto, fornecem espumas estáveis quando em contato com a água. Essas atividades provêm do fato de apresentarem em sua estrutura uma parte lipofílica denominada aglicona ou sapogenina e uma parte hidrofílica constituído por um ou mais açúcares (SCHENKEL et al., 2001).

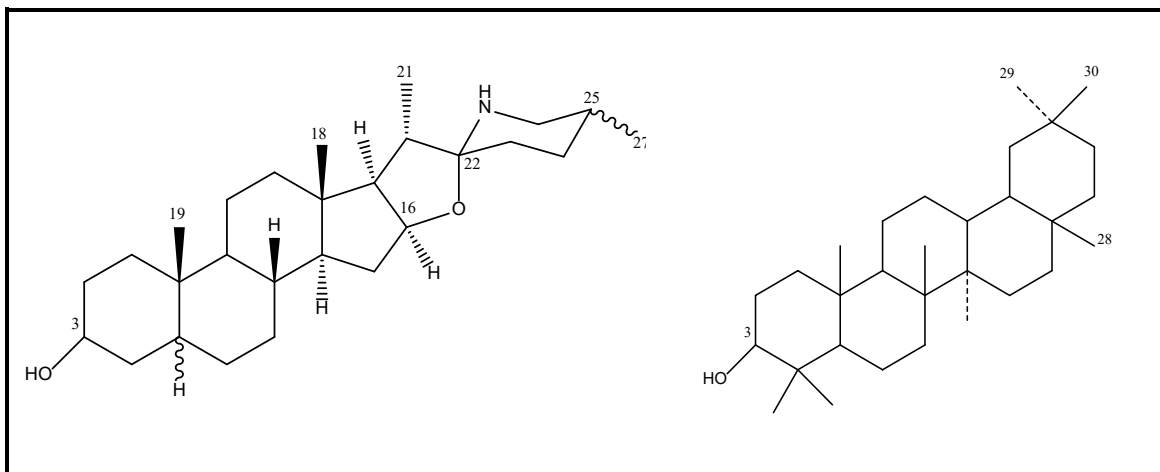
A espuma formada é estável à ação de ácidos minerais diluídos, diferenciando-se dos sabões comuns. De fato, o nome “saponina” deriva da palavra latina *sapo* (sabão). Sabe-se também que as saponinas causam hemólise (lise dos eritrócitos com a liberação de hemoglobina), têm um sabor amargo e são tóxicas para os peixes. Embora esses atributos não sejam comuns a todas as saponinas conhecidas, às vezes são usados para caracterizar e identificar essa classe de substâncias (HOTTESTMANN, MARSTON, 2005).

As saponinas esteroidais apresentam uma ampla diversidade estrutural e pesquisadores têm demonstrado um grande interesse no seu isolamento e caracterização a partir de extratos vegetais devido ao seu grande e diverso potencial farmacológico (HOTTESTMANN, MARSTON, 2005).

Dependendo da aglicona, as sapogeninas podem ser classificadas em: sapogeninas esteroidais (C₂₇), sapogeninas alcaloidais (C₂₇) (Figura 4), sapogeninas triterpênicas (C₃₀) (Figura 5).

Figura 4. Sapogenina alcaloidal.

Figura 5. Sapogenina triterpênica.



Neste sentido, as sapogeninas esteroidais são divididas em 3 grupos principais: sapogeninas espirostânicas ou espirostanos (Figura 6), sapogeninas furostânicas (Figura 7) e sapogeninas furoespirostânicas (Figura 8).

Figura 6. Sapogenina espirostânica.

Figura 7. Sapogenina furostânica.

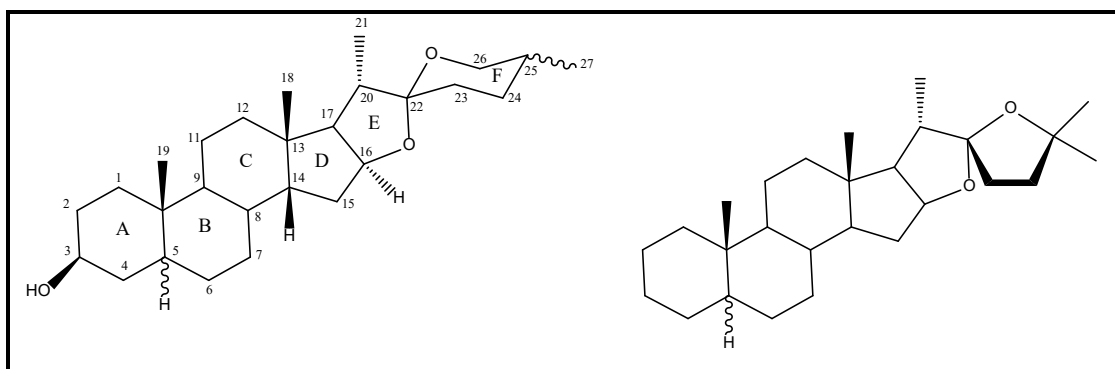
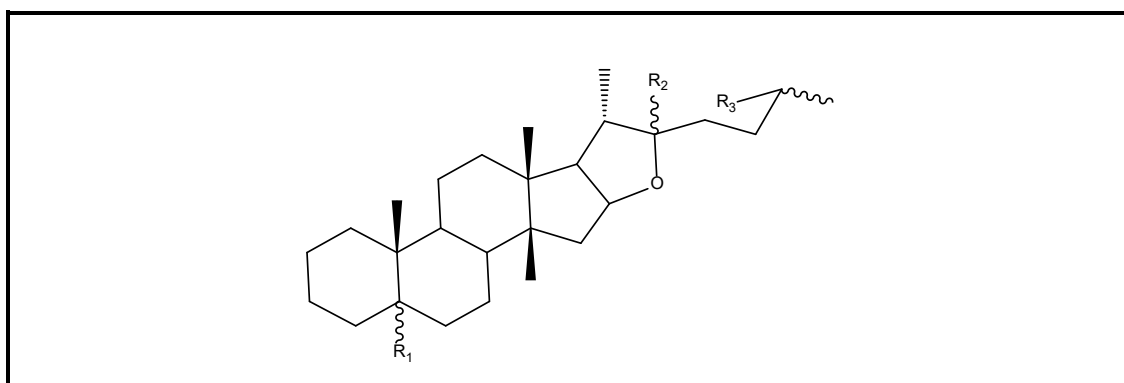


Figura 8. Sapogenina furoespiroestânica.

Os espirostanos (Figura 6) representam o maior subgrupo dentro das sapogeninas esteroidais e possuem o núcleo base ciclopentanoperidrofenantreno presente no androstano e colestano (AGRAWAL et al., 2003). No entanto, no caso das sapogeninas esteroidais, existem mais dois anéis heterocíclicos (E, F) ligados entre si por um carbono espiroacetálico (C-22). A maioria das sapogeninas espiroacetálicas que ocorrem na natureza possuem uma configuração *R* em C-22. Por outro lado, a metila CH₃-21 possui a orientação α e portanto uma configuração *S* em torno do carbono C-20 (AGRAWAL et al., 2003).

A junção entre os anéis AB pode ser *cis* ou *trans*, sendo a mais comum a junção *trans* e a metila CH₃-19 apresentará uma orientação β . Por outro lado, a junção dos anéis BC e CD na aglicona é *trans*, enquanto que a junção dos anéis DE sempre é *cis* (AGRAWAL et al., 2003).

Os espirostanos diferem também na configuração da metila CH₃-27 pertencente ao anel F. Se a orientação desta metila for em *axial*, a configuração em C-25 será *S*. No entanto, se a sua orientação for em *equatorial*, a configuração em C-25 será *R*. (AGRAWAL et al., 2003).

1.5 Biossíntese de saponinas esteroidais.

A biossíntese das saponinas esteroidais acontece pela rota do mevalonato, tendo como precursor o colesterol. Neste sentido, a função espiroacetálica da saponina é derivada da cadeia lateral do colesterol, pelas sucessivas reações de oxidação nas posições 16, 22 e 26, respectivamente,

sendo hidroxiladas assim as posições 16 e 26. No entanto, a posição 22 é oxidada até carbonila (Figura 9). Estas modificações permitem a formação do anel espiroacetálico pelo ataque nucleofílico da hidroxila da posição 16 à carbonila C-22, formando o hemiacetal. Posteriormente, a assistência do par de elétrons do oxigênio permite a saída da hidroxila (H_2O) da posição 22 (no meio ácido) formando uma dupla ligação. Finalmente, o grupo hidroxila da posição 26 faz um ataque nucleofílico na posição C-22 (deficiente em elétrons) permitindo assim a formação do anel F da saponina esteroidal.

É muito interessante observar as diferentes configurações do estereocentro C-25 (*R* ou *S*). Neste sentido, as possíveis estereoquímicas são formadas pelo fato das posições 26 ou 27 serem hidroxilas indistintamente na primeira etapa da reação (DEWICK, 2002).

O conjunto de reações que acontecem na rota biosintética das saponinas esteroidais é apresentado na Figura 9.

Figura 9. Biossíntese de saponinas esteroidais.

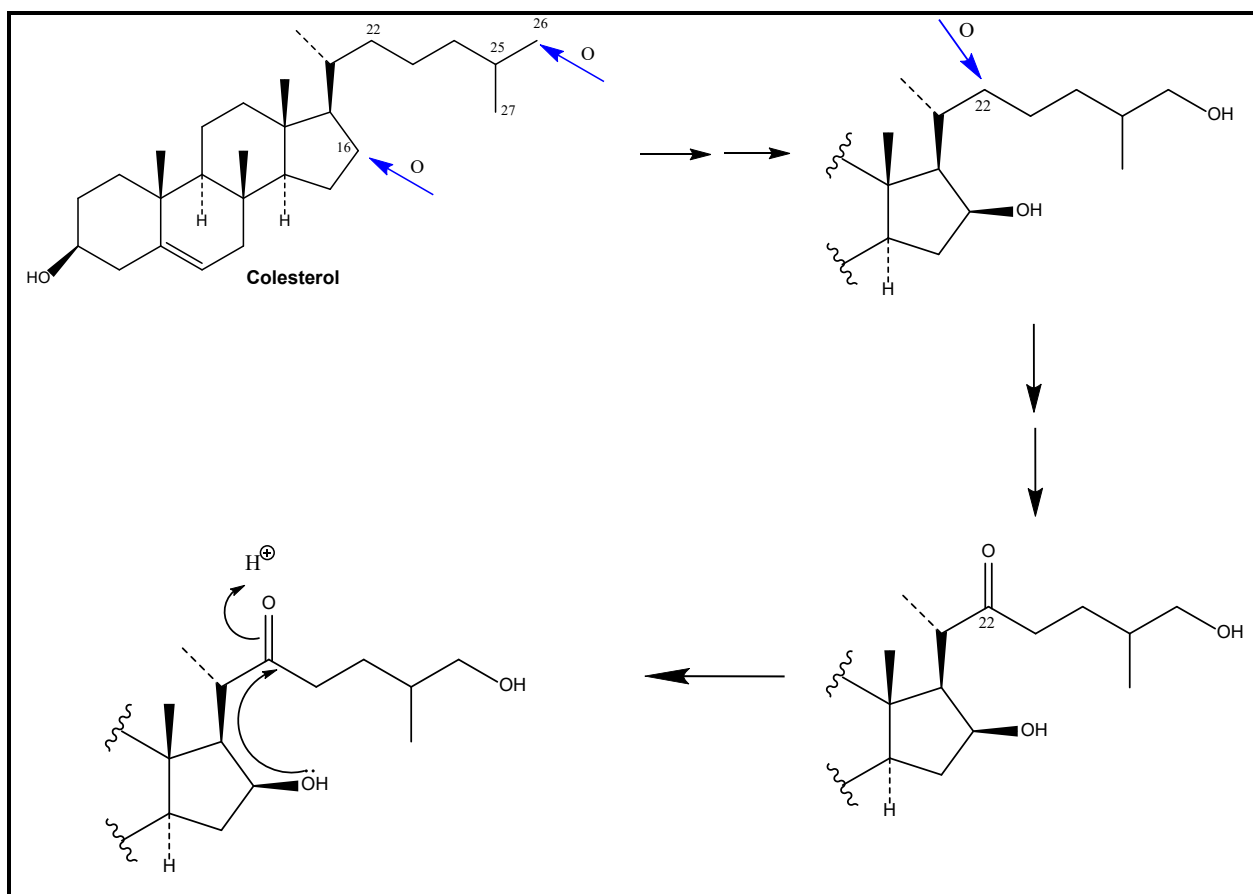
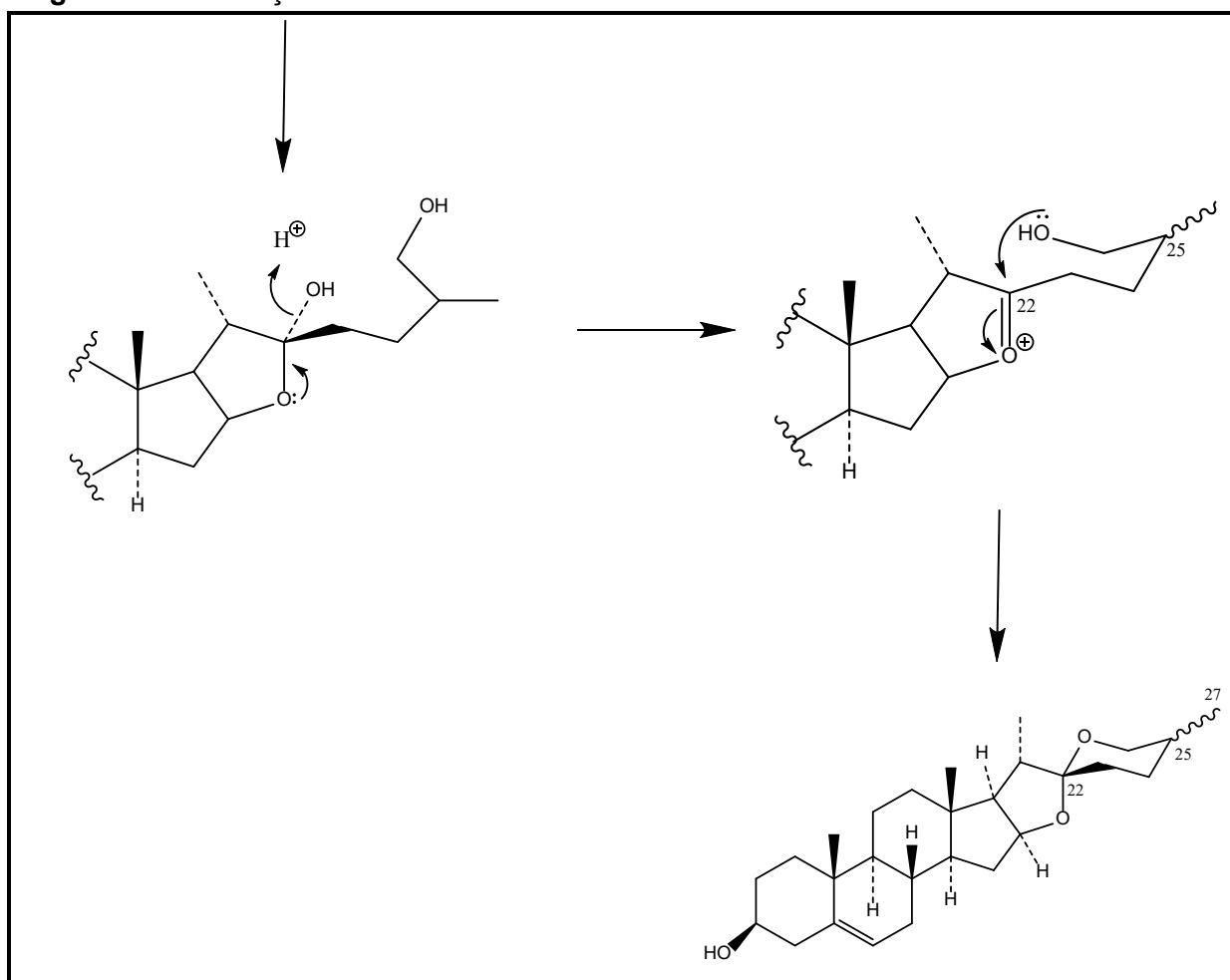


Figura 9. Continuação

Adaptado: DEWICK, 2002

1.6 Quantificação de saponinas esteroidais.

As plantas representam uma fonte de substâncias ativas para diversas áreas de interesse. A obtenção do perfil químico de extratos brutos não é uma tarefa fácil de ser estudada em razão da diversidade de classes de substâncias presente nas plantas. No entanto, o avanço tecnológico de técnicas analíticas, proporciona um papel importante no estudo das composições químicas complexas, com altos níveis de sensibilidade e seletividade (NICULAU et. al., 2016).

É muito importante ressaltar que as saponinas apresentam pouquíssimos grupos cromóforos e, portanto, são detectadas no detector UV em curtos comprimentos de onda (200-210 nm), o que torna muitas vezes a detecção muito difícil por cromatografia líquida acoplada ao detector ultravioleta

(CLAE-DAD), principalmente quando é necessário que a detecção seja em pequenas quantidades. Por esse motivo, o espectrômetro de massas é o principal equipamento para as análises cromatográficas quantitativas para este tipo de substâncias.

Para a quantificação de saponinas esteroidais usando a cromatografia líquida acoplada a massas (UPLC-ESI-IT-MS), existem dois modos de detecção e identificação, conhecidos como monitoramento de reações múltiplas (MRM) e o monitoramento de íon selecionado (SIM) (NICULAU et. al., 2016).

Modo MRM: Dois estágios de filtragem de massas são empregados. No primeiro estágio, um íon de interesse (o precursor) é pré-selecionado e induzido a fragmentar. No segundo estágio, em vez de obter varredura completa m/z onde todos os possíveis íons de fragmento derivados do precursor são analisados em massa, apenas são analisados um número pequeno de íons de um fragmento específico de sequência (íons de transição).

Modo SIM: Os íons de interesse são previamente selecionados pelo operador conforme sua relação m/z e tempo de retenção, a fim de analisar apenas o que lhe interessa e tornar a precisão da espectrometria ainda maior. Quando a análise é feita pelo modo de varredura SIM, é possível identificar íons específicos conforme o tempo. Para isso ser feito, é necessário dizermos quais íons serão considerados, e em qual período da análise.

FOUBERT e colaboradores (2010) relataram a quantificação de 14 maesasaponinas (saponinas triterpênicas) na planta medicinal *Maesa lanceolata* por UPLC-MS. As saponinas foram quantificadas no modo positivo utilizando experimento de monitoramento de íon selecionado (SIM). A quantificação das 14 saponinas foi realizada obtendo-se bons resultados de linearidade ($r^2 > 0,99$), precisão intra- e inter-dia e recuperação.

Considerando que na espécie *S. paniculatum* existem saponinas de difícil detecção quando analisadas por CLAE-DAD, a técnica UPLC-MS com modo de detecção SIM torna-se uma ferramenta indispensável para a quantificação destas substâncias no extrato analisado.

4 CONCLUSÕES.

O estudo químico do extrato etanol 70 % das folhas da espécie *S. paniculatum* permitiu o isolamento e identificação de 11 substâncias das quais, 8 saponinas esteroidais foram descritas pela primeira vez na Literatura denominadas: 6-O- α -L-ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23R,25S)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano **(1)**, 6-O- α -L-ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23R,25R)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano **(2)**, 6-O- β -D-xilopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23R,25S)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano **(3)**, 6-O- β -D-xilopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23R,25R)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano **(4)**, 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23S,25R)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano **(5)**, 3-O- β -D-xilopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,23S,25R)-3 β ,6 α ,23-triidroxi-5 α -espirostano **(6)**, 6-O- α -L-ramnopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,25S)-1 β ,3 β ,6 α -triidroxi-5 α -espirostano **(7)**, 6-O- β -D-xilopiranosil-(1'' \rightarrow 3')- β -D-quinovopiranosil-(22S,25S)-3 β ,4 β ,6 α -triidroxi-5 α -espirostano **(8)**. Também foram isoladas as substâncias rutina **(9)**, o ácido cafeico **(10)** e o anidrido cafeico **(10a)** estas últimas em mistura.

Foram determinados os teores das saponinas no extrato etanol 70 % das folhas de *S. paniculatum* a través do desenvolvimento do método UPLC/MS, sendo os teores obtidos para cada uma das saponinas como segue (em mg.g⁻¹ do extrato) **(1)**: 71,2 \pm 0,2; **(2)**: 25,8 \pm 0,1; **(3)**: 103,5 \pm 0,2; **(4)**: 25,7 \pm 0,03; **(5)**: 17,5 \pm 0,1; **(6)**: 14,8 \pm 0,04; **(7)**: 43,0 \pm 0,2 e **(8)**: 32,1 \pm 0,04.

O método empregado apresentou boa linearidade ($r^2 > 0,99$) e seletividade na determinação das substâncias de interesse além de boa precisão. Para as análises de repetibilidade e precisão intermediária os valores de desvio padrão relativo ficaram na faixa de 0,69 - 1,94 %.

O extrato etanol 70 % apresentou uma baixa inibição do crescimento das linhagens tumorais LP07 (adenocarcinoma de pulmão), células tumorais humanas, MCF7 (câncer de mama humana) assim como o adenocarcinoma mamário murino LM3 quando comparado com o padrão de controle cisplatina, com valores de CIM₅₀ superiores a 192,92 μ g mL⁻¹ para as linhagens testadas.

O extrato etanol 70 % apresentou uma promissora atividade antibacteriana frente aos patógenos orais *Streptococcus sanguinis*, *S. oralis*, *S. mutans*, *S. mitis* e *Lactobaccillus casei*, com valores que variam entre 6,25-100 µg/mL. No entanto, a fração de saponinas (**f'26**) mostrou menor atividade contra todas as cepas testadas com valores entre 100-400 µg/mL.

Tanto o extrato etanol 70 % como a fração **f'26** se mostraram ativos frente à *Leishmania amazonensis* (teste de atividade leishmanicida), com valores frente às formas promastigotas de IC₅₀ (concentração inibitória 50 %) menores de 15 µg/mL. Especialmente ativo mostrou-se a fração enriquecida de saponinas (**f'26**), que mostrou um valor de CI₅₀ de 6,26 ± 0,41 µg/mL.

Em relação à atividade esquistossomicida, igualmente o extrato etanol 70 % (50 % de mortalidade dos vermes) e a fração **f'26** (75 % mortalidade dos vermes) se mostraram ativos frente à *Schistosoma mansoni*, com valores de concentração mínima determinada de 12,5 µg/mL. Neste caso, a fração de saponinas se mostrou ligeiramente mais ativa que o extrato etanol 70 %.

O teste de viabilidade celular em células normais tanto para o extrato etanol 70 % como para a fração enriquecida de saponinas **f'26**, apresentou baixa citotoxicidade a concentrações iguais ou superiores de 625 µg/mL para o extrato. No entanto, a fração mostrou ser menos citotóxica com valores de concentração igual ou superior a 1250 µg/mL. Os valores encontrados de IC₅₀ foram de 316,3 µg/mL para o extrato etanol 70 % e 971,7 µg/mL respectivamente o que confirma que o extrato resultou ser mais tóxico que a fração rica em saponinas.

Devido aos resultados promissores obtidos neste estudo, tanto com fração, como para o extrato etanol 70% das folhas de *S. paniculatum*, sugerimos dar continuidade aos estudos dos ensaios biológicos mais específicos, para sua aplicabilidade.

REFÊRENCIAS.

AFANAS'EV, J. B.; DOROZHKO, A. J.; BRODSKILL, A. V.; KOSTYUK, V. A.; PATAPOVITCH, A. I. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. **Biochemical Pharmacology**, v. 38, p. 1763-1769, 1989

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução n. 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 jun. 2003. Disponível em: <http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/vm/vm1.pdf>. Acesso em: 20 maio 2018.

AGRA, M. F.; BHATTACHARYYA, Journal of Ethnomedicinal and Phytochemical Investigation of *Solanum* species in northeast of Brazil. In Solanaceae. **Advances in Biology and Utilization**, v. IV, p. 341–343, 1999.

AGRAWAL, K. P. Spectral assignment and reference data: 25R/25S stereochemistry of spirothane-type steroidal sapogenins and steroidal saponins via chemical shift of geminals protons of ring F. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 41, p. 965-968, 2003.

AGRAWAL, K. P.; JAIN, D. C.; PATHAK, K. A. NMR Spectroscopy of Steroidal Sapogenins and Steroidal Saponins: an Update. **Magnetic Resonance in Chemistry**, vol. 33, p. 923-953, 1995.

AGRAWAL, K. P. **Carbon-13 NMR of flavonoids**, v. 39, p. 1631, 1989.

AJAYI, S. S.; OWOLABI, L. O. Phytochemical screening, anti-nutrient composition, proximate analyses and the antimicrobial activities of the aqueous and organic extracts of bark of *Rauvolfia vomitoria* and leaves of *Peperomia pellucida*. **International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics**, v. 2, p. 127–134, 2012.

AMIR, M.; KUMAR, S. Possible industrial applications of genus *Solanum* in twenty first century- A review. **Journal of Scientific Industrial Research**, v. 63, p. 116-124, 2004.

ARTHAN, D.; SUASTI, T.; KITTAKOOP, P.; PITTAYAKCHACHOWUTB, D.; THEBTARANONTH, Y. Antiviral isoflavonoid sulfate and steroidal glycosides from fruit of *Solanum torvum* leaves. **Phytochemistry**, v. 59, p. 459-463, 2002.

BERRIDGE, M. V.; HERST, P. M.; TAN, A. S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. **Biotechnology Annual Review**, v. 11, p. 127 - 152, 2005.

CASTRO, E. M. de.; GAVILANES, M. L. In:_____. **Morfo-anatomia de plantas medicinais**. Lavras; UFLA, 2000, 173 p.

DE CARVALHO, P. B.; FERREIRA, E. I. Leishmiasis phytotherapy. Nature's leadership against an ancient disease. **Fitoterapia**, v. 72, p. 599-618, 2012.

DOENHOFF, M. J.; CIOLI, D.; UTZINGER, J. Praquinzel: mechanism of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Infect Diseases**, v. 21, p. 659-667, 2008.

DEWICK, P. M. **The mevalonate and deoxylulose phosphate pathways: terpenoids and steroids**. In:_____. Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach. 2. ed. John Wiley & Sons, LTD. 2002. Chap. 5, p. 237.

ELISABETSHY, E. **Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas**. In: SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3 ed. Ed. UFRGS/Ed. UFSC. Porto Alegre, 2001. Cap. 6, p. 87-99.

EMMANUEL, S.; IGNACIMUTHU, S.; PERUMALSAMY, R.; AMALRAJ, T. Antiinflammatory activity of *Solanum trilobatum*. **Fitoterapia**, v. 77, no. 7, p. 611-612, 2007.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FOUBERT, K.; CUYCKENS, F.; VLEESCHOUWER, K.; THEUNIS, M.; VLIETINCK, A.; PIETERS, L.; APERS, S. Rapid quantification of 14 saponins of *Maesa lanceolata* by UPLC–MS/MS. **Talanta**, v. 81, p. 1258, 2010.

FRIEDMANN, M.; LEE, K-R.; KIM, H.J.; LEE, I.S.; KOZUKUE, N. Anticarcinogenic effects of glycoalkaloids from potato against cervical, liver, lymphoma, and stomach cancer cells, **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 53, n. 15, p. 6162–6169, 2005.

GACHET, M.; LECARO, S.; J. KAISER S. M. Assessment of antiprotozoal activity of plants traditionally used in Ecuador in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, p. 184–197, 2010.

GAMIOTEATURRO, D.; CAMAFORTE, N. A. P.; VALERINO-DIAZ, A. B.; ORTIZ-NUÑEZ, Y.; RINALDO, D.; DOKKEDAL, A. L.; BOSQUEIRO, J. R.; dos SANTOS, L. C. Qualitative and quantitative analysis of ethanolic extract and phenolic fraction of *Jatropha aethiopica* (Euphorbiaceae) leaves and their hypoglycemic potential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, no. 6, p. 1419-1427, 2018.

GAMIOTEATURRO, D. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas do extrato etanólico das folhas de *Jatropha aethiopica* (Euphorbiaceae)**. 2018. G192e. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2018.

GARCÍA, M.; MONZOTE, L.; SCULL, R.; HERRERA, P. Activity of Cuban plants

extracts against *Leishmania amazonensis*, **International Scholarly Research Network Pharmacology**, v. 2012, p.1-7, 2012.

GONÇALVES, M.C.R.; DINIZ, M. F. F. M.; BORBA, J. D. C.; NUNES, X. P.; BARBOSA-FILHO, J. M. Berinjela (*Solanum melongena* L.) – mito ou realidade no combate as dislipidemias?. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 252–257, 2006.

GONZÁLEZ, M.; ZAMILPA, A.; MARQUINA, S.; NAVARRO, V.; ALVAREZ, L. Antimicotic spirostanol saponins from *Solanum hispidum* leaves and their structure-activity relationships. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 938–941, 2004.

GRYSEELS, B.; POLMANN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. Esquistossomose humana. **Lancet**, v. 368, p. 1106-1118, 2006.

HOLLMAN, P. C.; VAN TRIPP, J.; BUYSMAN, M. N.; VAN DER GAAG, M. S.; MENGELERS, M. B. Relative Bioavailability of the flavonoide quercetin from various foods in man. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 418, p. 152-156, 1995.

HARA, S.; OKABE, K.; MIHASHI, K. Gas-liquid chromatographic separation of aldose enantiomers as trimethylsilyl ethers of methyl 2-(polyhydroxialkyl)-thiazolidine-4(*R*)-carboxilates. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 35, p. 501-5016, 1987.

HOTTESTMANN, K.; MARSTON, A. Introduction. In:_____. **Saponins**. Chemistry & pharmacology of natural products. New York: Cambrige University press, 2005. Chap.1, p. 1.

IKEDA, T; TSUMAGARI, H.; HONBU, T.; NOHARA, T. Cytotoxic activity of steroidal glycosides from *Solanum* plants, **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, p. 1198-1201, 2003.

IQBAL, K.; NAWAZ, A. S.; MALIK, A.; RIAZ, N.; MUKHTAR, N.; MOHAMAAD, P.; CHOUDHARY, I. M. Isolation and lipoxygenase-inhibition studies of phenolics constituents from *Erethia obtusifolia*. **Chemistry and Biodiversity**, v. 2, p. 104-111, 2005.

KATZ, N.; PEIXOTO, S. V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de *esquistossomose mansoni* no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 303-308, 2000.

LI, J.; ZHANG, L.; HUANG, C.; GUO, F.; LI, Y. Five new cytotoxic steroidal glycosides from the fruits of *Solanum torvum*. **Fitoterapia**, v. 93, p. 209-215, 2014.

LIDA, Y.; YANAI, Y.; ONO, M.; IKEDA, T.; NOHARA, T. Three unusual 22- β -O-23-Hydroxi-(5 α)-spirostanol glycosides from the fruits of *Solanum torvum*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 53 no.9, p. 1122-1125, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**. Nova Odessa, Brasil: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

LU, Y.; LUO, J.; HUANG, X.; KONG, L. Four new steroidal glycosides from *Solanum torvum* and their cytotoxic activities. **Steroids**, v. 74, p. 95-101, 2009.

MAGALHÃES, L. G.; MACHADO, C. B.; MORAIS, E. R.; MOREIRA, E. B.; SOARES, C. S.; DA SILVA, S. H.; DA SILVA FILHO, A. A.; RODRIGUES, V. In vitro schistosomicidal activity of curcumin against *Schistosoma mansoni* adult worms. **Parasitology Research**, v. 10, n.5, p. 712-727, 2009.

MAHMOOD, U.; THAKUR, R.S.; BLUNDEN, G. Neochlorogenin, neosolaspigenin and solaspigenin from *Solanum torvum* leaves. **Journal of Natural Products**, v. 46, p. 427-428, 2003.

MATSUSHITA, S.; YANAI, Y.; FUSYUKU, A.; IKEDA, T.; ONO, M.; NOHARA, T. Distinction of Absolute Configuration at C-22 of C-23-hydroxylspirostane and C-23-hydroxyspirosolane glycosides. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 5, p. 1079-1081, 2007.

MARCUCCI, M. C. **Validação de princípios ativos de plantas medicinais e fitoterápicos**. Farmacognosia, Coletânea Científica. 271–293, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE e ANVISA. **Monografia da espécie *Solanum paniculatum* (jurubeba)**, 2012.

MERKEN, H.M.; BEECHER, G.R. Measurement of food flavonoids by high performance liquid chromatography: a review. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 48, p. 577-599, 2000.

MIRANDA, M.A.; TIOSSIA, R. F. J.; SILVA, M. R.; RODRIGUES, K. C.; KUENHA, C. C.; OLIVEIRA, L. G. R. *In vitro* leishmanicidal and cytotoxic activities of the glycoalkaloids from *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) fruits. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, p. 642-648, 2013.

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

MOSTAFA, O. M.; EID, R. A.; ADLY, M. A. Antischistosomal activity of ginger (*Zinbiber officinale*) against *schistosoma mansoni* harbored in C57 mice. **Parasitology Research**, v. 109, p. 395-403, 2011.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL, J. J.; MARTINEZ-DÍAZ, R. A.; ESCARI, J. A.; MARTINEZ-FERNANDEZ, J. R.; GÓMEZ-BARRIO, A. *In vitro* screening of American plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Trichomonas vaginalis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 101-107, 2000.

NEE, M. Synopsis of *Solanum* the New World. In Solanaceae. **Advances in Biology and Utilization**, v. IV, p. 285–333, 1999.

NICULAU, E. S.; FREITAS, S. D. L.; SÁ, I. C. G.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. das G. F. Análise quantitativa de produtos naturais em plantas por CL-EM. **Revista Virtual de Química**, v. 8, no. 1, p. 204-230.

NOHARA, T. Search for function of natural oligoglycosides- Solanaceae and Leguminosae origin glycoside, **Yakugaku Zasshi**, v. 124, p. 183-205, 2004.

NURIT-SILVA, K.; COSTA SIVA, R.; BASÍLIO, I. J. L. D.; AGRA, M. F. Leaf epidermal characters of Brazilian species of *Solanum* section Torva as taxonomic evidence. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 58, no. 9, p. 806-814, 2012.

OLIVEIRA, F. A. **Estudo da atividade de *Phyllanthus amantus* L. contra o *Schistosoma mansoni* linhagem BH.** (Dissertação de mestrado Química) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, 2008.

PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K. Flavonoids as medicinal agents: recent advances. **Fitoterapia**, v. 57, p. 371-389, 1991.

PEDRIALI, C. A., **Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes.** (Dissertação Mestrado Química) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PEREIRA, I. S. P.; RODRIGUES, V. F.; VEGA, M. R. G. Flavonoides do gênero *Solanum*. **Revista Virtual de Química**, v. 8, No. 1, p.4-26, 2016.

PEREZ, J. A.; CALLE, M. J.; SIMONET, M. A.; GUERRA, O. J.; STOCHMAL, A. Bioactive Steroidal Saponins from *Agave affoyana* flowers. **Phytochemistry**, v. 95, p. 298-307, 2013.

PINTO, J. E. B. P.; LAMEIRA, O. A.; SANTIAGO, E. J. A.; SILVA, F. G. In: _____. **Cultivos de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. UFLA/FAEP, 2001. V. 1, 185 p.

PINTO, F. C. L. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste do Brasil: *Solanum buddleifolium* SENDTN**. (Dissertação de Mestrado em Química), Universidade Federal de Ceará, 2013.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RINALDO, D.; BATISTA, J. M. JR.; RODRIGUES, J.; BENFATTI, A. C.; RODRIGUES, C. M.; DOS SANTOS, L. C.; FURLAN, M.; VILEGAS, W. Determination of catechin diastereomers from the leaves of *Byrsonima* species using chiral CLAE-PAD-CD. **Chirality**, v. 22, no.8, p. 726-733, 2010.

RIOS, J. L.; RECIO M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 80-84, 2005.

RIPPENGER, H.; SCHREIBER, K. Estrutura de paniculonin A and B, two new spirostane glycosides from *Solanum Paniculatum* L. **Chemische Berichte**, v. 101, p. 2450–2458, 1968.

ROCHA, L. G.; ALMEIDA, J. R. G. S.; MACÊDO, R. O.; BARBOSA-FILHO, J. M. A review of natural products with antileishmanial activity. **Phytomedicine**, v. 12, p. 514-535, 2005.

ROEHM, N. W.; RODGERS, G. H.; HATFIELD, S. M.; GLASEBROOK, A. L. An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. **Journal of Immunological Methods**, v.142, p. 257-265, 1991.

ROWAN, D. D.; MACDONALD, P. E.; SKIPP, R. A. Two new glycosides,

acutatiside A and B from *Solanum aculetissimum*. **Phytochemistry**, v. 22, p. 733-736, 1983.

SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FIHO, R.; AGRA, M. Ocorrência de flavonas e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae). **Química Nova**, v. 26, p. 517-522, 2003.

SHAH, V. V.; SHAH, N. D.; PATREKAR, D. V. Medicinal plants from Solanaceae family. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v.6, no. 2, p. 143-151, 2013.

SHAIQ ALI, M.; TABBASUM, S.; AHMED, S. Spirotrvoside: A new steroidal-glycoside from *Solanum torvum* (Solanaceae). **Journal of the Chemical Society of Pakistán**, v. 30, p. 494–498, 2008.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Ed. UFGRS/Ed. UFSC. Porto Alegre, 2001. Cap. 27, p. 597-619.

SMITHERS, S. R.; TERRY, R. J. Infection of Laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni*: and the recovery of adult worms. **Parasitology**, v. 55, p. 695 – 700, 1965.

SOARES, E. L. C.; VIGNOLI-SILVA, M.; VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, L. A. Solanaceae Nativas no Rio Grande do Sul, Brasil: Listagem I. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 1050-1052, 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. 2012. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado na APG III**. 3ª ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 768p.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Introduction to Modern Liquid Chromatography**, 3rd Ed. New York: John Wiley & Sons, 2010, p. 765.

VALERINO-DÍAZ, A. B.; GAMIOTECA-TURRO, D.; ZANATTA, A. C.; VILEGAS, W.; MARTINS, C. H. G.; SILVA, T. S.; RASTRELLI, L.; SANTOS, L. C. New polyhydroxylated steroidal saponins from *Solanum paniculatum* L. leaf alcohol tincture with antibacterial activity against oral pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 8703-8713, 2018.

VAZ, N. P. **Alcalóides Esteroidais dos Frutos Maduros de *Solanum caavurana* Vell.** (Dissertação de Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

VERMA, S.; SINGH, S. P. Current and future status of herbal medicines. **Veterinary World**, v.1, no.11, p. 347-350, 2008.

VIEIRA JÚNIOR, G. M.; QUINTINO DA ROCHA, C.; RODRIGUES, TdS.; HAKIKO HIRUMA-LIMA, C.; VILEGAS, W. New steroidal saponins and antiulcer activity from *Solanum paniculatum* L. **Food Chemistry**, v. 86, p. 160-167, 2015.

WAGNER, H.; BLADTH, S.; ZGAINSKY, E. M. Plant Drug Analysis, **A Thin Layer Chromatography Atlas**, Berlin: Springer, 1984.

WRIGHT, C. W.; PHILLIPSON, J. D. Natural products and the development of selective antiprotozoal drugs. **Phytotherapy Research**, v. 4, p. 127–139, 1990.

XIAO, S. H.; CATTO, B. A. The profilatic effects of Artemether against *Schistosoma japonicum* infections. **Parasitology Today**, v. 16, p. 122-126, 2000.

YAKUBU, M. T. B.; BUKOYE, B. Abortifacient potentials of the aqueous extract of *Bambusa vulgaris* leaves in pregnant Dutch rabbits. **Contraception**, v. 80, p. 308–313, 2009.

ZAMILPA, A.; TORTORIELLO, J.; NAVARRO, V.; DELGADO, G.; ALVAREZ, L. Five New steroidal saponins from *Solanum chrysotrichum* leaves and their antimicotic activity. **Journal of Natural Products**, v. 65, p. 1815–1819, 2002.