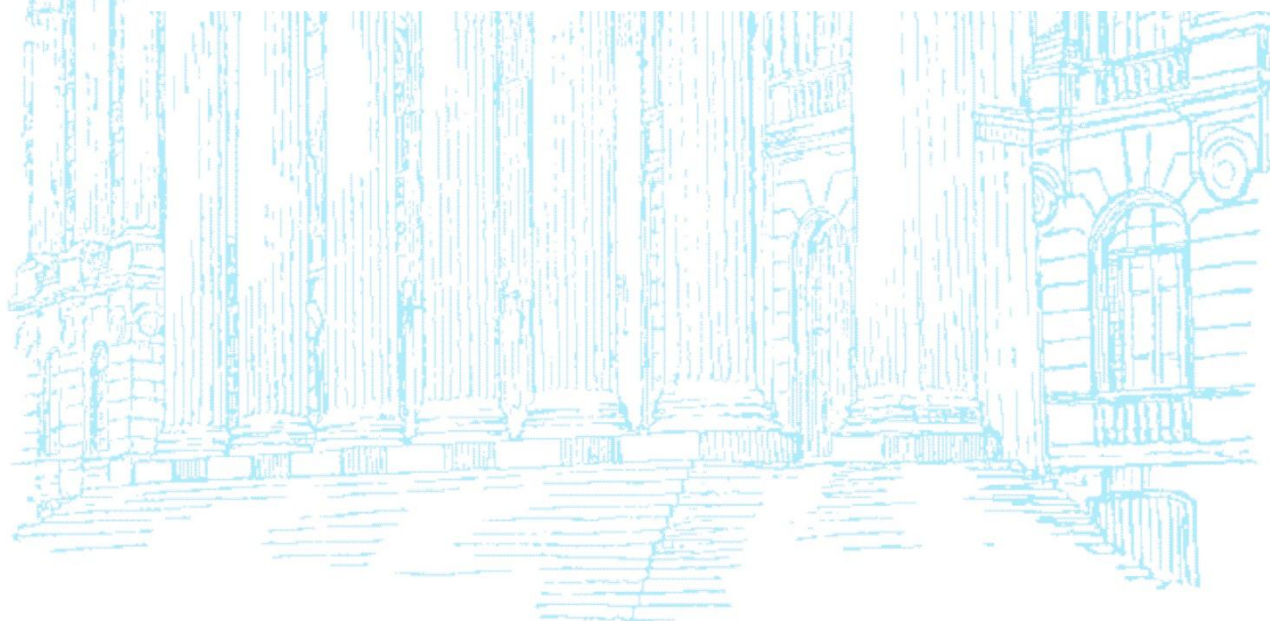


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIANA SARAGIOTO KRAUSE



ESTUDOS FITOQUÍMICO, FARMACOLÓGICO E MORFOANATÔMICO DE  
FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE



CURITIBA

2017

MARIANA SARAGIOTO KRAUSE

**ESTUDOS FITOQUÍMICO, FARMACOLÓGICO E MORFOANATÔMICO DE  
FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel

Coorientadora: Profa. Dra. Marilis D. Miguel

Coorientadora: Profa. Dra. Deise Prehs Montrucchio

CURITIBA

2017

Krause, Mariana Saragioto  
Estudos fitoquímico, farmacológico e morfoanatômico de folhas de *Solanum megalochiton*  
Mart. Solanaceae / Mariana Saragioto Krause – Curitiba, 2017.  
169 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm

Orientador: Professor Dr. Obdulio Gomes Miguel  
Coorientadora: Professora Dra. Marilis D. Miguel  
Coorientadora: Professora Dra. Deise Prehs Montrucchio  
Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de  
Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Inclui bibliografia

1. *Aedes aegypti*. 2. Alelopatia. 3. Diabetes. 4. *Solanum*. 5. Solanaceae. I. Miguel, Obdulio  
Gomes. II. Miguel, Marilis D. III. Montrucchio, Deise Prehs. IV. Universidade Federal do Paraná.  
V. Título.

CDD 615.321



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
Setor CIÊNCIAS DA SAÚDE  
Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MARIANA SARAGIOTO KRAUSE** intitulada: **ESTUDOS FITOQUÍMICO, FARMACOLÓGICO E MORFOANATÔMICO DE FOLHA DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua Aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 08 de Agosto de 2017.

OBDULIO GOMES MIGUEL

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

VINICIUS BEDNARCZUK DE OLIVEIRA

Avaliador Externo (UNIANDRADE)

JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS

Avaliador Externo (UFPR)

YANNA DANTAS RATTMANN

Avaliador Externo (UFPR)

CRISTINA PEITZ DE LIMA

Avaliador Externo (UNIBRASIL)

Dedico ao Lucas, meu marido, que sempre presente e me ajudou e apoiou nesse percurso, com muito amor carinho e paciência.

Ao meu filhinho Henrique, que esteve comigo durante o último ano deste trabalho, em minha barriga e depois ao meu lado.

Aos meus pais Adevair e Maria Inês que sempre estiveram presentes incentivando desde o início.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao meu Deus Jeová pela vida, saúde e força, sem ele nada seria possível. Ao meu marido Lucas Alexandre Krause por todo amor, carinho, amizade e os melhores conselhos sempre. Ao meu filho Henrique Saragioto Krause que é a minha maior alegria e meu maior amor.

Agradeço aos meus pais Maria Inês de Souza Saragioto e Adevair Saragioto, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e incentivando. Às minhas irmãs Juliana Saragioto Sergio e Marcela Saragioto Rech e aos amigos.

Ao orientador Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel por toda dedicação, conversas e conselhos. À coorientadora Profa. Dra. Marilis Dallarme Miguel por todas as orientações, confiança e carinho. À coorientadora Profa. Dra. Deise Prehs Montrucchio por toda ajuda, incentivo, orientação, dedicação e paciência.

À Profa. Dra. Janaína Menezes e Prof. Dr. Roberto Andreatini do setor de Farmacologia pela parceria e confiança para o desenvolvimento do trabalho com os animais diabéticos. À colega Isadora Siba pelo auxílio na farmacologia.

Ao biólogo Osmar do S. Ribas e aos funcionários do Museu Botânico Municipal de Curitiba pelas informações, pela identificação e depósito do exemplar da espécie em estudo. Ao Prof. Dr. Railson Henneberg e Ao Prof. Dr. José Ederaldo do Hospital de Clínicas pelo auxílio com os ensaios de toxicidade.

Ao técnico Nilson e a Profa. Dra. Cleusa Bonna, do Laboratório de Botânica, pela ajuda na preparação das lâminas de morfoanatomia. À Maria da Graça T. de Toledo, técnica da central analítica e ao Paulo Sergio Diniz, técnico do laboratório de farmacotécnica por todos os auxílios prestados. Ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio no processamento do material para realização da microscopia eletrônica de varredura.

Às doutorandas Ana Flavia Duarte, Fernanda O'Campus, Luciana Dallarmi e Daniela Oliveira, pelo companherismo, amizade, incentivo e parcerias. Foi muito bom trabalhar com vocês.

A todos os meus colegas e aos professores em especial dos laboratórios de fitoquímica e farmacotécnica.

À CAPES pela bolsa e pelos recursos e à UFPR pela colaboração.

“Todas as verdades são fáceis de perceber depois de terem sido descobertas; mas o problema é descobri-las.”

(GALILEO GALILEI, 1564-1642)

## RESUMO

A espécie *Solanum megalochiton* Mart., é uma planta nativa do Brasil, pertencente a família Solanaceae, e é conhecida popularmente como Joá Velame. O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo morfoanatômico, fitoquímico e farmacológico das folhas dessa espécie. Com relação à morfoanatomia observou-se que a folha é simples, alternada, com cutícula granulosa, tricomas tectores em ambas as faces da epiderme e o mesofilo é do tipo dorsiventral. Na pesquisa fitoquímica foram encontrados alcaloides, glicosídeos flavônicos e esteroides/triterpenos no extrato etanólico e saponinas, taninos, aminogrupos e ácidos fixos no extrato aquoso. Com relação à atividade antioxidante a fração acetato de etila foi a que obteve o melhor resultado tanto no método do TBARS como no fosfomolibdênio, isso acontece pois é nesta fração que se concentram os compostos fenólicos, conhecido por sua alta atividade antioxidante, o que foi demonstrado no teste de Folin-Ciocalteu em que esta fração obteve os maiores valores. Nos testes de toxicidade preliminar, o extrato bruto e todas as frações se mostraram tóxicos ao microcrustáceo *Artemia salina*. No teste com as larvas do mosquito *Aedes aegypti* apenas a fração hidroalcoólica não apresentou atividade larvicida. No teste da hemólise, apenas o extrato bruto e a fração acetato de etila não apresentaram resultados positivos nas concentrações testadas, as demais apresentaram hemólise em pelo menos uma das concentrações. Com relação ao teste de alelopatia as frações clorofórmio e acetato de etila reduziram a germinação das sementes de alface enquanto que o extrato bruto estimulou. Nas sementes de cebola as frações acetato de etila e hidroalcoólica estimularam o seu crescimento. A respiração das radículas de alface foi aumentada pelo extrato bruto e fração hexano e inibida pela fração clorofórmio. A respiração das radículas de cebola foi estimulada pelo extrato bruto e frações hexano e clorofórmio. Nas análises farmacológicas realizadas com camundongos da linhagem swiss, foi constatado um aumento da reação à dor, no teste da nocicepção induzida pela formalina. No teste de edema de pata induzido pela carragenina, foi observado uma diminuição significativa do edema após duas horas da administração da carragenina, porém alguns grupos tiveram um edema superior ao do grupo controle. Isso pode acontecer devido à presença de substâncias inflamatórias ou irritantes na planta. Nos ensaios de toxicidade foram observadas alterações de peso dos rins e baço, além de uma anemia causada pela administração dos extratos. Apesar disso não foram encontradas alterações nos parâmetros bioquímicos e histopatológicos que indiquem que os extratos sejam tóxicos aos animais. Não foi observada diferença significativa entre os animais tratados e o grupo controle no ensaio de gastroproteção. Nos ensaios com animais diabéticos houve um aumento no ganho de peso, tanto nos animais tratados com o extrato etanólico quanto nos que receberam extrato aquoso. Os animais mantiveram uma taxa glicêmica menor que o grupo controle e demonstraram uma redução da imobilidade no teste da natação forçada, o que demonstra uma ação antidepressiva do extrato. Foi verificado um aumento do número de cruzamentos no teste do campo aberto e um aumento no tempo gasto nos braços abertos no teste do labirinto em cruz elevado o que é indicativo de atividade ansiolítica do extrato. Os resultados obtidos contribuem para o conhecimento dessa espécie.

**Palavras-chave:** *Aedes aegypti*. Alelopatia. Diabetes. *Solanum*. Solanaceae.



## ABSTRACT

The *Solanum megalochiton* Mart., is a native plant from Brazil, belonging to the Solanaceae family, is popularly known as Joá Velame. This work objective of was to perform the morphological, phytochemical and pharmacological study of the leaves of this species. With regard to morphoanatomy, it was observed that the leaf is simple, alternating, with granular cuticle, tectorial trichomes on both faces of the epidermis and dorsiventral type mesophyll. In the phytochemical research were found alkaloids, flavonic glycosides and steroids / triterpenes in the ethanolic extract and saponins, tannins, aminogroups and fixed acids in the aqueous extract. In relation to the antioxidant activity, the ethyl acetate fraction was the one that obtained the best result in the TBARS and in the phosphomolybdenum method. It happens because in this fraction there is phenolic compounds, which was demonstrated in the Folin-Ciocalteu test. In the preliminary toxicity tests, crude extract and all fractions were toxic to *Artemia salina*. In the test with the *Aedes aegypti* larvae only the hydroalcoholic fraction did not present larvicidal activity. In the hemolysis test, only the crude extract and the ethyl acetate fraction did not present positive results at the concentrations tested, the others presented haemolysis in at least at one of the concentrations. Regarding the allelopathy test, the chloroform and ethyl acetate fractions reduced the germination of the lettuce seeds while the crude extract stimulated. In onion seeds the ethyl acetate and hydroalcoholic fractions stimulated its growth. The respiration of lettuce rootlets was increased by the crude extract and hexane fraction and inhibited by the chloroform fraction. The respiration of the onion radicles was stimulated by the crude extract and hexane and chloroform fractions. In the pharmacological analyzes carried out with mice of the swiss strain, an increase in the reaction to pain was observed in the test of nociception induced by formalin. In the carrageenan-induced paw edema test, a significant decrease in edema was observed after two hours of carrageenan administration, but some groups had an edema greater than that of the control group. This can happen due to the presence of inflammatory or irritating substances in the plant. In the toxicity tests, changes in kidney and spleen weight were observed, as well as anemia caused by administration of the extracts. However, no changes were found in the biochemical and histopathological parameters that indicate that the extracts are toxic to the animals. No significant difference was observed between the treated animals and the control group in the gastroprotection assay. In the trials with diabetic animals there was an increase in weight gain, both in the animals treated with the ethanolic extract and aqueous extract. The animals maintained a lower glycemic rate than the control group and demonstrated a reduction of immobility in the forced swimming test, which demonstrates an antidepressant action of the extract. There was an increase in the number of crosses in the open field test and an increase in the time spent on the open arms in the high cross maze test which is indicative of the anxiolytic activity of the extract. The results obtained contribute to the knowledge of this species.

**Key-words:** *Aedes aegypti*. Allelopathy. Diabetes. *Solanum*. Solanaceae.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA SOLANACEAE, A- ATROPINA; B- ESCOPOLAMINA; C- HIOSCIAMINA; D- SOLASODINA.....	27
FIGURA 2 - ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA SOLANACEAE, A- SOLANINA; B- SOLAMARGINA .....	28
FIGURA 3 - ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DO GÊNERO <i>Solanum</i> , A- SOLANIDINA; B- DEMISSIDINA; C- TOMATIDINA; D- SOLADULCIDINA; E- DIIDROTOMATIDINA.....	29
FIGURA 4 - ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DO GÊNERO <i>Solanum</i> , A- (22R, 23S, 25R)-3 $\beta$ , 6 $\alpha$ , 23-trihydroxy-5 $\alpha$ -spirostane 6-O- $\beta$ -d-xylopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 3''')-O-[ $\beta$ -d-quinovopyranosyl(1''' $\rightarrow$ 2')]-O-[ $\alpha$ -l-rhamnopyranosyl(1'' $\rightarrow$ 3'')]-O- $\beta$ -d-quinovopyranoside; B- diosgenin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1'' $\rightarrow$ 6'')-O- $\beta$ -D-glucopyranoside; C- UTROSIDEO B.....	30
FIGURA 5 - ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DO GÊNERO <i>Solanum</i> , A- CANFEROL; B- QUERCETINA; C- MIRICETINA .....	31
FIGURA 6 - <i>Solanum megalochiton</i> , MART. SOLANACEAE: ASPECTO GERAL NO HABITAT.....	35
FIGURA 7 - <i>Solanum megalochiton</i> Mart., SOLANACEAE, EXSICATA DEPOSITADA NO MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL DE CURITIBA – PR SOB REGISTRO .....	36
FIGURA 8 - DESENHO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS REALIZADOS COM EXTRATO ETANÓLICO, AQUOSO E FRAÇÕES DE FOLHA DE <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE.....	37
FIGURA 9 - DESENHO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS MORFOANATÔMICO REALIZADOS COM FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE.....	38

FIGURA 10 - DESENHO EXPERIMENTAL DOS ESTUDOS FITOQUÍMICOS REALIZADOS COM FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE .....	40
FIGURA 11 - DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO ANTIOXIDANTE REALIZADOS COM FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE .....	45
FIGURA 12 - DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS REALIZADOS COM FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE .....	48
FIGURA 13- DESENHO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS FARMACOLÓGICOS COM CAMUNDONGOS TRATADOS COM EXTRATOS AQUOSO E ETANÓLICO DE <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE E GRUPOS CONTROLES .....	51
FIGURA 14- DESENHO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA E ANTIDEPRESSIVA/ANSIOLÍTICA EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM EXTRATOS AQUOSO E ETANÓLICO DE <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE E GRUPOS CONTROLES .....	57
FIGURA 15 - A-F – <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE, A – RAMO VEGETATIVO; B – FOLHA SIMPLES LANCEOLADA; C – TRICOMAS TECTORES SOB NERVURA CENTRAL (MEV); D – TRICOMAS TECTORES ESTELARES (MEV); E – DETALHE DE UM ESTÔMATO NA FACE ABAXIAL DA EPIDERME FOLIAR (MEV); F – DETALHE DA EPIDERME ADAXIAL (MEV); .....	61
FIGURA 16 - A-F – <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE, A – INDICAÇÃO DE EPIDERME, TRICOMA TECTOR, PARÊNQUIMAS PALIÇÁDICO E ESPONJOSO E FEIXE VASCULAR DE PEQUENO PORTE; B – DETALHE DE UM ESTÔMATO NA FOLHA EM SECÇÃO TRANSVERSAL; C – NERVURA CENTRAL EM SECÇÃO TRANSVERSAL, PARTE DO FEIXE VASCULAR, JUNTO À SUPERFÍCIE ADAXIAL E ABAXIAL, RESPECTIVAMENTE; D – PORMENOR DO FEIXE VASCULAR COLATERAL, BAINHA ESCLERENQUIMÁTICA, FLOEMA E XILEMA; E, F – DETALHE DO FLOEMA E XILEMA; .....	62

FIGURA 26 - FOTOS DOS ESTÔMAGOS DE CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS SUBMETIDOS AO ENSAIO DE PROTEÇÃO GÁSTRICA, OS ANIMAIS DO GRUPO NAIVE (A) NÃO RECEBERAM NENHUM TIPO DE TRATAMENTO; OS DEMAIS ANIMAIS FORAM PRÉ-TRATADOS COM SALINA (B); OMEPRAZOL (C); EXTRATO ETANÓLICO BRU BRUTO 300 mg/Kg (D); E EXTRATO AQUOSO BRUTO 300 mg/Kg (E) DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE (v.o.) POR 7 DIAS E NO ÚLTIMO DIA DE EXPERIMENTO FOI ADMINISTRADO ETANOL P.A. (v.o.) COMO AGENTE NECROTIZANTE..... 104

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1- DETERMINAÇÃO DA PERDA POR DESSECAÇÃO EM FOLHA E CAULE DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE.....63
- TABELA 2- DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CINZAS TOTAIS DE FOLHA E CAULE DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE.....64
- TABELA 3 - ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO E DAS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO E DE ACETATO DE ETILA, PROVENIENTES DE FOLHA DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE.....64
- TABELA 4 - ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHA DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE .....65
- TABELA 5 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E DAS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHA DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE, EM RELAÇÃO À VITAMINA C E RUTINA.....66
- TABELA 6 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DAS SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E DAS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHA DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE, E DO PADRÃO BHT .....67
- TABELA 7 - ABSORBÂNCIA E CONCENTRAÇÃO DE POLIFENÓIS CORRESPONDENTE AO ÁCIDO GÁLICO DAS FRAÇÕES E DO EXTRATO BRUTO DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE.....69
- TABELA 8 - MORTALIDADE E CONCENTRAÇÃO LETAL EM 50% DE *Artemia salina* AVALIADOS FRENTE AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E ÀS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHA DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE .....71

TABELA 9 - MORTALIDADE E ÍNDICE DE MORTALIDADE DE LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i> AVALIADOS FRENTE AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E ÀS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHA DE <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE.....	75
TABELA 10 - TEMPO DE REAÇÃO (s) NA PRIMEIRA FASE DO TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA, EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM SALINA E EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (10, 30 E 100mg/Kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> , MART., SOLANACEAE.....	86
TABELA 11- TEMPO DE REAÇÃO (s) NA SEGUNDA FASE DO TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA, EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM SALINA E EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (10, 30 E 100 mg/Kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> , MART., SOLANACEAE.....	88

### LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE CRONQUIST E APGIII PARA A ESPÉCIE VEGETAL <i>Solanum megalochiton</i> MART., SOLANACEAE.....	34
QUADRO 2 - GRUPOS E NÚMERO DE ANIMAIS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA E ANTIDEPRESSIVA/ANSIOLÍTICA DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM EXTRATO AQUOSO E BRUTO DE <i>Solanum megalochiton</i> Mart. SOLANACEAE E GRUPOS CONTROLES TRATADOS COM SALINA.....	56

## LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 - % DE ÍNDICE ANTIOXIDANTE (IA%) DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE E DO CONTROLE BHT AO ENSAIO DO TBARS. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE .....68
- GRÁFICO 2 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA DAS AMOSTRAS: EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE EM RELAÇÃO AOS PADRÕES VITAMINA C E RUTINA NO ENSAIO DO FOSFOMOLIBDÊNIO. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE .....66
- GRÁFICO 3 - CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO .....69
- GRÁFICO 4 - PORCENTAGEM DE HEMÓLISE DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA NAS CONCENTRAÇÕES 1000, 500 E 100 µg/mL DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE EM RELAÇÃO AO CONTROLE POSITIVO (água) ....73
- GRÁFICO 5 - ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Lactuca sativa* L. (ALFACE) E *Allium cepa* L. (CEBOLA) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE. . DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE .....77
- GRÁFICO 6 - CRESCIMENTO DA RADÍCULA, HIPOCÓTILO E COLEÓTIPO DE SEMENTES DE *Lactuca sativa* L. (ALFACE) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE.... 80

- GRÁFICO 7 - CRESCIMENTO DA RADÍCULA, HIPOCÓTILO E COLEÓTIPO DE SEMENTES DE *Allium cepa* L. (CEBOLA) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE. ...82
- GRÁFICO 8 - % DA RESPIRAÇÃO EM RELAÇÃO AO CONTROLE DAS PLANTULAS DE *Lactuca sativa* L. (ALFACE) E *Allium cepa* L. (CEBOLA) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE. ....84
- GRÁFICO 9 - TEMPO DE REAÇÃO (s) NO TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA, EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM SALINA E EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (10, 30 E 100mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE E CONTROLES TRATADOS COM SALINA. A) PRIMEIRA FASE; B) SEGUNDA FASE .....86
- GRÁFICO 10 - TEMPO DE REAÇÃO (s) NO TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA, EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM SALINA E EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (10, 30 E 100mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE E CONTROLES TRATADOS COM SALINA. A) PRIMEIRA FASE; B) SEGUNDA FASE .....88
- GRÁFICO 11 - ÁREA DO EDEMA DE PATA (mm<sup>2</sup>) DE CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NOS TEMPOS 1, 2, 3, 4 E 24h APÓS A INJEÇÃO DA CARRAGENINA DO GRUPO CONTROLE TRATADO COM SALINA (v.o) E GRUPOS TESTE TRATADOS COM 100 E 300 mg/Kg DE EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE E CONTROLES TRATADOS COM SALINA; VALORES SÃO EXPRESSOS EM MÉDIA ± ERRO PADRÃO.....89
- GRÁFICO 12 - EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE O PESO DE CAMUNDONGOS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO



ETANÓLICO (300 E 900 mg/Kg) E AQUOSO (300 mg/Kg) DE <i>Solanum megalochiton</i> MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA DURANTE OS DIAS 1, 7, 14 E 21 DO EXPERIMENTO .....	91
GRÁFICO 13 - % DOS PESOS DOS ÓRGÃOS EM RELAÇÃO AO PESO DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA DURANTE 21 DIAS DE EXPERIMENTO.....	93
GRÁFICO 14 - PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA DURANTE 21 DIAS DE EXPERIMENTO .	96
GRÁFICO 15 - HEMOGRAMA DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA NO ENSAIO DE TOXICIDADE APÓS 21 DIAS DE EXPERIMENTO.....	98
GRÁFICO 16 - DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA NO ENSAIO DE TOXICIDADE APÓS 21 DIAS DE EXPERIMENTO.....	100
GRÁFICO 17 - MÉDIA DO DANO TECIDUAL (mm <sup>2</sup> ) DOS ESTÔMAGOS DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS DO EXPERIMENTO DE PROTEÇÃO GÁSTRICA TRATADOS COM SALINA, OMEPRAZOL (40 mg/Kg), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (300 mg/Kg) E EXTRATO BRUTO AQUOSO (300 mg/Kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> , MART. SOLANACEAE POR 7 DIAS .....	105

GRÁFICO 18 - GANHO DE PESO (g) DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg), EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> , MART. SOLANACEAE, MIDAZOLAM (2mg/Kg) E IMIPRAMINA (20mg/Kg), APÓS A) 14 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 37 DIAS DE EXPERIMENTOS.....	108
GRÁFICO 19 - GLICEMIAS (mg/dL) DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICO E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg), EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> , MART. SOLANACEAE, MIDAZOLAM (2mg/Kg) E IMIPRAMINA (20mg/Kg), APÓS A) 22 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 37 DIAS DE EXPERIMENTOS.....	111
GRÁFICO 20 - TEMPOS DE IMOBILIDADE (s) DO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg), EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> , MART. SOLANACEAE, MIDAZOLAM (2mg/Kg) E IMIPRAMINA (20mg/Kg), APÓS A) 29 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 37 DIAS DE EXPERIMENTOS.....	114
GRÁFICO 21 - NÚMEROS DE CRUZAMENTOS, NO TESTE DO CAMPO ABERTO, DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), IMIPRAMINA (20mg/Kg), MIDAZOLAM (2mg/Kg), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg) E EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE <i>Solanum megalochiton</i> , MART. SOLANACEAE, APÓS A) 28 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 36 DIAS DE EXPERIMENTOS.....	117
GRÁFICO 22 - TEMPO (s) NOS BRAÇOS ABERTOS DO TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO, DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), IMIPRAMINA (20mg/Kg), MIDAZOLAM (2mg/Kg),	

EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg) E EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE, APÓS A) 21 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 35 DIAS DE EXPERIMENTOS..... 120

GRÁFICO 23 - NÚMERO DE CRUZAMENTOS NOS BRAÇOS FECHADOS DO TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO, DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), IMIPRAMINA (20mg/Kg), MIDAZOLAM (2mg/Kg), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg) E EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE, APÓS A) 21 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 35 DIAS DE EXPERIMENTOS..... 121

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABAP	- Cloreto de 2,2'- azo-bis 2-amidinopropano
$\text{AlCl}_3$	- Cloreto de alumínio
APG	- Grupo de Filogenia das Angiospermas
BHT	- Butil-hidroxitolueno
BM	- Banho-maria
$\text{CL}_{50}$	- Concentração letal média
CLAE	- Cromatografia líquida de alta eficiência
DBT-A300	- Diabético tratado com extrato aquoso na concentração 300 mg/kg
DBT-E30	- Diabético tratado com extrato etanólico na concentração 30 mg/kg
DBT-E100	- Diabético tratado com extrato etanólico na concentração 100 mg/kg
DBT-E300	- Diabético tratado com extrato etanólico na concentração 300 mg/kg
DBT-IMI	- Diabético tratado com imipramina 20 mg/kg
DBT-MIDA	- Diabético tratado com midazolam 2 mg/kg;
DBT-V	- Diabético tratado com salina 1mL/Kg
$\text{DL}_{50}$	- Dose Letal Média
DM	- Diabetes Melitos
$\text{DMSO-d}_6$	- Dimetilsulfóxido deuterado
$\text{H}_3\text{PO}_4$	- Ácido fosfórico
$\text{H}_2\text{SO}_4$ -	- Ácido sulfúrico
HCl	- Ácido clorídrico
IV	- Infravermelho
METOH	- Metanol
MEV	- Microscopia Eletrônica de Varredura
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	- Fosfato monossódico
NaOAc	- Acetato de sódio
NaOH	- Hidróxido de sódio
NGL-V	- Grupo normoglicêmicos tratados com salina;
OMS	- Organização Mundial da Saúde
p.a.	- Pró-análise
ppm	- Partes por milhão
RMN	- Ressonância magnética nuclear
SDS	- Dodecilsulfato de sódio

SZTC	- Estreptozotocina
TBA	- Ácido tiobarbitúrico
TBARS	- Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCC	- Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio
UV	- Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	23
1.1	OBJETIVO GERAL.....	25
1.1.1	Objetivos específicos.....	25
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	26
2.1	FAMÍLIA SOLANACEAE.....	26
2.2	GÊNERO <i>Solanum</i> .....	28
2.3	ESPÉCIE <i>Solanum megalochiton</i> MART. ....	34
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	36
3.1	MATERIAL BOTÂNICO .....	36
3.2	ESTUDO MORFOANATÔMICO.....	38
3.2.1	Lâminas semipermanentes.....	38
3.2.2	Lâminas permanentes .....	39
3.2.3	Dissociação da epiderme .....	39
3.2.4	Testes microquímicos.....	39
3.2.5	Microscopia eletrônica de varredura.....	39
3.3	ESTUDO FITOQUÍMICO .....	40
3.3.1	Perda por dessecação.....	40
3.3.2	Cinzas totais .....	41
3.3.3	Ensaio sistemático em fitoquímica.....	41
3.3.4	Preparação dos extratos e frações.....	44
3.4	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	44
3.4.1	Método de formação do complexo fosfomolibdênio .....	45
3.4.2	Método TBARS.....	46
3.4.3	Doseamento de polifenóis pelo método de Folin-Ciocalteu.....	47
3.5	ESTUDOS DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS .....	47
3.5.1	Teste de toxicidade a <i>Artemia salina</i> .....	48
3.5.2	Avaliação da atividade hemolítica .....	48
3.5.3	Atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i> .....	49
3.5.4	Avaliação da atividade alelopática.....	50
3.6	ANÁLISES FARMACOLÓGICAS.....	51
3.6.1	Modelos de dor e inflamação.....	52

3.6.2	Avaliação de possíveis efeitos tóxicos.....	53
3.6.3	Avaliação da atividade de proteção gástrica .....	54
3.6.4	Avaliação da atividade antidiabética e antidepressiva/ansiolítica .....	54
3.6.4.1	Animais.....	54
3.6.4.2	Drogas e Tratamento.....	55
3.6.4.3	Indução do Diabetes (DBT) .....	55
3.6.4.4	Modelos experimentais:.....	55
3.6.4.5	Delineamento experimental .....	56
3.6.4.6	Labirinto em Cruz Elevado (LCE) .....	57
3.6.4.7	Teste do Campo Aberto (CA) .....	58
3.6.4.8	Teste de Natação forçada (TNF) .....	58
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>59</b>
4.1	MORFOANATOMIA.....	59
4.1.1	Folha de <i>Solanum megalochiton</i> .....	59
4.2	ESTUDO FITOQUÍMICO .....	63
4.2.1	Perda por dessecação.....	63
4.2.2	Determinação do teor de cinzas totais.....	63
4.2.3	Estudo sistemático fitoquímico .....	64
4.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> .....	66
4.3.1	Método Fosfomolibdenio .....	66
4.3.2	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS.....	67
4.3.3	Doseamento de polifenóis pelo método de Folin-Ciocalteu.....	68
4.4	ESTUDO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS .....	71
4.4.1	Teste de toxicidade a <i>Artemia salina</i> .....	71
4.4.2	Avaliação da atividade hemolítica .....	72
4.4.3	Atividade larvívora sobre <i>Aedes aegypti</i> .....	74
4.4.4	Avaliação da atividade alelopática.....	76
4.4.4.1	Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de <i>Lactuca sativa</i> L. (alface) e <i>Allium cepa</i> L. (cebola) .....	77
4.4.4.2	Média do crescimento da radícula e do hipocótilo de <i>Lactuca sativa</i> L. (alface) e <i>Allium cepa</i> L. (cebola) .....	79
4.4.4.3	Resultado do teste de respiração das radículas de <i>Lactuca sativa</i> L. (alface) e <i>Allium cepa</i> L. (cebola) .....	84
4.5	ANÁLISES FARMACOLÓGICAS.....	86

4.5.1	Nocicepção induzida por formalina.....	86
4.5.2	Edema de pata .....	89
4.5.3	Teste de Toxicidade .....	90
4.5.3.1	Variação dos pesos dos animais .....	91
4.5.3.2	Peso dos órgãos.....	93
4.5.3.3	Dados bioquímicos .....	96
4.5.3.4	Análises hematológicas .....	98
4.5.3.5	Estudo histopatológico.....	102
4.5.4	Avaliação da atividade de proteção gástrica .....	104
4.5.5	Diabetes .....	107
4.5.5.1	Efeito da variação do peso pela administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de <i>Solanum megalochiton</i> , Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos .....	108
4.5.5.2	Efeitos nos níveis sanguíneos de glicemia pela administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de <i>Solanum megalochiton</i> , Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos .....	110
4.5.5.3	Efeito do teste de natação forçada após administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de <i>Solanum megalochiton</i> , Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos .....	113
4.5.5.4	Efeito do teste de campo aberto após administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de <i>Solanum megalochiton</i> , Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos .....	116
4.5.5.5	Efeito do teste de labirinto em cruz elevado após administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de <i>Solanum megalochiton</i> , Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos .....	119
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>124</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>126</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>168</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade o homem tem feito uso de plantas medicinais no tratamento de enfermidades. Substâncias aromáticas vegetais eram utilizadas como medicamentos, condimentos alimentares e também como perfumes. (BRANDÃO et al., 2010). As primeiras descrições sobre plantas medicinais feitas pelo homem remontam às escrituras sagradas e ao papiro de Ebers. Este documento, encontrado perto da pirâmide de Ramsés II, descreve 700 receitas utilizando-se drogas de natureza animal e vegetal. (ALONSO, 1999). Além disso alguns documentos sumerianos já descreviam as propriedades da papoula. (PINTO et al., 2002).

Plantas e extratos vegetais continuam sendo de grande relevância nos estudos farmacêuticos, na produção de medicamentos fitoterápicos e novos medicamentos. As substâncias ativas presentes nos produtos naturais podem ser utilizados como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos e como fonte de matérias-primas para a obtenção de adjuvantes. (SCHENKEL et al., 2001). A química de produtos naturais contribui de maneira significativa para o fornecimento de compostos ativos com aplicações na indústria farmacêutica, de cosméticos, higiene pessoal, agroquímicos e alimentos, além de contribuir para o crescimento sustentável de um país. (PINTO et al., 2002; BRAZ FILHO, 2010).

Segundo o Ministério da Saúde, uma espécie vegetal que é utilizada para fins terapêuticos é considerada uma planta medicinal, já o fitoterápico é um produto obtido a partir de uma planta medicinal, ou suas partes. (BRASIL, 2009)

Para a escolha de plantas que apresentem substâncias com atividade biológica, a seleção é realizada considerando alguns fatores como indicação de uso, abundância da planta para coleta e dados quimiotaxonômicos. (FILHO, 2000; HOSTETTMANN et al., 2003). Quando não se dispõe de estudos químicos sobre as espécies de interesse, a análise fitoquímica preliminar pode indicar o grupo de metabólitos secundários relevante das mesmas. Caso o interesse esteja restrito a uma classe específica de constituintes ou às substâncias responsáveis por certa atividade biológica, a investigação deverá ser direcionada para o isolamento e a elucidação estrutural. (SIMÕES et al., 2010).

As oportunidades para identificação de produtos com possível utilização econômica aumentam com a diversidade das espécies estudadas. (LEVIN, 1976). As plantas da família Solanaceae além de serem importantes na produção de

medicamentos, também possuem grande relevância em sentido econômico, pois estão presentes na alimentação de pessoas de todo o mundo, sendo produzidos toneladas de alimentos provenientes de espécie dessa família.

Por exemplo uma espécie da família Solanaceae, bastante representativa na área alimentícia é a beringela (*Solanum melongena* L.), sua produção cresce no mundo todo, principalmente na Ásia e África, onde teve um aumento de 29 para 49 milhões de toneladas produzidas na última década. (FAOSTAT, 2015). Também tem sido feito um estudo contínuo da *S. melongena* para o melhoramento genético desta espécie, visando à produção de uma espécie com ainda mais antioxidantes (especialmente polifenóis). (HANSON et al., 2006; PROHENS et al., 2007; MENNELLA et al., 2010; PLAZAS et al., 2013; PROHENS et al., 2013).

As pimentas e pimentões, também da família Solanaceae, são cultivados em todo o mundo, com forte expressão nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética. (BUTTOW et al., 2010). Atualmente, poucas espécies têm uso tão universal como as pimentas do gênero *Capsicum*. (REIFSCHNEIDER; NASS; HENZ, 2015).

Outras espécies da família Solanaceae tem importância na medicina, é o caso da *Atropa belladonna* L., *Datura stramonium* L., *Nicotiana tabacum* L. e *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (DALL'AGNOL; VON POSER, 2000; SOUZA, LORENZI, 2005). Alguns farmacos provenientes destas espécies são comumente utilizados na medicina, como escolapolamina, hiocinamina e atropina.

A família Solanaceae apresenta potencial como droga ansiolítica, antidepressiva e antidiabética. (KAR et al., 2006; YOSHIKAWA et al., 2007; ALPESH et al., 2011; TARAKA et al., 2011; MOMIN; MOHAN, 2012; KATEMO et al., 2012; TAGA et al., 2012; MOHAN et al., 2013).

O gênero *Solanum* é um dos mais representativos da família Solanaceae e vários estudos já foram conduzidos com as espécies desse gênero. Algumas das atividades biológicas já identificadas são a ação de indução de hipotensão em ratos (ALMEIDA et al., 1984; RIBEIRO et al., 1986; SHUM; CHIU, 1991; RIBEIRO, 2001), hepatoprotetora, antimicrobiana, anti-hipertensiva, citotóxica, antiespasmódica, antiviral, antioxidante (BADAMI et al., 2005; VIJAYAN et al., 2003), laxativa e cardiotônica. (DEB et al., 2013). Outras espécies apresentaram efeito no tratamento de tumores malignos de pele, carcinoma basocelular (BCCs) e carcinoma de células

escamosas (SCCs) e também no tratamento de tumor benigno, queratoses e queratoacantomas. (CHAM; MEARES, 1987).

Tendo em vista a diversidade de resultados apresentados no gênero *Solanum*, justifica-se a caracterização morfoanatômica, fitoquímica e farmacológica da espécie *Solanum megalochiton* Mart, Solanaceae uma espécie pouco estudada e com grande potencial fitoquímico.

## 1.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudos morfoanatômico, fitoquímico e biológicos dos extratos de folhas de *Solanum megalochiton* Mart., Solanaceae.

### 1.1.1 Objetivos específicos

- Obter autorização de acesso ao patrimônio genético, para realizar a coleta, identificação e pesquisa de *Solanum megalochiton*, conforme legislação;
- Caracterizar a morfoanatomia (macro e microscopia);
- Realizar estudo fitoquímico;
- Determinar atividade antioxidante e presença de compostos fenólicos do extrato e frações;
- Pesquisar a toxicidade preliminar do extrato etanólico e frações sobre *Artemia salina*, *Aedes aegypti* e eritrócitos;
- Avaliar toxicidade dos extratos etanólico e aquoso em modelo animal;
- Analisar a atividade de gastroproteção dos extratos brutos;
- Verificar a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico em modelos de nocicepção induzida por formalina e carragenina;
- Avaliar o efeito do tratamento com os extratos etanólico e aquoso sobre ganho de peso e glicemia de animais com o diabetes;
- Analisar o efeito do tratamento com os extratos etanólico e aquoso sobre respostas comportamentais relacionadas com a depressão ou ansiedade;
- Observar a atividade exploratória e locomotora de animais diabéticos tratados com extratos etanólico e aquoso;

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 FAMÍLIA SOLANACEAE

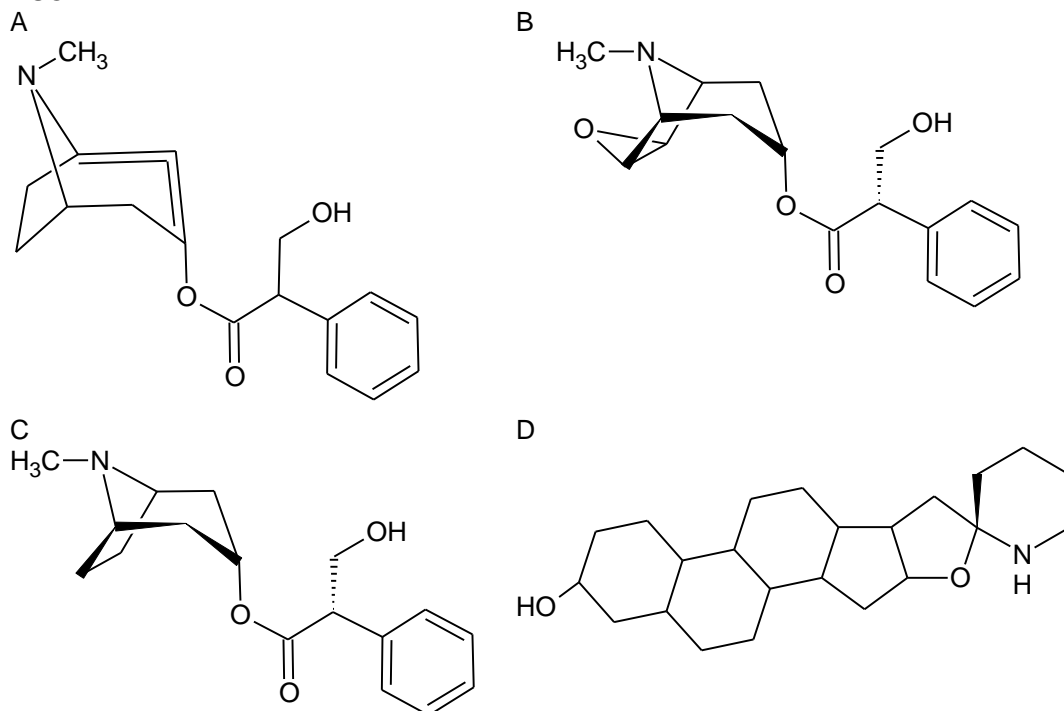
A vegetação brasileira é composta por inúmeras famílias, entre elas a Solanaceae que é rica em metabólitos secundários ativos. A família recebeu esse nome devido ao gênero mais conhecido ser o *Solanum*, muito estudado por suas propriedades narcóticas. (BARBOSA-FILHO et al., 1991; SILVA et al., 2002; BRAGA et al., 2003; SILVA et al., 2005).

A família Solanaceae apresenta uma distribuição cosmopolita, é constituída por aproximadamente 8400 espécies distribuídas em 115 gêneros, concentrada na região tropical, sendo a América do Sul um dos principais centros endêmicos e de diversidade. (AGRA et al., 2009). A propagação das espécies tem permitido a família ser representada em todos os continentes.

No Brasil ocorrem cerca de 32 gêneros e 350 espécies. Plantas com interesse econômico como a batata (*Solanum tuberosum*), o fumo (*Nicotina tabacum*), o pimentão (*Capsicum annuum*), as pimentas (*Capsicum sp.*), a beringela (*Solanum melongena*) e o tomate (*Solanum lycopersicum*), estão presentes nessa família. (HUNZIKER, 1979; SOUZA, LORENZI, 2005).

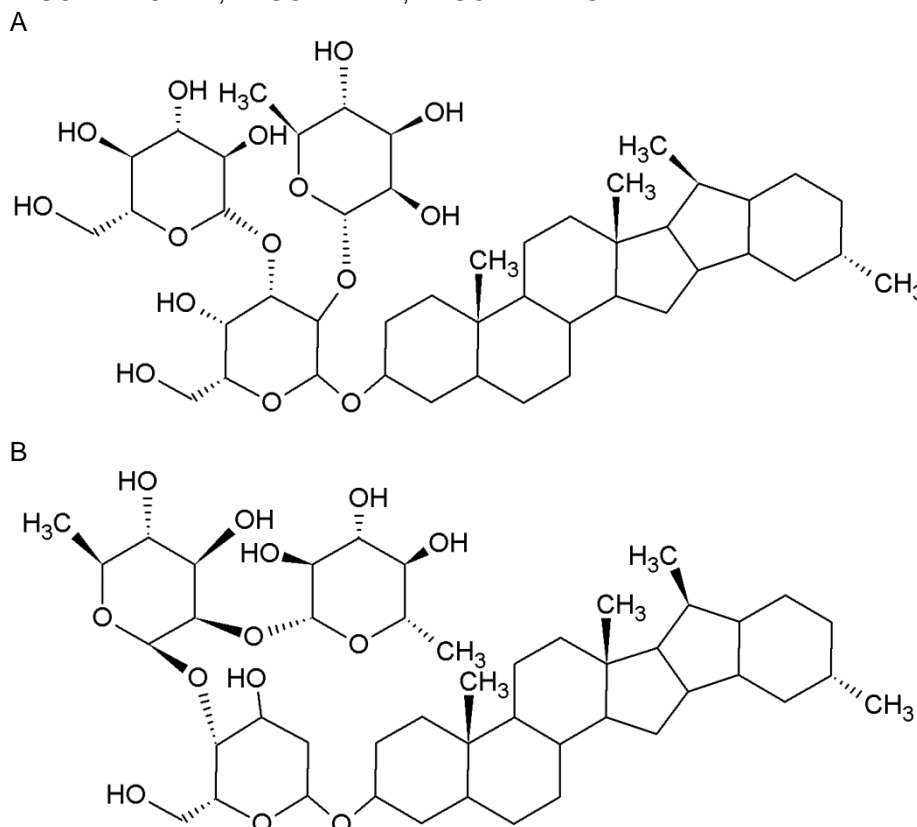
Na medicina, a espécie *Atropa belladonna* L. é bastante utilizada. Dela se extrai o alcaloide atropina (FIGURA 1-A) que é utilizado em tratamentos oftalmológicos e odontológicos. Além da atropina (FIGURA 1-A), outros são comumente encontrados na família, como a escopolamina (FIGURA 1-B), hiosciamina (FIGURA 1-C) e solasodina (FIGURA 1-D), que são obtidas de espécies dos gêneros *Atropa*, *Hyoscyamus*, *Datura*, *Brugmansia* e *Solanum*, e são utilizados no tratamento de uma série de quadros clínicos, como em doenças respiratórias, oftalmológicas, doença de Parkinson, quadros espasmódicos e anti-inflamatórios. Além dos usos econômicos consagrados, algumas espécies de *Datura* e *Brugmansia* apresentam propriedades narcóticas e alucinógenas, e vem sendo utilizadas por séculos em rituais religiosos e supersticiosos em diferentes civilizações. (PLOWMAN, 1981).

FIGURA 1 – ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA SOLANACEAE, A- ATROPINA; B- ESCOPOLAMINA; C- HIOSCIAMINA; D- SOLASODINA



Outra espécie amplamente estudada para tratamentos medicinais é a *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. É utilizada para produção de um medicamento conhecido como polvilho-de-lobeira, amplamente usado no controle de diabetes, obesidade e diminuição do nível do colesterol. (DALL'AGNOL; VON POSER, 2000, SAMUELS, 2009). A pesquisa fitoquímica constatou a presença de taninos, flavonoides, esteroides e triterpenos, cumarinas e saponinas nesta planta. (GALLON et al., 2015). Os metabólitos mais representativos desta espécie são os alcaloides esteroidais, solanina e solamargina (FIGURA 2). (SOUZA et al., 2002; MUNARI et al., 2004).

FIGURA 2 - ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA SOLANACEAE, A- SOLANINA; B- SOLAMARGINA



Algumas espécies de Solanaceae são utilizadas como plantas ornamentais, por exemplo, a “marianinha” (*Streptosolen jamesonii*), ou as petúnias. (VERHOEVEN et al., 2008). As espécies de Solanaceae tem enorme importância como alimento em todo o mundo. (SAMUELS, 2009). Em 2010 foram cultivados 28 milhões de hectares, produzindo cerca de 540 milhões de toneladas de Solanacea. (FAO, 2010). Porém esta produção refere-se a apenas a batata, tomate, beringela, e algumas pimentas e não são contabilizadas as espécies cultivadas menos conhecidas, ou semi-colhidas do mato dos quais há uma enorme gama de espécies pouco ou nada exploradas.

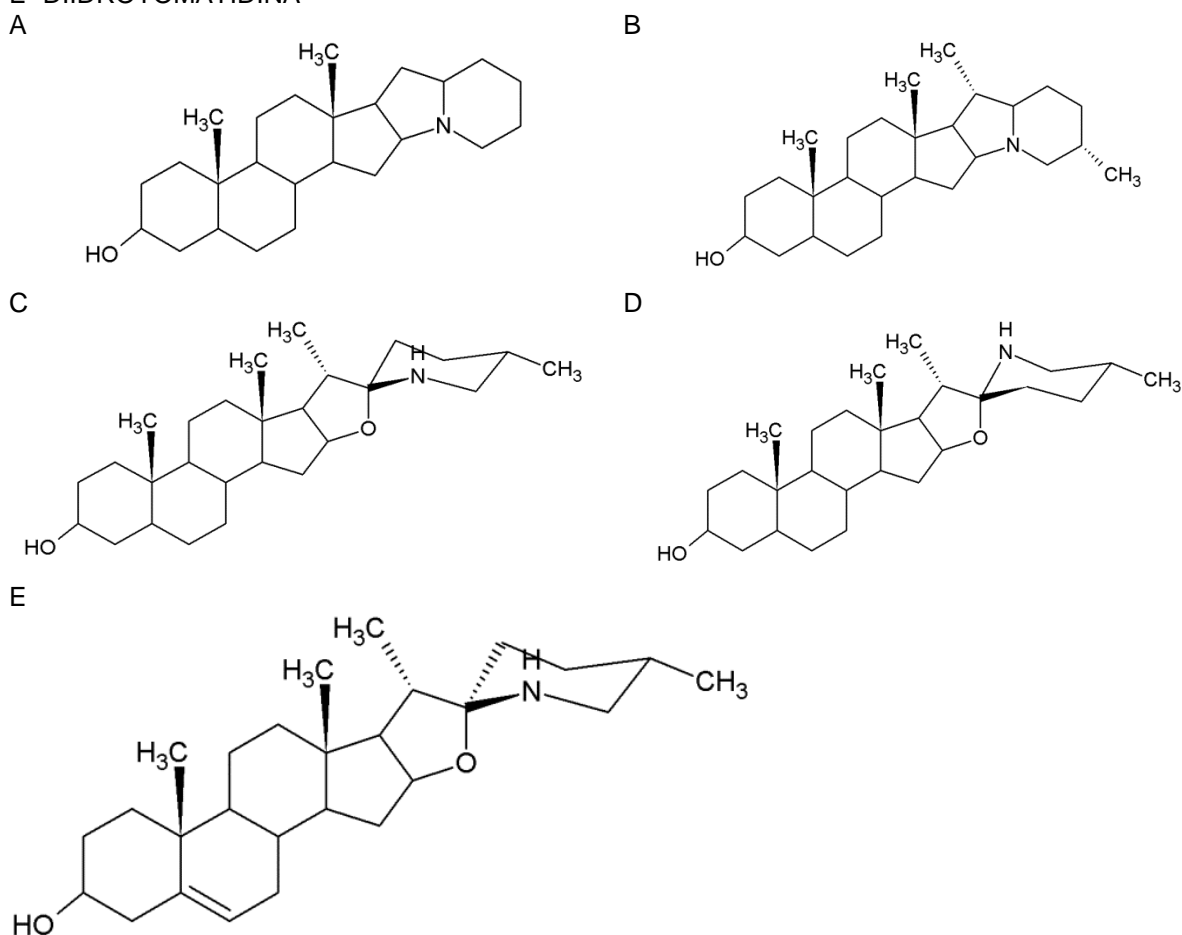
## 2.2 GÊNERO SOLANUM

O gênero *Solanum* é o mais representativo da família Solanaceae com cerca de 1500 espécies, sendo um dos mais numerosos do mundo. (AGRA, 1999). No Brasil, encontram-se cerca de 250 espécies, das quais aproximadamente 100 são

endêmicas, ocorrendo desde a Floresta Atlântica até regiões áridas como a Caatinga. (SILVA; AGRA; BHATTACHARYYA, 2007).

É conhecido por apresentar altas concentrações de alcaloides, principalmente solasonina (FIGURA 2-A) e solamargina (FIGURA 2-B). (BLANKEMEYER et al., 1998). Os heterosídeos alcaloídicos são metabólitos secundários das plantas e possuem como finalidade a proteção da planta contra fitopatógenos e predadores. Podem ser tóxicos para o homem e outros mamíferos. (HARAGUCHI et al., 1978; JADHAV, SHARMA, SALUNKHE, 1981; FRIEDMAN, MCDONALD, 1997; CHAM, 2007). As principais agliconas de *Solanum* são da classe dos solanidanos e espirosolanos. Os primeiros possuem anéis indolizidínicos fundidos, enquanto os segundos possuem uma porção alcaloídica oxa-azaspirodecano. Entre os solanidanos estão a solanidina e a demissidina, entre os espirosolanos estão a tomatidina, soladulcidina, diidrotomatidina e a solasodina (FIGURA 3). (VÄÄNÄNEN, 2007).

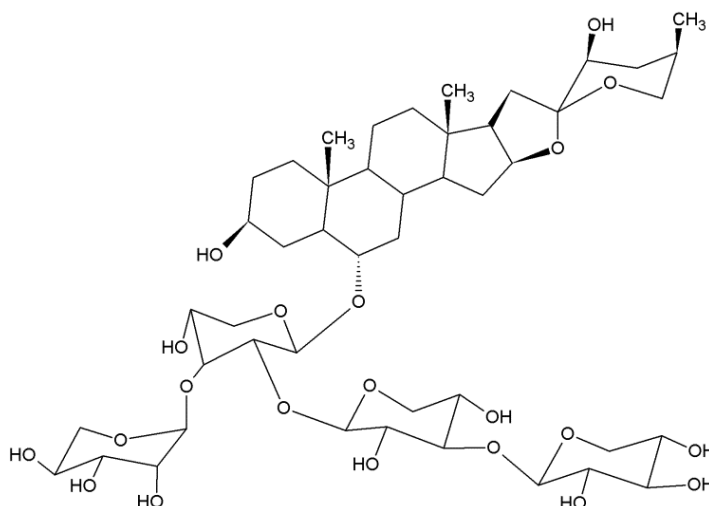
FIGURA 3 - ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Solanum*, A- SOLANIDINA; B- DEMISSIDINA; C- TOMATIDINA; D- SOLADULCIDINA; E- DIIDROTOMATIDINA



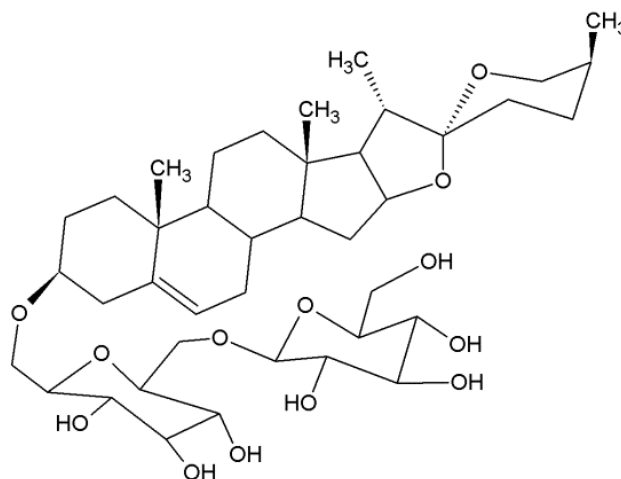
As plantas do gênero *Solanum* produzem uma grande variedade de saponinas esteroidais e glicoalcaloides de importância na resistência natural destas plantas contra muitas pragas (FRIEDMAN et al., 1991), e tem sido extensivamente estudados, devido principalmente as atividades biológicas apresentadas. (RIBEIRO et al., 2002; IKEDA et al., 2003; BARBOSA FILHO et al., 2005; BARBOSA-FILHO et al., 2006, DISTL et al., 2009). Entre as saponinas esteroidais já identificadas no gênero estão na Figura 4-A e Figura 4-B e foram isoladas de *S. paniculatum* L. por Junior, et al. (2015), e a utrosideo B (FIGURA 4-C) isolado de caule de *S. nigrum* Linn por Nath et al. (2016).

FIGURA 4 - ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Solanum*, A- (22R, 23S, 25R)-3 $\beta$ , 6 $\alpha$ , 23-trihydroxy-5 $\alpha$ -spirostane 6-O- $\beta$ -d-xylopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 3''')-O-[ $\beta$ -d-quinovopyranosyl(1''' $\rightarrow$ 2'')] -O-[ $\alpha$ -l-rhamnopyranosyl (1''  $\rightarrow$  3'')] -O- $\beta$ -d-quinovopyranoside; B- diosgenin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1'' $\rightarrow$ 6')-O- $\beta$ -D-glucopyranoside; C- UTROSIDEO B

A

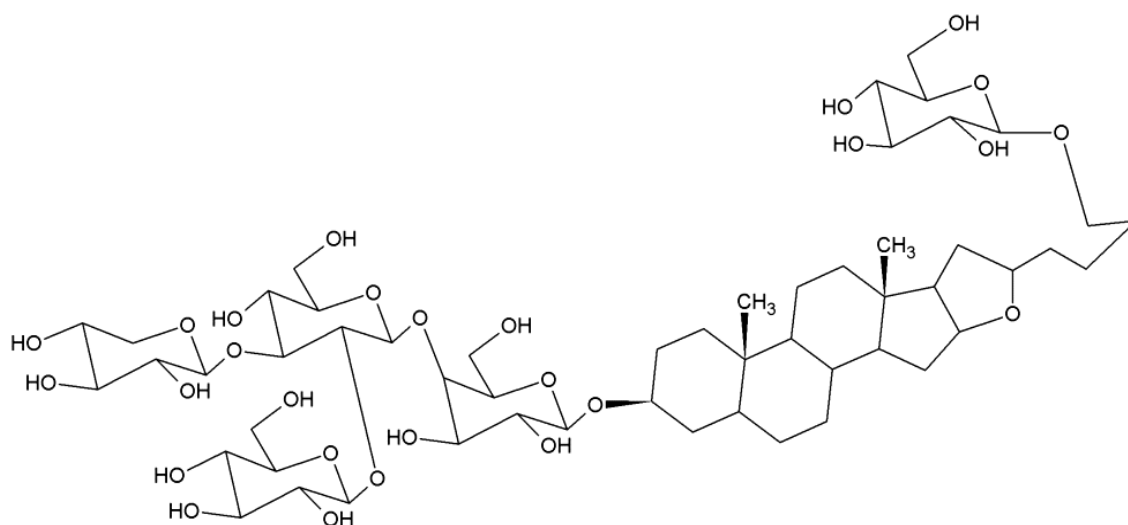


B





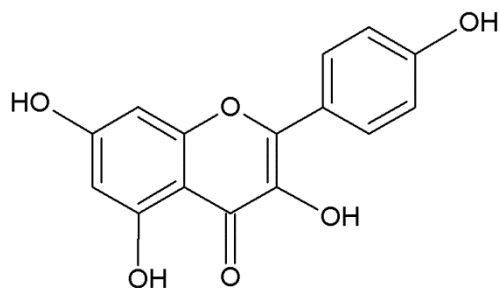
C



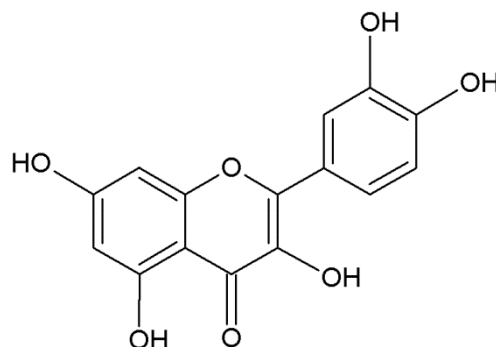
Os flavonoides são substâncias encontradas com frequência no gênero *Solanum* entre eles destacam-se o canferol, quercetina e a miricetina (FIGURA 5). (SILVA et al., 2003).

FIGURA 5 - ESTRUTURA MOLECULAR DOS COMPOSTOS QUÍMICOS ISOLADOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Solanum*, A- CANFEROL; B- QUERCETINA; C- MIRICETINA

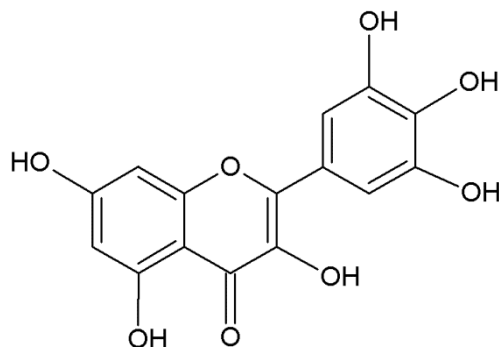
A



B



C



Os compostos encontrados em *Solanum* são de interesse terapêutico pois apresentam uma grande diversidade de atividades tais como citotóxica (IKEDA et

al., 2003), anticâncer (FRIEDMAN et al., 2005), anti-inflamatória (EDWIN et al., 2008), antiulcerogênica (MALLIKA et al., 2006) e moluscicida. (SILVA et al., 2008).

No Brasil algumas espécies do gênero *Solanum* (*S. paniculatum* L., *S. melongena* L. e *S. stipulaceum* Roem & Schult.) foram estudadas por induzirem hipotensão em ratos. (ALMEIDA et al., 1984; RIBEIRO et al., 1986; SHUM; CHIU, 1991; RIBEIRO, 2001). Várias outras espécies também apresentaram efeito espasmolítico significativo como exemplo: *S. indicum* L., *S. torvum* Sw., *S. melongena* L. e *S. dulcamara* L., *S. megalonyx* Sendtn. (BOYD, 1928; BHAKUNI et al., 1969; ABRAHAM et al., 1986; SHUM; CHIU, 1991; OLIVEIRA et al., 2006). A espécie *S. indicum* também possui atividade laxativa e cardiotônica (DEB et al., 2013) e o estudo do extrato das folhas de *S. melongena* L. demonstrou atividade analgésica e antipirética. (MUTALIK et al., 2003). O extrato etanólico do fruto de *S. acanthodes* Hook. tem atividade analgésica em estudo avaliando a atividade antinociceptiva. (BENTO et al., 2004). A espécie *Solanum khasianum* Clarke apresentou atividade anti-inflamatória e antihelmíntica em estudos conduzidos por Edwin e colaboradores (2008).

Os frutos de *S. elaeagnifolium* Cav., *S. dulcamara* L. , *S. sarrachoides* Sendtn. e *S. melongena* L. induzem malformação congênita devido à presença do glicoalcaloide solasodina. (KELLER et al., 1990). Sabe-se que os glicoalcaloides isolados de *S. sodomaeum* Dunal. apresentam propriedades anticancerígenas em animais (CHAM; GILLIVER, 1987) e em linhagens de células humanas pulmonares cancerígenas (PC-12) e de cólon (HCT-116). (IKEDA et al., 2003). Foi testado um creme para humanos, contendo o glicoalcaloide solasodine purificados de *S. sodomaeum*, este demonstrou ser seguro e efetivo no tratamento de tumores malignos de pele, carcinoma basocelular (BCCs) e carcinoma de células escamosas (SCCs) e também no tratamento de tumor benigno, queratoses e queratoacantomas. (CHAM; MEARES, 1987).

A espécie *S. pseudocapsicum* L. é usada na medicina homeopática para curar dor abdominal aguda e para o tratamento de sonolência. Estudos realizados com a espécie demonstraram atividades anticâncer, hepatoprotetora, antimicrobiana, antihipertensiva, citotóxicas, antiespasmódica, antiviral e antioxidante. (BADAMI et al., 2005; VIJAYAN et al., 2003).

O extrato de *Solanum nigrum* L. possui significativa atividade hepatoprotetora, anti-inflamatória, antioxidante, antinociceptiva, antipirética, antitumor, antiulcerogênica

e imunomoduladora. (HEO; LIM, 2004; ZAKARIA et al., 2006; CAI et al., 2010; SUBASH et al., 2011). Em estudos recentes com o extrato das folhas e raízes de *S. xanthocarpum* Schrad. & H. Wendl, este se mostrou ser um eficiente hipoglicemiante, com potente ação antioxidante, hepatoprotetora e atua inibindo a formação de cristais de oxalato de cálcio na urina. (GUPTA et al., 2011; POONGOTHAI et al., 2011; PATEL et al., 2012).

Solamargina um glicoalcaloide esteroidal, isolado de frutos de *S. incanum* L., misturado ao alcaloide solasonina extraído dos frutos de *S. mammosum* L. apresentam propriedades moluscicida em *Lymnaea cubensis*. (MEDINA; RITCHIE, 1980; ALZERRECA et al., 1981). Outros estudos demonstraram que o solamargina inibe o crescimento de *Tribolium castaneum* e *Trypanosoma cruzi*. (WEISSENBERG et al., 1998; CHATAING et al., 1998; BLANKEMEYER et al., 1998).

O alcaloide solasodine, presente em várias espécies da família Solanaceae como o tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), a batata (*Solanum tuberosum* L.) e a beringela (*Solanum melongena* L.), mostrou ter atividade na reversão da amnésia induzida por escopolamina em ratos, utilizando os modelos de labirinto aquático de Morris e labirinto em cruz elevado. (ALPESH et al., 2011).

Os frutos da espécie vegetal *Solanum lycocarpum* St. Hill, são utilizados pela população brasileira como hipoglicêmiantes, estudos realizados por Perez et al. (2006), demonstraram que estes frutos reduzem a glicemia de ratos com diabetes induzido por aloxana. Outro estudo com o extrato metanólico dos frutos da espécie também demonstrou uma inibição no aumento sérico da glicemia em ratos diabéticos. (YOSHIKAWA et al., 2007). O extrato aquoso de frutos de *Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl., também demonstrou atividade hipoglicemiante em ratos diabéticos induzidos por aloxana. (KAR et al., 2006).

Em um estudo realizado na República do Congo o decocto aquoso de raízes de *Solanum gilo* Raddi e frutos de *Solanum nigrum* L., foram citados como sendo usados pela população local para tratamento do diabetes. (KATEMO et al., 2012). Um estudo das plantas, do nordeste a Índia, cita a utilização, pela população local, do extrato aquoso dos frutos de *Solanum viarum* Dunal e dos frutos em natura de *Solanum indicum* L. para o tratamento do diabetes. (TAGA et al., 2012; TARAHA et al., 2011).

### 2.3 ESPÉCIE *Solanum megalochiton* MART.

*Solanum megalochiton* Mart. (FIGURA 6) conhecida popularmente como Joá Velame, ocorre na região das florestas ombrófilas densa e mista, em matas, bordas ou clareiras e capoeiras, em altitudes de até 900m. O nome da espécie tem origem no grego "megalo", grande e "chiton", vestimenta, referindo-se ao cálice acrescentado no fruto. (MENTZ et al., 2004, SAMPAIO, 2013).

É amplamente distribuída no Brasil, desde o Nordeste (Alagoas, Bahia), Centro-oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) até o Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina), sendo encontrada principalmente no cerrado e na floresta atlântica. (STEHMANN, 2014).

Floresce de setembro a abril, frutifica principalmente de novembro a maio. Os subarbustos medem aproximadamente 1,5 a 3,0 m de altura com folhas de coloração verde claro, flores amarelas e frutos com epicarpo verde claro quando imaturo e roxo a negro na maturidade. (SAMPALIO, 2013). A espécie *Solanum megalochiton* é classificada segundo o sistema CRONQUIST (1988) e APG III (Grupo de Filogenia das Angiospermas) (2009) conforme o QUADRO 1.

QUADRO 1 - SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE CRONQUIST E APGIII PARA A ESPÉCIE VEGETAL *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE

SISTEMA CRONQUIST	
CLASSE	Magnoliopsida
SUBCLASSE	Asteridae
ORDEM	Solanales
FAMÍLIA	Solanaceae
GÊNERO	<i>Solanum</i>
ESPÉCIE	<i>Solanum megalochiton</i>
SISTEMA APG III	
REINO	Plantae
CLADO	Angiospermas
CLADO	Eudicotiledôneas
CLADO	Asterídeas
CLADO	Euasterídeas I
ORDEM	Solanales
FAMÍLIA	Solanaceae
GÊNERO	<i>Solanum</i>
ESPÉCIE	<i>Solanum megalochiton</i>

FONTE: Adaptada de CRONQUIST (1988); APG III (2009)

FIGURA 6 - *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE: ASPECTO GERAL NO HABITAT



FONTE: A autora (2017)

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL BOTÂNICO

Foram coletados 2500g de ramos foliares de *Solanum megalochiton* Mart., Solanaceae, no campus botânico da UFPR, de Curitiba, nas coordenadas aproximadas de 25° 26'S e 49° 14'W, e na altitude de 930 m.

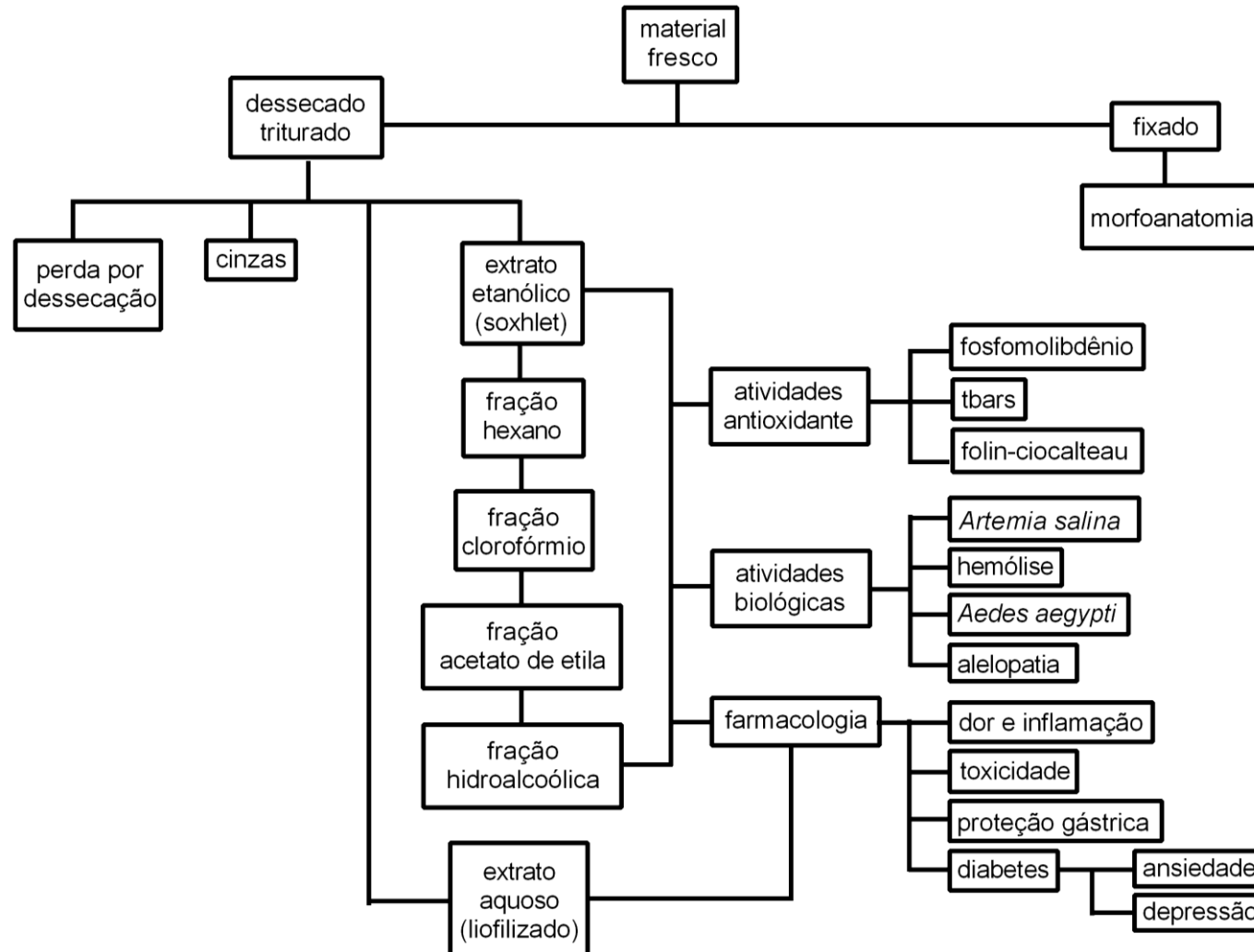
Os exemplares foram submetidos à confecção de exsicata e identificação no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba-PR (FIGURA 7). Uma amostra da espécie *S. megalochiton* foi depositada sob registro MBM 384849. Foi realizada uma autorização de pesquisa pelo IBAMA, para a coleta do material vegetal sob processo nº 001165/2013-47.

FIGURA 7 - *Solanum megalochiton* Mart., SOLANACEAE, EXSICATA DEPOSITADA NO MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL DE CURITIBA – PR SOB REGISTRO



FONTE: A autora (2017)

FIGURA 8 - DESENHO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS REALIZADOS COM EXTRATO ETANÓLICO, AQUOSO E FRAÇÕES DE FOLHA DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE



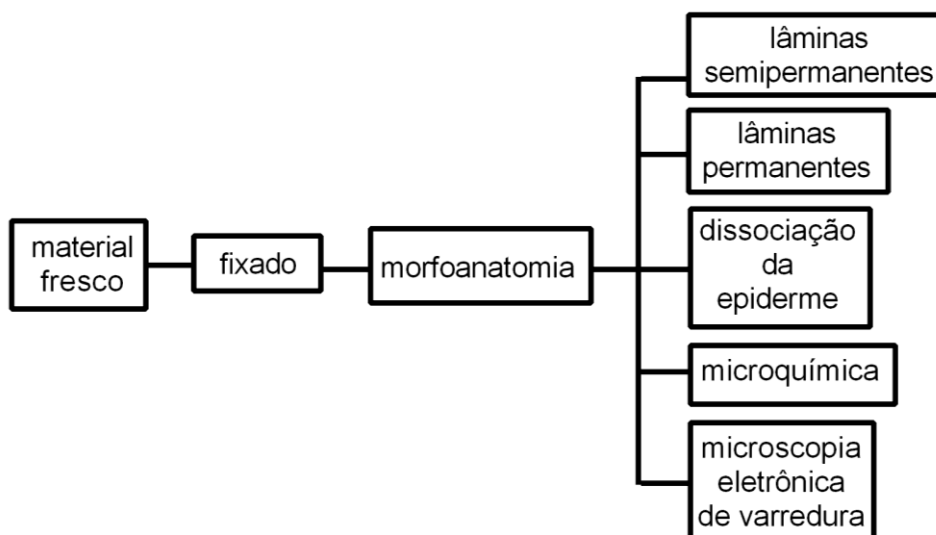
LEGENDA: TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico;

FONTE: A autora (2017)

### 3.2 ESTUDO MORFOANATÔMICO

Foram realizados estudos morfoanatômicos com folhas desenvolvidas (FIGURA 8 e 9), dos arbustos de *S. megalochiton*. Foi adotada a classificação de Hickey (1974) para determinar a morfologia externa foliar. O material foi fixado em uma solução de FAA 70 que é composta de 50 mL de formaldeído 37 %, 50 mL de etanol 70% e 900 mL de ácido acético glacial (JOHANSEN, 1940), e após 15 dias foi retirado dessa solução e estocado em etanol a 70% (v/v). (BERLYN; MIKSCHE, 1976).

FIGURA 9 - DESENHO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS MORFOANATÔMICO REALIZADOS COM FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE



FONTE: A autora (2017)

#### 3.2.1 Lâminas semipermanentes

Secções transversais e longitudinais, incluindo paradérmicas à mão livre foram feitas do material vegetativo fixado de *S. megalochiton*, para montagem de lâminas semipermanentes. Foram analisados, pecíolo e terço inferior do folíolo. A coloração foi efetuada com azul de astra e fucsina básica. (ROESER, 1972). As lâminas foram montadas com glicerina a 50% (v/v) (BERLYN; MIKSCHE, 1976) e para a lutagem foi utilizado esmalte incolor. (BEÇAK; PAULETE, 1976). O material foi observado e fotografado no microscópio Olympus CX41.



### 3.2.2 Lâminas permanentes

Para a confecção de lâminas permanentes foi utilizado o material fixado de *S. megalochiton*, desidratado em série etanólica crescente e incluído em polietileno glicol (PEG) 1500. Este foi seccionado no plano transversal em micrótomo de rotação Olympus CUT 4055, obtendo-se cortes de 7 a 9 µm. Os cortes foram corados com azul de toluidina (O'BRIEN; FEDER; McCULLY, 1964) e como meio de montagem foi usado Entellan<sup>®</sup>. (KRAUS; ARDUIN, 1997).

### 3.2.3 Dissociação da epiderme

Parte do material foliar de *S. megalochiton* foi tratado com solução de peróxido de hidrogênio a 10% e ácido acético glacial 1:1 (v/v). As superfícies epidérmicas foram coradas com safranina e verde malaquita (KRAUS; ARDUIN, 1997), empregando-se glicerina a 50% (v/v) como meio de montagem.

### 3.2.4 Testes microquímicos

Com as folhas de *S. megalochiton* foram realizados testes microquímicos em cortes transversais do material fixado, feitos à mão livre, utilizando-se os reativos: floroglucina clorídrica para verificação de lignina (FOSTER, 1949), Sudam IV para substâncias lipofílicas (SASS, 1951), cloreto férrico para compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940), lugol para amido (BERLYN; MIKSCHE, 1976), Wagner para alcaloides (FURR; MAHLBERG, 1981) e ácido sulfúrico para cristais de cálcio. (OLIVEIRA; AKISUE; AKISUE, 1991).

### 3.2.5 Microscopia eletrônica de varredura

Para a análise ultraestrutural de superfície (MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura) (SOUZA, 1998), a lâmina foliar passou por uma desidratação em série etanólica crescente até etanol P.A., seguida pelo ponto crítico de CO<sub>2</sub> no equipamento Bal-Tec CPD-030. Posteriormente foi aderida a suporte, metalizada com ouro no equipamento Balzers Union FL 9496, foi submetida a alto vácuo e observada e fotografada no microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6360LV.

### 3.3 ESTUDO FITOQUÍMICO

O material coletado de *S. megalochiton* foi colocado para secar à temperatura ambiente ao abrigo do sol. As folhas foram trituradas em liquidificador para que no momento da extração fosse aumentada a superfície de contato entre o material e o solvente. (SONAGLIO et al., 1999). Os ensaios realizados para o estudo fitoquímico estão detalhados no desenho experimental da Figura 10.

FIGURA 10 - DESENHO EXPERIMENTAL DOS ESTUDOS FITOQUÍMICOS REALIZADOS COM FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE



FONTE: A autora (2017)

#### 3.3.1 Perda por dessecação

Para a verificação da perda por dessecação (FIGURA 8) de *S. megalochiton*, foi colocado 1 g de material vegetal de folha em cadinhos de porcelana e foram colocados em estufa a 100°C, por um período de 3 h, até a obtenção de peso constante. Os cadinhos com as amostras foram retirados da estufa e colocados em dessecador para esfriar. Após este processo a amostra foi pesada e os resultados foram aplicados à fórmula (1) e expressos em porcentagem de umidade. Onde Pa é o peso do cadinho mais o peso da amostra, e Ps é o peso do cadinho mais o peso da amostra seca. Conforme descrito em Farmacopeia Brasileira V (2010).

$$\% \text{ umidade} = \frac{Pa - Ps}{Pa} \times 100 \quad (1)$$

### 3.3.2 Cinzas totais

Para a determinação do teor de cinzas totais (FIGURA 8) de *S. megalochiton*, foi adotado o método gravimétrico descrito na Farmacopeia Brasileira V (2010), incinerando-se o material em mufla até a eliminação do carvão, sem ultrapassar a temperatura de 600 °C. Após resfriamento foi realizada a pesagem do resíduo. A análise foi feita em triplicata e o resultado foi calculado em porcentagem de cinzas em relação ao material vegetal original seco à temperatura ambiente.

### 3.3.3 Ensaio sistemático em fitoquímica

Para o ensaio sistemático em fitoquímica foi preparado um extrato aquoso de folhas de *S. megalochiton* a 20 % (m/v) com o material vegetal triturado em contato com água destilada aquecida em BM (banho-maria) a 60 °C por 1 h. O macerado foi filtrado e mantido sob refrigeração.

Também foi elaborado um extrato etanólico bruto com o método de maceração à quente em que o material ficou em etanol 70 %, por 1 h, a 50 °C. Posteriormente foi realizado um particionamento (líquido-líquido) do extrato com solventes em ordem crescente de polaridade (hexano, clorofórmio e acetato de etila), sendo a fração remanescente a hidroalcoólica. (CARVALHO, 2001). O fracionamento foi realizado em funil de separação com 10 mL do líquido extrator por 20 vezes e o volume final foi completado até 200 mL com os respectivos solventes.

Com o extrato aquoso foram realizados os testes para avaliação da presença de: glicosídeos antociânicos e cianogênicos, saponinas e taninos.

O extrato etanólico e frações foram utilizados para verificar a presença dos seguintes metabólitos: alcaloides, glicosídeos flavônicos, cumarinas, antraquinonas e esteroides e/ou triterpenoides, segundo técnica descrita por Moreira (1979) e adaptada por Miguel (2003).

- Pesquisa de alcaloides

A pesquisa de alcaloides foi realizada com os reativos gerais de alcaloides: Mayer (iodo-mercurato de potássio), Dragendorff (iodo-bismutato de potássio), Bouchardat (iodo-iodeto de potássio) e Bertrand (ácido sílico-túngstico). A turvação ou precipitação do meio revelam resultado positivo.

- Leucoantocianidinas

A pesquisa das leucoantocianidinas foi realizada com base na reação de redução das leucoantocianidinas em antocianidinas em presença de HCL produzindo um deslocamento batocrômico da banda I e produzindo a mudança de coloração de amarelo para vermelho.

- Glicosídeos flavônicos

Pesquisa de glicosídeos flavônicos foi realizada por meio das reações de Shinoda, Taubock e Pacheco. Na reação de Shinoda as colorações diferenciais dos flavonoides revelam estruturas químicas diversas: flavonas com coloração amarelo a vermelho, flavonóis e di-hidroflavonóis com coloração vermelho a vermelho sangue, flavononas com coloração vermelho a violeta, e derivados antociânicos com coloração vermelho que passa a rosa. Chalconas, auronas, di-hidrochalconas, isoflavonas e isoflavononas não apresentam coloração.

- Pesquisa flavonois

Na reação oxálico-bórica ou reação de Taubock, os flavonoides em geral desenvolvem fluorescência amarela esverdeada, enquanto que alguns dos seus derivados, como as flavonas e isoflavonas não apresentam essa propriedade. As antocianinas coram-se, sem produzir fluorescência. Empregando-se acetato de sódio e anidrido acético no ensaio de Pacheco, os di-hidroflavonóis apresentam coloração roxa característica e as flavonas, as chalconas, as auronas e os flavonóis dão resposta negativa.

- Pesquisa de cumarinas

Cumarinas foram pesquisadas através da fluorescência azul ou verde amarelada, observadas sob luz UV em meio básico.

- Pesquisa de antraquinonas

Para a pesquisa de antraquinonas foi realizada a reação de Bornträger, cujo resultado positivo se verifica pela coloração vermelha de antraquinonas livres em meio básico.

- Pesquisa de esteroides e/ou triterpenos

Para a detecção de esteroides e/ou triterpenos, foi efetuada a reação de Libermann Burchard. Frente a resultado positivo, foram executadas também as reações de Keller-Kiliani para desoxiaçúcares e de Baljet para lactonas pentacíclicas.

- Pesquisa de glicosídeos antociânicos

Três alíquotas do extrato tiveram os pHs ajustados para 4, 7 e 10. A mudança de coloração é indicativa de glicosídeos antociânicos.

- Pesquisa de glicosídeos cianogênicos

Foi feita a hidrólise dos glicosídeos cianogênicos em meio ácido. O resultado positivo pode ser verificado com o aparecimento da coloração vermelha em papel picrossódico.

- Pesquisa de saponinas

O extrato foi agitado energicamente durante 5 min e deixado em repouso durante 30 min para verificação de formação de espuma persistente, que é característica da presença de saponinas.

- Pesquisa de taninos

Os taninos foram pesquisados em três testes separadamente com cloreto férrico, gelatina e formol-clorídrico (Stiasny).

- Pesquisa de ácidos voláteis

O extrato acidificado foi levado em BM a 60° C para a evaporação de ácidos voláteis, que desenvolvem coloração vermelha em papel indicador.

- Pesquisa de ácidos fixos

A pesquisa dos ácidos fixos foi realizada com reagente de Nessler, pela observação desenvolvimento de coloração alaranjada.

### 3.3.4 Preparação dos extratos e frações

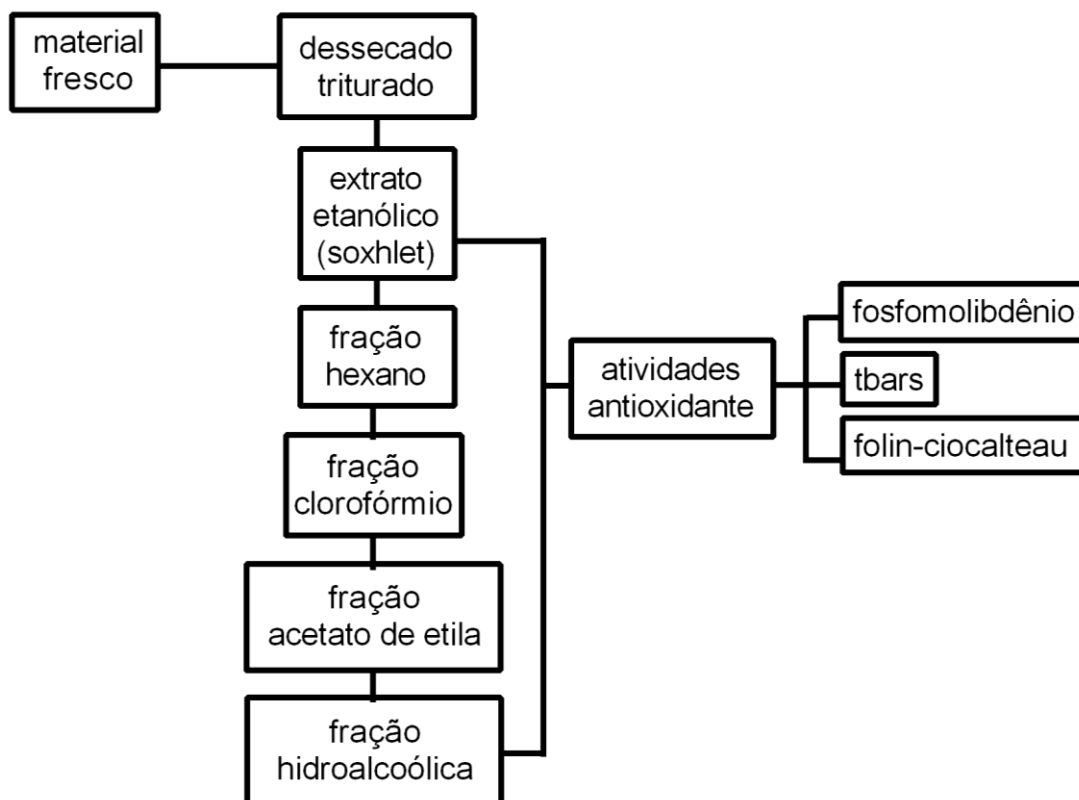
Foi preparado um extrato bruto com as folhas de *S. megalochiton*, secas à temperatura ambiente e ao abrigo do sol, que foram trituradas em liquidificador. O extrato bruto etanólico foi obtido a partir de 2000 g de material vegetal em etanol 70 % (v/v) com uso de aparelho de Soxhlet modificado. (CARVALHO et al., 2006). O extrato bruto foi utilizado para obtenção das frações por meio de particionamento líquido/ líquido com solventes de polaridades crescente obtendo-se assim as frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e remanescente ou hidroalcoólica conforme Figura 8. (CARVALHO, 2001). O extrato e as frações foram concentrados por meio de evaporador rotatório e secos em banho Maria (60 °C). Os ensaios foram realizados com o extrato bruto e frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e residual ou hidroalcoólica.

Para os ensaios farmacológicos foi elaborado um extrato aquoso com 500 g de folhas de *S. megalochiton* secas à temperatura ambiente, ao abrigo do sol e trituradas em liquidificador. O extrato foi obtido por meio de maceração à quente. Para isso o material vegetal foi colocado em frasco âmbar e foi adicionado 5L de água destilada à 60 °C e deixado esfriar por 12 h em geladeira com agitação frequente. O material foi filtrado em papel filtro e congelado em freezer -80 °C, e posteriormente foi liofilizado em liofilizador Bench Top Pro, VirTis SP Scientific®.

## 3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A avaliação da atividade antioxidante foi feita com o extrato etanólico bruto e as frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica de folhas de *S. megalochiton* (FIGURA 8 e 11).

FIGURA 11 - DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO ANTIOXIDANTE REALIZADOS COM FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE



FONTE: A autora (2017)

### 3.4.1 Método de formação do complexo fosfomolibdênio

O método de formação do complexo fosfomolibdênio (FIGURA 8) se baseia na redução do complexo molibdênio VI em V promovendo o aparecimento da coloração que pode ser quantificada. Essa reação pode determinar a presença de qualquer espécie redutora presente e avalia a capacidade antioxidante total da amostra.

Esse ensaio baseia-se no método descrito por Prieto, Pineda e Aguilar (1999) com modificações. O reativo para formação do complexo fosfomolibdênio foi preparado com a mistura de soluções de fosfato monossódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0,1 mol/L, molibdato de amônio 0,03 mol/L, ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 3 mol/L e água.

As amostras de *S. megalochiton* foram preparadas na concentração de 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  em metanol, foi feito um branco do solvente com água destilada no lugar da amostra. Também foram testados os padrões vitamina C e rutina. Os tubos contendo o reativo e as amostras foram levados ao BM a 95 °C por 90 min. Após o resfriamento, foram realizadas as leituras de absorbância (A) em espectrofotômetro UV-1800 Shimadzu®, em 695 nm. Os resultados foram aplicados na equação (2) a

seguir e expressos em atividade antioxidante relativa da amostra em relação aos padrões.

$$\text{AAR \% em relação aos padrões} = \frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}}{A_{\text{padrão}} - A_{\text{branco}}} \quad (2)$$

onde: A – absorvância; AAR – atividade antioxidante relativa;

Para verificar a diferença estatística entre as amostras, foi aplicado o teste estatístico ANOVA e para a localização das diferenças o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999; MENSOR et al., 2001).

### 3.4.2 Método TBARS

Para realizar o teste TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) (FIGURA 8), foi utilizada como fonte de lipídeos uma solução de gema de ovo homogeneizado. (MORAIS et al., 2006). As amostras de *S. megalochiton* foram testadas em triplicata na concentração de 100 µg/mL e solubilizadas em metanol. Um branco foi feito para o solvente e um controle positivo foi elaborado para observação da completa peroxidação dos lipídeos, onde foram adicionados todos os reativos com exceção da amostra.

Como indutor da peroxidação lipídica foi utilizado ABAP (cloreto de 2,2'-azo-bis(2-amidinopropano) 0,07 mol/L. Foi adicionada uma solução de ácido acético a 20% (v/v), TBA (ácido tiobarbitúrico) 0,8% (m/v) e SDS (dodecilsulfato de sódio) 1,1% (m/v). O BHT (butil-hidroxitolueno) foi empregado como padrão. Os tubos contendo os reativos foram levados ao BM a 95 °C, após o resfriamento foi adicionado 1-butanol, e foram levados à centrifuga em 3000 rpm por 10 min. As leituras de absorvância (A) foram feitas no espectrofotômetro UV-1800 Shimadzu®, em 540 nm. Os resultados foram aplicados na equação (3) abaixo e expressos em Índice Antioxidante (IA).

$$\text{IA\%} = 1 - \frac{A \times 100}{C} \quad (3)$$

onde: A - média aritmética das absorvâncias das amostras testadas; C - absorvância do controle positivo totalmente oxidado

Os testes estatísticos de ANOVA e Tukey ( $p < 0,05$ ) foram utilizados nesse método para verificação das diferenças entre os grupos. (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999; MENSOR et al., 2001).



### 3.4.3 Doseamento de polifenóis pelo método de Folin-Ciocalteu

O doseamento de polifenóis (FIGURA 8 ) foi realizado com extrato bruto e suas frações hexano, clorofórmio e acetato de etila e hidroalcoólica. Para a realização desses doseamentos foi feita uma curva padrão para calibração utilizando como padrão a substância ácido gálico nas concentrações de 2,5 a 20µg/mL. Todo o ensaio foi realizado em triplicata.

Após a preparação das soluções, estas foram agitadas e após 3 minutos foi colocada a solução de carbonato de cálcio 10%. Após 30 minutos foi realizada a leitura. Nesse tempo ocorreu a reação com o reativo Folin-Ciocalteu. Após 30 minutos a leitura das absorvâncias foi realizada em espectrofotômetro UV-1800 Shimadzu<sup>®</sup>, a 760nm.

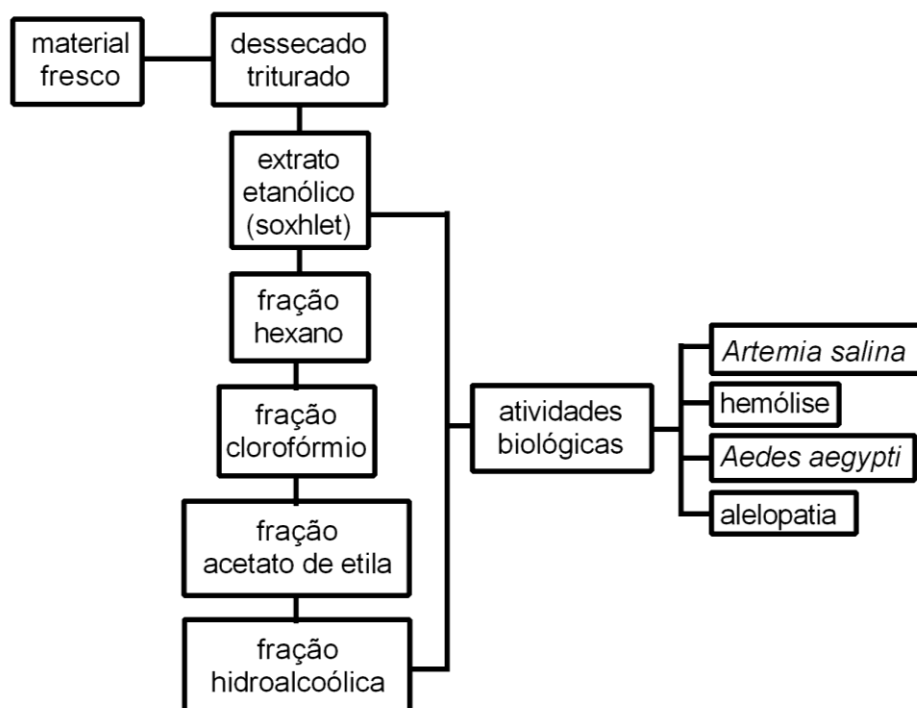
Os resultados obtidos foram colocados no programa Excel, na forma de tabela (concentração/ absorvância) e com base nos dados foi construído um gráfico de dispersão, adicionando linha de tendência, exibindo equação do gráfico e valor de R-quadrado no gráfico.

Para o doseamento de polifenóis no extrato total e de suas frações foi feita uma solução de 0,25mg/ml da respectiva fração, e feitas soluções iguais as soluções feitas para curva padrão, utilizando 10µg, 20µg, 30µg e 40µg no lugar da amostra padrão. O procedimento foi igual ao descrito acima para a validação da curva padrão com ácido gálico. As leituras das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro e assim foi obtida as concentrações de polifenóis nas respectivas concentrações das frações.

## 3.5 ESTUDOS DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

O estudo de atividades biológicas foi realizado com o extrato etanólico bruto e as frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica de *Solanum megalochiton* Mart. Solanaceae (FIGURA 12).

FIGURA 12 - DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS REALIZADOS COM FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE



FONTE: A autora (2017)

### 3.5.1 Teste de toxicidade a *Artemia salina*

O teste foi realizado em triplicata com os extratos e frações de *S. megalochiton*, o controle negativo foi feito com metanol e o positivo com sulfato de quinidina. Após a eclosão dos ovos de *Artemia salina*, 10 náuplios foram colocados em contato com as frações que estavam em três concentrações 10, 100 e 1000 µg/mL. Estes foram mantidos em contato com os extratos por 24 h. Em seguida foi realizada a contagem de náuplios vivos e mortos. Os dados foram analisados pelo método estatístico Probitos, sendo determinados a CL<sub>50</sub> (concentração letal média) e o intervalo de confiança de 95%. (FINNEY, 1956; MEYER et al., 1982).

### 3.5.2 Avaliação da atividade hemolítica

O sangue de carneiro comercial (Newprov<sup>®</sup>) foi centrifugado em centrifugador miniSpin plus, Eppendorf<sup>®</sup>, com rotação de 1000 rpm, para separação dos eritrócitos e logo após essas células foram lavadas com tampão fosfato gelado

pH 7,4. Em seguida foi preparada uma suspensão de eritrócitos com o tampão fosfato (suspensão diluída a 10% (v/v).

O teste foi realizado em microtubos tipo Eppendorf® com volume de 2,0 mL. Foram utilizadas três concentrações 1000, 500 e 100 µL dos extratos e frações de folha de *S. megalochiton*, que foram solubilizadas em tampão fosfato pH 7,4 em triplicata. Como controle positivo foi utilizada água destilada. Os microtubos foram levemente homogeneizados e incubados em estufa com temperatura de 37 °C. Após 3 h foram centrifugados por 5 min a 3000 rpm.

Para resultados negativos há formação de um pellet bem definido de eritrócitos, e resultados positivos são verificados através da coloração vermelha do sobrenadante. (WHO, 1998). Também foi realizada uma leitura da absorbância em espectrofotometro a 540 nm para verificação da hemólise.

A hemólise foi quantificada de acordo com PROKOFÉVA et al. (2004) em que até 20% foi considerado uma baixa atividade hemolítica, entre 20 e 50% foi considerada moderada e acima de 50% foi considerada alta atividade hemolítica.

### 3.5.3 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

A atividade larvicida de extratos e frações obtidos de folha da espécie *S. megalochiton* sobre as larvas de *Aedes aegypti* foi realizada segundo metodologia descrita pela Organização Mundial da Saúde (1981) com algumas modificações.

Os ovos de *Aedes aegypti* da linhagem Rockefeller foram fornecidos pela Fundação Oswaldo Cruz – RJ. (HARTBERG, CRAIG, 1970). Os ovos foram colocados em bandeja de plástico e adicionados 500 mL de água sem cloro, e em seguida levada para estufa BOD (marca Novatecnica modelo NT 704) com temperatura de  $27 \pm 2$  °C e umidade relativa de  $80 \pm 5$  %. Estas condições foram mantidas por 48 horas do período de eclosão dos ovos até o 3º estágio larval. As amostras foram solubilizadas com 0,5 % de dimetilsulfóxido (DMSO) e diluídas com água sem cloro em concentrações distintas de 1.000, 100 e 10 µg/mL para os testes.

Foram colocadas 15 larvas do 3º estágio larval em copo de plástico contendo as amostras e o volume foi completado para 5 mL. Os ensaios foram realizados em triplicata. Como controle negativo foi utilizada uma solução aquosa de DMSO 0,5 %.

A atividade larvicida foi avaliada após 24 horas por meio da contagem do número de larvas mortas em cada amostra. Larvas incapazes de atingir a superfície

da água quando tocadas, foram consideradas como mortas. (WHO, 1981). Os valores da concentração letal (CL50) em µg/ml foram determinados utilizando o método de análise Probit. (FINNEY, 1974). Para determinação dos valores relativos à mortalidade acumulada e corrigida, calculada de acordo com a equação (4) abaixo sugerida por Abbott (1925).

$$\% \text{ de mortalidade corrigida} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de vivos do controle} - \text{n}^\circ \text{ de vivos tratados} \times 100}{\text{número de vivos do controle}} \quad (4)$$

### 3.5.4 Avaliação da atividade alelopática

Para a avaliação da atividade alelopática foram colocadas 30 sementes de Alface, *Lactuca sativa* L., (alface cultivar Grand rapids, da empresa Isla, com índice de germinação de 98%), e 30 sementes de Cebola, *Allium cepa* L. (Cebola Híbrida Diamantina, da empresa Isla, com índice de germinação de 98%), separadamente, em contato com o extrato etanólico bruto e as frações em três concentrações que são elas 250, 500 e 1000 µg/mL, como controle foi utilizado água destilada. As sementes foram mantidas por 7 (alface) e 14 dias (cebola), em germinador Mangelsdorf (Biomatic), com temperatura controlada de 25 °C, sem iluminação.

Para o teste de germinação das sementes de alface foram realizadas duas leituras diárias, e para cebola uma leitura, sempre no mesmo horário, durante sete dias para alface e 14 para cebola. O teste foi realizado em quadruplicata. Para verificação da germinação foi utilizado como critério o tamanho da radícula que deve ter no mínimo 50% do tamanho da semente para evitar falsa germinação, que pode ocorrer devido à expansão do embrião com a embebição das frações. (LABORIAU, 1983).

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado para cada repetição, de acordo com a quantidade de sementes germinadas, dividindo-se pelo número de dias da germinação e somando-se até o último dia da germinação. Para as sementes de alface foram feitas contagens a cada 12 horas e para as sementes de cebola a contagem foi realizada uma vez ao dia. As médias obtidas foram submetidas ao teste Scott-Knott e Tukey em nível de 5% de probabilidade. (MAGUIRE, 1962).

Para o teste de crescimento, o material foi retirado do germinador no quinto dia após o início da germinação. Foram retiradas 10 amostras de cada placa. Para cada

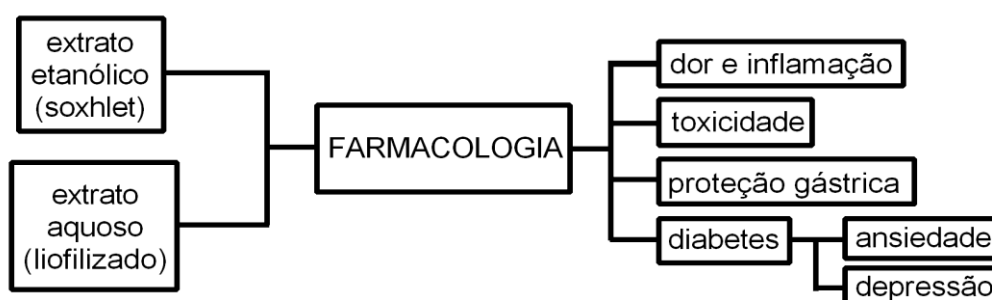
amostra foi medido o tamanho da radícula e do hipocótilo com papel milimetrado. Os resultados foram submetidos ao teste de Scott-Knott para determinação das médias. Como controle foi utilizado a água, tanto para germinação quanto para o crescimento. (DIETZ; WINTERHALTER, 1996; FERREIRA; AQUILA, 2000; MALHEIROS; PERES, 2001).

A respiração potencial foi avaliada com uso das raízes em contato com cloridrato de trifênil tetrazólio (TTC) 0,6% (p/v) em tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0) em estufa a 40 °C por 12 h. Após isso o material foi lavado com água destilada por 2 vezes e colocado em contato com etanol a 95% (v/v) e mantido em banho-maria à 95 °C até a secura. Após o resfriamento, foi novamente colocado em contato com etanol a 95%(v/v) e foi feita a leitura em espectrofotômetro a 530 nm. O teste foi realizado em triplicata para cada concentração. O método baseia-se na redução do cloridrato de trifênil tetrazólio (TTC) pela atividade de enzimas desidrogenase e do surgimento do formazan. (STEPONKUS; LANPHEAR, 1967). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

### 3.6 ANÁLISES FARMACOLÓGICAS

Os testes farmacológicos (FIGURA 13), foram aprovados pela comissão de ética para o uso dos animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO - UFPR). Os ensaios de nocicepção induzida por formalina e edema induzido por carragenina, bem como os testes de toxicidade e gastroproteção foram aprovados sob n° 794 (ANEXO 1). A avaliação da atividade antidiabética, antidepressiva e ansiolítica foi aprovada sob n° 868 (ANEXO 2).

FIGURA 13- DESENHO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS FARMACOLÓGICOS COM CAMUNDONGOS TRATADOS COM EXTRATOS AQUOSO E ETANÓLICO DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE E GRUPOS CONTROLES



FONTE: A autora (2017)

### 3.6.1 Modelos de dor e inflamação

#### A) Nocicepção induzida por formalina

O teste de nocicepção induzida por formalina, executado conforme metodologia descrita por Hunskaar et al. (1985), a qual consiste na injeção de 20 µL de uma solução de formalina a 2,5% (0,92% de formaldeído) na superfície ventral da pata posterior direita. O indicativo de nocicepção é o tempo que o animal permanece lambendo ou mordendo a pata injetada, durante os primeiros cinco minutos após a injeção (primeira fase ou fase neurogênica), e durante o intervalo de 15 a 30 minutos após a injeção (segunda fase ou fase inflamatória). Os animais foram pré-tratados com veículo (grupo controle) ou com os extratos brutos de folhas de *Solanum megalochiton* (nas concentrações de 10, 30 e 100 mg/Kg), por via oral, 1h antes da injeção intraplantar de formalina, e observados com relação ao tempo de resposta nociceptiva durante as duas fases do modelo.

Delineamento dos grupos experimentais:

- Grupo controle (veículo v.o. e formalina i.pl.) = 6 animais
- Grupo tratamento 10 mg/Kg (extrato v.o. e formalina i.pl.) = 6 animais
- Grupo tratamento dose 30 mg/Kg (extrato v.o. e formalina i.pl.) = 6 animais
- Grupo tratamento dose 100 mg/Kg (extrato v.o. e formalina i.pl.) = 6 animais

Foram utilizados, portanto, 18 animais.

#### B) Avaliação do edema

O edema de pata foi induzido por injeção intraplantar de carragenina 1%. Os animais foram pré-tratados com veículo (grupo controle) ou com os extratos brutos de folhas de *Solanum megalochiton* (nas concentrações de 100 e 300 mg/Kg), por via oral, 1h antes da injeção intraplantar de 0,1mL de carragenina ou salina. Para verificar o edema da pata, foi utilizado um paquímetro digital para medir a espessura (altura e largura das patas), imediatamente próximo aos dedos do animal. As mensurações (espessura) foram feitas em diferentes períodos, uma vez antes da indução nociceptiva, e 1h, 2h, 3h, 4h, e 24h após a indução. As medidas foram obtidas de altura e largura de pata de cada grupo experimental e foram expressas

pela diferença do valor obtido entre a pata direita e a esquerda, foi feito cálculo da área de edema produzido e realizado o cálculo conforme equação 5:

$$\frac{\text{Edema da pata direita} - \text{Edema da pata esquerda}}{\text{Edema da pata esquerda}} \quad (5)$$

Delineamento dos grupos experimentais (para cada extrato vegetal testado):

- Grupo controle (veículo v.o. e salina) = 6 animais
  - Grupo tratamento 100 mg/Kg (extrato v.o. e carragenina i.pl.) = 6 animais
  - Grupo tratamento 300 mg/Kg (extrato v.o. e carragenina i.pl.) = 6 animais
- Foram utilizados, portanto, 18 animais.

### 3.6.2 Avaliação de possíveis efeitos tóxicos

Para avaliar um possível efeito tóxico do extrato bruto e aquoso após administração crônica dos extratos, foi utilizada metodologia descrita por Montrucchio (2012), onde os animais (camundongos swiss fêmeas) foram tratados com veículo ou com o extrato bruto etanólico (300 e 900 mg/Kg) e aquoso (300 mg/Kg), por via oral, uma vez ao dia, durante 14 dias, sempre no mesmo horário. Após isso, foram deixados em jejum, com água à vontade, durante 12 horas. No 15º dia os animais foram anestesiados com cetamina (50 mg/kg, i.p.) e xilazina (10 mg/kg, i.p.) para a coleta de 1 mL de sangue. Em seguida os animais foram sacrificados e os órgãos vitais – coração, pulmões, fígado, baço, cérebro e rins – foram retirados e pesados e foi feito o cálculo do peso do órgão em relação ao peso corporal equação 6.

$$\frac{\text{Peso do órgão} \times 100}{\text{Peso do animal}} \quad (6)$$

Alguns órgãos foram fixados em formol 10% para posteriormente serem emblocados em parafina e cortados em micrótomo a 5 µm e corados com hematoxilina e eosina (HE). As lâminas confeccionadas foram analisadas por um patologista para verificação de alterações celulares. Uma parte das amostras de sangue foi coagulada e centrifugada a 3.500 rpm por 10 minutos a 4°C, e o soro foi utilizado para a dosagem de enzimas hepáticas: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), uréia, creatinina e ácido úrico com kit bioquímico

específico. Com a outra parte do sangue foi realizado um hemograma e duas lâminas de esfregaço sanguíneo.

Delineamento dos grupos experimentais:

Grupo controle (veículo v.o.) = 6 animais

- Grupo tratamento (extrato bruto etanólico v.o. – 300mg/Kg) = 6 animais

- Grupo tratamento (extrato bruto etanólico v.o. – 900mg/Kg) = 6 animais

- Grupo tratamento (extrato bruto aquoso v.o. – 300mg/Kg) = 6 animais

Foram utilizados, portanto, 24 animais.

### 3.6.3 Avaliação da atividade de proteção gástrica

Para a indução de lesão gástrica foi utilizado como agente necrotizante o etanol P.A. (ROBERT et al., 1979). Os animais (camundongos swiss fêmeas) foram mantidos em jejum de 24 horas com acesso livre a água, separados em diferentes grupos de 8 animais cada, tratados com veículo (salina + Tween<sup>®</sup> 80 0,5 % v.o.), omeprazol (40 mg/kg, v.o.), diferentes doses de extrato (300, 900 mg/kg v.o.) por 14 dias. Sessenta minutos após o último tratamento v.o., foi administrado o agente necrotizante, para indução da lesão gástrica. Também foi mantido um grupo controle, naive, que recebeu apenas salina, não recebendo omeprazol nem agente necrotizante.

Uma hora após a administração do agente necrotizante, os animais foram sacrificados, os estômagos foram removidos, abertos pela menor curvatura e estendidos para a análise das lesões gástricas. A avaliação dessas lesões foi realizada através do programa ImageTool<sup>®</sup> Versão 3.0, no qual foi possível mensurar a área total lesionada de cada estômago em mm<sup>2</sup>. Os resultados foram expressos em mm<sup>2</sup> de área lesionada.

### 3.6.4 Avaliação da atividade antidiabética e antidepressiva/ansiolítica

#### 3.6.4.1 Animais

Foram empregados camundongos machos Swiss, provenientes do biotério central da Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Curitiba, com peso entre 25-30 g no início do experimento. Os animais tiveram livre acesso à água e alimento e



foram mantidos sob um ciclo de luz claro/escuro de 12 h (7:00 às 19:00 h) e temperatura controlada ( $22 \pm 1$  °C).

#### 3.6.4.2 Drogas e Tratamento

Foram utilizadas as seguintes drogas provenientes das fontes indicadas: estreptozotocina (STZ, 160 mg/Kg Santa Cruz Biotechnology Inc., EUA); midazolam (2 mg/Kg, Medley), e imipramina (20 mg/Kg). Todas as drogas foram preparadas imediatamente antes da aplicação.

As doses de todas as drogas foram escolhidas com base em estudos prévios realizados com plantas medicinais do mesmo gênero. (RAUPP et al., 2008; MUTALIK et al., 2003; BENTO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2006).

#### 3.6.4.3 Indução do Diabetes (DBT)

O diabetes foi induzido experimentalmente por meio de estreptozotocina que possui como local de ação diabetogênica as células betas pancreática produtora de insulina, promovendo a destruição dessas células. Através de uma injeção única intraperitoneal de 160 mg/Kg de estreptozotocina (STZ, diluído em tampão citrato 10 mM, pH 4,5) em camundongos submetidos previamente ao jejum de 12 horas. O diabetes foi confirmado três dias após a injeção de STZ. Para isso, amostras de aproximadamente 5  $\mu$ L de sangue da veia caudal foram adicionadas em fitas teste impregnadas de glicose oxidase (*Accu-Check Active<sup>TM</sup>*, Roche). Foram considerados diabéticos e mantidos no experimento os animais cuja glicemia foi igual ou superior a 250 mg/dL. (DE MORAIS et al., 2013).

#### 3.6.4.4 Modelos experimentais:

Os animais foram pesados e foi feita a dosagem da glicemia a cada 7 dias até o final do experimento. A glicemia foi medida a partir de aproximadamente 5  $\mu$ L de sangue retirados da veia caudal e aferido em fitas teste e aparelho Accu Chek Active<sup>®</sup>.

### 3.6.4.5 Delineamento experimental

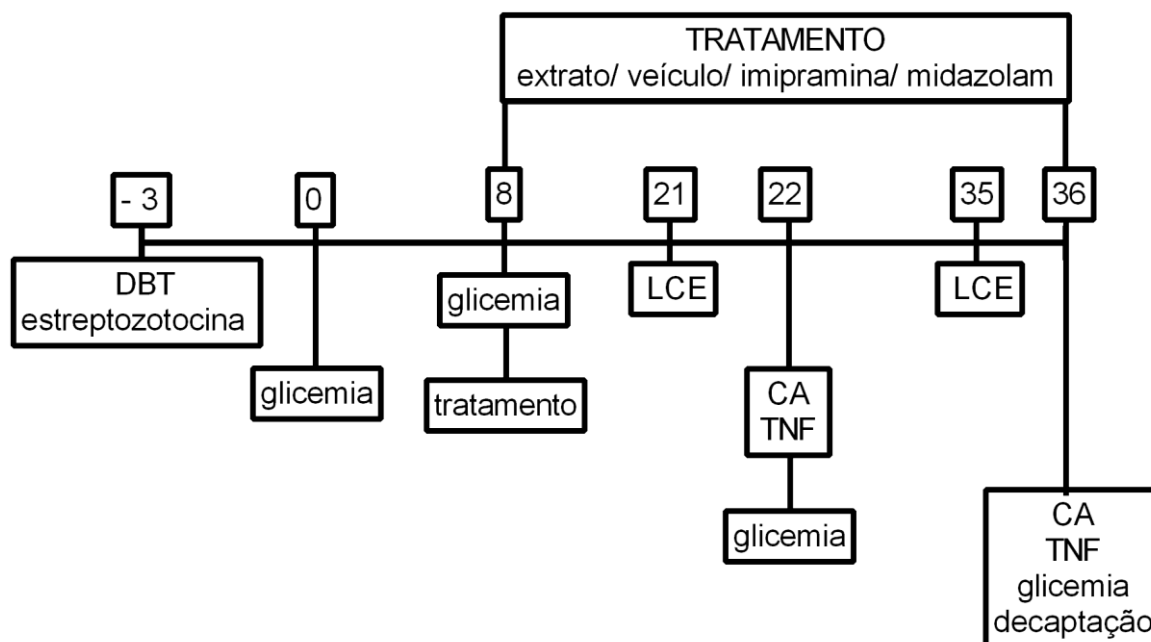
Os animais foram divididos em 8 grupos sendo estes: normoglicêmicos + veículo (NGL-V), diabéticos + veículo (DBT-V), diabéticos + extrato etanólico 30 mg/kg (DBT-E30), diabéticos + extrato etanólico 100 mg/kg (DBT-E100), diabéticos + extrato etanólico 300 mg/kg (DBT-E300), diabéticos + extrato aquoso 300 mg/kg (DBT-A300), diabéticos + midazolam 2 mg (DBT-MIDA), diabéticos + imipramina 20 mg (DBT-IMIP), conforme exemplificado no QUADRO 2. Os extratos (FIGURA 22), foram administrados por gavagem, bem como as drogas midazolam e imipramina, sendo que o veículo empregado consiste em uma solução de Tween<sup>®</sup> 80 a 0,05%. Os camundongos foram tratados todos os dias no mesmo horário com suas respectivas drogas e nos dias de experimento foram tratados 1 hora antes do experimento. Os animais foram submetidos aos tratamentos por 28 dias, tendo início no 8º dia de experimento e finalizado no último dia do experimento ou 36º. Os experimentos de ansiedade foram realizados nos dias 21 e 35 e os de depressão foram aplicados nos dias 22 e 36. A glicose plasmática e o peso dos animais foram quantificados uma vez por semana (FIGURA 14).

QUADRO 2 - GRUPOS E NÚMERO DE ANIMAIS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA, ANTIDEPRESSIVA E ANSIOLÍTICA DE CAMUNDOGOS TRATADOS COM EXTRATO AQUOSO E BRUTO DE *Solanum megalochiton* Mart. SOLANACEAE E GRUPOS CONTROLES TRATADOS COM SALINA

GRUPOS	SIGLAS	Nº ANIMAIS
Normoglicêmicos+veículo	(NGL-V)	11
Diabéticos+veículo	(DBT-V)	14
DBT+Extrato Etanólico 30 mg/Kg	(DBT-E30)	8
DBT+Extrato Etanólico 100 mg/Kg	(DBT-E100)	12
DBT+Extrato Etanólico 300 mg/Kg	(DBT-E300)	10
DBT+Extrato Aquoso 300 mg/Kg	(DBT-A300)	9
DBT+Midazolam	(DBT-MIDA2)	5
DBT+Imipramina	(DBT-IMIP20)	5
<b>TOTAL</b>		<b>74</b>

FONTE: A autora (2017)

FIGURA 14- DESENHO EXPERIMENTAL DOS ENSAIOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA E ANTIDEPRESSIVA/ANSIOLÍTICA EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM EXTRATOS AQUOSO E ETANÓLICO DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE E GRUPOS CONTROLES



LEGENDA: DBT – diabetes; CA – campo aberto; LCE – labirinto em cruz elevado; TNF – teste de natação forçado;

FONTE: A autora (2017)

#### 3.6.4.6 Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

O teste é baseado no modelo de Handley e Mithani (1984) e validado por Pellow et al. (1985) e Lister (1990). É um dos principais testes para investigação de ansiedade. (CAROBREZ, BERTOGLIO, 2005; PELLOW et al., 1985).

O aparelho consiste em um labirinto em forma de cruz (ou de Xis), elevado cerca de 50 cm do chão, com dois braços abertos e dois fechados, nas laterais e nas extremidades. Os animais foram colocados individualmente na plataforma central de frente para um dos braços abertos do labirinto e o número de entradas nos braços abertos e fechados e o tempo de permanência nos braços abertos foram registrados. Considera-se entrada nos braços quando o animal entra com as quatro patas dentro dos mesmos. Posteriormente, estes dados foram convertidos em % de entradas nos braços abertos e % de tempo e de entradas nos braços abertos, dividindo o tempo gasto nos braços abertos pela soma do tempo gasto nos braços abertos + fechados. (LISTER, 1987; HOLMES E RODGERS, 1998; BERTOGLIO E CAROBREZ, 2005). O número de entradas nos braços fechados foi considerado

índice de atividade locomotora. Drogas ansiolíticas aumentam a exploração dos braços abertos (% tempo e entradas nos braços abertos) e/ ou diminuem os comportamentos de avaliação de risco, sem alterar a atividade motora.

#### 3.6.4.7 Teste do Campo Aberto (CA)

Para análise da atividade locomotora dos animais, foi empregado o teste do campo aberto. Um aparato experimental construído com piso de madeira e paredes de aço escovado com 35 cm de altura delimitando uma área circular de 50 cm de diâmetro sendo o assoalho pintado de branco, subdividido com linhas pretas traçadas através de dois círculos concêntricos com várias linhas radiais formando figuras semelhantes a trapézios.

O intuito do teste foi analisar a locomoção do animal, verificando-se desta forma, se os resultados obtidos em outros testes não foram decorrentes de alterações motoras em consequência do tratamento recebido. (WALS E CUMMINS, 1976).

#### 3.6.4.8 Teste de Natação forçada (TNF)

Após 1 hora da administração das drogas teste os animais foram colocados no centro de um cilindro de vidro (30 x 50 cm) preenchido com 30 cm de água a aproximadamente  $24 \pm 2$  °C, sendo medido o tempo de imobilidade nos últimos 4 minutos de um total 6 minutos de teste. (PORSOLT et al 1977; BORSINI; MELI, 1988; SKALISZ et al., 2004; RAUPP et al., 2008). O animal foi julgado imóvel quando parou de nadar e passou a executar movimentos mínimos apenas para permanecer flutuando com a cabeça acima do nível da água. A água foi trocada após o teste de cada animal e estes foram secos e colocados em ambiente aquecido. É considerado efeito antidepressivo uma redução do tempo de imobilidade em dose que não aumente a atividade locomotora. (PORSOLT et al., 1977; BORSINI; MELI, 1988, SKALISZ et al., 2004).

**(Tratamento => campo aberto => natação forçada => eutanásia)**

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 MORFOANATOMIA

#### 4.1.1 Folha de *Solanum megalochiton*

A folha de *Solanum megalochiton*, Mart., Solanaceae é simples, alternada, peciolada, medindo aproximadamente 8 (3-14) cm de comprimento (FIGURAS 15 - A e B). A folha é curtamente peciolada, com comprimento de aproximadamente 1 (0,5-2) cm e base espessada.

O limbo é simétrico a levemente assimétrico, de forma lanceolada, com ápice agudo e acuminado e base arredondada. A margem é lisa, com pequenas ondulações. A face adaxial apresenta coloração verde clara, enquanto a abaxial é verde mais escura (FIGURA 15 - A). A nervação é pinada-broquidódroma, apresentando uma nervura central e dela partindo nervuras laterais secundárias que se prolongam até encontrarem a próxima, formando uma série de arcos proeminentes e de forma reta. As nervuras laterais formam um ângulo ascendente de aproximadamente 45°, são retas e ramificadas e de forma curvada nas proximidades da margem.

Em vista frontal do limbo, a epiderme é recoberta por uma cutícula granulosa (FIGURA 15 – D e F). Tricomas tectores distribuem-se em ambas as faces da epiderme foliar, isoladamente ou em grupos de três ou mais reunidos pela base, possuem extremidade aguda e são revestidos por cutícula granulosa (FIGURA 15 – C e D). Apresentam-se na maioria das vezes na forma unicelular, porém tricomas pluricelulares também são observados.

Apenas a face abaxial da epiderme do folíolo apresenta estômatos, caracterizando a folha como hipoestomática (FIGURAS 15 – E; 16 - B). As células-guarda têm formato reniforme, ao seu redor a cutícula forma estrias que se dispõem de modo circular e transversal (FIGURA 15 - E). Os estômatos são classificados como actinocíticos, cada par de células-guarda é rodeado por três ou mais células, geralmente em forma radial.

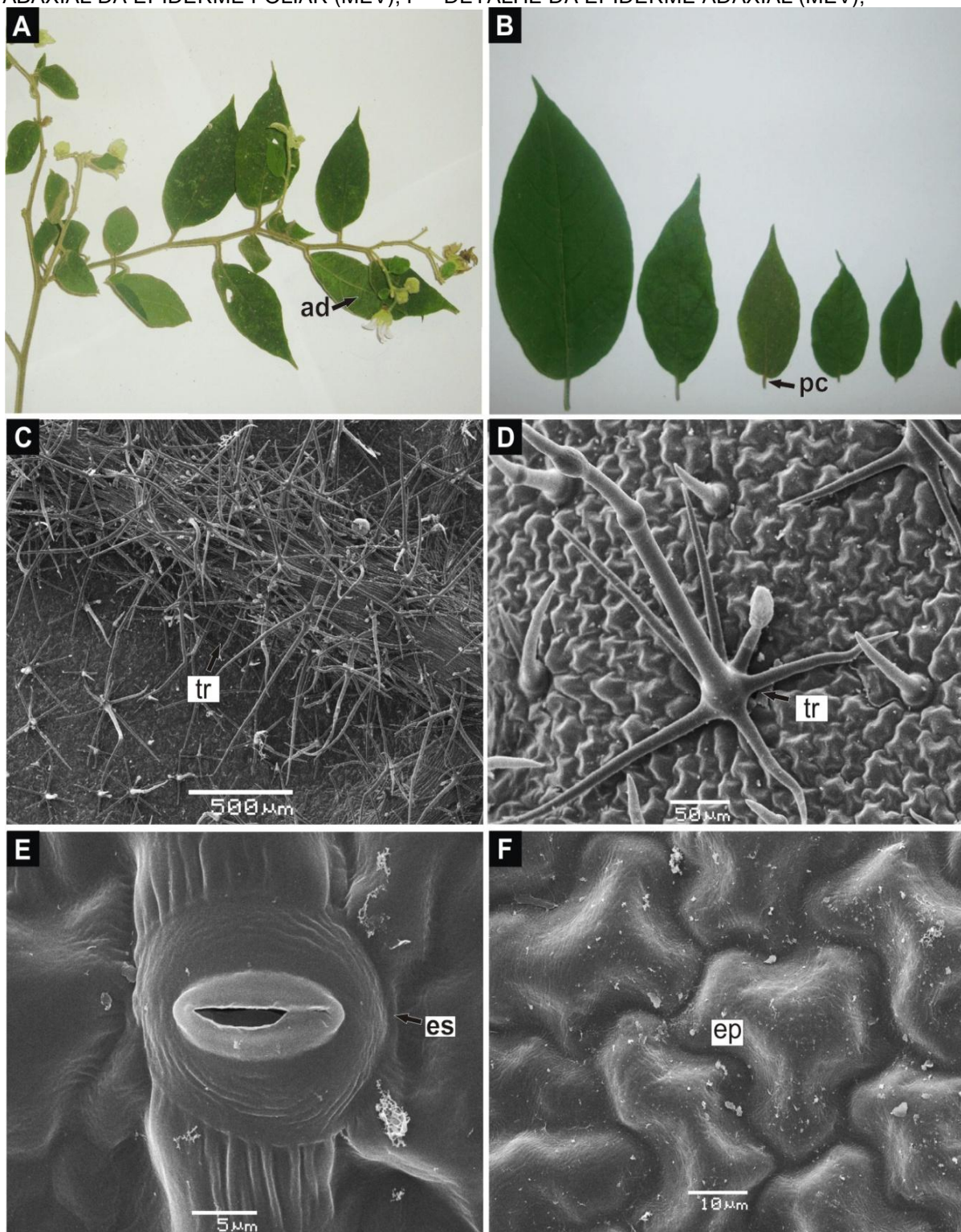
Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada, revestida por uma cutícula delgada e possui as células da face adaxial maiores que as da abaxial

(FIGURAS 16 – A e B). Os estômatos estão inseridos no mesmo nível em relação às demais células epidérmicas (FIGURAS 16 - B).

O mesofilo é organizado de forma dorsiventral, composto de parênquima paliçádico e esponjoso (FIGURAS 16 – A e B). O parênquima paliçádico é frequentemente uniestratificado junto à face adaxial e representa aproximadamente 50-60 % da altura do mesofilo, e o parênquima esponjoso é formado de algumas camadas de células na superfície oposta. Cavidades secretoras contendo substâncias lipofílicas são observadas no parênquima paliçádico, junto à epiderme.

A nervura central apresenta formato côncavo-convexo com curvatura proeminente na face abaxial (FIGURAS 16 – C). Subjacente à epiderme, há algumas camadas de colênquima do tipo angular (FIGURA 16 - D). Uma bainha completa e expressiva de células esclerenquimáticas envolve um único feixe vascular colateral, em arranjo tendendo a circular (FIGURA 16 C, D e E). No floema são identificados elementos crivados e células parenquimáticas e, no xilema, os elementos traqueais se dispõem em fileiras radiais, sendo separados por células parenquimáticas (FIGURAS 16 - E). A região central apresenta células parenquimáticas com paredes espessadas e lignificadas (FIGURAS 16 – E e F).

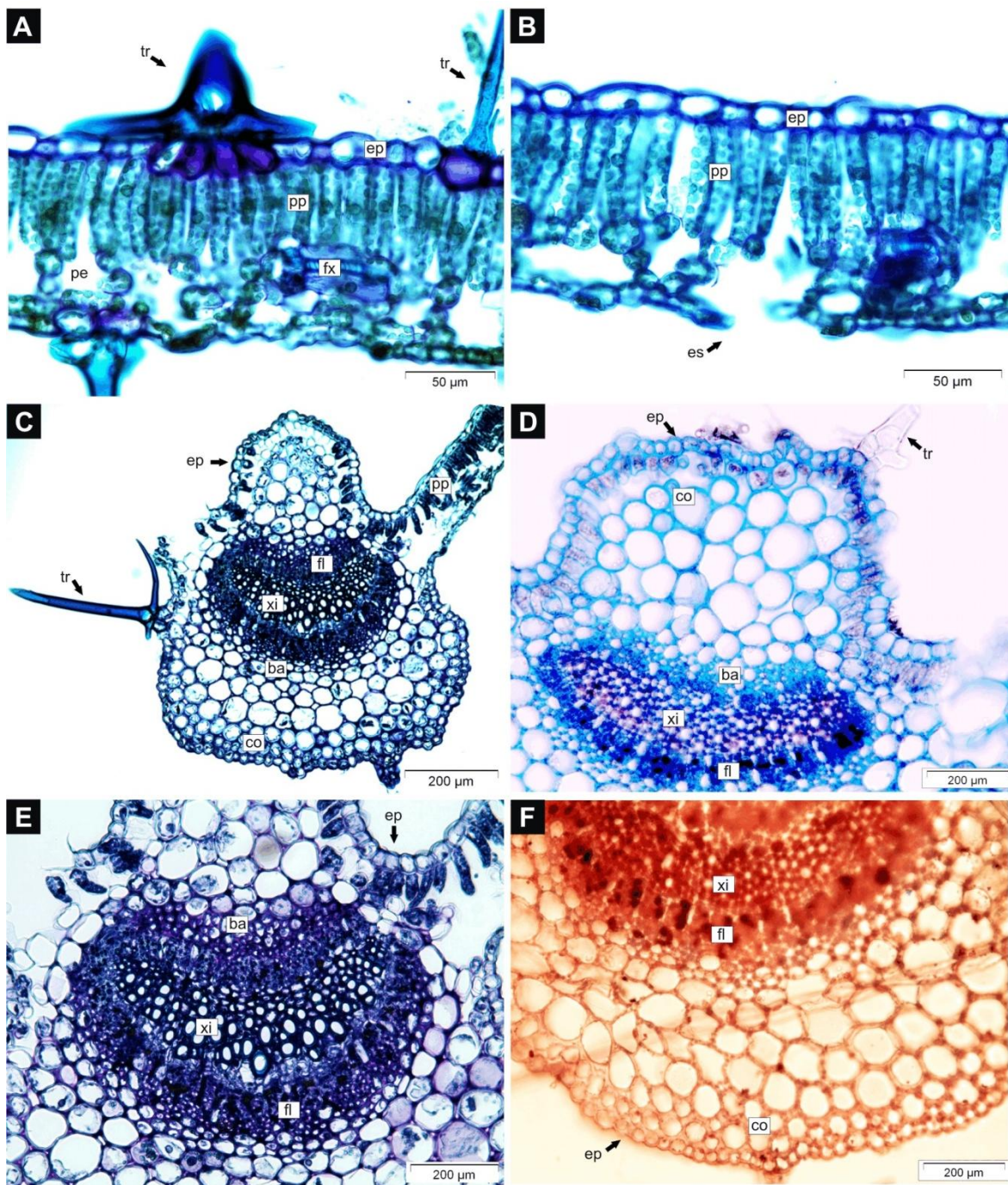
FIGURA 15 - A-F – *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE, A – RAMO VEGETATIVO; B – FOLHA SIMPLES LANCEOLADA; C – TRICOMAS TECTORES SOB NERVURA CENTRAL (MEV); D – TRICOMAS TECTORES ESTELARES (MEV); E – DETALHE DE UM ESTÔMATO NA FACE ABAXIAL DA EPIDERMIS FOLIAR (MEV); F – DETALHE DA EPIDERMIS ADAXIAL (MEV);



LEGENDA: ad - adaxial; ep - epiderme; es - estômato; pc - pecíolo; tr – tricôma;  
 FONTE: A autora (2017)



FIGURA 16 - A-F – *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE, A – INDICAÇÃO DE EPIDERME, TRICOMA TECTOR, PARÊNQUIMAS PALIÇÁDICO E ESPONJOSO E FEIXE VASCULAR DE PEQUENO PORTE; B – DETALHE DE UM ESTÔMATO NA FOLHA EM SECÇÃO TRANSVERSAL; C – NERVURA CENTRAL EM SECÇÃO TRANSVERSAL, PARTE DO FEIXE VASCULAR, JUNTO À SUPERFÍCIE ADAXIAL E ABAXIAL, RESPECTIVAMENTE; D – PORMENOR DO FEIXE VASCULAR COLATERAL, BAINHA ESCLERENQUIMÁTICA, FLOEMA E XILEMA; E, F – DETALHE DO FLOEMA E XILEMA;



LEGENDA: ba – bainha; co – colênquima; ep – epiderme; fi - floema; fx - feixe; pe - parênquima esponjoso; pp - parênquima paliçádico; tr - tricôma; xi – xilema;

FONTE: A autora (2017)



## 4.2 ESTUDO FITOQUÍMICO

### 4.2.1 Perda por dessecação

A determinação da perda de umidade verifica se a secagem do material foi eficiente. A presença de umidade pode causar a degradação do material por contaminação microbiana e a secagem excessiva a degradação de compostos por hidrólise. (SIMÕES et al., 2004; SIMÕES et al., 2010). A perda por dessecação de folha e caule de *S. megalochiton*, apresentou um teor de umidade médio de 14,52% para folha e de 10,27% para caule o que está dentro do limite máximo recomendado para drogas vegetais. (SIMÕES et al., 2004).

Os valores obtidos na determinação de umidade de folha e caule de *S. megalochiton* estão expressos em porcentagem em relação ao material vegetal seco à temperatura ambiente, e foram sumarizados na TABELA 1.

TABELA 1- DETERMINAÇÃO DA PERDA POR DESSECAÇÃO EM FOLHA E CAULE DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE

AMOSTRA	UMIDADE (g %)
	MÉDIA/ DP
FOLHA	14,52 ± 0,63
CAULE	10,27 ± 0,15

Os resultados obtidos demonstram um valor maior para folha do que para caule, podendo-se concluir que a folha possui maior quantidade de teor aquoso com uma média de 14,52 g% do que o caule com 10,27 g%. Esses resultados podem contribuir para o estabelecimento de padrões de qualidade e caracterização da espécie vegetal.

### 4.2.2 Determinação do teor de cinzas totais

O teor de cinzas totais é um parâmetro físico-químico que estabelece a quantidade de substâncias residuais não voláteis presentes na amostra. É a soma da matéria inorgânica intrínseca mais as substâncias de origem externa ou matéria inorgânica extrínseca. (BRAGA et al., 2007; SIMÕES et al., 2010). Esse parâmetro está presente na farmacopeia brasileira e é utilizado pela indústria farmacêutica no controle de qualidade da matéria-prima utilizada na produção de fitoterápicos.

Valores acima do estabelecido para uma determinada matéria-prima vegetal indicam a presença de impurezas inorgânicas extrínsecas. (SIMÕES et al., 2004).

Os valores obtidos na determinação de cinzas de folha e caule de *S. megalochiton* estão expressos em porcentagem em relação ao material vegetal seco à temperatura ambiente, e foram sumarizados na TABELA 2.

TABELA 2- DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CINZAS TOTAIS DE FOLHA E CAULE DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE

AMOSTRA	CINZAS TOTAIS (g %)
	MÉDIA/ DP
FOLHA	6,10 ± 0,23
CAULE	4,69 ± 0,69

Os resultados obtidos demonstram um valor maior para folha do que para caule, podendo-se concluir que a folha possui maior quantidade de matéria inorgânica não volátil com 6,10% e o caule com 4,69%. Esses resultados podem contribuir para o estabelecimento de padrões de qualidade e caracterização da espécie vegetal.

#### 4.2.3 Estudo sistemático fitoquímico

A partir do extrato aquoso, alcoólico e frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólico foi realizado o estudo fitoquímico preliminar, necessário para orientar o isolamento de substâncias químicas presentes nas folhas da espécie *S. megalochiton*. Os resultados da análise fitoquímica podem ser observados nas TABELAS 3 e 4

TABELA 3 - ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO E DAS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO E DE ACETATO DE ETILA, PROVENIENTES DE FOLHA DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE

GRUPOS QUÍMICOS	EXTRATO HIDROALCOÓLICO	FRAÇÕES		
		Hexano	Clorofórmio	Acetato de etila
ALCALOIDES	-	-	+	+
GLICOSÍDEO FLAVÔNICO	+	-	-	+
CUMARINAS	-	-	-	-
ANTRAQUINONAS	-	-	-	-
ESTEROIDES/ TRITERPENOIDES	+	+	+	+

TABELA 4 - ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHA DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE

GRUPOS QUÍMICOS	EXTRATO AQUOSO
HETEROSÍDEOS ANTOCIÂNICOS	-
HETEROSÍDEOS SAPONÍNICOS	+
HETEROSÍDEOS CIANOGENÉTICOS	-
TANINOS	+
AMINOGRUPOS	+
ÁCIDOS FIXOS	+
ÁCIDOS VOLATEIS	-

Os alcaloides são metabólitos secundários e possuem como finalidade a proteção da planta contra fitopatógenos e predadores. Podem ser tóxicos para o homem e outros mamíferos. (HARAGUCHI et al., 1978; JADHAV, SHARMA, SALUNKHE, 1981; FRIEDMAN, MCDONALD, 1997; CHAM, 2007). Os alcaloides são compostos frequentemente presentes no gênero *Solanum*. Os glicoalcaloides têm sido detectados em mais 350 espécies de plantas – a maioria *Solanum spp.* ou outros membros da família Solanaceae. (IKEDA et al., 2003; SILVA et al., 2005; 2007; DISTL et al., 2009). Os alcaloides esteroidais são os mais representativos do gênero *Solanum*, principalmente solanina e solamargina. (BLANKEMEYER et al., 1998; SOUZA et al., 2002; MUNARI et al., 2004).

Além dos alcaloides, os glicosídeos flavônicos são um grupo de constituintes químicos com atividade antioxidante pronunciada (HALE et al., 2008), e que estão presentes na espécie em estudo. (SILVA et al., 2003). Os flavonoides são substâncias encontradas com frequência no gênero *Solanum* entre eles destacam-se o kanferol, quercetina e a miricetina. (SILVA et al., 2003).

Os resultados também foram positivos para esteroides e triterpenoides, heterosídeos saponínicos, taninos, aminogrupos e ácidos fixos, conforme TABELA 4.

As plantas do gênero *Solanum* produzem uma grande variedade de saponinas esteroidais e glicoalcaloides de importância na resistência natural destas plantas contra muitas pestes (FRIEDMAN et al., 1991), e tem sido extensivamente estudados, devido principalmente as atividades biológicas apresentadas. (RIBEIRO et al., 2002; IKEDA et al., 2003; BARBOSA FILHO et al., 2005; BARBOSA-FILHO et al., 2006, DISTL et al., 2009). Entre as saponinas esteroidais já identificadas no gênero estão as isoladas de *S. paniculatum* L. por Junior, et al. (2015), uttrosideo B (FIGURA 14) isolado de caule de *S. nigrum* Linn por Nath et al. (2016).

### 4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

#### 4.3.1 Método Fosfomolibdenio

Na pesquisa da atividade antioxidante pelo método fosfomolibdênio do extrato e frações de folha de *S. megalochiton*, foi possível observar que as frações que possuem maior potencial antioxidante são a fração acetato de etila seguida do extrato bruto e da fração hexano conforme TABELA 5 e GRÁFICO 1. A fração acetato de etila possui em sua composição compostos fenólicos e alcaloides, esses podem ser os responsáveis por tal atividade mais pronunciada nesta fração.

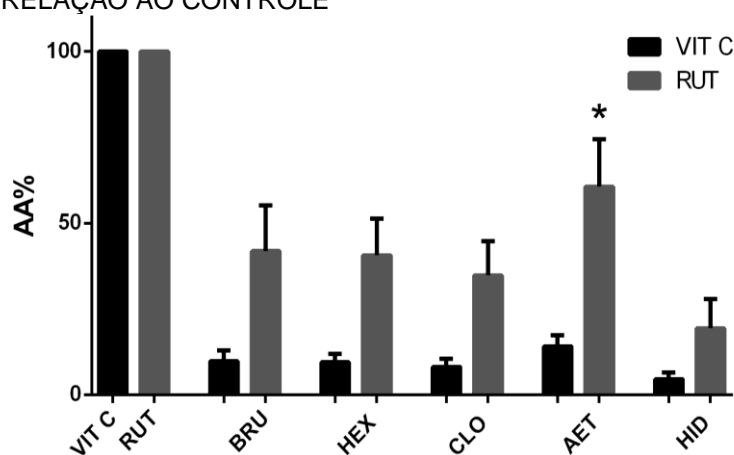
TABELA 5- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE FORMAÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E DAS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHA DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE, EM RELAÇÃO À VITAMINA C E RUTINA

AMOSTRA	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RELAÇÃO À VITAMINA C E RUTINA (AA%) ± DP	
	FOLHA (vitamina C)	FOLHA (rutina)
EXTRATO ETANÓLICO BRUTO	9,75 ± 3,1	41,81 ± 13,3
FRAÇÃO HEXANO	9,46 ± 2,4	40,60 ± 10,6
FRAÇÃO CLOROFÓRMIO	8,10 ± 2,3	34,74 ± 9,9
FRAÇÃO ACETATO DE ETILA	14,12 ± 3,2	60,60 ± 13,8
FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA	4,52 ± 1,9	19,39 ± 8,5

NOTA: teste de ANOVA e Tukey;

LEGENDA: DP - Desvio padrão;

GRÁFICO 1 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE RELATIVA DAS AMOSTRAS: EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE EM RELAÇÃO AOS PADRÕES VITAMINA C E RUTINA NO ENSAIO DO FOSFOMOLIBDÊNIO. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE



LEGENDA: VIT C - vitamina C; RUT - rutina; BRU - extrato bruto; HEX - fração hexano; CLO - fração clorofórmio; AET - fração acetato de etila; HID - fração hidroalcoólica;

#### 4.3.2 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS

Os resultados da análise da atividade antioxidante pelo método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) com o extrato bruto e frações de folhas de *S. megalochiton* demonstraram que algumas amostras como o extrato bruto e as frações clorofórmio e acetato de etila, são estatisticamente semelhantes ao padrão BHT (butil-hidroxitolueno). O que demonstra que a espécie em estudo apresenta atividade antioxidante frente a compostos lipofílicos. A peroxidação lipídica, ou seja, a degradação oxidativa de lipídios poli-insaturados resulta na formação de hidroperóxidos de cadeias menores como os aldeídos, cetonas e o malondialdeído. Esses compostos produzem a rancificação de alimentos e estão relacionados com doenças do coração, câncer e envelhecimento precoce. O teste do TBARS pode mensurar o malondialdeído que é o principal produto da peroxidação lipídica. (BOTSOGLOU et al., 1994).

Os dados do teste estão expressos na TABELA 6 e GRÁFICO 2, em % de índice antioxidante (IA%).

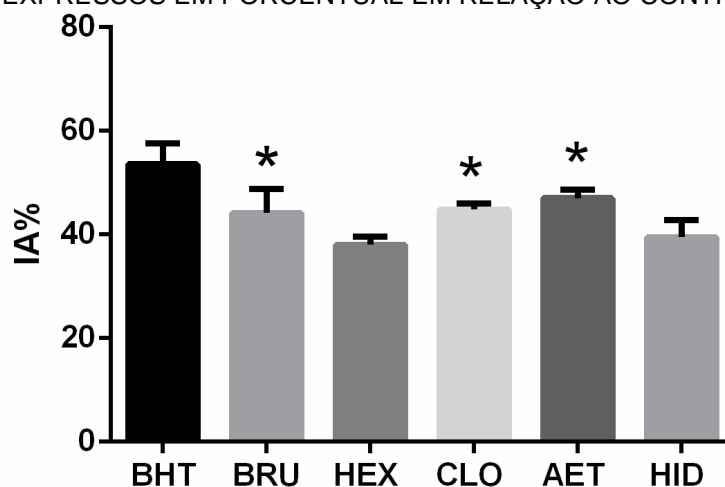
TABELA 6 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DAS SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E DAS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHA DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE, E DO PADRÃO BHT

AMOSTRA (100 µg/mL)	FOLHA (IA %) ± DP
EXTRATO ETANÓLICO BRUTO	44,2 ± 8,0 *
FRAÇÃO HEXANO	38,0 ± 3,3
FRAÇÃO CLOROFÓRMIO	44,9 ± 2,2 *
FRAÇÃO ACETATO DE ETILA	45,4 ± 5,8 *
FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA	39,5 ± 6,8
BHT	53,6 ± 7,0 *

NOTA: \* a média do tratamento não difere significativamente ( $p < 0,05$ ) em comparação com a média do controle, pelo teste de ANOVA e Tukey;

LEGENDA: BHT - butil-hidroxitolueno;

GRÁFICO 2 - PORCENTAGEM DE ÍNDICE ANTIOXIDANTE (IA%) DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE E DO CONTROLE BHT AO ENSAIO DO TBARS. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE



NOTA: \*A MÉDIA DO TRATAMENTO NÃO DIFERE SIGNIFICATIVAMENTE ( $p < 0,05$ ) EM COMPARAÇÃO COM A MÉDIA DO BHT (CONTROLE POSITIVO) PELO TESTE ANOVA E TUKEY  
 LEGENDA: BRU - extrato bruto; HEX - fração hexano; CLO - fração clorofórmio; AET - fração acetato de etila; HID - fração hidroalcoólica; BHT - butil-hidroxitolueno;

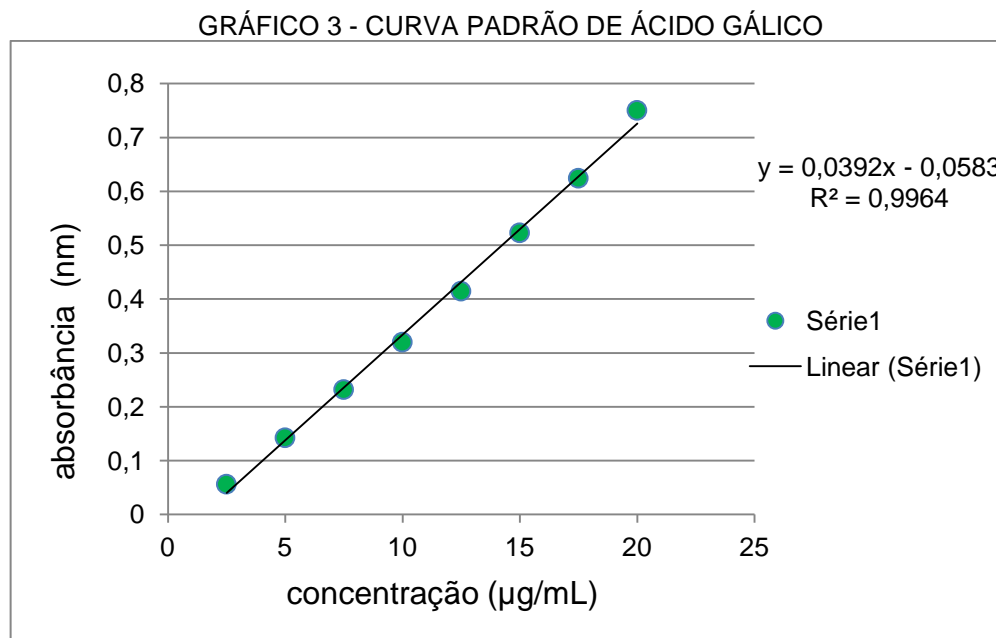
#### 4.3.3 Doseamento de polifenóis pelo método de Folin-Ciocalteu

Os polifenóis são substâncias importantes na dieta, pois são os antioxidantes mais abundantes. Estudos demonstram a importância de uma dieta rica em polifenóis para a diminuição de doenças cardiovasculares, câncer, doenças neurológicas, gastrointestinais, do fígado, aterosclerose, osteoporose, obesidade, alergias e diabetes mellitus. (SCALBERT et al., 2005). Polifenóis é um grupo muito estudado em plantas, pois possuem atividade farmacológica e também por inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos (NAGEM et al., 1992), além de contribuírem com adstringência e coloração.

Este grupo é constituído por um grupo grande de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, taninos e ligninas) a maioria de alta polaridade, muito reativos e suscetíveis a ação de enzimas. (KING & YOUNG, 1999). Os polifenóis são substâncias redutoras e, portanto, oxidam-se com facilidade, resultando em substâncias coradas. (SIMÕES et al., 2007).

Os compostos fenólicos são frequentemente descritos na literatura por apresentarem diversas atividades biológicas tais como estimulador do sistema imune, atividade antimicrobiana e antioxidante. (RIBEIRO et al., 2016).

A equação da curva padrão de ácido gálico é:  $y=0,0051x + 0,103$ , onde x representa a concentração de polifenóis correspondente a ácido gálico e y representa a absorvância.



Após obter-se as absorvâncias e as médias de cada concentração e amostra, e utilizando a equação da curva padrão de ácido gálico, foi possível determinar a concentração de compostos fenólicos correspondente ao ácido gálico das amostras. Abaixo segue a TABELA 7 onde pode ser observado os dados da concentração de polifenóis no extrato e frações, nas concentrações de 80 µg/mL.

TABELA 7 - ABSORBÂNCIA E CONCENTRAÇÃO DE POLIFENÓIS CORRESPONDENTE AO ÁCIDO GÁLICO DAS FRAÇÕES E DO EXTRATO BRUTO DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE

AMOSTRAS (80 µg/mL)	CONCENTRAÇÃO DE POLIFENÓIS /EQUIVALENTE DE ÁCIDO GÁLICO (µg/mL)
EXTRATO ETANÓLICO BRUTO	14,62
FRAÇÃO HEXANO	8,84
FRAÇÃO CLOROFÓRMIO	21,76
FRAÇÃO ACETATO DE ETILA	32,50
FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA	18,02

## DISCUSSÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Foi observado no teste do TBARS que a fração acetato de etila obteve um valor de índice antioxidante (IA%) de 45,4% enquanto que o padrão BHT obteve um valor de 53,6% muito próximo e estatisticamente semelhante ao da fração. Os valores da fração clorofórmio (44,9%) e extrato bruto etanólico (44,2%) também foram estatisticamente semelhantes ao controle BHT.

No teste do fosfomolibdênio a fração acetato de etila obteve uma atividade antioxidante de 60,60 % em relação à atividade antioxidante do controle rutina. (AA%). Sabe-se que a rutina tem uma atividade antioxidante considerada elevada, e é muito utilizada em experimentos como padrão para atividade antioxidante (BIANCHI; ANTUNES, 1999; SOUSA et al., 2007), por isso pode-se afirmar que essas frações podem ser consideradas como antioxidantes em potencial, podendo ter aplicação na terapêutica, inclusive com possibilidade de separação de ativos.

Nos ensaios de doseamento de polifenóis, foi observado que as frações com o melhor resultado foram a fração acetato de etila (32,50 µg/mL), extrato bruto etanólico (14,62 µg/mL) e fração clorofórmio (21,76 µg/mL). Acredita-se que esse resultado está em conformidade com o ensaio de pesquisa fitoquímica em que a fração acetato de etila e extrato bruto apresentaram entre seus compostos a presença de glicosídeos flavônicos. Folhas em geral não possuem grande quantidade de polifenóis quando comparadas aos frutos, por isso a atividade antioxidante apresentada neste teste pode também ser devido a presença de outros compostos presentes nos extratos e frações. Os alcaloides, por exemplo, são substâncias que podem reduzir a peroxidação lipídica, pois alguns alcaloides possuem atividade antioxidante, possuem polaridade intermediária e a presença desse composto foi relatada na pesquisa fitoquímica das folhas de *S. megalochiton* na fração clorofórmio. (BUBOLS et al., 2013; O'BRIEN, YOKOZAWA et al., 2005; CARRASCO-POZO, E SPEISKY, 2006).

Algumas espécies do gênero *Solanum* são conhecidas por sua atividade antioxidante como é o caso do tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e da beringela (*Solanum melogena* L.). (FATEGBE et al., 2013; ILAHY et al., 2011). O tomate possui alto teor de licopeno, que é uma substância carotenoide que é responsável pela cor avermelhada do tomate. O licopeno é um polifenol, os polifenóis possuem alta capacidade antioxidante. Muitos estudos atribuem aos flavonoides



características de serem antialérgico, anti-inflamatório, antiviral, anticarcinogênico, hipoglicemiante e antioxidante. (CODY et al., 1986; CODY et al., 1988; DAS, 1989; MIDDLETON JR. AND KANDASWAMI, 1994).

Em um estudo realizado com flavonoides de *Solanum melongena*, um grupo de ratos albinos machos foi tratado com flavonoides e outro com dieta rica com colesterol. Ao final do experimento foi observado que os animais que receberam flavonoides em sua dieta tiveram a concentração da glutathione e da catalase elevadas e também o malondialdeído, um importante marcador para estresse oxidativo, se mostrou significativamente reduzido. (SUDHEESH et al., 1999).

#### 4.4 ESTUDO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS

##### 4.4.1 Teste de toxicidade a *Artemia salina*

O teste de toxicidade com o microcrustáceo *Artemia salina* foi realizado por se tratar de uma análise rápida, acessível, confiável e de baixo custo. Os ovos são facilmente encontrados à venda em lojas especializadas em aquários, pois servem de alimentos para peixes e têm boa durabilidade.

Os resultados de mortalidade de *Artemia salina* estão expressos na TABELA 8.

TABELA 8 - MORTALIDADE E CONCENTRAÇÃO LETAL EM 50% DE *Artemia salina* AVALIADOS FRENTE AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E ÀS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHA DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE

AMOSTRA		MORTALIDADE/ CONCENTRAÇÃO (µg/mL)			CL <sub>50</sub> (µg/mL)	INTERVALO DE CONFIANÇA DE 95% (µg/mL)
		10	100	1000		
FRAÇÃO						
FOLHA	EX ETANÓLICO BRUTO	13	10	18	345,51	90,12 – 524,72
	FR HEXANO	7	5	16	794,33	254,80 – 1276,29
	FR CLOROFÓRMIO	8	15	30	73,56	30,84 – 175,41
	FR ACETATO DE ETILA	5	22	30	40,10	24,16 – 66,55
	FR HIDROALCOÓLICA	8	27	30	23,86	15,86 – 34,80
CONTROLE	QUINIDINA	3	26	30	177,38	136,9 – 229,9
	METANOL	0	0	0	>1000	-

NOTA: EX - Extrato; FR - Fração; os testes estatísticos foram realizados com o programa probitos

No teste foi possível observar que todas as amostras foram tóxicas ao microcrustáceo com  $CL_{50}$  inferior a  $1000\mu\text{g/mL}$ . Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são consideradas tóxicas substâncias que apresentam valores de  $CL_{50}$  abaixo de 1000 ppm em *Artemia salina*. (MEYER et al., 1982). A maior toxicidade apresentada foi na fração hidroalcoólica de *Solanum megalochiton*, com uma  $CL_{50}$  de  $23,86\mu\text{g/mL}$  esse resultado mostra uma toxicidade superior ao controle quinidina que apresenta  $CL_{50}$  de  $177,38\mu\text{g/mL}$ . As frações acetato de etila e clorofórmio também mostraram-se mais tóxicas do que o controle quinidina com  $CL_{50}$  de  $40,10\mu\text{g/mL}$  e  $73,56\mu\text{g/mL}$  respectivamente.

No gênero *Solanum* existem muitas espécies com características tóxicas. Espécies como *S. asperum*, *S. diamantinense*, *S. paludosum*, *S. sisymbriifolium* e *S. stipulaceum* já demonstraram ser tóxicas ao microcrustáceo. (SILVA et al., 2007).

O resultado obtido neste teste, pode indicar um alto potencial para as atividades antibacteriana (BRASILEIRO et al., 2006; NIÑO et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2003), antitumoral (MCLAUGHLIN, 1991; MCLAUGHLIN et al., 1991, 1993), antifúngica (NIÑO et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2003), anti-parasitária (COWAN, 1999) e larvicida contra o mosquito *Aedes aegypt* (LUNA et al., 2005), pois acredita-se que extratos de plantas com alta toxicidade frente *A. salina* podem apresentar resultados positivos nesses ensaios. E alguns estudos com plantas da gênero *Solanum* mostraram resultados positivos para atividade citotóxica (IKEDA et al., 2003), anticâncer (FRIEDMAN et al., 2005), antiulcerogênica (MALLIKA et al., 2006), moluscicida (SILVA et al., 2008), anticancerígena em animais (CHAM; GILLIVER, 1987) e em linhagens de células humanas pulmonares cancerígenas (PC-12) e de cólon (HCT-116). (IKEDA et al., 2003). Sendo assim esse ensaio pode ser útil no direcionamento de estudos fitoquímicos mais detalhados e na busca de substâncias ativas em sistemas biológicos.

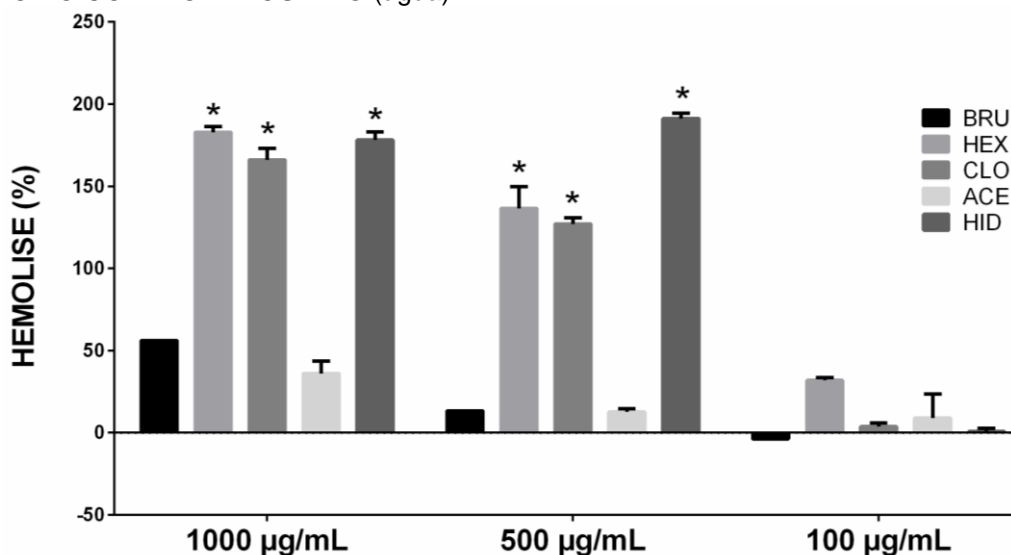
#### 4.4.2 Avaliação da atividade hemolítica

O teste de hemólise é utilizado como ensaio toxicológico em extratos de organismos marinhos (DRESCH et al., 2005), investigação de hemolisinas em micro-organismos (ANDRADE; SUASSUNA, 1988) e pesquisa de capacidade hemolítica para cepas de *Candida*. (RÖRIG; COLACITE; ABEGG, 2009). A avaliação da atividade hemolítica também está presente no Guia para Avaliação de Segurança de

Produtos Cosméticos da Anvisa (ANVISA, 2003), mostrando-se um ensaio de ampla aplicação.

Os resultados das leituras de absorvância estão no GRÁFICO 4.

GRÁFICO 4 - PORCENTAGEM DE HEMÓLISE DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA NAS CONCENTRAÇÕES 1000, 500 E 100  $\mu\text{g/mL}$  DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE EM RELAÇÃO AO CONTROLE POSITIVO (água)



NOTA: \*indica  $p < 0,05$  comparado ao controle positivo pelo teste de Tukey;

LEGENDA: BRU - extrato bruto; HEX - fração hexano; CLO - fração clorofórmio; AET - fração acetato de etila; HID - fração hidroalcoólica;

Foi observado que nas frações hexano, clorofórmio e hidroalcoólica nas concentrações 1000 e 500  $\mu\text{g/mL}$  houve a hemólise do sangue testado. O extrato bruto e a fração acetato de etila tiveram hemólise moderada na concentração de 1000  $\mu\text{g/mL}$  e nas demais concentrações 500 e 100  $\mu\text{g/mL}$  apresentaram baixa ou nenhuma hemólise. Todas as amostras apresentaram resultados fraco ou negativo na concentração de 100  $\mu\text{g/mL}$ , com exceção da fração hexano que hemolisou moderadamente. (PROKOFÉVA et al., 2004).

Resultados semelhantes de hemólise foram encontrados em algumas espécies da família *Solanum*, como é o caso de *S. rostratum* e *S. americanum* que foram testados em eritrócitos humano (HARDMAN; BACK; OWENSBY, 1983), *S. agrarium*, *S. asperum*, *S. astephorum* que foram testados em eritrócitos de rato. (LIMA et al., 2009; SILVA et al., 2009, CORREA, 2004).

#### 4.4.3 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

A dengue, Zica, chikungunya e a febre amarela são doenças virais transmitidas pela picada de inseto. No ano de 2016 o Brasil enfrentou um grande problema de saúde pública com as doenças transmitidas pelo mosquito. Foi declarado situação de emergência em saúde pública de importância nacional pelo ministério da saúde.

O principal inseto vetor dessas doenças é o *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). (PAHO, 1995; RODHAIN; ROSEN, 1997; NOGUEIRA et al., 1999; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008; COELHO et al., 2009). Esta espécie encontra no meio urbano condições favoráveis para uma rápida expansão, ovoposita em depósitos plásticos, tampas de garrafas, caixa d'água dentre outros objetos. (FUNASA, 2002; FOCKS, 2007). Esta ampla disseminação do mosquito torna seu controle químico difícil em áreas de grande infestação. (FORATTINI; MARQUES, 2000; DONALÍSIO; GLASSER, 2002).

No Brasil a dengue é considerada doença endêmica, o maior surto ocorreu em 2016 com 1.180.472 casos no país. Os casos de chikungunya até 15 de abril de 2016, foram de 135.030 e os de zica, 170.535 casos. Em relação às gestantes, foram registrados 1.079 casos prováveis, sendo 293 confirmados por critério clínico-epidemiológico ou laboratorial. Não houve registro de óbitos por Zika em 2017. No ano de 2016, foram 8 mortes. (BRASIL, 2017)

O controle primário dessas doenças é baseado em inseticidas químicos, porém a resistência do inseto vetor tem sido reportada há tempos. (FOX, 1961; BROWN, 1986, WHO, 1992). Dentre os inseticidas mais utilizados para o controle vetorial estão o Temephós um larvicida organofosforado (OLIVEIRA et al., 2010), que possui baixa toxicidade; *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI) que é um inseticida biológico e metoprene, substância análoga ao hormônio juvenil dos insetos, que atua nas formas imaturas (larvas e pupas), impedindo o desenvolvimento dos mosquitos para a fase adulta. Todos os inseticidas citados são agentes de controle de mosquitos, aprovados pela OMS para uso em água de consumo humano, por suas características de inocuidade para o homem e mamíferos em geral. (FUNASA, 2001).

Os resultados de  $CL_{50}$  das larvas de *Aedes aegypti* no terceiro estágio submetidos ao extrato e frações de *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE estão descritos na TABELA 9.

TABELA 9 - MORTALIDADE E ÍNDICE DE MORTALIDADE DE LARVAS DE *Aedes aegypti* AVALIADOS FRENTE AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E ÀS RESPECTIVAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHA DE *Solanum megalochiton* MART., SOLANACEAE

AMOSTRA		MORTALIDADE/ CONCENTRAÇÃO (µg/mL)			CL <sub>50</sub> (µg/mL)	INTERVALO DE CONFIANÇA DE 95% (µg/mL)
		10	100	1000		
FRAÇÃO						
FOLHA	EX ETANÓLICO BRUTO	2	0	45	316,26	-
	FR HEXANO	0	10	45	189,57	142,50 – 252,19
	FR CLOROFÓRMIO	1	37	45	48,30	37,01 – 63,01
	FR ACETATO DE ETILA	0	9	26	666,08	319,45 – 1388,85
	FR HIDROALCOÓLICA	0	0	19	-	-
CONTROLE DMSO		2			-	-

NOTA: Os ensaios estatísticos foram realizados pelo programa probitos.

LEGENDA: EX = Extrato; FR = Fração;.

Na TABELA 9 é possível observar que o extrato bruto e as frações hexano, clorofórmio e acetato de etila foram tóxicas às larvas. A fração que apresentou maior toxicidade foi a clorofórmio com uma CL<sub>50</sub> de 48,30 µg/mL. A família Solanaceae é conhecida por apresentar alcaloides como a atropina, hiosciamina e hioscina ou escopolamina presentes em espécies com a *Atropa belladonna* L. (beladona) e nos gênero *Datura* e *Brugmansia*, conhecidos popularmente por apresentarem ação tóxica. (DALL'AGNOL; VON POSER, 2000; SOUZA, LORENZI, 2005).

Alguns estudos com plantas do gênero *Solanum* demonstraram ser potencialmente tóxicas às larvas do mosquito *A. aegypti*, é o caso do extrato dos frutos de *S. xanthocapum* que se mostrou um alto potencial de mortalidade das larvas em primeiro estágio. (KUMAR et al., 2012). O extrato dos frutos de *S. crinitum* foi testado contra insetos imaturos do vetor da dengue e atingiu até 100% de morte. (FREITAS, 2009).

Estudos recentes demonstram o potencial larvicida do gênero *Solanum* frente a outros insetos. O extrato das folhas de *Solanum trilobatum* mostrou ter ação repelente e na redução da oviposição dos mosquitos fêmeas de *Anopheles stephen*. (RAJKUMAR; JEBANESAN, 2005). A espécie *Solanum nigrum* e *Solanum villosum* demonstraram atividade larvicida para o mosquito *Culex quinquefasciatus*. (CHOWDHURY et al., 2007; RAWANI et al., 2010). *Solanum stramonifolium* mostrou atividade larvicida frente ao mosquito transmissor da malária *Anopheles darlingi*. (RODRIGUES et al., 2003).

#### 4.4.4 Avaliação da atividade alelopática

As plantas têm a capacidade de produzir metabolitos bioativos obtidos de seu metabolismo secundário que contribuem para sua sobrevivência ou para o desenvolvimento de mecanismos de defesa. Entre esses metabolitos destacam-se saponinas, taninos, alcaloides, terpenoides e flavonoides, que podem ser liberados no ambiente de formas diversas como a lixiviação, volatilização e exsudação das raízes. (ALVES et al., 2004). Relatos da literatura demonstram que o gênero *Solanum* apresenta efeito alelopático sobre outras plantas, os metabolitos secundários como os alcaloides e fenóis, comumente encontrados nas folhas dessas plantas, podem atuar como aleloquímicos. (MOTIDOME et al., 1970; BORGHETTI & PESSOA 1997; GÜNTNER et al., 1997, OLIVEIRA; FERREIRA; ALVES et al., 2003; BORGHETTI, 2004).

As alterações de germinação e crescimento de uma determinada espécie podem ser resultados de efeitos diversos em nível primário do desenvolvimento. Ferreira e Aquila (2000) destacam entre esses efeitos alterações na permeabilidade de membranas, transcrição e tradução do DNA, funcionamento de mensageiros secundários, respiração devido ao seqüestro de oxigênio, conformação de enzimas e receptores e pela combinação de todos destes fatores. (MARASCHIN-SILVA; AQUILA, 2006). Einhellig (2002) cita uma série de outros fatores que podem ser os responsáveis pelas alterações de germinação e crescimento de uma planta podendo-se citar alterações das características da morfologia celular, interferência no ciclo celular (replicação, síntese de proteínas, mitose, mecanismos celulares), modificação da atividade de fitohormônios, perturbação do metabolismo energético (respiração e fotossíntese), problemas no balanço de água e na função dos estômatos, inibição da síntese de pigmentos e bloqueio da função de numerosas enzimas.

A resistência ou tolerância aos metabolitos bioativos de uma planta é espécie-específica, sendo assim algumas plantas são mais indicadas para testes de atividade alelopática. As espécies *Lactuca sativa* L. (alface) e *Allium cepa* L. (cebola) são consideradas espécies indicadoras de atividade alelopática, pois além de serem consideradas sensíveis a baixas concentrações de aleloquímicos, também apresentam germinação rápida e uniforme e um crescimento linear pouco sensível a variações de pH. (GABOR; VEATH, 1981; SOUZA et al., 2007).

A análise de plantas com potencial alelopático contribui para o fornecimento de novas alternativas para manejo de plantas daninhas, reduzindo a necessidade da utilização de herbicidas tradicionais na produção agrícola, inseticidas e nematicidas. Plantas com atividade alelopáticas podem ser mais seletivas, biodegradáveis e menos poluentes que os herbicidas tradicionais. (MACIAS et al., 2000).

A seguir estão os resultados de índice de velocidade de germinação, porcentagem de germinação, crescimento de hipocótilo, coleótipo e radícula e respiração de sementes e plântulas de *L. sativa* e *A. cepa* resultantes do contato direto com o extrato bruto etanólico e frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica de folhas de *Solanum megalochiton* Mart. Solanaceae.

#### 4.4.4.1 Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Lactuca sativa* L. (alface) e *Allium cepa* L. (cebola)

O IVG é usado para avaliar o vigor das sementes (MAGUIRE, 1962), pois seu enfraquecimento causa perda progressiva na capacidade produtiva, com a redução na uniformidade da germinação. (PIÑA-RODRIGUEZ et al., 2004).

Os dados podem ser observados no GRÁFICO 5

GRÁFICO 5 - ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Lactuca sativa* L. (ALFACE) E *Allium cepa* L. (CEBOLA) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE. (continua)

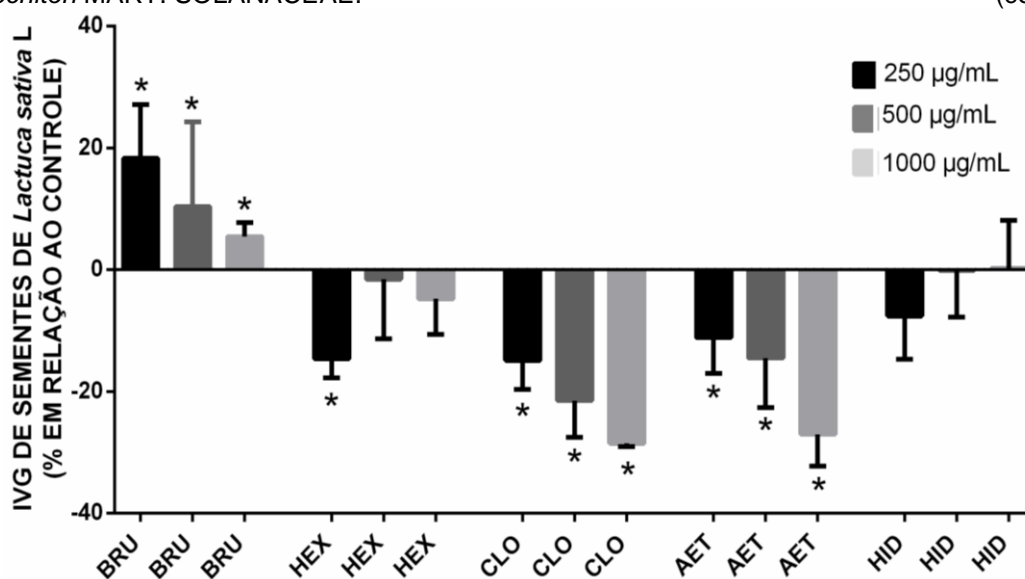
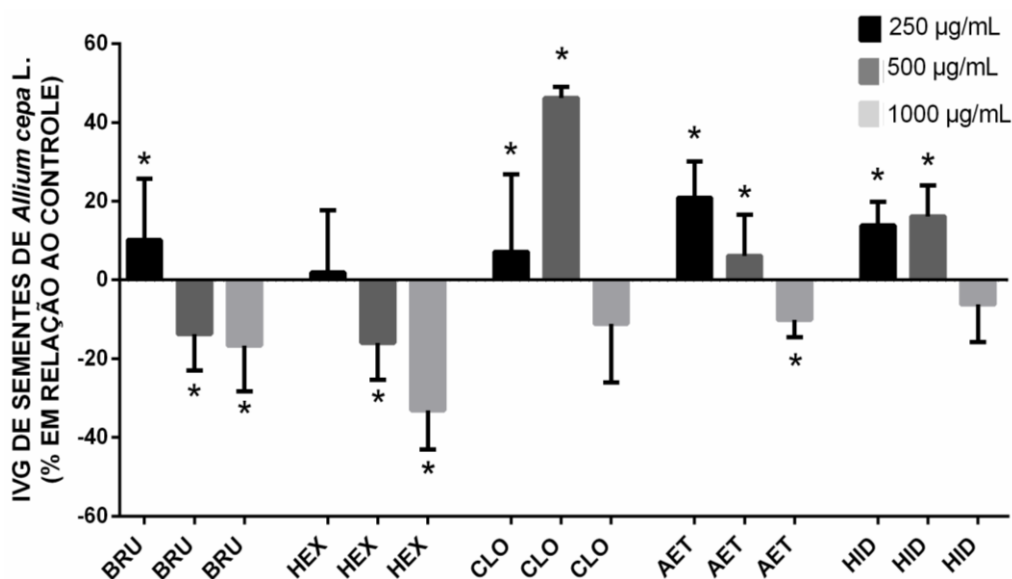


GRÁFICO 6 - ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Lactuca sativa* L. (ALFACE) E *Allium cepa* L. (CEBOLA) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE. (continuação)



NOTA: \* a média do tratamento difere significativamente ( $p < 0,05$ ) em comparação com a média do controle pelo teste Tukey

LEGENDA: BRU - extrato bruto; HEX - fração hexano; CLO - fração clorofórmio; AET - fração acetato de etila; HID - fração hidroalcoólica;

A análise dos efeitos alelopáticos do extrato bruto etanólico e frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica de folhas de *Solanum megalochiton* Mart. Solanaceae sobre as sementes de *L. sativa* indicou que houve interferência no índice de velocidade germinação (IVG), tanto inibindo como estimulando a germinação.

As frações clorofórmio e acetato de etila apresentaram redução no número de sementes de alface germinadas por dia em relação ao controle, conforme o aumento da concentração 250, 500 e 1000 µg/mL. Sendo a dose que apresentou maior inibição foi a de 1000 µg/mL tanto na fração clorofórmio como acetato de etila. A inibição observada foi de 28 e 27% respectivamente quando comparado com a germinação do grupo controle, como pode ser observado no GRÁFICO 5. Outra fração que também apresentou ação inibitória foi a hexano na concentração de 250 µg/mL, com uma inibição de 14%. Segundo Ferreira; Borguetti (2004), o valor do IVG é diretamente proporcional ao vigor das sementes de alface, sendo assim quanto menor o IVG menor o vigor das sementes.

Já o extrato bruto apresentou uma ação estimuladora da germinação, sendo a concentração de 250 µg/mL a mais expressiva, obteve 18% mais sementes



germinadas do que as sementes do grupo controle. Esse efeito estimulante é pouco relatado na literatura, sendo um dado bastante relevante, visto que há um constante estudo e busca para a implementação e otimização da produção de alimentos e estudos mostram que nesta área a interação entre espécies frequentemente provoca a redução do crescimento das plantas. Estudos mostram que restos de cultura de trigo retardam a produção de algodão e arroz. (HICKS et al., 1989; YOUNG et al., 1989; ALSAADAWI, 1999). E restos de palhada de arroz podem inibir o crescimento de aveia, trigo e lentilha. (NARWAL, 1999). Aquila et al. (1999) relataram o fenômeno de estimulação de germinação quando avaliaram a atividade alelopática da *Achyrocline satureioides* (Lam) DC. Em outro estudo, Gorla et al. (1997) também observaram efeito estimulante no crescimento da radícula de plântulas de tomate em 25% quando avaliaram a atividade alelopática do extrato de *Drimis winteri*, porém neste caso, com o aumento da concentração foi observado atividade inibitória.

O extrato e frações de folha de *S. megalochiton* também apresentaram ação tanto inibitória como estimuladora da germinação das sementes de *A. cepa*. A fração que apresentou maior ação inibidora foi a hexano na concentração de 1000 µg/mL com inibição de 33%, seguida do extrato bruto na concentração de 1000 µg/mL com inibição de 16%. Outras frações também apresentaram ação inibitória como foi o caso do extrato bruto na dose de 500 µg/mL e as frações clorofórmio e acetato de etila na dose de 1000 µg/mL.

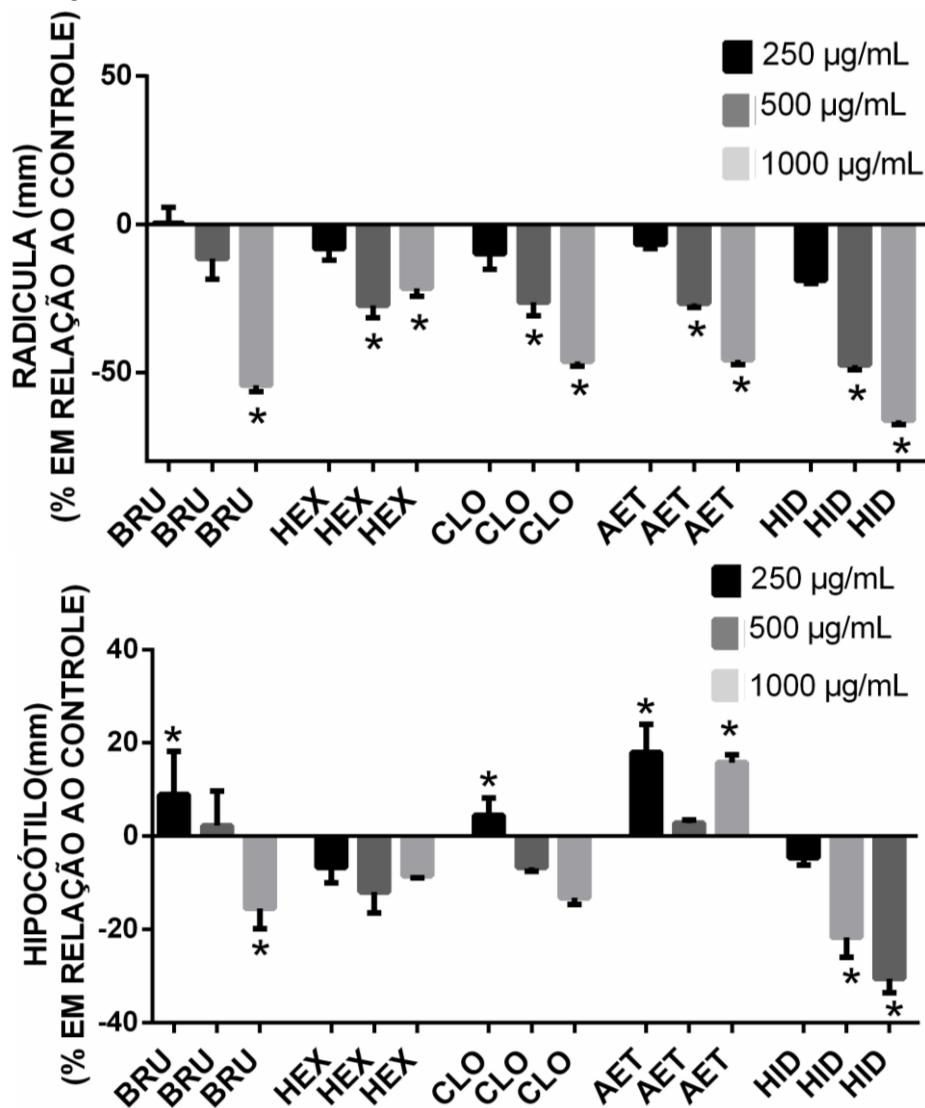
A fração acetato de etila na concentração de 250 µg/mL apresentou o maior efeito estimulador de germinação de sementes de *A. cepa*, seguido da fração hidroalcoólica na concentração de 500 µg/mL com porcentagem de germinação de 21 e 16% respectivamente. Outras doses de extrato e fração também apresentaram ação estimuladora como extrato bruto dose 250 µg/mL, e frações clorofórmio nas doses 250 e 500 µg/mL, acetato de etila dose 500 µg/mL e hidroalcoólica doses 250 µg/mL.

#### 4.4.4.2 Média do crescimento da radícula e do hipocótilo de *Lactuca sativa* L. (alface) e *Allium cepa* L. (cebola)

Na análise do crescimento foram feitas as médias de crescimento da radícula e do hipocótilo de plântulas de *L. sativa* e de *A. cepa* submetidas ao extrato e frações de folha de *S. megalochiton* em três concentrações 250, 500 e 1000 µg/mL.

Os resultados do crescimento de *L. sativa* podem ser observados no GRÁFICO 6.

GRÁFICO 7 - CRESCIMENTO DA RADÍCULA E HIPOCÓTILO DE SEMENTES DE *Lactuca sativa* L. (ALFACE) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE.



NOTA: \*a média do tratamento difere significativamente ( $p < 0,05$ ) em comparação com a média do controle pelo teste Tukey

LEGENDA: BRU - extrato bruto; HEX - fração hexano; CLO - fração clorofórmio; AET - fração acetato de etila; HID - fração hidroalcoólica;

Em relação ao crescimento das plântulas de *L. sativa* conforme observado no GRÁFICO 6 é possível notar que a concentração de 250 µg/mL do extrato bruto estimulou o crescimento do hipocótilo e a de 1000 µg/mL inibiu o crescimento da radícula. Essa variação de estimular o crescimento de um órgão e inibir outro pode ocorrer devido aos efeitos dos aleloquímicos. (AQÜILA et al., 1999). Apesar de ser pouco comum, outros trabalhos já relataram esse efeito, sendo uma das explicações

a ação dos aleloquímicos sobre os fitormônios. Reigosa et al. (1999) relataram que os efeitos dos aleloquímicos nos diferentes processos fisiológicos de uma planta são dependentes da concentração, ou ao menos se espera que sejam, promovendo ativações em baixas concentrações e inibições em altas concentrações.

A fração que provocou a maior inibição de crescimento de radícula de *L. sativa* foi a hidroalcoólica na concentração de 1000 µg/mL com crescimento de 0,46 cm, seguida da concentração de 500 µg/mL da mesma fração com crescimento de 0,72 cm. Isso representa uma inibição do crescimento em 66,42 e 47,45% respectivamente, em relação ao crescimento das plântulas do grupo controle. A fração hidroalcoólica foi a que se mostrou mais inibidora de crescimento tanto para radícula como para o hipocótilo. Todas as concentrações inibiram o crescimento das radículas e apenas a concentração de 250 µg/mL se manteve com desenvolvimento similar ao do controle.

O efeito geralmente observado no crescimento inicial é a redução do eixo hipocótilo-radícula da planta alvo, quando em contato com a amostra. (AQUILA, 1999; RODRIGUES, 2002). Neste experimento foi possível observar tanto redução como aumento do crescimento das plântulas. A redução de crescimento é geralmente mais pronunciada no desenvolvimento da radícula tendo em vista que ocorre um maior contato desta com o papel de filtro embebido com a amostra. (CHUNG et al., 2001), conforme observado no experimento, as radículas tiveram um desenvolvimento semelhante ao controle ou apresentaram inibição de crescimento não houve estímulo de crescimento para as radículas de alface. Todas as frações e extrato bruto inibiram o crescimento da radícula de alface na concentração de 1000 µg/mL e todas as concentrações da fração hidroalcoólica inibiram o crescimento da radícula de alface.

Com relação ao desenvolvimento do crescimento do hipocótilo de *L. sativa* a fração que provocou a maior inibição foi a hidroalcoólica na concentração de 1000 µg/mL com crescimento médio de 0,31 cm, seguida da concentração de 500 µg/mL com crescimento médio de 0,35 cm, isso representa uma inibição de 66,42 e 47,45% respectivamente quando comparado com o desenvolvimento das plântulas do controle. Esse resultado pode ser devido ao estímulo causado pelos aleloquímicos, mas também pode estar relacionado com o baixo crescimento das radículas dessas plântulas, o que pode ter afetado o desenvolvimento dos hipocótilos.

A fração acetato de etila na concentração de 250  $\mu\text{g/mL}$  provocou o maior estímulo do hipocótilo com crescimento médio de 0,53 cm, seguida da concentração de 1000  $\mu\text{g/mL}$  com crescimento médio de 0,52 cm, o que representa um estímulo de 17,78 e 15,56 % quando comparado ao controle. A fração hexano se manteve estatisticamente semelhante ao controle em todas as concentrações 250, 500 e 1000  $\mu\text{g/mL}$ .

As radículas demonstraram uma maior sensibilidade aos aleloquímicos quando comparada com os hipocótilos, esses efeito já foi demonstrado por vários autores. (CHON et al. 2000; FERREIRA & ÁQUILA 2000; BATISH et al. 2002). Enquanto a parte radicular demonstrou inibição de 66% o hipocótilo teve a inibição mais pronunciada em 31% e estímulo de 17%.

GRÁFICO 8 - CRESCIMENTO DA RADÍCULA, COLEÓTIPO DE SEMENTES DE *Allium cepa* L. (CEBOLA) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE.

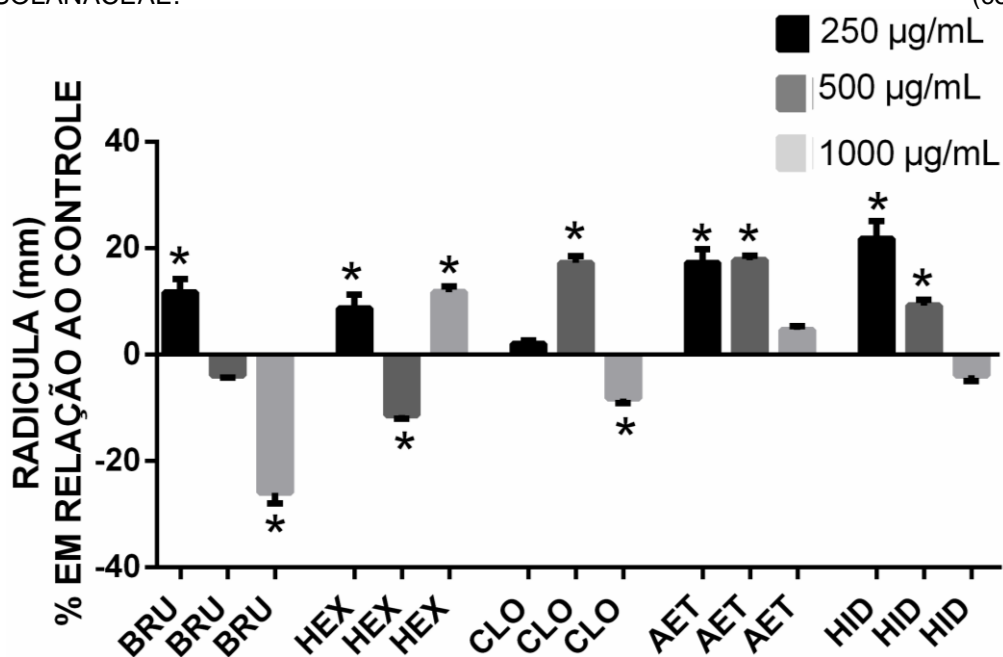
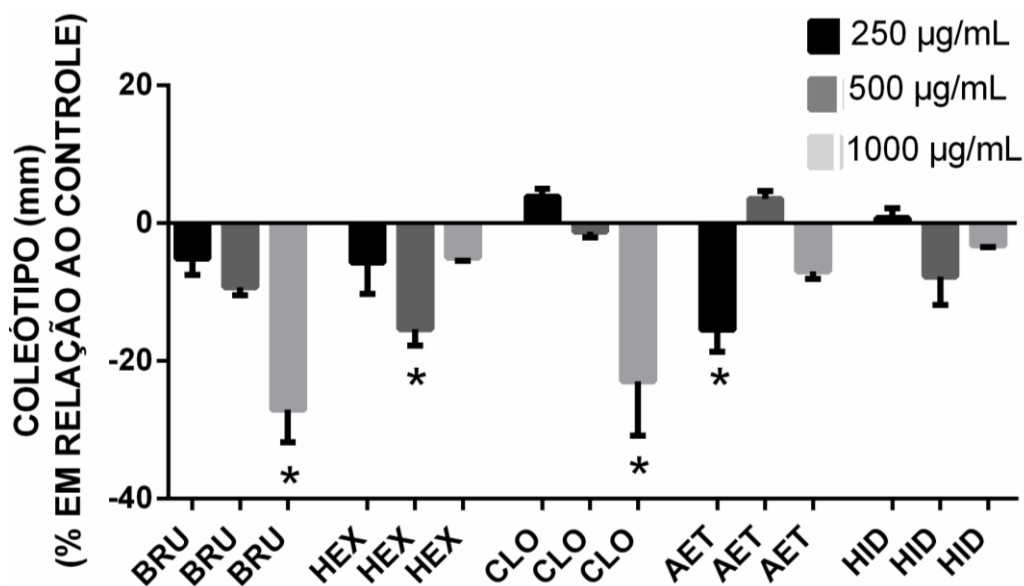


GRÁFICO 9 - CRESCIMENTO DA RADÍCULA, COLEÓTIPO DE SEMENTES DE *Allium cepa* L. (CEBOLA) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE. (continuação)



NOTA: \*a média do tratamento difere significativamente ( $p < 0,05$ ) em comparação com a média do controle pelo teste Tukey

LEGENDA: BRU - extrato bruto; HEX - fração hexano; CLO - fração clorofórmio; AET - fração acetato de etila; HID - fração hidroalcoólica

Com relação ao crescimento das plântulas de *A. cepa* foi possível observar tanto estímulo quanto inibição de crescimento nas radículas, já no hipocótilo houve apenas inibição. O extrato bruto na concentração de 1000 µg/mL foi a que provocou a maior inibição de crescimento da radícula de *A. cepa* com um crescimento médio de 1,12 cm o que corresponde a uma inibição de 25% em relação ao controle. A fração hidroalcoólica na concentração de 250 µg/mL foi a que mais estimulou o crescimento da radícula com um crescimento de 1,84 cm o que corresponde a um estímulo de 21 % em relação ao grupo controle. Em geral a concentração de 250 µg/mL de extrato de frações estimulou o crescimento da radícula de cebola, apenas a fração clorofórmio se manteve estatisticamente semelhante ao controle.

O extrato bruto na concentração de 1000 µg/mL também foi o que provocou a maior inibição de crescimento do coleótipo de cebola com média de crescimento entre as plântulas de 1,88 cm, seguido da fração clorofórmio de 1000 µg/mL com 2 cm, o que corresponde a uma inibição de 15 e 13 % respectivamente.

As plantas possuem uma grande quantidade de produtos advindos de metabolismo secundário, que podem ser liberados no meio ambiente, estes podem ser chamados aleloquímicos. Mais de 10 mil aleloquímicos provindos de

metabolismo secundário das mais diversas plantas são conhecidos. As interferências causadas em outras plantas raramente são devido a uma única substância, este efeito comumente é observado por um conjunto de substâncias presentes em uma planta. (MALHEIROS; PERES, 2001). A inibição de crescimento da radícula e coleótipo de *A. cepa* causada pelo extrato bruto pode ser devido ao fato de essa amostra ser a que mais possui componentes químicos, juntos esses provocaram o efeito mais pronunciado nesse experimento.

#### 4.4.4.3 Resultado do teste de respiração das radículas de *Lactuca sativa* L. (alface) e *Allium cepa* L. (cebola)

Além de influenciar a germinação e o crescimento das plantas os aleloquímicos têm grande influência sobre a respiração celular. (RICE,1984; REIGOSA et al., 1999). Os aleloquímicos podem interferir em várias etapas da respiração celular, em um ou mais níveis dependendo da resposta observada. (CHON et al., 2000).

Os dados do teste de respiração podem ser observados no GRÁFICO 8.

GRÁFICO 10 - PORCENTAGEM DA RESPIRAÇÃO EM RELAÇÃO AO CONTROLE DAS RAIZES DE *Lactuca sativa* L. (ALFACE) E *Allium cepa* L. (CEBOLA) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE.

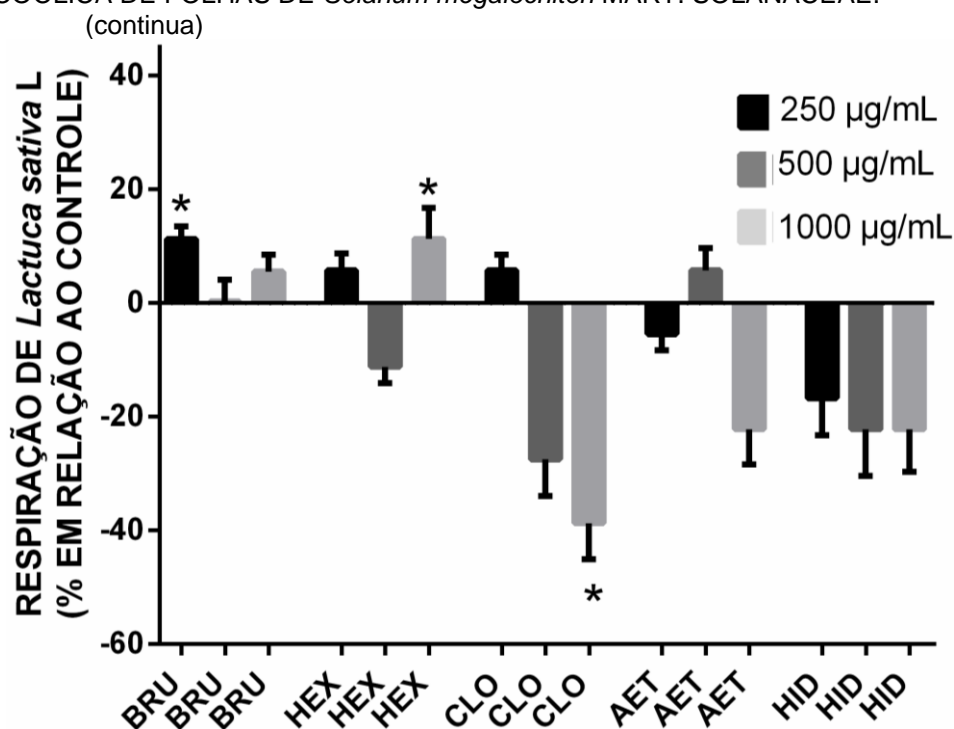
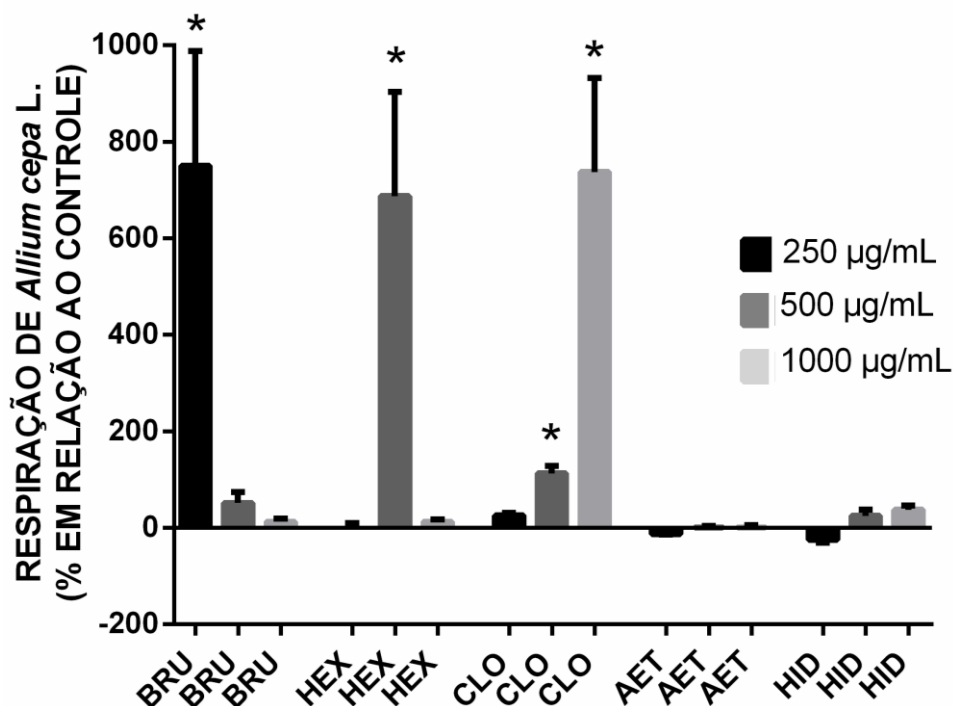


GRÁFICO 11 - PORCENTAGEM DA RESPIRAÇÃO EM RELAÇÃO AO CONTROLE DAS RAIZES DE *Lactuca sativa* L. (ALFACE) E *Allium cepa* L. (CEBOLA) SUBMETIDAS AO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO E FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO, ACETATO DE ETILA E HIDROALCOÓLICA DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE.  
(continuação)



NOTA: \*a média do tratamento difere significativamente (p < 0,05) em comparação com a média do controle pelo teste Tukey

LEGENDA: BRU - extrato bruto; HEX - fração hexano; CLO - fração clorofórmio; AET - fração acetato de etila; HID - fração hidroalcoólica; CTRL - controle;

A respiração das radículas de *L. sativa* foram estimuladas pelo extrato bruto na concentração de 250 µg/mL e fração hexano na concentração de 1000 µg/mL. Já a fração clorofórmio na concentração de 1000 inibiu a respiração das radículas. Nas amostras testadas foi possível observar um forte estímulo da respiração das radículas de *A. cepa*. Esse estímulo foi principalmente observado pelo contato com o extrato bruto na concentração de 250 µg/mL, frações hexano e clorofórmio de 1000 µg/mL e clorofórmio de 500 µg/mL.

Song, Zheng e Chun (1996), afirmam que as alterações nos processos fisiológicos normais resultam na redução da fotossíntese bem como no aumento da respiração, contribuindo para a redução do crescimento das plantas. Isso foi observado nas plântulas de cebola em que houve um grande aumento da respiração e conseqüente diminuição do tamanho das plântulas.

## 4.5 ANÁLISES FARMACOLÓGICAS

### 4.5.1 Nocicepção induzida por formalina

Primeira fase:

Nesta fase a sensibilidade dolorosa está relacionada ao estímulo direto da formalina sobre o nociceptor (dor de origem neurogênica), e pode ser inibido por substâncias analgésicas de ação central, como a morfina e codeína. (HUNSKAAR, HOLE, 1987).

Os dados estão apresentados na TABELA 10 e GRÁFICO 9.

TABELA 10 - TEMPO DE REAÇÃO (s) NA PRIMEIRA FASE DO TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA, EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM SALINA E EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (10, 30 E 100mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE

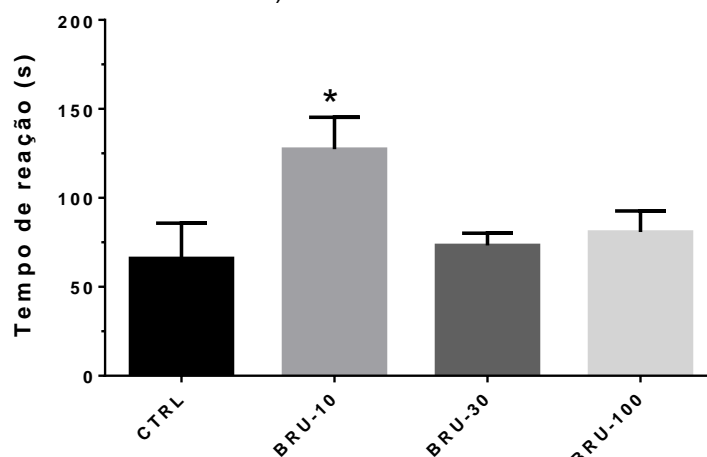
NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA – 1ª FASE MÉDIA ± ERRO PADRÃO DO TEMPO DE REAÇÃO				
	CTRL	BRU-10	BRU-30	BRU-100
PRIMEIRA FASE	66,00 ± 19,83	127,40 ± 17,86*	73,29 ± 6,91	80,83 ± 11,82

NOTA: \* indica  $p < 0,05$  comparado ao CTRL pelo teste de Tukey

LEGENDA: CTRL – animais tratados com salina; BRU -10, 30, 100 – animais tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 10, 30 e 100 mg/Kg

GRÁFICO 12 - TEMPO DE REAÇÃO (s) NO TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA, EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM SALINA E EXTRATO BRUTO ETANÓLICO

(10, 30 E 100mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE E CONTROLES TRATADOS COM SALINA. A) PRIMEIRA FASE



NOTA: Valores são expressos em média ± erro padrão. \* indica  $p < 0,05$  comparado ao CTRL, pelo teste de Tukey

LEGENDA: CTRL – animais tratados com salina; BRU - 10, 30, 100 – animais tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 10, 30 e 100 mg/Kg



O teste ANOVA de uma via demonstrou que os grupos apresentaram diferença estatística [ $F(3, 19) = 3,672; p < 0,05$ ]. O teste *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que o grupo BRU-10 é diferente estatisticamente do grupo CTRL ( $p < 0,05$ ). Nenhum dos animais tratados com extratos diminuiu o tempo de reação dos animais conforme era esperado.

Os animais do grupo BRU-10, que receberam 10 mg/Kg de extrato bruto etanólico de *S. megalochiton*, tiveram uma reação à dor maior que o grupo que recebeu salina, isso pode ser indicativo de presença de metabólitos inflamatórios ou irritantes na planta. Essas substâncias são capazes de acionar respostas bioquímicas e celulares complexas, que envolvem extravasamento de fluidos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores, sensibilização e ativação de receptores, lise tecidual e de reparos. Algumas substâncias como a capsaicina, dependendo da forma utilizada podem gerar respostas inflamatória ou bloquear essa resposta produzindo uma ação analgésica e anti-inflamatória. Esse mecanismo tem sido atribuído à inibição dos canais de cálcio voltagem-dependentes, que são responsáveis pela liberação de neurotransmissores em terminais de neurônios periféricos e centrais. A capsaicina é um alcaloide derivado do gênero *Capsicum sp.* e pertence a família Solanaceae, a planta em estudo, *Solanum megalochiton*, também possui alcaloides em sua composição e pertence a mesma família da capsaicina. (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998; BECKER, 1983; PIPER, 1983).

#### Segunda fase:

A segunda fase do ensaio representa uma resposta tônica à dor, acompanhada de uma resposta inflamatória ocasionada pela liberação de mediadores químicos da inflamação. (HUNSKAAR; HOLE, 1987; TJOLSEN et al., 1992). A fase 2 pode ser inibida por anti-inflamatórios não esteroidais e esteroidais, assim como fármacos que atuam centralmente. (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

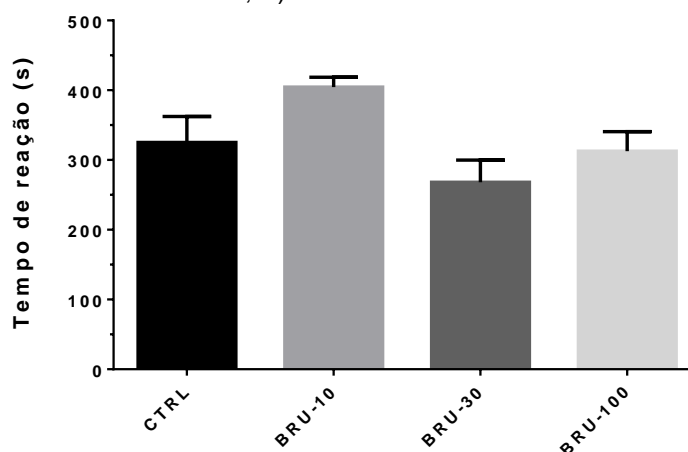
Os dados apresentados na TABELA 11 e GRÁFICO 10 a seguir referem-se aos dados do teste de avaliação da nocicepção induzida pela injeção de formalina (modelo bifásico) na pata posterior do animal na segunda fase.

TABELA 11- TEMPO DE REAÇÃO (s) NA SEGUNDA FASE DO TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA, EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM SALINA E EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (10, 30 E 100 mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE

NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA – 2ª FASE				
MÉDIA ± ERRO PADRÃO DO TEMPO DE REAÇÃO				
	CTRL	BRU-10	BRU-30	BRU-100
SEGUNDA FASE	325,20 ± 37,30	404,60 ± 14,11	269,00 ± 31,87	312,50 ± 28,23

LEGENDA: CTRL – animais tratados com salina; BRU -10, 30, 100 – animais tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 10, 30 e 100 mg/Kg

GRÁFICO 13- TEMPO DE REAÇÃO (s) NO TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA, EM CAMUNDONGOS MACHOS TRATADOS COM SALINA E EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (10, 30 E 100mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART., SOLANACEAE E CONTROLES TRATADOS COM SALINA.; B) SEGUNDA FASE



NOTA: Valores são expressos em média ± erro padrão.

LEGENDA: CTRL – animais tratados com salina; BRU - 10, 30, 100 – animais tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 10, 30 e 100 mg/Kg

O teste ANOVA de uma via demonstrou que não houve diferença significativa entre os grupos testados [ $F(3, 19) = 3,548$ ;  $p < 0,05$ ]. Ao observar os dados na TABELA 11 é possível observar necessidade de aumentar o número de animais submetidos ao experimento que foram de 5 a 7 animais, assim poderia diminuir o erro padrão e confirmar o resultado obtido. Também se faz necessário realizar o teste com a dose de 300 mg/Kg de extrato bruto de *S. megalochiton* pois essa dose apresentou resultados positivos em outros experimentos realizados.

No gênero *Solanum* é comum encontrar testes com resultados positivos para nocicepção. Um estudo realizado com o extrato etanólico dos frutos de *Solanum acanthodes*, Solanaceae, demonstrou propriedade antinociceptiva no modelo de nocicepção induzida pela formalina e glutamato. As doses de testadas foram de 10, 30, 100 e 300mg/Kg, sendo a dose de 300mg/Kg foi a mais efetiva.

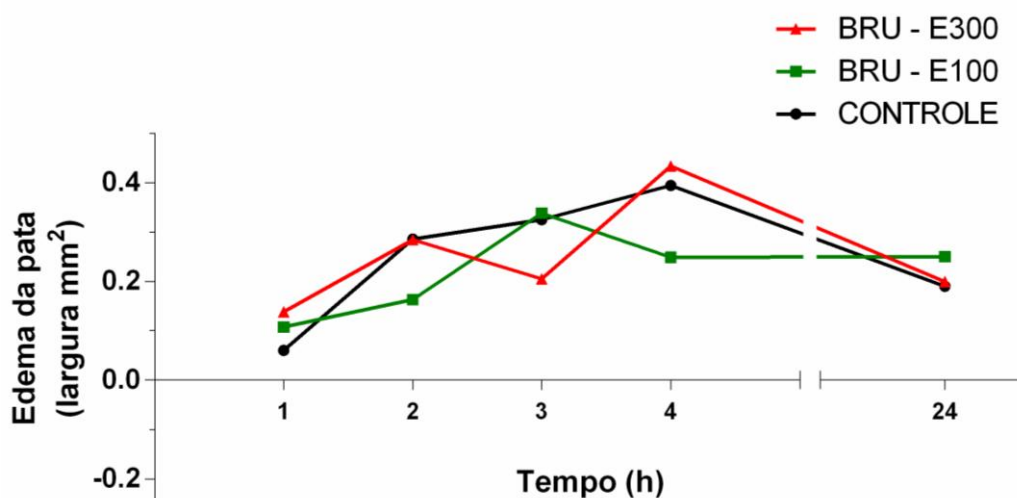
(BENTO et al., 2004). Outro estudo com planta do gênero *Solanum* mostrou que a polpa do *Solanum betaceum* apresenta efeito analgésico em modelos de nocicepção induzida pela formalina. (NASCIMENTO, 2013). A espécie *Solanum variabile* também mostrou um resultado positivo para nocicepção nas doses de 300mg/Kg de extratos etanólicos e fração diclometano. (RIBEIRO, 2016). *Solanum trilobatum* demonstrou atividade positiva em modelos de nocicepção. (PATEL et al., 2013).

#### 4.5.2 Edema de pata

O edema provocado pela carragenina foi verificado nas primeiras 4 horas após a injeção da carragenina, e após 24h, visto que o edema ocorre em três fases, segundo Di Rosa & Willoughby (1971). Na primeira hora após a injeção de carragenina ocorre um aumento da permeabilidade vascular que é mediada por histamina e serotonina. Na segunda hora, o aumento da permeabilidade é mediado por cininas. A última fase e de maior intensidade do edema ocorre três horas após a injeção de carragenina e é caracterizada pela ação de prostaglandinas sobre a permeabilidade capilar. (DI ROSA; WILLOUGHBY, 1971).

Os dados de edema de pata podem ser observados no GRÁFICO 11.

GRÁFICO 14 - ÁREA DO EDEMA DE PATA (mm<sup>2</sup>) DE CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NOS TEMPOS 1, 2, 3, 4 E 24h APÓS A INJEÇÃO DA CARRAGENINA DO GRUPO CONTROLE TRATADO COM SALINA (v.o) E GRUPOS TRATADOS COM 100 E 300 mg/Kg DE EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE. VALORES EXPRESSOS EM MÉDIA ± ERRO PADRÃO.



NOTA: \*indica  $p < 0,05$  comparado controle pelo teste de Tukey;

LEGENDA: CTRL – controle; BRU-E100 – extrato bruto dose 100 mg/Kg; BRU-E300 - extrato bruto dose 300 mg/Kg.

No GRÁFICO 11 é possível observar apenas um resultado significativo de diminuição de edema após 2h da injeção com a dose de 100mg/Kg de extrato etanólico bruto de folhas de *S. megalochiton*. Após duas horas da aplicação da carragenina o animal que recebeu 100mg/Kg de extrato apresentou edema de 0,16mm<sup>2</sup> enquanto que o animal controle teve edema de 0,28 mm<sup>2</sup>, essa diferença se mostrou significativa estatisticamente pelo Teste t.

Alguns grupos obtiveram resultados de edema superior ao controle em determinados períodos. Isso pode ter acontecido pela presença de substâncias inflamatórias ou irritantes presentes no extrato, conforme já descrito na primeira fase do teste de dor induzida pela formalina. (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998; BECKER, 1983; PIPER, 1983). Estudos realizados em pacientes com artrite demonstraram que uma dieta livre de alimentos da família Solanaceae como o tomate, a batata, a beringela e as pimentas diminuem os sintomas de dor na doença. (CHILDERS, 1993).

O mecanismo de ação atribuído ao aumento da dor em alguns pacientes que consomem as plantas da família Solanaceae é a presença de glicoalcaloides e alcaloides esteroidais que inibem a colinesterase. Entre outros está a solanina presente na batata e beringela, tomatina no tomate, nicotina no tabaco e capsaisina nas pimentas. Estudos mostram que o glicoalcaloide presente nas batatas contribui para a síndrome do intestino irritado e afeta negativamente a permeabilidade intestinal. (PATEL et al., 2002, IABLOKOV et al., 2010).

#### 4.5.3 Teste de Toxicidade

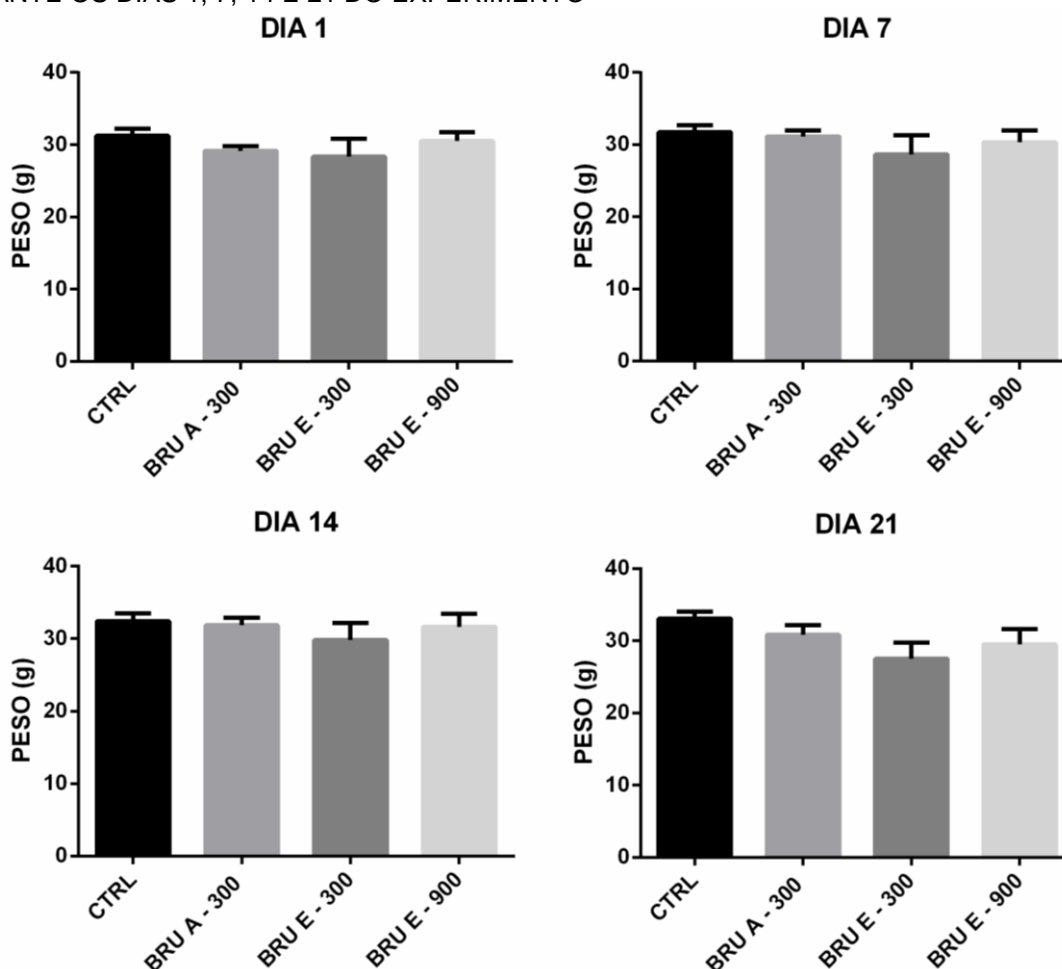
Os efeitos tóxicos de substâncias químicas no organismo de um animal podem ser avaliados através de análise física diária, peso corporal e de órgãos, avaliação do consumo de ração, exames hematológicos, provas bioquímicas, estudos anatopatológicos dos órgãos entre outros. (STEVENS; GALLO, 1989). Esses parâmetros foram utilizados para a análise da toxicidade em camundongos fêmeas que receberam extratos brutos etanólico e aquoso de *Solanum megalochiton* Mart., Solanaceae.

#### 4.5.3.1 Variação dos pesos dos animais

Alterações de peso corporal podem indicar precocemente efeitos tóxicos de uma determinada substância em um animal. (STEVENS; GALLO, 1989). Por isso foi analisado o efeito que os extratos brutos etanólicos (300 e 900 mg/Kg) e aquoso (300 mg/Kg) causaram sobre o peso de camundongos fêmeas, durante 21 dias de experimentos.

Os dados da variação dos pesos dos animais submetidos ao teste de toxicidade podem ser observados no GRÁFICO 12 a seguir.

GRÁFICO 15 - EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE O PESO DE CAMUNDONGOS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (300 E 900 mg/Kg) E AQUOSO (300 mg/Kg) DE *Solanum megalochiton* MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA DURANTE OS DIAS 1, 7, 14 E 21 DO EXPERIMENTO



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 6-12 animais por grupo experimental. Foram realizados testes estatísticos de ANOVA e Tukey.

LEGENDA: CTRL – controle; BRU A – 300 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato aquoso bruto; BRU E – 300 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato

bruto etanólico; BRU E – 900 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 900 mg/Kg de extrato bruto etanólico;

O teste de Tukey não encontrou diferença significativa entre os grupos testados em nenhum dos dias. O teste de ANOVA demonstrou que não houve diferença significativa na análise dos pesos dos animais nos dias 1 ( $F(3, 26) = 0,9766$ ;  $p > 0,05$ ), 7 ( $F(3, 26) = 0,8244$ ;  $p > 0,05$ ), 14 ( $F(3, 26) = 0,5281$ ;  $p > 0,05$ ), e 21 ( $F(3, 26) = 2,574$ ;  $p > 0,05$ ). Com as análises estatísticas é possível concluir que não houve diferença significativa na variação dos pesos dos animais tratados com extrato etanólico bruto 300 e 900mg/Kg e extrato aquoso bruto 300 mg/Kg de *S. megalochiton*, quando comparado ao controle.

Estudos de toxicidade com plantas do gênero *Solanum* apresentam resultados variados com relação ao peso corpóreo dos animais. Também é importante ressaltar que vários estudos demonstraram variações nas respostas toxicológicas entre machos e fêmeas. Um estudo de toxicidade conduzido em ratas tratadas com 3% de *S. lycocarpum* misturados à ração demonstrou que ratos (machos e fêmeas) tiveram redução de peso durante 37 dias em que foram realizados os experimentos, porém ratos machos que receberam o mesmo tratamento por 60 dias não apresentaram diferença significativas no peso corpóreo ao final do experimento. (MARUO, 2002). Friedman et al. (1996) estudaram o efeito tóxico que alguns alcaloides (alfa-chaconina and alfa-solanina, alpha-tomatina e solasonina) do gênero *Solanum* podiam causar em camundongos fêmeas e machos durante 7 ou 14 dias. Eles observaram que os machos apresentaram em geral uma redução no ganho de peso e consumo de ração enquanto que as fêmeas mostraram apenas redução do consumo de ração sem alteração do peso corpóreo.

Um estudo conduzido com ratos machos tratados por 65 dias com extrato etanólico dos frutos de *S. grandiflorum* demonstrou que nos primeiros 23 dias de experimento não houve alteração no consumo alimentar, porém após esse período os animais diminuíram o consumo de ração. A autora atribui a esse resultado, um efeito depressivo que os alcaloides presentes na planta podem causar nos animais, diminuindo assim o apetite desses. (PEREIRA et al., 2003). Mota et al. (2010) realizaram estudo da toxicidade pela adição de 10% de frutos de *S. lycocarpum* na alimentação de ratos machos e fêmeas. Eles observaram que os animais machos tiveram uma redução de peso enquanto as fêmeas não tiveram os pesos alterados. Eles atribuem a diminuição dos pesos dos machos à presença de polissacarídeos na

planta, esses podem reduzir o esvaziamento gástrico, diminuindo a absorção de glicose e outros metabólitos.

#### 4.5.3.2 Peso dos órgãos

A alteração no peso dos órgãos é um parâmetro de toxicidade usualmente utilizado para verificação preliminar de possíveis danos causados aos tecidos. O fígado e os rins são os principais marcadores de toxicidade porque estão envolvidos no metabolismo de excreção dos componentes químicos. Danos renais estão associados ao uso de plantas medicinais no tratamento de diferentes doenças. (MAPANGA; MUSABAYANE, 2010). Os dados da % pesos dos órgãos em relação ao peso dos animais podem ser observados no GRÁFICO 13.

GRÁFICO 16 - PORCENTAGEM DOS PESOS DOS ÓRGÃOS EM RELAÇÃO AO PESO DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA DURANTE 21 DIAS DE EXPERIMENTO (continua)

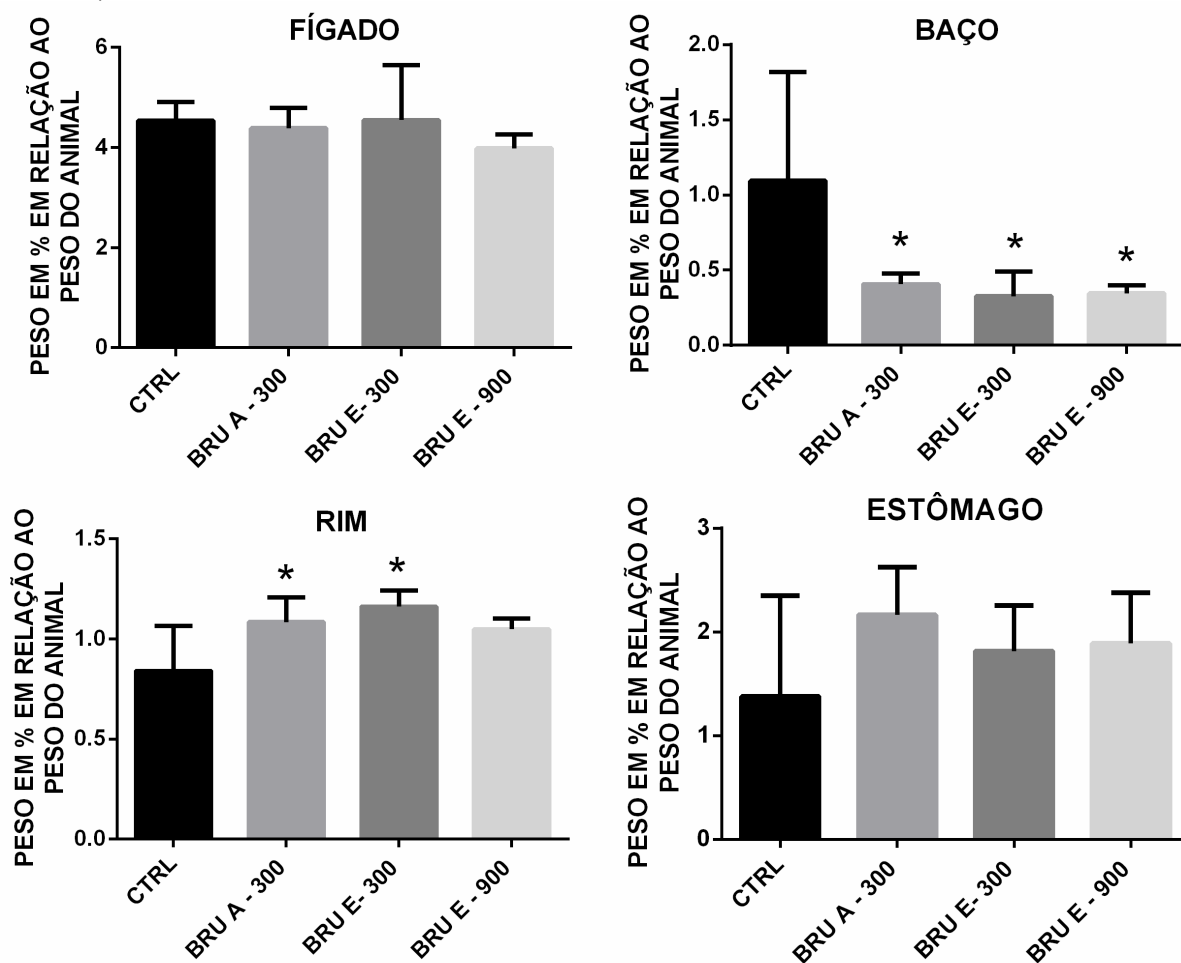
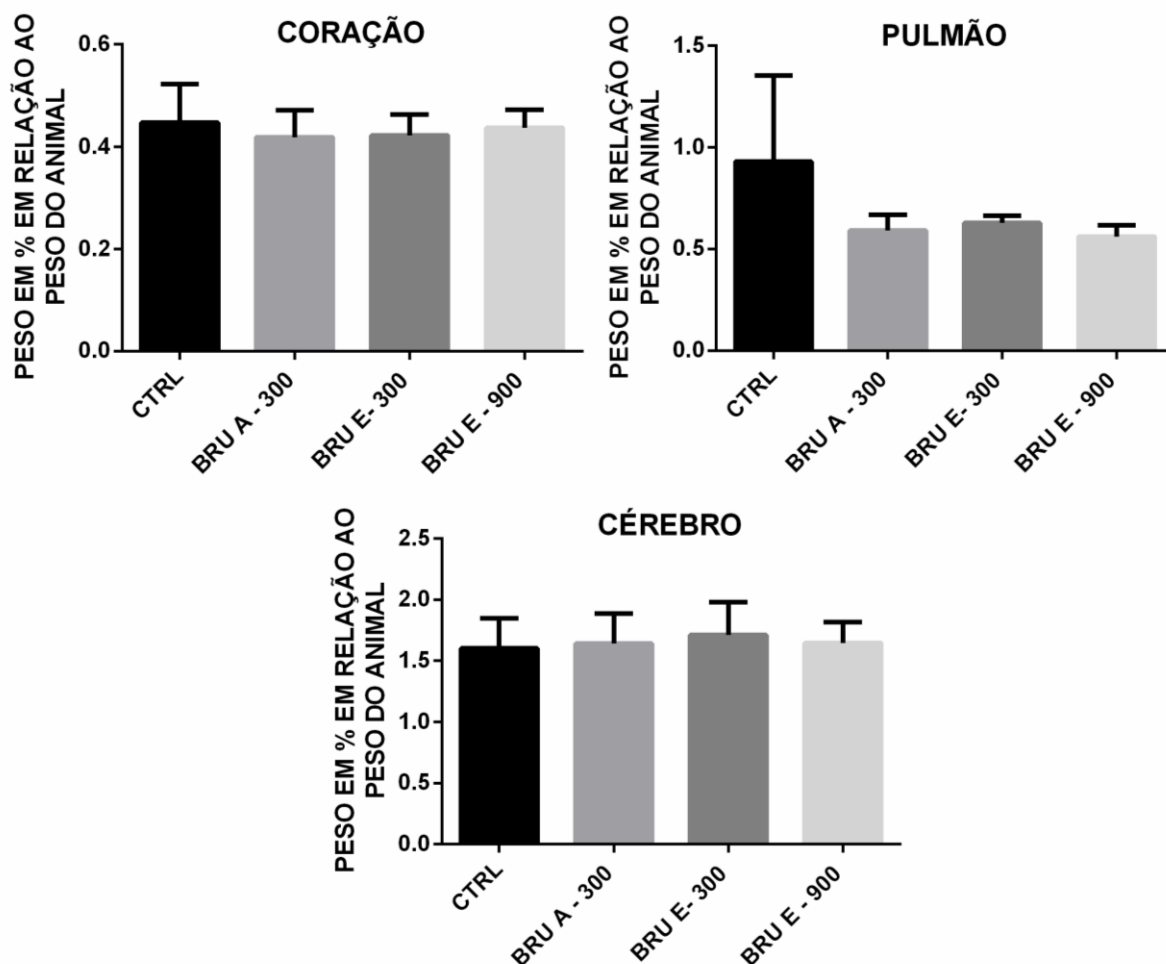


GRÁFICO 13 – % DOS PESOS DOS ÓRGÃOS EM RELAÇÃO AO PESO DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA DURANTE 21 DIAS DE EXPERIMENTO

(continuação)



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 6-12 animais por grupo experimental. \* indica  $p > 0,05$  comparado com CTRL pelo teste de Tukey;

LEGENDA: CTRL – controle; BRU A – 300 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato aquoso bruto; BRU E – 300 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato bruto etanólico; BRU E – 900 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 900 mg/Kg de extrato bruto etanólico;

Por meio do teste de ANOVA foi possível observar que houve diferença significativa entre os grupos na análise dos % dos pesos do baço e rim ( $F(3, 27) = 5,953$  e  $F(3, 27) = 6,793$ ;  $p > 0,05$  respectivamente). Os demais órgãos não apresentaram diferença significativa entre os grupos: fígado ( $F(3, 27) = 1,384$ ;  $p < 0,05$ ), estômago ( $F(3, 27) = 1,951$ ;  $p < 0,05$ ), coração ( $F(3, 27) = 0,4285$ ;  $p < 0,05$ ), pulmão ( $F(3, 27) = 3,729$ ;  $p < 0,05$ ) e cérebro ( $F(3, 27) = 0,2827$ ;  $p < 0,05$ ). O teste de Tukey encontrou diferença significativa entre os % de pesos do baço dos animais



que receberam 300 e 900 mg/Kg de extrato etanólico bruto e 300 mg/Kg de extrato aquoso bruto de *S. megalochiton* em comparação com os animais do grupo controle que receberam apenas salina. O teste de Tukey também detectou diferença significativa entre os % do peso dos rins dos animais que receberam extrato etanólico e aquoso bruto na concentração de 300 mg/Kg em relação ao grupo controle, porém os animais que receberam extrato etanólico bruto na concentração de 900 mg/Kg não apresentaram os pesos dos rins alterados.

Sabe-se que as saponinas alteram a permeabilidade das células, então elas podem ser reponsáveis pelos danos renais causados por espécies do gênero *Solanum*. (HARBORNE; BAXTER, 1995). Os rins são sensíveis a vários produtos químicos. O alto fluxo sanguíneo renal parece ser o que predispõe as alterações químicas nos rins. (HOOK; GOLDSTEIN, 1993). A espécie em estudo contém saponinas nos extratos testados, estas podem ser as responsáveis pelos danos causados nos rins.

Pereira et al. (2003), estudaram a toxicidade de frutos de *Solanum grandiflorum* e estas foram tóxicas aos rins de ratos. Alterações na diurese, nefromegalia, degeneração e necrose glomerular, lesão tubular e lesão hiper celular foram encontradas nos rins dos animais.

A literatura mostra que é comum alterações de peso dos órgãos em animais tratados com plantas do gênero *Solanum*. Mota et al. (2010) testaram a toxicidade de 10 % de frutos de *S. lycocarpum* adicionados à dieta de ratos, e observaram uma diminuição do peso da adrenal, baço, coração, rins e timo, e aumento dos pesos relativos do coração, fígado, vesícula seminal e testículos. Estudos realizados por Maruo, 2002, com 3% de frutos de *S. lycocarpum* na dieta apresentou redução do peso do fígado das ratas fêmeas, porém não foi observado alteração de peso nos órgãos dos ratos machos após 60 dias de experimento.

Friedman et al. (1992) verificou que a administração do alcaloide solasodina 3,8 mmol/Kg durante 14 dias causou hepatomegalia em camundongos. Porém outro estudo realizado por Friedman et al. (1996) demonstrou que um tratamento de 14 dias com o alcaloide seguido de 14 dias sem tratamento fez com que o fígado voltasse aos valores normais, o que demonstra que a alteração causada pelo alcaloide é reversível. Camundongos que foram tratados com  $\alpha$ -chaconina e  $\alpha$ -solanina tiveram uma redução do peso do fígado o que sugere hepatotoxicidade. (FRIEDMAN et al., 1996).

#### 4.5.3.3 Dados bioquímicos

As enzimas hepáticas aspartato e alanina aminotransferase (AST e ALT) apresentam concentrações elevadas no sangue quando há dano tecidual. Essas enzimas ficam dentro das células e catalisam reações químicas nas quais um grupo de amino é transferido. Quando há dano tecidual as enzimas são liberadas das células do fígado e podem ser detectadas no sangue. (RAHMAN et al., 2001). AST pode estar em concentrações elevadas no sangue quando há danos no coração e fígado enquanto ALT é mais específica para o fígado. As alterações nos níveis de ALT e creatinina podem ser utilizadas no controle de danos renais. A creatina também é encontrada no coração, musculatura esquelética, cérebro e testículos. Níveis elevados de creatinina podem indicar infarto do miocárdio e desordens pulmonares. (HILALY et al., 2004).

GRÁFICO 17 - PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA DURANTE 21 DIAS DE EXPERIMENTO (continua)

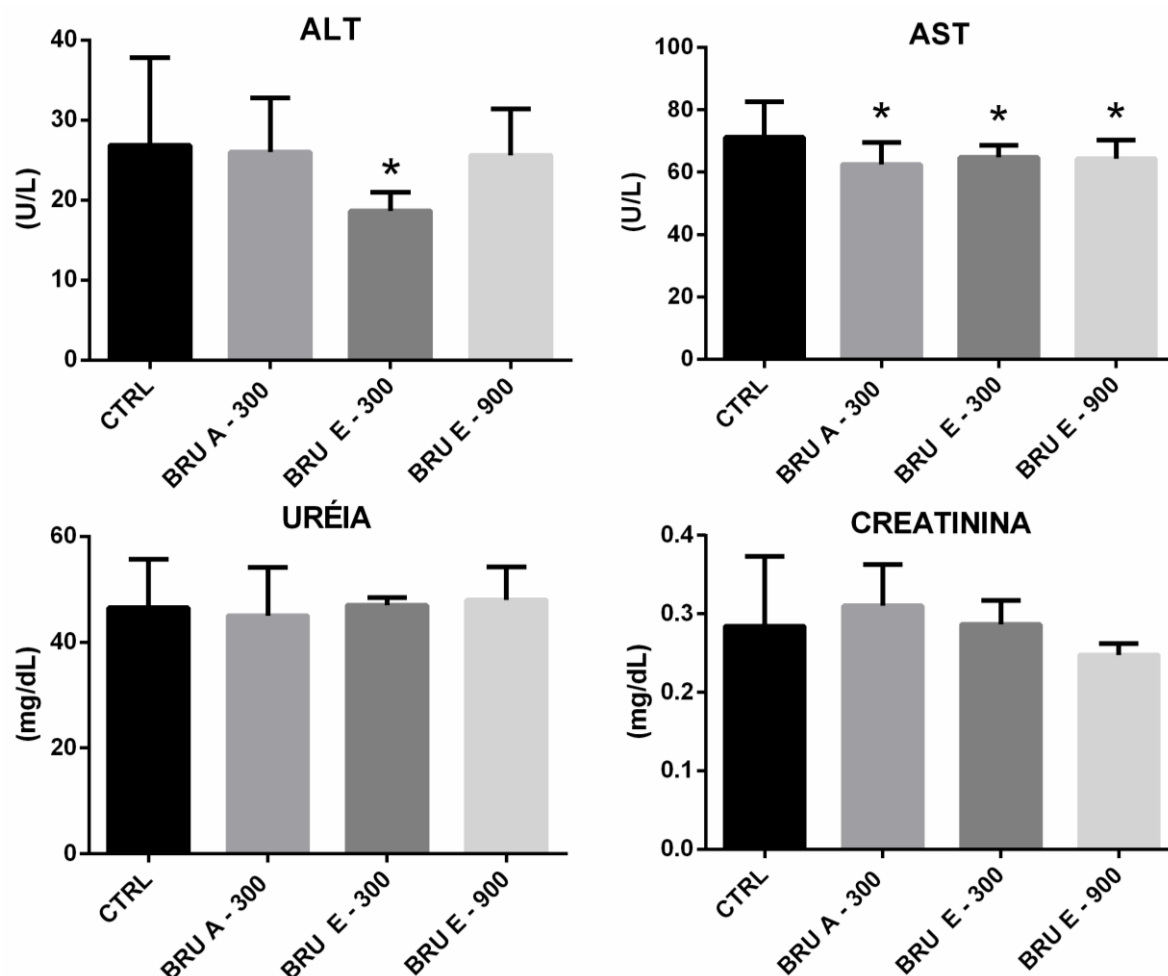
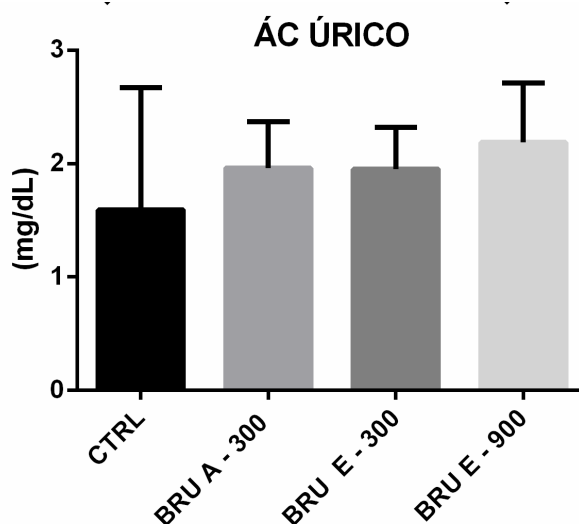


GRÁFICO 18 - PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA DURANTE 21 DIAS DE EXPERIMENTO (continuação)



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 6-12 animais por grupo experimental. Foram realizados testes estatísticos de ANOVA e Tukey.

LEGENDA: AST - aminotransferase de aspartate; ALT - aminotransferase de alanine; CTRL - controle; BRU A - 300 - camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato aquoso bruto; BRU E - 300 - camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato etanólico bruto; BRU E - 900 - camundongos swiss fêmeas tratadas com 900 mg/Kg de extrato etanólico bruto;

O teste de ANOVA demonstrou que não houve diferença significativa entre os grupos em nenhuma das análises ALT ( $f(3, 15) = 0,7933$ ;  $p > 0,05$ ), AST ( $f(3, 16) = 1,603$ ;  $p > 0,05$ ), uréia ( $f(3, 13) = 0,1385$ ;  $p > 0,05$ ), creatinina ( $F(3, 14) = 2,355$ ;  $p > 0,05$ ) e ácido úrico ( $F(3, 15) = 1,097$ ;  $p > 0,05$ ). O teste de Tukey também não encontrou diferença significativa entre os animais tratados e os do grupo controle em nenhum dos testes bioquímicos realizados.

Apesar de terem sido observadas alterações de peso do baço e rins, não foram detectadas alterações nos níveis de creatinina e uréia o que é um indicativo de que as funções renais não se encontram alteradas. (REBECCA et al., 2002). É possível que neste nível de intoxicação os danos causados aos órgãos não estejam comprometendo as funções desses.

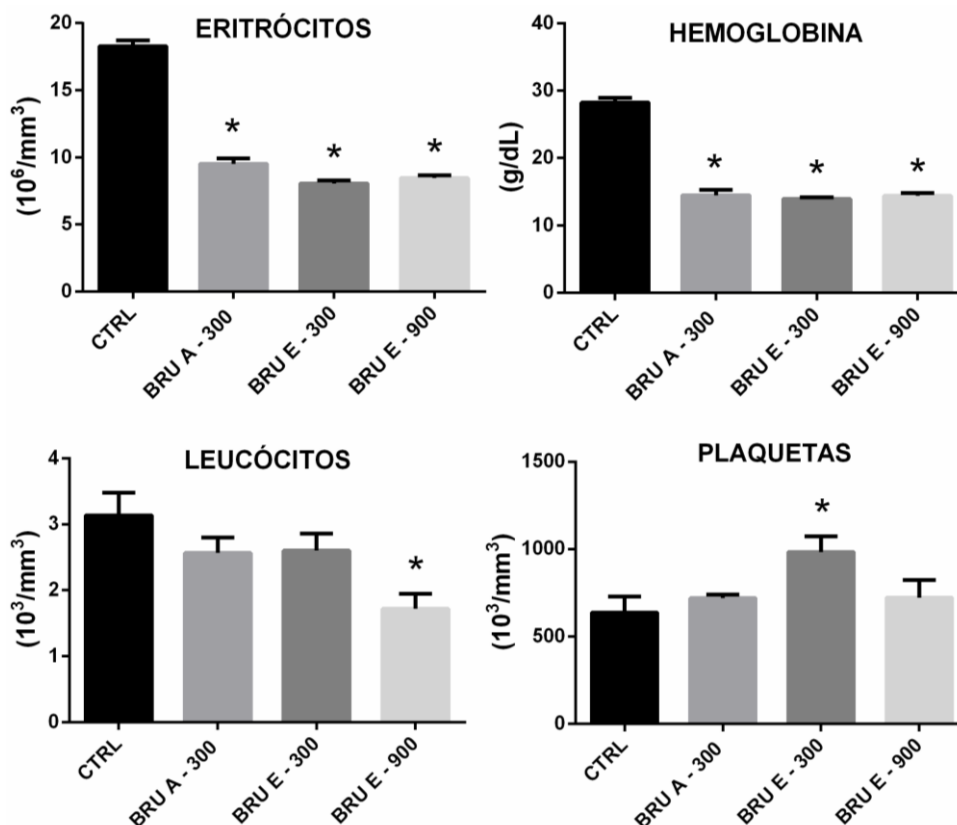
Pereira et al. (2003), estudaram a toxicidade de frutos de *S. grandiflorum* e estas foram tóxicas aos rins de ratos, porém os animais não apresentaram níveis alterados de uréia e creatinina. Assim como Mota et al. (2010) e Maruo (2002), que estudaram os efeitos tóxicos de *S. lycocarpum*, Maruo (2002) encontrou danos teciduais em fígado e rim que indicam toxicidade, porém em nenhum dos estudos os testes bioquímicos se apresentaram alterados.

#### 4.5.3.4 Análises hematológicas

##### A) Hemograma

O sistema hematopoético é um dos mais sensíveis marcadores de toxicidade, e é um importante indicador fisiológico e patológico em animais e humanos. (HARPER, 1973; MUKINDA; SYCE, 2007). Estudos hematológicos podem revelar anomalias nos animais e em seus processos metabólicos, fornecem informações sobre respostas a injúrias ou estresse. (MEZUI, 2008). Os principais padrões hematológicos analisados são hemoglobina, eritrócitos, leucócitos e plaquetas. (ADENEYE et al., 2006). O padrão normal das células sanguíneas pode ser alterado pela ingestão de compostos tóxicos de plantas. (AJAGBONNA et al., 1999).

GRÁFICO 19 - HEMOGRAMA DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA NO ENSAIO DE TOXICIDADE APÓS 21 DIAS DE EXPERIMENTO



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 6-12 animais por grupo experimental. \* indica  $p > 0,05$  comparado com CTRL pelo teste de Tukey;  
 LEGENDA: CTRL – controle; BRU A – 300 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato aquoso bruto; BRU E – 300 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato etanólico bruto; BRU E – 900 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 900 mg/Kg de extrato etanólico bruto;

O teste de ANOVA revelou que há diferença significativa entre os grupos em todos os parâmetros analisados nos hemogramas: eritrócitos ( $F(3, 25) = 192,8$ ;  $p < 0,05$ ), hemoglobina ( $F(3, 25) = 147,3$ ;  $p < 0,05$ ), leucócitos ( $F(3, 25) = 4,308$ ;  $p < 0,05$ ) e plaquetas ( $F(3, 25) = 3,320$ ;  $p < 0,05$ ). O teste de Tukey encontrou diferença significativa nos leucócitos entre o grupo controle e os animais do grupo que receberam 900 mg/Kg de extrato bruto etanólico (BRU E - 900). Os eritrócitos e a hemoglobina de todos os animais tratados com extratos (BRU A – 300, BRU E – 300 e BRU E - 900) foi diferente estatisticamente da hemoglobina dos animais do grupo controle (CTRL). As plaquetas do grupo BRU E - 300 se mostraram estatisticamente diferentes dos animais CTRL pelo teste de Tukey.

## B) Diferencial de leucócitos

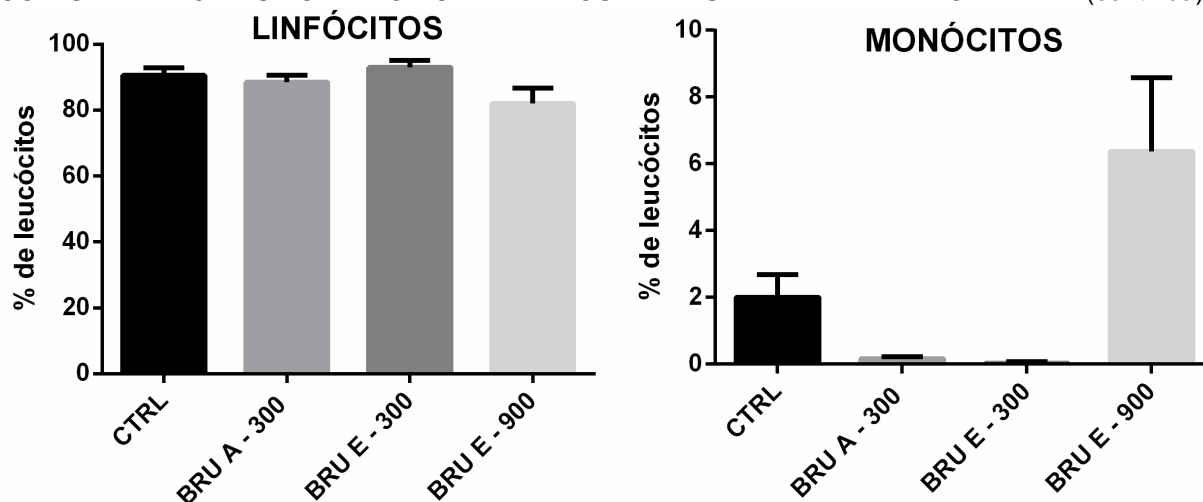
Os leucócitos têm um papel importante na defesa do organismo, cada tipo de célula têm funções específicas que em conjunto estruturam o sistema imunológico. São divididos em mononucleares o que inclui linfócitos, plasmócitos e monócitos e

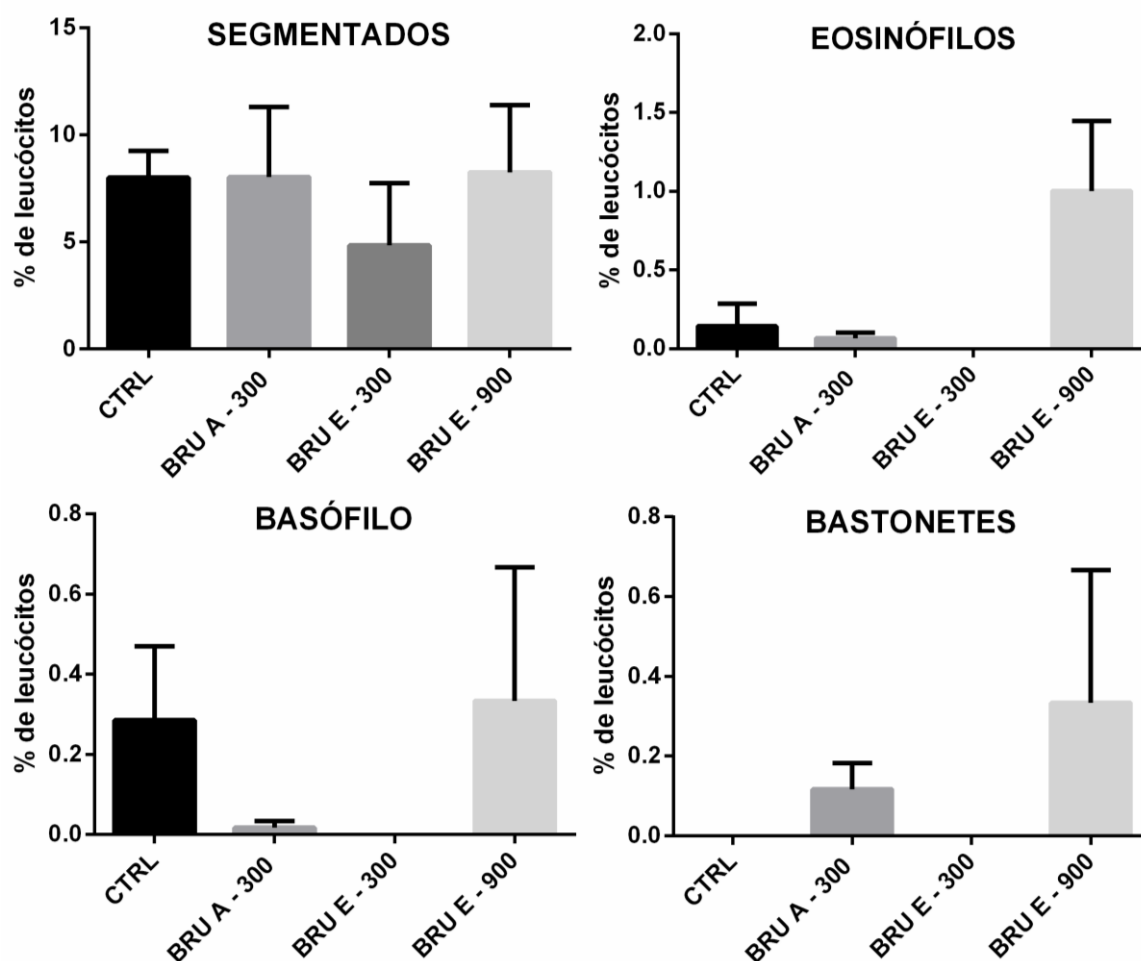
os granulócitos que incluem os neutrófilos, eosinófilos e basófilos. (FALCÃO; CALADO, 2004).

Os eosinófilos têm a função de mediação dos processos inflamatórios associados a alergias, parasitas e neoplasias. (SANDERSON, 1992). Os basófilos participam das reações de hipersensibilidade imediata como asma, urticárias e alergias. Os monócitos, ou macrófagos quando não estão no sangue, fazem parte da primeira linha de defesa do organismo contra parasitas intracelulares, são capazes de destruir vírus e bactérias. Os monócitos são abundantes no sangue periférico. Os basófilos participam das reações de hipersensibilidade imediata como a asma, urticárias e alergias. (GAY, PARKER, 2003).

Os dados da diferencial dos leucócitos dos animais submetidos ao teste de toxicidade estão no GRÁFICO 16.

GRÁFICO 20 - DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS TRATADAS COM EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (300 E 900 mg/kg) E AQUOSO (300 mg/kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton* MART SOLANACEAE E ANIMAIS CONTROLES TRATADOS COM SALINA NO ENSAIO DE TOXICIDADE APÓS 21 DIAS DE EXPERIMENTO (continua)





NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 6-12 animais por grupo experimental. Foram realizados testes estatísticos de ANOVA e Tukey.

LEGENDA: CTRL – controle; BRU A – 300 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato aquoso bruto; BRU E – 300 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 300 mg/Kg de extrato etanólico bruto; BRU E – 900 – camundongos swiss fêmeas tratadas com 900 mg/Kg de extrato etanólico bruto;

O teste de ANOVA demonstrou que não houve diferença significativa entre os grupos em nenhum dos parâmetros analisados: linfócitos ( $F(3, 21) = 2,487$ ;  $p > 0,05$ ), monócitos ( $F(3, 21) = 7,095$ ;  $p > 0,05$ ), segmentados ( $F(3, 21) = 0,3174$ ;  $p > 0,05$ ), eosinófilos ( $F(3, 21) = 4,075$ ;  $p > 0,05$ ), basófilos ( $F(3, 21) = 0,9917$ ;  $p > 0,05$ ), bastões ( $F(3, 21) = 0,8970$ ;  $p > 0,05$ ). O teste de Tukey não encontrou diferença significativa entre os animais tratados com os extratos e os do grupo controle em nenhum dos parâmetros.

As análises hematológicas dos animais tratados com extratos de *S. megalochiton* mostraram um quadro de anemia nos animais após os 21 dias de tratamento. Este resultado era esperado pois no teste de hemólise *in vitro* as frações hexano, clorofórmio e hidroalcoólica hemolizaram o sangue testado. A presença de saponinas no extrato pode ter sido o causador desses resultados. Além disso nos

ensaios toxicológicos também foram observadas alterações no peso dos rins dos animais que receberam extrato aquoso e etanólico na concentração de 300 mg/Kg. Esses dados estão de acordo com os estudos toxicológicos realizados por Astor et al. (2002), eles estudaram pacientes com problemas renais e concluíram que pessoas com problemas renais apresentam muito mais chances de apresentarem quadros de anemia. Esse estudo mostrou que esses pacientes também apresentavam falta de ferro. Sabe-se que os taninos diminuem a absorção de ferro, e que a planta em estudo *S. megalochiton* apresenta taninos em sua composição. Sendo assim, os taninos presentes nos extratos podem ter diminuído o ferro disponível levando os animais a um quadro de anemia, sendo agravado pela presença de saponinas que podem ter lesionado a membrana celular dos eritrócitos e a células renais.

Outros estudos com plantas do gênero não encontraram alterações hematológicas. Mota et al. (2010) não encontraram alterações hematológicas nos animais machos e fêmeas após ensaio toxicológico com o extrato de *S. Lycocarpum*. Pereira et al. (2003) que estudaram os efeitos tóxicos do extrato dos frutos de *S. grandiflorum*, não encontraram alterações hematológicas após administração desses, por 65 dias, em ratos machos.

O aumento do número de plaquetas dos animais do grupo BRU E – 900 pode estar relacionado com a diminuição do peso do baço apresentado por este grupo. Sabe-se que o baço é responsável pelo sequestro de plaquetas do sangue. Em pacientes esplenectomizado a tendência é que haja um aumento do número de plaquetas circulantes. (JACKSON; CARTER,1993). Sendo assim, é possível que os danos causados, pela administração do extrato bruto na concentração de 300 mg/Kg, ao baço esteja prejudicando o sequestro das plaquetas circulantes, fazendo com que essas se apresentem em maior número no sangue circulante.

#### 4.5.3.5 Estudo histopatológico

Por ser um órgão detoxificador o fígado está mais sujeito a danos causados por substâncias químicas, bem como os rins que são órgãos excretores e por isso ficam mais em contato com as substâncias químicas presentes no organismo (COLTRAN et al. 1994). Além disso, agentes endógenos e exógenos como substâncias químicas presentes nas plantas podem alterar os mecanismos de defesa do



estômago, aumentando a permeabilidade dos ácidos estomacais. (TWEDT; MAGNE, 1992). As lesões histopatológicas mais comuns nos estômagos são congestões, edema, hemorragia, erosão e necrose. (AL-SHABANAH et al., 2000; LA CASA et al., 2000). Por isso, foram feitas lâminas histológicas de fígado, rim e baço.

Nas análises das lâminas histológicas dos animais submetidos ao teste de toxicidade com os extratos de *S. megalochitom* não foram observadas alterações significativas de toxicidade.

Nos estômagos foram observadas alterações normais de mínima celularidade linfoplasmocitária basal com agregados linfáticos ocasionais e mínimos infiltrados basais, nos animais tratados com extrato etanólico na concentração de 300 mg/Kg. Não foram detectadas necrose, esteatose, apoptose, tumefação e colestase. As mucosas do corpo e do fundo se apresentavam íntegras sem inflamações ou hemorragias e edemas, não foram observadas úlceras nem gastrites em todos os grupos tratados.

Não foram observadas alterações que indiquem toxicidade no fígado dos animais tratados e controle. Apenas foram observados três focos de linfócitos em um fígado de um animal do grupo controle. A presença desse tipo celular é considerada normal. A arquitetura dos lóbulos hepáticos encontrava-se preservada no espaço porta e veia central. Não foram observados necrose, esteatose, apoptose, tomeção e colestase em nenhum dos grupos testados.

Foram encontrados nos rins do grupo que recebeu extrato bruto etanólico na concentração de 300 mg/Kg, um discreto infiltrado monomorfonuclear sob o endotélio calicial, porém essa alteração foi encontrada em apenas um dos animais e pode ser considerada uma alteração normal. Os demais grupos não apresentaram alterações. Não foram encontradas alterações nos glomérulos, a quantidade de núcleos das células estava normal, não foram observadas hialinização glomerular, glomerulite, cistificação de túbulo, inflamações ou necrose tubular. O interstício virtual, a papila renal e o cálice não apresentaram nenhuma alteração.

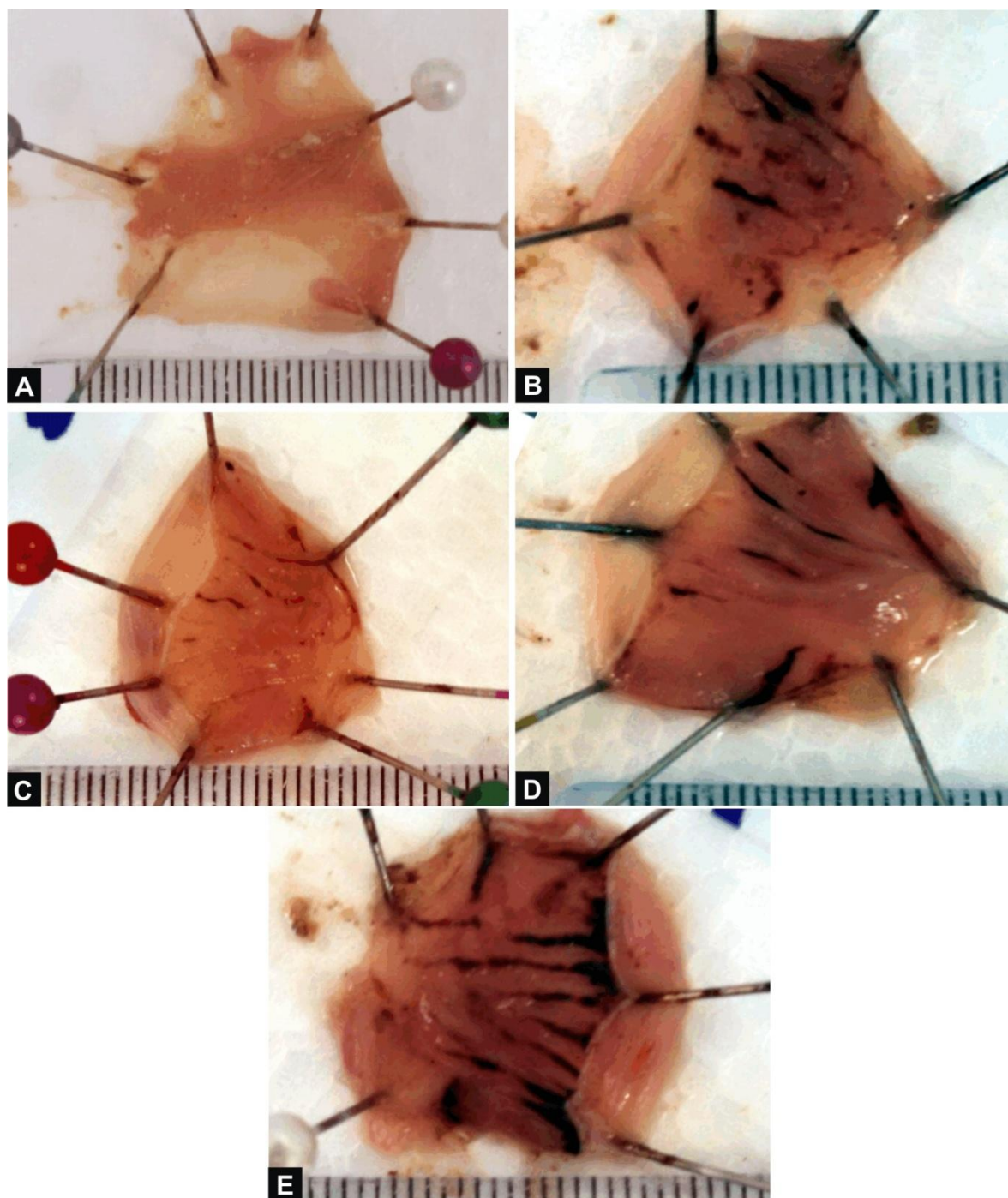
São comumente encontrados na literatura estudos de toxicidade com plantas do gênero *Solanum*, em que a administração dos extratos causa efeitos tóxicos variados em ratos e camundongos. Esses efeitos podem ser observados por meio do estudo histopatológico dos órgãos, principalmente fígado rins e estômago. Friedman et al. (1992) estudaram os efeitos tóxicos do alcaloide solasodina e observaram que os animais apresentaram hapatomegalia ao final do experimento de

14 dias, exames histológicos dos tecidos hepáticos desses animais revelaram presença de colangio-hepatite e dilatação de glândulas gástricas. Ernawati (2015) estudou os possíveis efeitos tóxicos causados pelo extrato dos frutos de *Solanum sanitwongsei*, e observou danos nos tubulas renais com presença de túbulos renais abertos, e no fígado dos animais foi observado necrose. Pereira et al. (2003) estudaram o efeito tóxico do extrato de *S. grandiflorum* em ratos e observaram alterações histopatológicas nos rins dos animais após 65 dias de tratamento. As lesões encontradas foram degeneração glomerular, necrose, lesões tubulares, e lesões hipercelulares.

#### 4.5.4 Avaliação da atividade de proteção gástrica

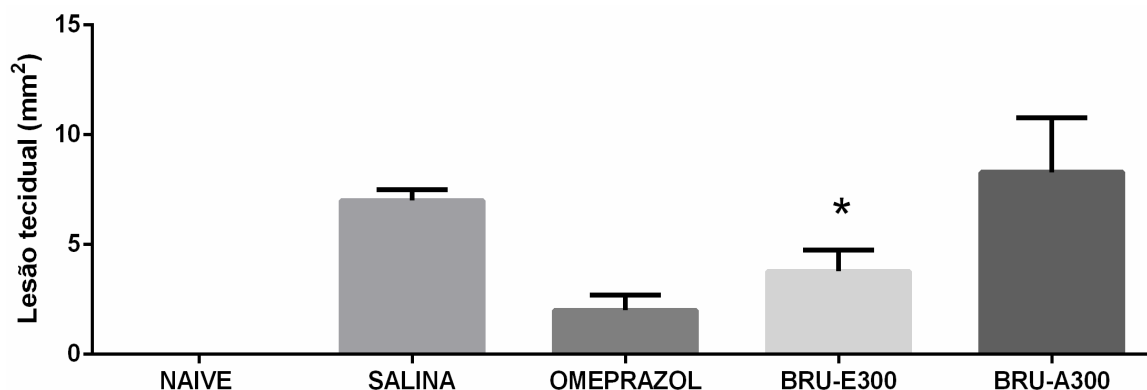
A lesão gástrica ocorre devido a uma agressão à mucosa ou diminuição da sua resistência que quebram as barreiras de proteção. Vários são os fatores que causam a úlcera gástrica, entre eles estão o aumento da secreção do ácido clorídrico, a redução da neutralização, diminuição da secreção de muco e a redução da síntese de prostaglandinas e óxido nítrico gástrico. O tratamento de uma lesão gástrica busca atenuar os fatores de agressão da mucosa ou estimular suas defesas na produção de muco citoprotetor, bicarbonato, prostaglandinas e óxido nítrico. (TEPPERMAN; JACOBSON, 1994; SILVA et al., 1997; SCHUBERT, 2004; DONG e KAUNITZ, 2006).

FIGURA 17 - FOTOS DOS ESTÔMAGOS DE CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS SUBMETIDOS AO ENSAIO DE PROTEÇÃO GÁSTRICA, OS ANIMAIS DO GRUPO NAIVE (A) NÃO RECEBERAM NENHUM TIPO DE TRATAMENTO; OS DEMAIS ANIMAIS FORAM PRÉ-TRATADOS COM SALINA (B); OMEPRAZOL (C); EXTRATO ETANÓLICO BRU BRUTO 300 mg/Kg (D); E EXTRATO AQUOSO BRUTO 300 mg/Kg (E) DE *Solanum megalochiton* MART. SOLANACEAE (v.o.) POR 7 DIAS E NO ÚLTIMO DIA DE EXPERIMENTO FOI ADMINISTRADO ETANOL P.A. (v.o.) COMO AGENTE NECROTIZANTE



FONTE: A autora (2017)

GRÁFICO 21 - MÉDIA DO DANO TECIDUAL (mm<sup>2</sup>) DOS ESTÔMAGOS DOS CAMUNDONGOS SWISS FÊMEAS DO EXPERIMENTO DE PROTEÇÃO GÁSTRICA TRATADOS COM SALINA, OMEPRAZOL (40 mg/Kg), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (300 mg/Kg) E EXTRATO BRUTO AQUOSO (300 mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE POR 7 DIAS



NOTA: \*indica  $p < 0,05$  comparado ao grupo omeprazol;

LEGENDA: BRU-E300 – extrato bruto etanólico 300mg/Kg; BRU-A300 - extrato bruto aquoso 300mg/Kg;

O extrato etanólico bruto se mostrou significativamente semelhante ao grupo controle omeprazol (FIGURA 26 - D e C), pelo teste de ANOVA e Tukey, mostrando que o extrato protegeu a mucosa dos animais em estudo. Porém a análise das imagens revelou que o extrato bruto aquoso (300 mg/Kg) não protegeu a mucosa gástrica dos animais em teste (FIGURA 26 – E). A lesão causada na mucosa dos animais que receberam o extrato bruto aquoso (8,30 mm<sup>2</sup>) de *S. megalochiton*, foi maior do que nos animais que receberam apenas salina (7,01 mm<sup>2</sup>) conforme pode ser observado no GRÁFICO 17 e FIGURA 26 – E e B. Isso mostra que o extrato aquoso deixou a mucosa mais frágil à presença do agente necrotizante. Isso pode ter acontecido devido o pH dos extratos que é em torno de 6,5 ou devido a presença de substâncias irritantes e ou inflamatórias que possivelmente estão presentes nos extratos.

Araujo et al. (2002) já haviam demonstrado que a espécie *Solanum cernuum* Vell. apresenta atividade antiulcerogênica, no estudo essa atividade foi atribuída a presença de flavonoides e saponinas na espécie. *Solanum megalochiton* também apresenta flavonoides e saponinas no extrato etanólico bruto, esses dois metabólitos podem ser os responsáveis pela atividade de proteção gástrica observada neste estudo.

Os flavonoides possuem atividade de proteção gástrica, pois aumentam o conteúdo de prostaglandinas na mucosa do estômago (ALCARAZ; HOULT, 1985), além de reduzir a secreção de histamina por fazer a inibição da enzima histidina descarboxilase (BRONNER; LANDRY, 1985), além disso, os flavonoides também inibem o desenvolvimento do *Helicobacter pylori*, bactéria responsável por causar dano à mucosa gástrica. (BEIL; BIRKHOLZ; SEWING, 1995). É também conhecida a

capacidade destas substâncias em varrer radicais livres do oxigênio, componentes estes importantes no processo erosivo e ulcerativo da mucosa gastrointestinal.

#### 4.5.5 Diabetes

O Diabetes Mellitus (DM) é um distúrbio metabólico de etiologia múltipla que tem como característica principal a hiperglicemia resultante da falha na ação ou na secreção de insulina ou ambos, que tem como resultado a deficiência relativa ou absoluta da insulina. (BROWNLIE, 2005; XIANG et al., 2010; ASSOCIAÇÃO AMERICANA DO DIABETES (ADA), 2009).

Aproximadamente 8 a 14% dos diabéticos apresentam depressão, enquanto cerca de 30% desses pacientes apresentam sintomas depressivos. (ALI et al., 2006; COLLINS et al., 2009). Pacientes com diabetes tem duas vezes mais chances de sofrer de depressão do que a população em geral. (ANDERSON et al., 2001; EGEDE et al., 2002; FRÁGUAS et al., 2009).

A associação entre diabetes e depressão é comum, pacientes com diabetes têm maior risco de desenvolver depressão e os deprimidos apresentam maiores chances de ter diabetes. (LUSTMAN et al., 2007; GOLDEN et al., 2008; MEZUK et al., 2008). Ter depressão parece influenciar comportamentos que interferem com o autocuidado, como a dieta, a atividade física e a aderência ao tratamento do diabetes. (GONZALEZ et al., 2008; KATON et al., 2009; EGEDE et al., 2009).

Em relação aos transtornos de ansiedade, estudos relatam que 40% dos pacientes com diabetes apresentam sintomas característicos de ansiedade, sem contar que estes podem aparecer com maior frequência quando comparados com pacientes normoglicêmicos. Nesta mesma direção, estudos mostram que a prevalência de transtornos de ansiedade é 2-3 vezes maior em pacientes com diabetes. Esta observação desencadeou a hipótese de que o desenvolvimento da ansiedade é uma complicação do diabetes, aumentando sua morbidade e mortalidade. (TOMLINSON AND GARDNER, 2008; ANDERSON et al., 2001; GRIGSBY et al., 2002; GUPTA et al., 2013; JIA et al., 2014). Interessante que muitos estudos pré-clínicos comprovam esses dados clínicos mostrando que animais com o diabetes induzidos apresentam respostas do tipo depressiva e ansiogênica mais pronunciadas, quando comparados com animais não diabéticos. (GUPTA et al., 2014; DE MORAIS et al., 2014; GAMBETA et al., 2014).

Existem várias plantas medicinais conhecidas pela sua atividade antidiabética, com diferentes mecanismos de ação e fitoconstituintes. Algumas espécies citadas no estudo de Bhusan et al. (2010) inclui duas espécies de Solanaceae, *Capsicum frutescens* Linn. e *Withania somnifera* Dunal, ele afirma que essas plantas possuem ação de aumentar a secreção de insulina e reduzir a ligação da insulina no receptor bem como de diminuir o açúcar no sangue, respectivamente.

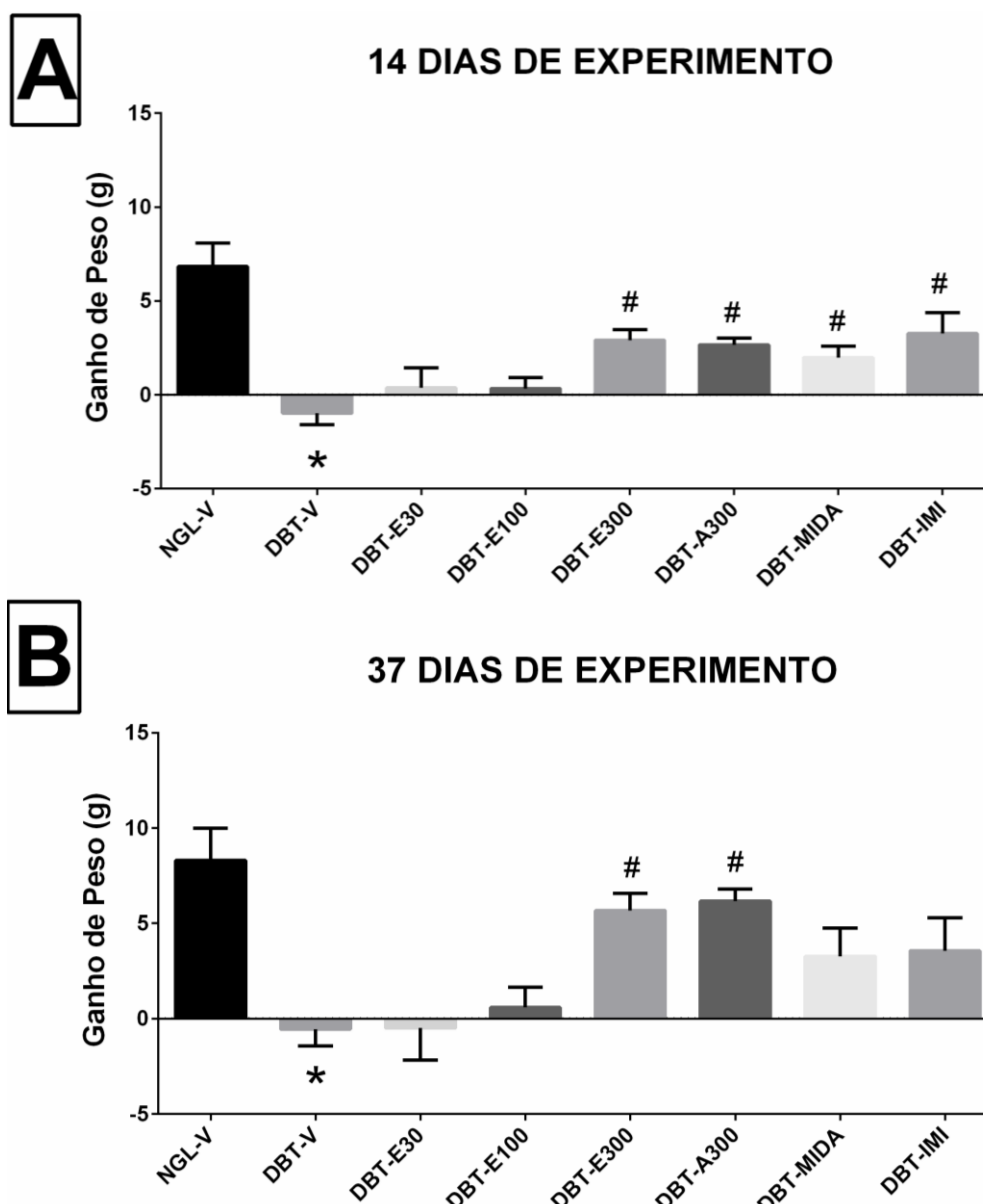
A ação biológica das plantas está relacionada com a composição química dos produtos vegetais. As plantas contem na sua composição compostos fenólicos, alcaloides, flavonóides, terpenóides e glicosídeos, que apresentam efeitos positivos.

#### 4.5.5.1 Efeito da variação do peso pela administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de *Solanum megalochiton*, Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos

A perda de peso está entre os sintomas mais comuns de depressão relacionados ao diabetes. (LUSTMAN et al., 1992). Segundo o manual de diagnóstico e estatística das doenças mentais a depressão é diagnosticada pelo número de sintomas presentes, entre eles a perda ou ganho de peso corporal. (DSM-V, 2013).

Os dados de ganho de peso podem ser observados no GRÁFICO 18 A e B.

GRÁFICO 22 - GANHO DE PESO (g) DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg), EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE, MIDAZOLAM (2mg/Kg) E IMIPRAMINA (20mg/Kg), APÓS A) 14 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 37 DIAS DE EXPERIMENTOS



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 8-14 animais por grupo experimental. \* indica  $p < 0,05$  comparado ao NGL-V; # indica  $p < 0,05$  comparado com DBT-V, pelo teste de ANOVA e *post hoc* de Newmann Keuls

LEGENDA: NGL-V – normoglicêmicos tratados com salina; DBT-V – diabéticos tratados com salina; DBT-E30,100,300 - diabéticos tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 30, 100 e 300 mg/kg; DBT-A300 - diabéticos tratados com extrato bruto aquoso na concentração 300 mg/kg; DBT-MIDA – diabéticos tratados com midazolam na concentração 2 mg/Kg ; DBT-IMI – diabéticos tratados com imipramina na concentração 20 mg/Kg

Conforme observado no GRÁFICO 18 A e B o teste *t-student* mostrou diferença significativa entre os grupos NGL-V e DBT-V tanto após 14 dias de experimento ( $t(19)=6,123$ ;  $p < 0,05$ ) como após 36 dias ( $t(19)=4,981$ ;  $p < 0,05$ ). O teste ANOVA de uma via demonstrou que alguns grupos experimentais são significativamente diferentes do grupo controle DBT-V após 14 [F (6, 54) = 5,821;  $p < 0,05$ ] e 37 dias de experimento [F (6, 51) = 6,095;  $p < 0,05$ ]. O teste *post-hoc* de Newman-Keuls após 14

dias de experimento, mostrou que os grupos DBT-E300, DBT-A300, DBT-MIDA e DBT-IMIP tiveram ganho de peso quando comparado com o grupo DBT-V ( $p < 0,05$ ), e após 37 dias apenas os grupos DBT-E300 e DBT-A300 mativeram essa diferença. Isso demonstra que o extrato etanólico e aquoso na dose de 300 mg/Kg de folhas de *S. megalochiton* pode auxiliar no ganho de peso em animais diabéticos.

Alguns dados da literatura sobre ganho de peso em animais tratados com espécies do gênero *Solanum* demonstraram que os resultados variam em relação ao ganho de peso durante o tratamento. Em estudo de toxicidade aguda e subcrônica (14 e 30 dias de tratamento), em camundongos swiss tratados com raízes de *Solanum paniculatum* L. Solanaceae, não foi observado alteração de peso. (TENÓRIO, 2015). Em outro estudo com ratos tratados com suco da casca de beringela (*Solanum melongena* L.) também não foi observado variação no peso dos animais. (SOARES et al., 2012). No estudo de Jorge, 1998 com coelhos foi verificado uma diminuição de peso corpóreo dos animais após tratamento com suco de beringela. Outro estudo demonstrou que a casca de uma espécie de *Solanum* diminuiu peso de cobaias. (CHEREM et al., 2007).

Estudos com animais diabéticos tratados demonstrou que as saponinas fazem com que os animais tenham um ganho de peso significativo, o estudo afirma que as saponinas aumentam o apetite dos animais fazendo com que aumentem significativamente o consumo de alimento. (PETIT et al., 1993; PETIT et al., 1995). *Solanum megalochiton* possui saponinas em sua composição, o que pode ter estimulado o consumo alimentar com consequente ganho de peso dos animais.

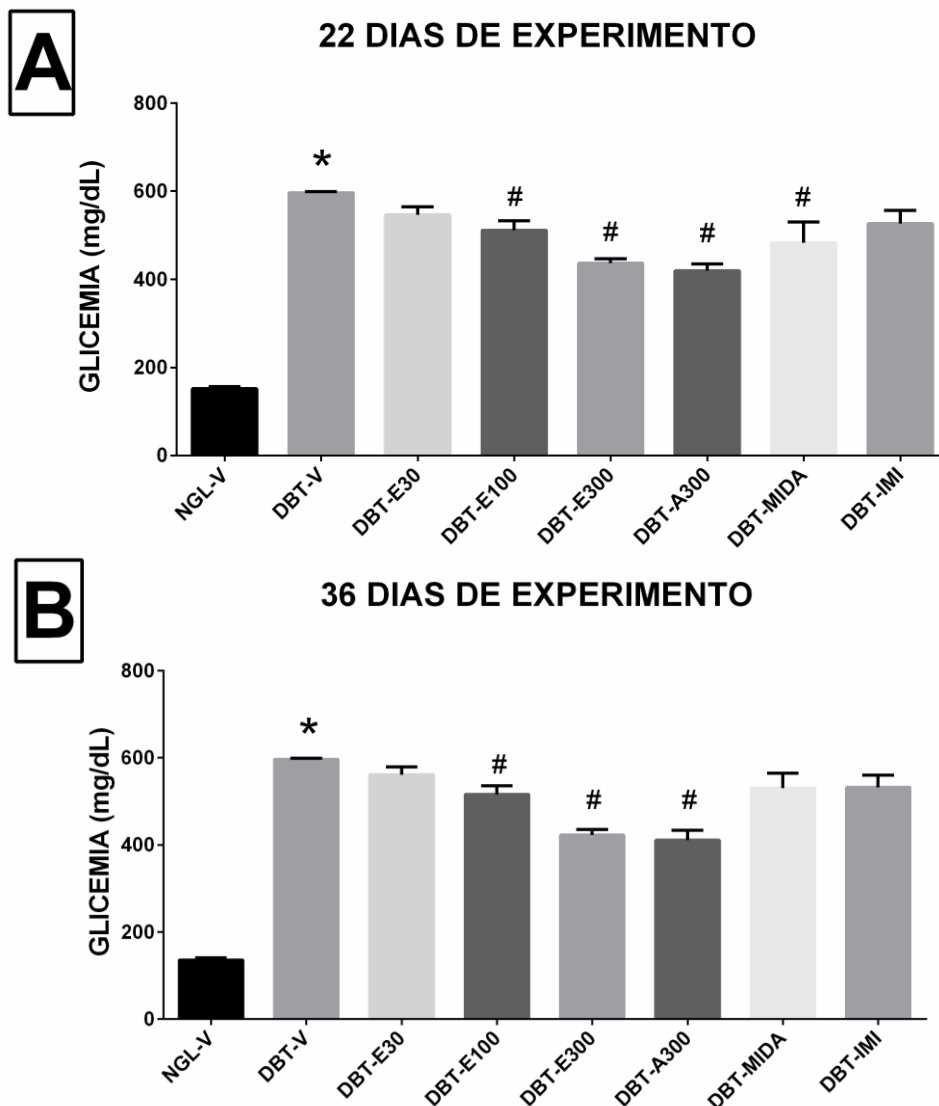
#### 4.5.5.2 Efeitos nos níveis sanguíneos de glicemia pela administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de *Solanum megalochiton*, Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos

A hiperglicemia é o sintoma mais relevante no diabetes e seus valores devem ser controlados para evitar danos maiores ao paciente. Estudos indicam que a hiperglicemia provoca danos nos tecidos por meio do aumento do fluxo de glicose e outros açúcares através da via do poliol, o aumento da formação intracelular de produtos finais de glicação avançada (AGEs), o aumento da expressão do receptor para produtos finais de AGEs e seus ligantes ativadores, ativação de isoformas da proteína quinase C (PKC) e hiperatividade da via hexosamina. (GIACCO E



BROWNLEE, 2010). Outras linhas de evidências sugerem que todos estes mecanismos culminam no aumento do estresse oxidativo. (NAUDI et al., 2012; DE CARVALHO et al., 2012).

GRÁFICO 23 - GLICEMIAS (mg/dL) DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICO E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg), EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE, MIDAZOLAM (2mg/Kg) E IMIPRAMINA (20mg/Kg), APÓS A) 22 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 37 DIAS DE EXPERIMENTOS.



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 8-14 animais por grupo experimental. \* indica  $p < 0,05$  comparado ao NGL-V; # indica  $p < 0,05$  comparado com DBT-V, pelo teste t, ANOVA e *post hoc* de Newmann Keuls

LEGENDA: NGL-V – normoglicêmicos tratados com salina; DBT-V – diabéticos tratados com salina; DBT-E30,100,300 - diabéticos tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 30, 100 e 300 mg/kg; DBT-A300 - diabéticos tratados com extrato bruto aquoso na concentração 300 mg/kg; DBT-MIDA – diabéticos tratados com midazolam na concentração 2 mg/Kg ; DBT-IMI – diabéticos tratados com imipramina na concentração 20 mg/Kg

Conforme observado no GRÁFICO 19 A e B, o teste t Student não pareado demonstrou diferença entre os grupos NGL-V e DBT-V em 22 e 37 dias de

experimentos [ $t(23)=72,24$ ,  $p<0,05$ ;  $t(23)=86,14$ ,  $p<0,05$ , respectivamente]. O teste ANOVA mostrou variações nos níveis de glicemia após 22 e 37 dias de experimentos [ $F(6, 54)=12,26$ ;  $p<0,05$ ;  $F(6, 54)=16,04$ ;  $p<0,05$ , respectivamente]. O teste *post-hoc* Newman-Keuls mostrou que após 22 dias de experimentos houve uma diminuição das taxas glicêmicas dos grupos DBT-E100, DBT-E300, DBT-A300 e DBT-MIDA quando comparado ao DBT-V. Após 37 dias de experimentos os grupos DBT-E100, DBT-E300, DBT-A300 mantiveram as taxas glicêmicas significativamente menores que o grupo controle DBT-V.

Pesquisas têm demonstrado que plantas do gênero *Solanum* apresentam ações antiabéticas. Ahmad et al., (2009) afirmaram que as partes aéreas de *Solanum nigrum* L. são usadas no controle da glicemia. Outro estudo mostra que uma pasta feita com os frutos verdes de *S. lycocarpum* é comercializada na forma de cápsulas em farmácias do cerrado para o tratamento do diabetes. (DALL'AGNOL; VON POSER, 2000). Estudos realizados por Perez et al. (2006), demonstraram que estes frutos reduzem a glicemia de ratos com diabetes. Outro estudo com o extrato metanólico dos frutos da espécie também demonstrou uma inibição no aumento sérico da glicemia em ratos diabéticos. (YOSHIKAWA et al., 2007).

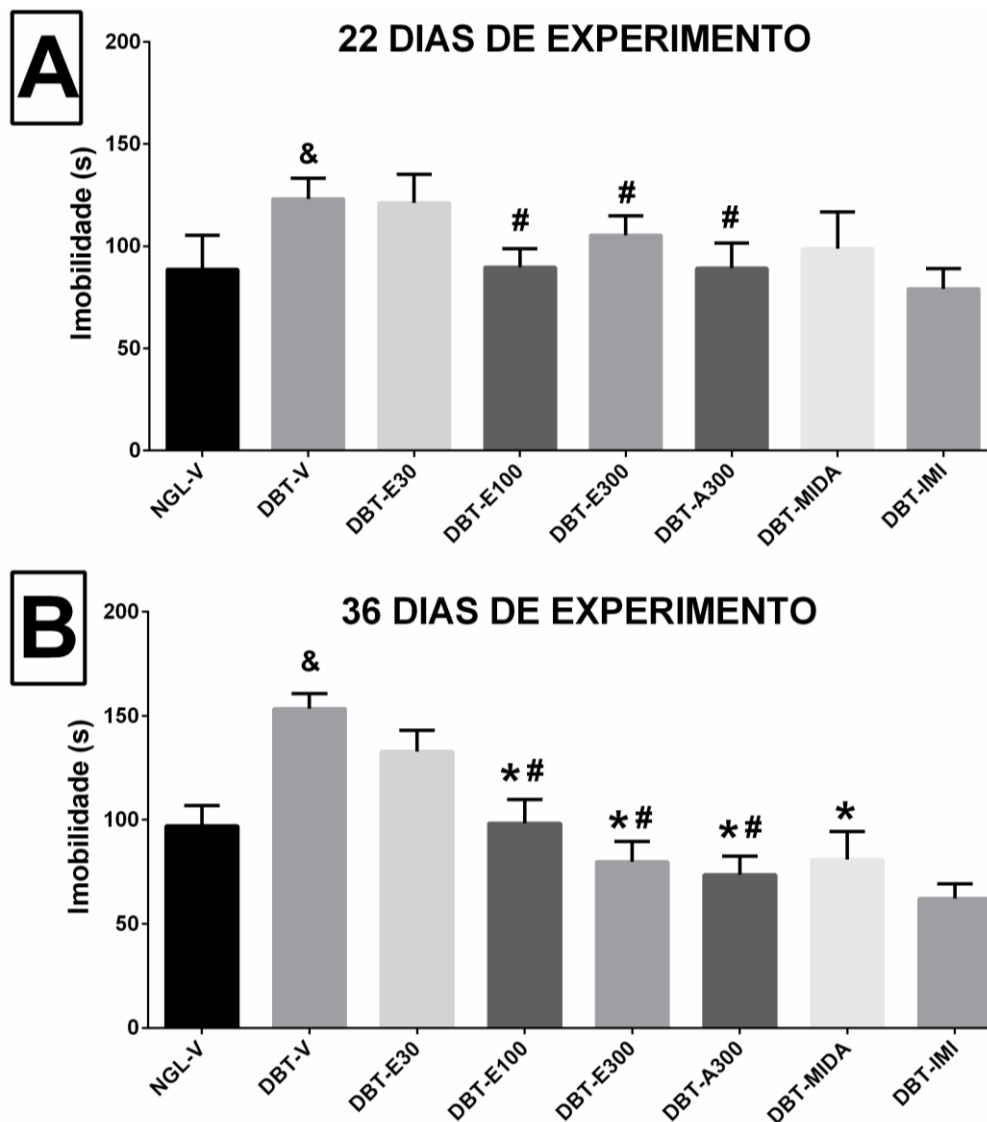
Estudos com ratos e camundongos demonstraram que o extrato aquoso dos frutos de *Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl. reduzem a hiperglicemia (KAR et al., 2006). Em estudo recente realizado na República do Congo o decocto aquoso de raízes de *Solanum gilo* Raddi e frutos de *Solanum nigrum* L., foram citados como sendo usados pela população local para tratamento do diabetes. (KATEMO et al., 2012). Um estudo das plantas, do nordeste a Índia, cita a utilização, pela população local, do extrato aquoso dos frutos de *Solanum viarum* Dunal e dos frutos em natura de *Solanum indicum* L. para o tratamento do diabetes. (TAGA et al., 2012; TARAHA et al., 2011).

#### 4.5.5.3 Efeito do teste de natação forçada após administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de *Solanum megalochiton*, Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos

Estudos demonstraram que ratos com o diabetes induzido por STZ apresentam comportamento do tipo depressivo, ou seja, quando analisado o tempo de imobilidade no teste de natação forçada esse se mostra mais elevado do que em animais normoglicêmicos. (GOMEZ e BARROS, 2000; WAYHS et al., 2010; HAIDER et al., 2013; ZANOVELI et al., 2016; DE MORAIS et al., 2016). O comportamento depressivo em animais diabéticos também tem sido observado em camundongos no teste do nado forçado, os animais apresentam tempo de imobilidade aumentado. (HILAKIVI-CLARKE et al., 1990; ANJANEYULU et al., 2003). Além do teste de natação forçada também pode ser aplicado o teste de suspensão pela cauda para a análise de depressão em animais, foi observado que em ambos os testes os animais diabéticos apresentam tempo de imobilidade maior do que animais normoglicêmicos, demonstrando que esses animais apresentam como co-morbidade a depressão. (HO et al., 2012). O aumento do tempo de imobilidade, em ambos os testes comportamentais, indica um comportamento do tipo depressivo que pode ser revertido por drogas antidepressivas. (CRYAN et al., 2002; BLANCHARD et al., 2013).

Os resultados obtidos no teste de natação forçada podem ser observados no GRÁFICO 20 A e B.

GRÁFICO 24 - TEMPOS DE IMOBILIDADE (s) DO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg), EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE, MIDAZOLAM (2mg/Kg) E IMIPRAMINA (20mg/Kg), APÓS A) 29 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 37 DIAS DE EXPERIMENTOS.



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão de um total de 8-14 animais por grupo experimental. & indica  $p < 0,05$  comparado ao NGL-V; # indica  $p < 0,05$  comparado com DBT-V; \* indica  $p > 0,05$  comparado com DBT-IMI pelo teste T, ANOVA e *post hoc* de Newmann Keuls.

LEGENDA: NGL-V – normoglicêmicos tratados com salina; DBT-V – diabéticos tratados com salina; DBT-E30,100,300 - diabéticos tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 30, 100 e 300 mg/kg; DBT-A300 - diabéticos tratados com extrato bruto aquoso na concentração 300 mg/kg; DBT-MIDA – diabéticos tratados com midazolam na concentração 2 mg/Kg ; DBT-IMI – diabéticos tratados com imipramina na concentração 20 mg/Kg

O teste t não demonstrou diferença significativa entre NGL-V e DBT-V após 29 dias de experimento ( $t(19)=1,869$ ;  $p > 0,05$ ), porém houve diferença significativa após 36 dias ( $t(19)=4,506$ ;  $p < 0,0001$ ). O teste de ANOVA demonstrou que não houve diferença significativa no tempo de imobilidade entre os grupos, após

29 dias de experimento ( $F(6, 54) = 2,065$ ;  $p > 0,05$ ), porém foi observado diferença após 37 dias de experimento ( $F(6, 54) = 11,27$ ,  $p < 0,0001$ ). O teste *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que após 37 dias de experimento houve uma redução do tempo de imobilidade dos grupos DBT-E100, DBT-E300, DBT-A300, DBT-MIDA e DBT-IMI em relação ao controle DBT-V ( $p < 0,05$ ). Também foi observado que os grupos DBT-E100, DBT-E300 e DBT-A300 não apresentaram diferença estatística com relação ao controle positivo DBT-IMI ( $p > 0,05$ ), tanto após 22 dias como após 37 dias de experimento, sugerindo uma ação antidepressiva do extrato nesses grupos.

Esses resultados mostram que os extratos alcoólico (100 e 300 mg/Kg) e aquoso (300 mg/Kg) apresentaram atividade antidepressiva nos animais. Inúmeras vias neurais estão envolvidas na fisiopatologia da depressão e um grande número de neurotransmissores são estudados e são o alvo das drogas antidepressivas. A hipótese de deficiência das monoaminas como a 5-hidroxitriptamina, noradrenalina e dopamina é bem aceita e utilizada para explicar a fisiopatologia da depressão. (ALTAMURA et al., 2008).

O tovanol A, um isoflavonoide isolado de sementes de *Solanum torvum*, foi testado no modelo de depressão e diminuiu o tempo de imobilidade dos animais. No estudo também foi utilizado antagonistas para verificação do mecanismo de ação do isoflavonoide e foi verificado um envolvimento de mecanismos noradrenergicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos e gabaérgicos. (MOMIN; MOHAN, 2012).

Outra hipótese é a dos agentes oxidantes, sabe-se que muitas doenças, principalmente as neurológicas e psiquiátricas estão relacionadas à ação desses agentes nas funções celulares e é conhecido a vulnerabilidade do sistema nervoso central ao estresse oxidativo. (EREN et al., 2007). Vimos anteriormente que *S. megalochiton* tem uma certa atividade antioxidante, porém não a resposta deste teste não deve estar relacionada com essa atividade pois ele não é muito pronunciada.

O receptor vaniloide (TRPV1) é um membro da família de canais catiônicos não-seletivos ativados por um amplo espectro de sinais, esse receptor está envolvido em respostas de dor, ansiedade e depressão. O alcaloide da pimenta a capsaicina é um agonista exógeno desse receptor. O receptor é expresso nos neurônios sensoriais do nervo periférico envolvido na transmissão de sinais de dor. (SZALLASI et al., 2007). A expressão de TRPV1 também é observada no sistema nervoso central (SNC). (TÓTH, 2005). As funções do receptor TRPV1 não são

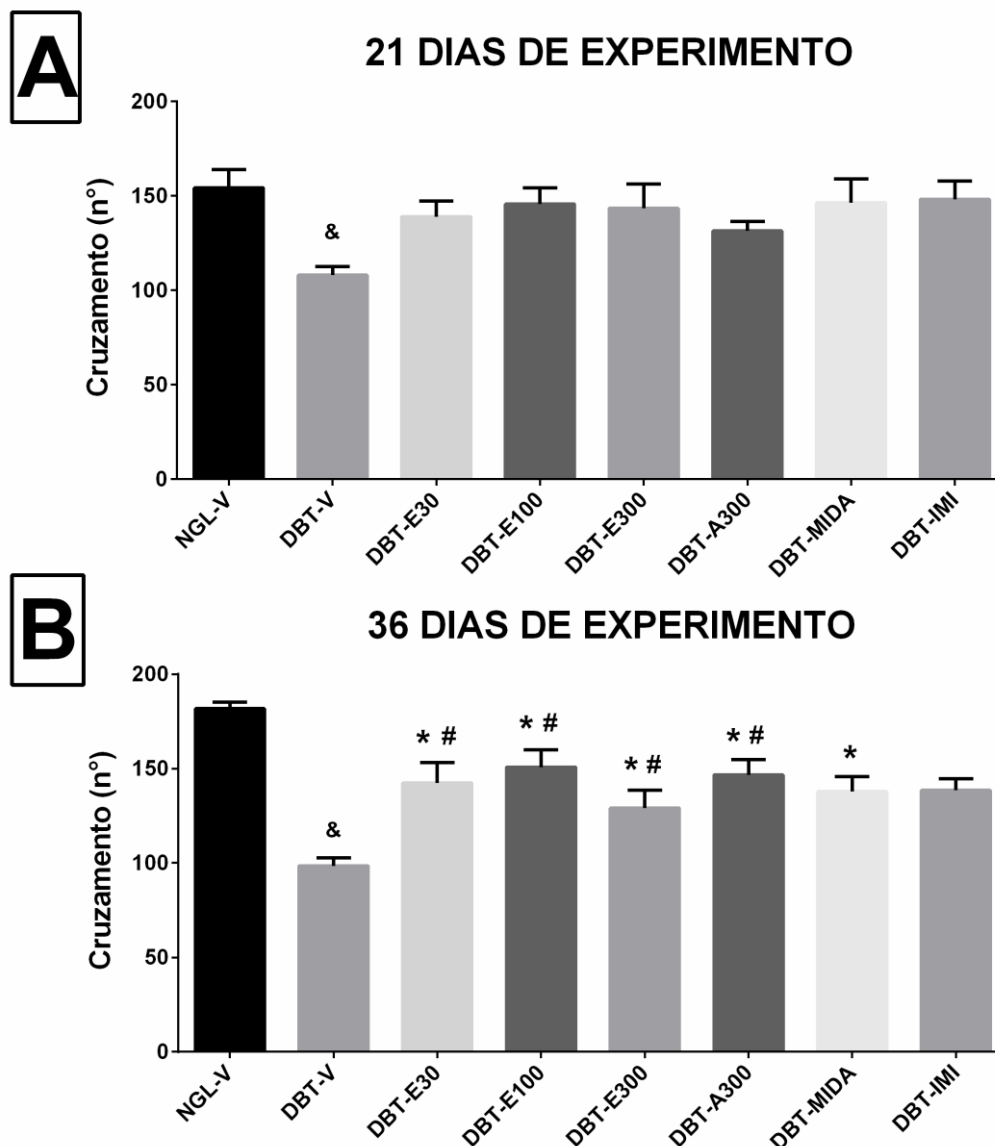
exatamente conhecidos. Contudo sabe-se que a administração de seus agonistas ou antagonistas afetam os níveis de ansiedade e/ou depressão de animais. (HAYASE, 2011; MANNA et al., 2012; NAVARRIA et al., 2014). Em ratos com depleção de genes TRPV1, o comportamento depressivo foi diminuído no teste da suspensão pela cauda e natação forçada (YOU et al., 2012), e a expressão aumentada de RNA mensageiro para TRPV1 foi encontrado em pacientes com depressão [7].

O alcaloide capsaicina é encontrado em espécies da família Solanaceae, *S. megalochiton* apresenta em sua composição alcaloides, esses podem ser os responsáveis pela ação antidepressiva encontrada nos extratos. Dentre os neuroesteróides com potencial terapêutico tem-se a solasodina, obtido naturalmente de plantas da família Solanaceae. Com relação ao potencial psicotrópico dessas substâncias, foram realizados estudos com a finalidade de verificar a ação da solasodina sobre o comportamento de animais submetidos ao modelo do nado forçado, avaliando possíveis efeitos antidepressivos, Dias (2009) verificou que o alcaloide solasodina na dose de 10mg/Kg, tem efeito antidepressivo, pois diminui o tempo de imobilidade no teste do nado forçado. Este alcaloide é comumente encontrado em plantas do gênero *Solanum*.

#### 4.5.5.4 Efeito do teste de campo aberto após administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de *Solanum megalochiton*, Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos

Os primeiros medicamentos utilizados no tratamento de ansiedade foram os barbitúricos, porém por serem tóxicos e causarem uma série de efeitos colaterais foram substituídos pelos benzodiazepínicos. Essa classe de medicamentos também causa uma série de efeitos colaterais como redução de reflexos, diminuição da atenção e prejuízo da memória. (HARDMAN et al, 2001; LADER, 1999). Os benzodiazepínicos são a droga de escolha em ensaios de análise de ansiedade em camundongos. No GRÁFICO 21 à seguir, estão os dados do teste de campo aberto.

GRÁFICO 25 - NÚMEROS DE CRUZAMENTOS, NO TESTE DO CAMPO ABERTO, DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), IMIPRAMINA (20mg/Kg), MIDAZOLAM (2mg/Kg), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg) E EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE, APÓS A) 28 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 36 DIAS DE EXPERIMENTOS.



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 8-14 animais por grupo experimental. & indica  $p < 0,05$  comparado ao NGL-V; # indica  $p < 0,05$  comparado com DBT-V; \* indica  $p > 0,05$  comparado com DBT-MIDA pelo teste T, ANOVA e *post hoc* de Newmann Keuls.

LEGENDA: NGL-V – normoglicêmicos tratados com salina; DBT-V – diabéticos tratados com salina; DBT-E30,100,300 - diabéticos tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 30, 100 e 300 mg/kg; DBT-A300 - diabéticos tratados com extrato bruto aquoso na concentração 300 mg/kg; DBT-MIDA – diabéticos tratados com midazolam na concentração 2 mg/Kg ; DBT-IMI – diabéticos tratados com imipramina na concentração 20 mg/Kg

O teste t demonstrou diferença significativa entre NGL-V e DBT-V após 28 e 36 dias de experimento [ $t(19)=4,644$ ;  $t(19)=12,50$ ;  $p < 0,05$  respectivamente]. Não houve diferença significativa entre os grupos quando avaliado no teste de ANOVA no teste de campo após 28 dias de experimentos [ $F(6, 52) =$

3,159;  $p < 0,05$ ], porém após 36 dias de experimento houve diferença entre os grupos [F (6, 54) = 5,298;  $p < 0,05$ ]. Através das análises *post-hoc* de Newman-Keuls foi possível observar que os grupos DBT-E30, DBT-E100, DBT-E300, DBT-A300, DBT-MIDA e DBT-IMI foram diferentes estatisticamente do grupo DBT-V, tiveram um maior número de cruzamentos do que o grupo DBT-V ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença significativa entre os animais dos grupos que receberam extrato do grupo controle que recebeu imipramina.

Os benzodiazepínicos agem facilitando a ligação dos receptores GABAA com o GABA o que provoca uma abertura nos canais de cloreto diminuindo a excitação neuronal. Pesquisas com flavonoides têm sido realizadas devido a sua atividade no sistema nervoso central como ansiolítico. Uma série de trabalhos relata a atividade de flavonoides no sistema nervoso central (MARDER; PALADINI, 2002; MICHAEL, 2002) e uma ação no receptor GABAA capaz de produzir efeitos ansiolíticos em ratos. (HUANG et al., 2001; DEKERMENDJIAN et al., 1999; MARDER et al., 2001). Alguns estudos em ratos mostram que os flavonoides têm atividade ansiolítica comparável a dos benzodiazepínicos. (CASTRO et al., 2007). Além disso os flavonoides não causam sedação como os benzodiazepínicos. (HERRERA-RUIZ et al., 2008).

Foi observada a presença de benzodiazepínicos endógenos em espécies cultivadas de plantas da família Solanaceae como na *Solanum tuberosum*. Após separação por HPLC e elucidação por espectro de massas, os compostos N-desmethyldiazepam (temazepam) e diazepam foram encontrados (0 a 450ng/g) e identificados por Corsi et al. (2004) e Kavvadias et al. (2000), esses compostos parecem estar envolvidos no metabolismo básico das plantas. Muceniece et al. (2008) afirmaram que batatas quando ingeridas podem apresentar atividade GABAérgica devido a seus compostos que se ligam nos receptores GABAA.

Pesquisas realizadas com os frutos da espécie *Solanum nigrum* L., demonstraram que esta apresenta em sua composição fitoquímica os flavonoides apigenina e luteonina que apresentam ação ansiolítica (modulação positiva no receptor GABA-A). (GRUNDMANN et al., 2008; FERNANDEZ et al., 2009). *S. nigrum* contém muitos compostos fenólicos como o ácido gálico, catequinas, epicatequinas, ácido cafeico, rutina e narigenina, bem como flavonoides como a luteolina, quercetina, apigenina, canferol e hesperidina. As flavonas homoorientina, orientina, vitexina e isovitexina, são derivadas da apigenina e luteonina presentes



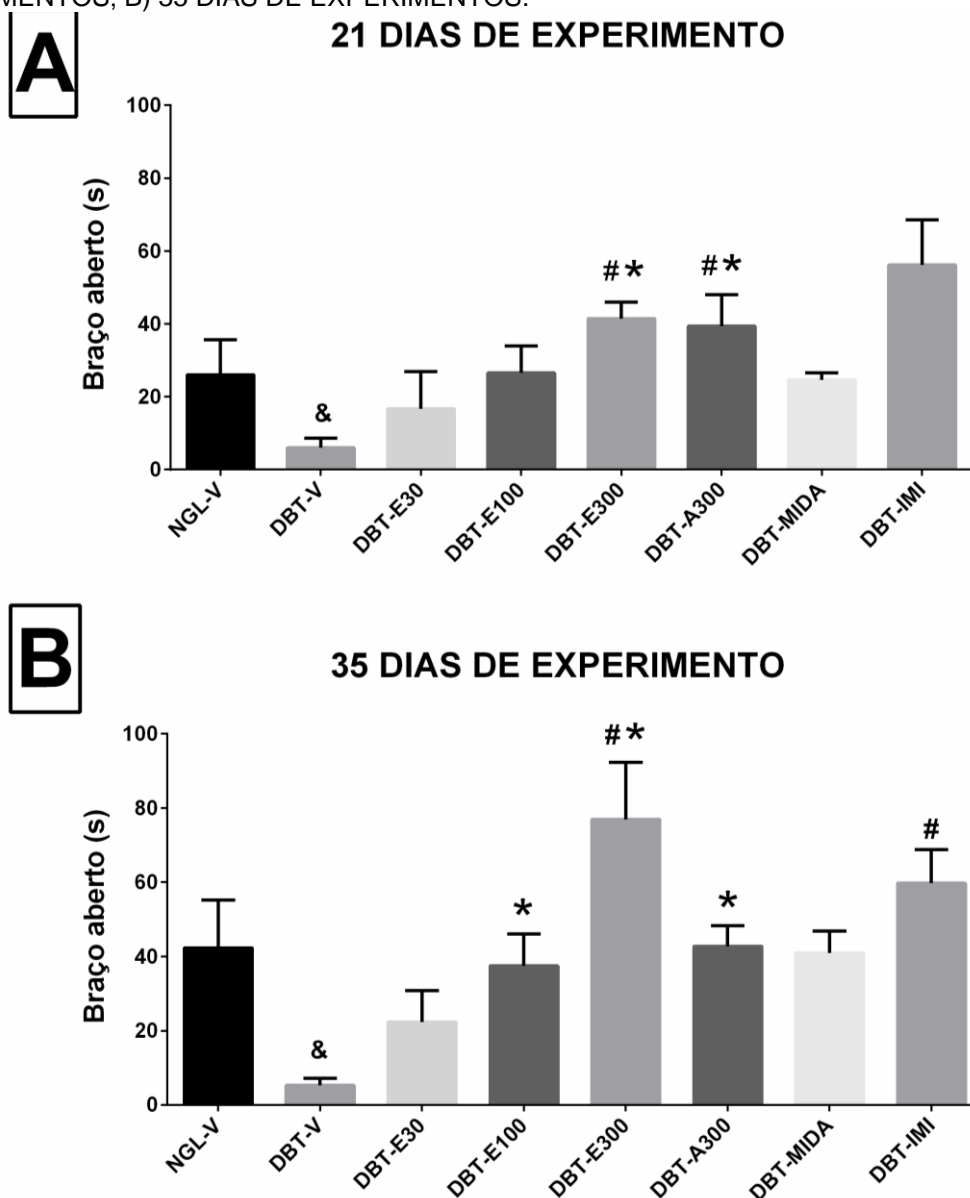
em *S. nigrum*, essas flavonas apresentam atividade ansiolítica através da modulação positiva do receptor GABAA. (GRUNDMANN et al., 2008; FERNANDEZ et al., 2009). A glicosilação presente nos flavonoides, pode influenciar no transporte dos mesmos pela barreira hematoencefálica. (REN et al., 2010). A espécie *Solanum crinitum* possui atividade ansiolítica atribuída ao componente tilirosídeo, esta atividade se apresenta quando em dose baixa, pois quando em altas doses é observada atividade sedativa. (CORNELIUS et al., 2010; DENG et al., 2010).

#### 4.5.5.5 Efeito do teste de labirinto em cruz elevado após administração aguda e crônica dos extratos aquoso e etanólico de *Solanum megalochiton*, Mart. Solanaceae em camundongos swiss diabéticos

Problemas de ansiedade são muito comuns em pacientes com diabetes. Um estudo revelou que 14% dos diabéticos apresentam distúrbios de ansiedade generalizada, esse dado é bem maior do que a população comum em que são observados apenas 3 a 4% apenas. Outro estudo mostra que 60% dos pacientes diabéticos demonstram sinais de ansiedade. (BLAZER et al., 1991; KESSLER et al., 1994; GRIGSBY et al., 2002; MAIA et al., 2014).

Estudos têm demonstrado que a indução do diabetes com estreptozotocina resulta em um comportamento de ansiedade em animais. Diversas hipóteses tem sido elaboradas, que afirmam que hormônios e alterações neuroquímicas ocorrem em animais insulino dependentes. Há estudos que demonstram que a dopamina, norepinefrina e a serotonina estão diminuídas em diversas partes de cérebros de animais com diabetes. (TRULSON; HIMMEL, 1983, 1985; TRULSON; MACKENZIE, 1981; TRULSON; JACOBY; MACKENZIE, 1986). Foi demonstrado um aumento do tempo gasto nos braços fechados no teste do labirinto em cruz elevado, e uma redução do tempo gasto na área central e braços abertos do aparato em animais diabéticos. (AKSU et al., 2012; ATES et al., 2014; GUPTA et al., 2014; GAMBETA et al., 2016). Os resultados obtidos no teste do teste de labirinto em cruz elevado podem ser observados nos GRÁFICOS 22 e 23.

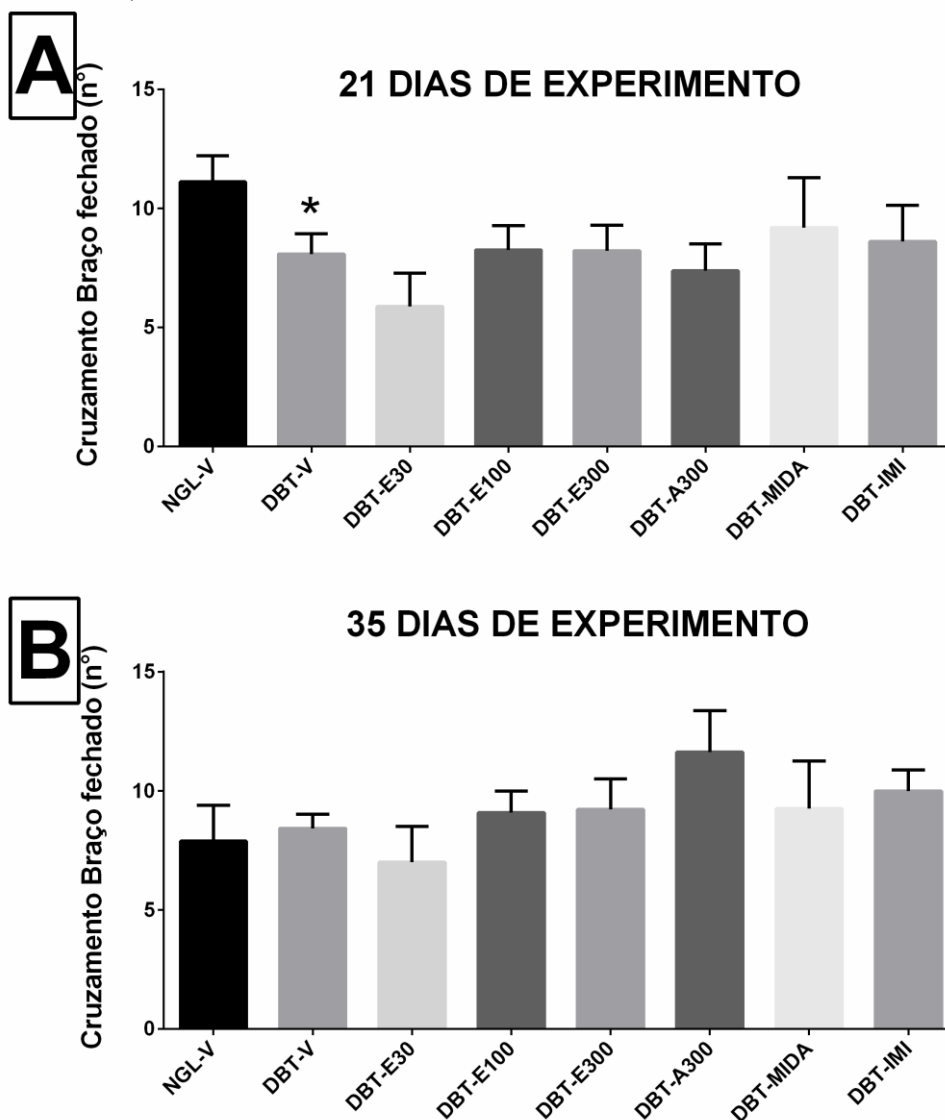
GRÁFICO 26 - TEMPO (s) NOS BRAÇOS ABERTOS NO TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO, DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), IMIPRAMINA (20mg/Kg), MIDAZOLAM (2mg/Kg), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg) E EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE, APÓS A) 21 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 35 DIAS DE EXPERIMENTOS.



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 8-14 animais por grupo experimental. & indica  $p < 0,05$  comparado ao NGL-V; # indica  $p < 0,05$  comparado com DBT-V; \* indica  $p > 0,05$  comparado com DBT-MIDA

LEGENDA: NGL-V – normoglicêmicos tratados com salina; DBT-V – diabéticos tratados com salina; DBT-E30,100,300 - diabéticos tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 30, 100 e 300 mg/kg; DBT-A300 - diabéticos tratados com extrato bruto aquoso na concentração 300 mg/kg; DBT-MIDA – diabéticos tratados com midazolam na concentração 2 mg/Kg ; DBT-IMI – diabéticos tratados com imipramina na concentração 20 mg/Kg

GRÁFICO 27 - NÚMERO DE CRUZAMENTOS NOS BRAÇOS FECHADOS DO TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO, DOS CAMUNDONGOS SWISS MACHOS NORMOGLICÊMICOS E DIABÉTICOS TRATADOS COM VEÍCULO (SALINA), IMIPRAMINA (20mg/Kg), MIDAZOLAM (2mg/Kg), EXTRATO BRUTO ETANÓLICO (30, 100 E 300mg/Kg) E EXTRATO BRUTO AQUOSO (300mg/Kg) DE FOLHAS DE *Solanum megalochiton*, MART. SOLANACEAE, APÓS A) 21 DIAS DE EXPERIMENTOS; B) 35 DIAS DE EXPERIMENTOS



NOTA: Valores são expressos em média  $\pm$  erro padrão, de um total de 8-14 animais por grupo experimental. \* indica  $p < 0,05$  comparado ao NGL-V

LEGENDA: NGL-V – normoglicêmicos tratados com salina; DBT-V – diabéticos tratados com salina; DBT-E30,100,300 - diabéticos tratados com extrato bruto etanólico nas concentrações 30, 100 e 300 mg/kg; DBT-A300 - diabéticos tratados com extrato bruto aquoso na concentração 300 mg/kg; DBT-MIDA – diabéticos tratados com midazolam na concentração 2 mg/Kg ; DBT-IMI – diabéticos tratados com imipramina na concentração 20 mg/Kg

O teste t demonstrou diferença significativa entre NGL-V e DBT-V após 21 e 35 dias de experimento [ $t(19)=2,273$ ;  $t(19)=3,282$ ;  $p < 0,05$ , respectivamente] no tempo em que os animais ficaram dentro dos braços abertos do aparato, sendo que os NGL-V ficaram mais tempo do que o DBT-V, o que está de acordo com estudos anteriores. (AKSU et al., 2012). O teste de ANOVA também

mostrou diferença significativa entre os grupos tratados (DBT-E300, DBT-A300) e DBT-V após 21 dias de experimento ( $F(6, 52) = 5,181$ ;  $p < 0,05$ ), sendo que os animais tratados ficaram mais tempo nos braços abertos que o DBT-V. Também foi verificada diferença significativa entre os grupos tratados DBT-E300 e DBT-A300 e o grupo controle DBT-MIDA. Houve também diferença significativa pelo teste de ANOVA entre os grupos DBT-V e tratados (DBT-E100, DBT-E300, DBT-A300) após 35 dias de experimento ( $F(6, 52) = 7,661$ ,  $p > 0,05$ ). O teste post-hoc de Newman-Keuls mostrou que após 21 e 35 dias de experimento os grupos DBT-E300 e DBT-A300 se mostraram significativamente diferentes do grupo DBT-V ( $p < 0,05$ ), sendo que o grupo que recebeu extrato permaneceu mais tempo nos braços abertos.

A dose de 300 mg/Kg do extrato bruto etanólico e aquoso de folhas de *S. megalochiton* mostrou um efeito ansiolítico nos animais testados. Os animais que receberam o extrato etanólico ficaram em média 71 s nos braços abertos, um valor bem superior ao controle veículo de apenas 34 s. Esse resultado pode ser devido a presença dos compostos químicos flavonoides e alcaloides nos extratos. Como já citado anteriormente flavonoides e alcaloide tem ação ansiolítica (HUANG et al., 2001; DEKERMENDJIAN et al., 1999; MARDER et al., 2001), e agem no sistema nervoso central. (MARDER; PALADINI, 2002; MICHAEL, 2002). Também pode ser devido a substâncias presentes em algumas plantas do gênero *Solanum* com atividade gabaérgica. (MUCENIECE et al., 2008; CORSI et al., 2004; KAVVADIAS et al., 2000).

Foi observado que no GRÁFICO 22 – A sobre o tempo (s) gasto nos braços abertos, que os animais do grupo DBT-MIDA ficaram menos tempo do que era esperado nos braços abertos (24,6 s). O midazolam é um medicamento da classe dos benzodiazepínicos que tem ação ansiolítica. Visto isso, era esperado que os animais do grupo DBT-MIDA ficassem por mais tempo nos braços abertos. Porém estudos tem demonstrado que o efeito ansiolítico dos benzodiazepínicos em ratos é diminuído após a primeira exposição ao LCE. Este fenômeno é chamado de medo aprendido na primeira exposição. (LISTER, 1987; FILE, 1990; FERNANDES; FILE, 1996; CRUZ-MORALES et al., 2002; BERTOGLIO, CAROBREZ et al., 2002). Visto que antes de iniciarmos o tratamento dos animais foi feito um teste no LCE com todos os grupos, esse baixo tempo gasto nos braços abertos pelo grupo DBT-MIDA pode ser explicado devido a este fenômeno.

Com relação ao número de cruzamentos nos braços fechados o teste t student demonstrou que após 35 dias de experimento houve diferença significativa entre NGL-V e DBT-V ( $t(19)=2,220$ ;  $p<0,05$ ), com os animais do grupo NGL-V tendo um número maior de cruzamentos. Porém não houve diferença entre esses grupos após 36 dias ( $t(19)=0,3602$ ;  $p>0,05$ ). O teste de ANOVA não mostrou diferença entre DBT-V e animais tratados após 28 e 36 dias de experimentos [ $F(6, 52) = 0,6683$ ;  $F(6, 52) = 1,028$ ;  $p<0,05$ , respectivamente]. O teste *post-hoc* de Newman-Keuls não encontrou diferenças entre os grupos que receberam tratamento e DBT-V.

## 5 CONCLUSÃO

Considerando os objetivos propostos para este trabalho de estudo da anatomia, da composição fitoquímica, avaliação das atividades antioxidante, alelopática, toxicidade e testes farmacológicos pode-se fazer algumas conclusões:

- A espécie *Solanum megalochiton* Mart, pertencente à família Solanaceae, não apresenta descrição anatômica na literatura. A morfologia externa da espécie demonstrou que a epiderme e os tricomas são revestidos por uma cutícula característica. A descrição e imagens desta espécie neste trabalho podem ser usadas para a caracterização e identificação da espécie. Quanto à anatomia da folha, possui tricomas é hipoestomática e apresenta feixe vascular único do tipo colateral na nervura central. Embora esses aspectos sejam comuns ao gênero, possuem fácil reconhecimento microscópico e quando considerados em conjunto, favorecem o controle físico-químico de uma potencial droga vegetal.

- Em uma pesquisa fitoquímica preliminar, nesta espécie evidenciou a presença de grupos fitoquímicos como: alcaloides, glicosídeos flavônicos e esteroides/triterpenos e saponinas, taninos, aminogrupos e ácidos fixos. Essas análises foram utilizadas no entendimento dos resultados obtidos.

- Com relação à atividade antioxidante a fração acetato de etila foi a que obteve o melhor resultado tanto no método do TBARS como no fosfomolibdênio, nesta fração que se concentram os compostos fenólicos, conforme ficou evidente no teste de Folin-Ciocalteu em que esta fração obteve os maiores resultados. Sabe-se que os compostos fenólicos tem conhecida atividade antioxidante.

- Quanto à toxicidade preliminar o extrato e frações mostraram ser tóxicas ao microcrustáceo *Artemia salina* e apresentaram atividade larvicida às larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Isso sugere um estudo mais aprofundado dessas atividades relacionado à pesquisa de toxicidade em células cancerígenas.

- No bioensaio de alelopatia o extrato e as frações demonstraram atividade alelopática, tanto estimulando quanto na inibindo as sementes de alface e cebola. A respiração das radículas de alface e cebola foi aumentada pelo contato com o extrato e frações.

- Nas análises farmacológicas foi constatado um aumento da reação à dor, no teste da nocicepção induzida pela formalina, diminuição significativa do edema após aplicação de carragenina e também aumento de edema superior ao observado no

controle. Esse resultado se justifica com presença de substâncias inflamatória ou irritante na planta, que é comumente encontrado em algumas plantas da família, como é o caso do alcaloide capsaicina.

- Nos testes para a avaliação da toxicidade realizada com camundongos fêmea foi observado que houve alteração do peso dos rins e baço, bem como anemia e aumento de plaquetas. Os resultados estão interligados visto que a anemia pode estar relacionada ao dano causado nos rins e o aumento de plaquetas é comum quando há danos ao baço. Apesar disso, os estudos histopatológicos dos órgãos e os ensaios bioquímicos não revelaram alterações significativas, indicativas de toxicidade dos extratos.

- Nos ensaios com animais diabéticos a planta demonstrou capacidade de evitar a perda de peso dos animais, manter uma menor taxa glicêmica e uma possível atividade antidepressiva e ansiolítica. Sendo promissores os estudos neste sentido.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 15, p. 265-267, 1925.
- ABREU, J. S. et al. Leukocytes respiratory burst and lysozyme level in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 4, p. 1133-1139, 2009.
- ABREU, M. M. V.; TUTUNJI, V. L. Implantação e manutenção da coleção de culturas de microorganismos do UniCEUB. Revista Universitas **Ciências da saúde**, v. 02, n. 02, p. 236-251, 2004.
- ABRAHAM, Z.; BHAKUNI, S. D.; GARG, H. S.; GOEL, A. K.; MEHROTRA, B. N.; PATNAIK, G. K. Screening of Indian plants for biological activity. Part XII. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 24, p. 48-68, 1986
- ADENEYE, A. A.; AJAGBONNA, O. P.; ADELEKE, T. I.; BELLO, S. O. Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musanga cecropioides* in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 374–379, 2006.
- AGAREZ, F. V.; RIZZINI, C. M.; PEREIRA, C. **Botânica taxonomia, morfologia e reprodução dos angiospermae**: chaves para determinação das famílias. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1994. p. 206.
- AGRA, M. F. New Species of *Solanum* subgenus e *Leptostemonum* (Solanaceae) from Chapada da Diamantina, Bahia, Brazil. **Novon**, v. 9, p. 292-295, 1999.
- AGRA, M. F.; NURIT-SILVA, K.; BERGER, L. R. Flora da Paraíba, Brasil: *Solanum* L. (Solanaceae). **Acta Botânica Brasilica**, v. 23, p. 826-842, 2009.
- AHMAD, M.; QURESHI, R.; ARSHAD, M.; KHAN, M. A.; ZAFAR, M. Traditional herbal remedies used for the Treatment of diabetes from district Attock (pakistan). **Pakistan Journal of Botany**, v. 41, n. 6, p. 2777-2782, 2009.
- AJAGBONNA, O. P.; ONIFADE, K. I.; SULEIMAN, U. Hematological and Biochemical changes in rats given extract of *Calotropis procera*. **Sokoto Journal of Veterinary Sciences**, v. 1, p. 36–42, 1999.



AKSU, I.; ATES, M.; BAYKARA, B.; KIRAY, M.; SISMAN, A. R.; BUYUK, E. Anxiety correlates to decreased blood and prefrontal cortex IGF- 1 levels in streptozotocin induced diabetes. **Neuroscience Letters**, v. 531, p. 176–181, 2012.

ALCARAZ M. J.; HOULT, J. R. Actions of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. **Biochemical Pharmacology**, v. 34, p. 2477-82, 1985.

ALMEIDA, E. R.; SANTOS, E. R.; LINS, C. F. B.; MELLO, A. C.; SOUCCAR, C.; LAPA, A. J. Presença da acetilcolina no fruto de *Solanum melongena* L. **Revista do Instituto de Antibiótico**, v. 22, p. 113-120, 1984.

ALVES, M. C. S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECO, R.; TORRES, S. B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 1083-1086, 2004.

ALZERRECA, A.; ARBOLEDA, B.; HART, G. Molluscicidal activity of natural products. The effect of *Solanum* glycoside alkaloids on *L. cubensis* snail. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 64, p. 69-72, 1981.

ALPESH, B. D.; VIRENDRA, G. K.; HANUMANTHACHAR, J.; AMIT, T. R.; HARSHAD, M. Evaluation of Antiamnesic effect of Solasodine in Mice. **International Journal of PharmTech Research**, v. 3, n. 2, p. 732-740, 2011.

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina – Bases Clínicas e Farmacológicas**. Buenos Aires: ISIS. Cidade: Buenos Aires – AR. Ediciones SRL, p.38-92, 1999.

ALPESH, B. D.; VIRENDRA, G. K.; HANUMANTHACHAR, J.; AMIT, T. R.; HARSHAD, M. Evaluation of Antiamnesic effect of Solasodine in Mice. **International Journal of PharmTech Research**, v. 3, n. 2, p. 732-740, 2011

AI-SHABANAH, O. A.; RAZA, M.; AL-HARBI, M. M.; AL-BEKAIRI, A. M.; ALGHARABLY, N. M.; QUERESHI, S. Effect of ninhydrin on biochemical and histopathological changes induced by ethanol in gastric mucosa of rats. **Life Sciences**, v. 67, p. 559-566, 2000.

ALVES, C. C. F.; ALVES, J. M.; DA SILVA, T. M. S.; DE CARVALHO, M. G.; NETO, J. J. Atividade alelopática de alcaloides glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. **Floresta e Ambiente**, v. 10, n.1, p.93 - 97, 2003.

ANDRADE, E.L.; LUIZ, A.P.; FERREIRA, J.; CALIXTO, J.B. Pronociceptive response elicited by TRPA1 receptor activation in mice. **Neuroscience** 152: 511-520, 2008

ANJANEYULU, M.; CHOPRA, K.; KAUR, I. Antidepressant activity of quercetin, a bioflavonoid, in streptozotocin-induced diabetic mice. **Journal of Medicinal Food**, v. 6, n. 4, p. 391-5, 2003.

APG III - THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. **An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III**. Botanical Journal of the Linnean Society, London, v. 161, p. 105-121, 2009.

AQUILA, M. E. A. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, p.383-388, 1999.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, 1949.

ASSOCIACAO AMERICANA DO DIABETES. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, 32(suppl 1):s62–s67, 2009.

ASTOR, B. C.; MUNTNER, P.; LEVIN, A.; EUSTACE, J. A.; CORESH, J. Association of kidney function with anemia: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994), **Archives of Internal Medicine**, v. 162, p.1401-8, 2002.

ATES, M.; DAYI, A.; KIRAY, M.; SISMAN, A. R.; AGILKAYA, S.; AKSU, I.; BAYKARA, B.; BUYUK, E.; CETINKAYA, C.; CINGOZ, S.; UYSAL, N. Anxiety- and depression-like behavior are correlated with leptin and leptin receptor expression in prefrontal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. **Biotechnic Histochemistry**, v. 89, n. 3, p. 161–171, 2014.

BADAMI, S.; PRAKASH, O. M.; DONGRE, S. H.; SURESH, B. In vitro antioxidant properties of *Solanum pseudocapsicum* leaf extracts. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 37, n. 4, p. 251-252, 2005.

BARBOSA-FILHO, J. M.; VASCONCELOS, T. H. C., ALENCAR, A. A.; BATISTA, L. M.; OLIVEIRA, R. A. G.; GUEDES, D. N.; FALCÃO, H. S.; MOURA, M. D.; DINIZ, M. F. F. M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 392-413, 2005.

BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; OLIVEIRA, R. A. G.; PAULO, M. Q.; TROLING, G.; CUNHA, E. V. L.; ATAIDE, J. R.; BHATTACHARYYA, J. Chemical and pharmacological investigation of *Solanum* species of Brazil - a search for solasodine and other potentially useful therapeutic agents. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 86, p. 189-191, 1991.

BARBOSA-FILHO, J. M.; PIUVEZAM, M. R.; MOURA, M. D.; SILVA, M. S.; LIMA, K. V. B.; CUNHA, E. V. L.; FECHINE, I. M.; TAKEMURA, O. S. Anti-inflammatory activity of alkaloids: A twentycentury review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 109-139, 2006.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; COSTA, C. G.; ICHASO, C. L. F.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1991. p. 251-309.

BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K.; SAXENA, D. B.; KAUR, S. Allelopathic effects of parthenin against two weedy species, *Avena fatua* and *Bidens pilosa*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, p. 149 – 155, 2002.

BECKER, E. L. Chemotactic factors of inflammation. **Trends in Pharmacological Science**, v. 4, n. 5, p. 223-225, 1983.

BEIL, W.; BIRKHOLZ, C.; SEWING, K. F. Effects of flavonoids on parietal cell acid-secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. **Arzneim Forsch**, v. 45, p. 697-700, 1995.

BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.S.; CALIXTO, J.B. Mechanisms underlying the nociception and paw edema caused by injection of glutamate into the mouse paw. **Brain Research** 969: 110-116, 2002

BENTO, A. F.; AZEVEDO, M. S.; LUIZ, A. P.; MOURA, J. A.; SANTOS, A. R. S. Atividade antinociceptiva do extrato etanólico do fruto de *Solanum acanthodes* Hook.f. em camundongos. **Revista brasileira de farmacognosia**, Curitiba, v.14, p. 9-10, 2004.

BERTANI, S.; BOURDY, G.; LANDAU, I.; ROBINSON, J. C.; ESTERRE, P. H.; DEHARO, E. Evaluation of French Guiana traditional antimalarial remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 98, p. 45–54, 2005.

BERTOGLIO, L. J.; CAROBREZ, A.P. Prior maze experience required to alter midazolam effects in rats submitted to the elevated plus-maze. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 72, p. 449–455, 2002.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BINFARÉ, R. W. et al. Involvement of dopamine receptors in the antidepressant-like effect of melatonin in the tail suspension test. **European Journal of Pharmacology**, 2010.

BHAKUNI, O. S.; DHAR, M. L.; DHAR, M. M.; DHAWAN, B. N.; MEHROTRA B. N. Screening of Indian plants for biological activity. Part II. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.7, p. 250-262, 1969.

BHUSAN, M.; RAO, CH. V.; OJHA, S.K.; VIJAYAKUMAR, M.; VERMA, A. AN ANALYTICAL REVIEW OF PLANTS FOR ANTI DIABETIC ACTIVITY WITH THEIR PHYTOCONSTITUENT & MECHANISM OF ACTION. **Internacional journal of pharmaceutical sciences and research**, v. 1, n. 1, p. 29-462010

BLANCHARD, D. C., SUMMERS, C. H.; BLANCHARD, R. J. The role of behavior in translational models for psychopathology: Functionality and dysfunctional behaviors. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.37, n. 8, p. 1567-1577, 2013.

BLANKEMEYER, J. T.; MCWILLIAMS, M. L.; RAYBURN, J. R.; WEISSENBERG, M.; FRIEDMAN, M. Developmental toxicology of solamargine and solasonine glycoalkaloids in frog embryos. **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 383–389, 1998.

BLAZER, D. G.; HUGHES, D.; GEORGE, L. K.; SWARTZ, M.; BOYER, R. GENERALIZED ANXIETY DISORDER. IN: ROBINS LN, REGIER DA. **Psychiatric disorders in America**. New York: Free Press, Macmillan, p. 180–203, 1991.

BORGHETTI, F. & PESSOA, D.M.A. Autotoxicidade e alelopatia em sementes de *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Solanaceae). In: L.L. Leite & C.H. Saito (orgs.). **Contribuição ao conhecimento ecológico do cerrado**. Editora da UnB, Brasília, DF, p. 54-58, 1997.

BOTSOGLU, N. A.; FLETOURIS, D. J.; PAPAGEORGIOU, G. E.; VASSILOPOULUS, V. N.; MANTIS, A. J.; TRAKATELLIS, A. G.. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1931-1937, 1994.

BOURIN, M.; PETIT-DEMOULIÈTE, B.; DHONNCHADHA, B. N.; HASCÖET, M. Animal models of anxiety in mice. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 21, p. 567-574, 2007.

BOYD, L. J. Pharmacology of the homeopathic drugs. **Journal of the American Institute of Homeopathy**, v. 21, p. 209, 1928.

BRAGA, F. C.; VALADARES, Y. M.; COSTA, M. A.; LOMBARDI, J. A.; OLIVEIRA A. B. Estudo fitoquímico de *Erythraea centaurium*, *Jacaranda caroba*, *Remijia ferruginea* e *Solanum paniculatum* visando identificar marcadores químicos para o fitoterápico Ierobina<sup>®</sup>. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, Supl. 1, p. 28-31, 2003.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Casos de dengue no Brasil caem 90% em 2017.** acesso em: <http://combateades.saude.gov.br/pt/noticias/908-casos-de-dengue-no-brasil-caem-90-em-2017>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Proposta de Política Nacional de Plantas Mediciniais e Medicamentos Fitoterápicos**. Brasília, DF, p.38, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. **Política Nacional de Medicina Natural e Práticas Complementares - PNMNPC**. Brasília: SE/MS, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União, n. 84, seção 1, 2006.

BRASILEIRO, B. G.; PIZIOLO, V. R.; RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n 2, p. 195-202, 2006.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, 2010.

BROEKKAMP, C. L.; RIJK, H. W.; JOLY-GELOUIN, D.; LLOYD, K. L. Major tranquilizers can be distinguished from minor tranquilizers on the basis of effects on marble burying and swim-induced grooming in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 126, p.223–229, 1986.

BRUNETON, J. **Farmacognosia, fitoquímica e plantas medicinais**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 2001.

BRONNER, C.; LANDRY, Y. Kinetics of the inhibitory effect of flavonoids on histamine secretion from mast cells. **Agents Actions**, v. 16, p. 147-51, 1985.

BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes**, v.54, n.6, p.1615-1625, 2005.

BUBOLS, G. B.; VIANNA, D.; MEDINA-REMÓN, A.; POSER, G.; LAMUELA-RAVENTOS, R.; EIFLER-LIMA, V.; GARCIA, S. C.. The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoids. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 000-000, 2013.

BÜTTOW, M. V.; BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S.; HEIDEN. G.; CARVALHO, F. I. F. Diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões da Embrapa Clima Temperado. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p.1.264-1.269, 2010.

CACCIONI, D.; GUIZZARDI, M.; BIONDI, D.; RENDA, A.; RUBERTO, G. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 43, n. 1-2, p. 73-79, 1998.

CAI, X. F.; CHIN, Y. W.; OH, S. R.; KWON, O. K.; AHN, K.S.; LEE, H. K. Anti-inflammatory Constituents from *Solanum nigrum*. **Bulletin-Korean Chemical Society**, v. 31, n. 1, p. 199, 2010.

CALIXTO, J. B. Fitofármacos no Brasil: agora ou nunca! **Ciência hoje**, v. 21, n. 1.234, p. 26-30, 1997.

CAMPO, V. L.; CARVALHO, I. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. **Química Nova**, v.30, n. 2, 2007.

CARBONERO et al. *Lentinus edodes* heterogalactan: Antinociceptive and anti-inflammatory effects. **Food Chemistry**, v. 111, p. 531-537, 2008.

CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 year on. **Neurosci. Biobehav. Ver.**, v. 29, n. 8, p. 1193-1205, 2005.

CARVALHO, J. L. S. **Contribuição ao estudo fitoquímico e analítico de *Asturium officinale* R. BR., Brassicaceae**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

CARVALHO, W. A.; LEMÔNICA, L. Mecanismos Celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.48, n. 2, p. 137 – 158, 1998.

CARVALHO, J. L. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.; DADALT, R. C. PI 0601703-7A Processo de obtenção de extratos hidroalcoólico, extratos secos e derivados do agrião (*Nasturtium officinale*) e espécies medinais afins, com modificações introduzidas em equipamento Soxhlet para aplicações na indústria , área farmacêutica, cosmética, alimentícia e afins. Brasil, 2006.

CASTRO, P. C. F.; HOSHINO, A.; DA SILVA, J. C.; MENDES, F. R. Possible anxiolytic effect of two extracts of *Passiflora quadrangularis* L. in experimental models. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 481-484, 2007.

CHAM, B. E. Solasodine rhamnosyl glycosides specifically bind câncer cell receptors and induce apoptosis and necrosis. Treatment for skin cancer and hope for internal cancer. **Research Journal of Biological Science**, v. 2, p. 503-514, 2007.

CHAM, B. E., GILLIVER, M.; WILSON, L. Antitumour effects of glycoalkaloids isolated from *Solanum sodomaeum*. **Planta Medica**, v. 1, p. 34-36, 1987.

CHAM, B. E.; MEARES, H. M. Glycoalkaloids from *Solanum sodomaeum* are effective in the treatment of skin cancers in man. **Cancer Letters**, v. 36, p. 111-118, 1987.

CHAPLAN, S.R.; BACH, F.W.; POGREL, J.W.; CHUNG, J.M.; YAKSH, T.L. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **Journal of Neuroscience Methods** 53: 55-63, 1994

CHATAING, B.; CONCEPCION, J. L.; LOBATON, R.; USUBILLAGA, A. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* growth *in vitro* by *Solanum* alkaloids: A comparison with ketoconazole. **Planta Medica**, v. 64, p. 31-36, 1998.

CHEREM, A.R.; TRAMONTE, V.L.C.G.; FETT, R. ; VAN DOKKUM, W. Efeito da casca da berinjela (*Solanum melongena*) sobre as concentrações plasmáticas de triglicerídeos, colesterol total e frações lipídicas, em cobaias (*Cavia porcellus*) hiperlipidêmicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.1, p.51-65, 2007.

CHILDERS, N. F. **Arthritis-Childer's diet to stop it. Nightshades, aging, and ill health**. 4th ed. Florida: Horticultural Publications, p. 19-21, 1993.

CHIN, Y. W.; BALUNAS, M. J.; CHAI, H. B.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from natural sources. **The AAPS Journal**, v. 8, n. 239, 2006.

CHOI, D. W.; KIM, J. H; CHO, S., Y.; KIM, D. H.; CHANG, S. Y. Regulation and quality control of herbal drugs in Korea. **Toxicology**, v. 181/182, p. 581-586, 2002.

CHON, S. U.; COUTTS, J. H.; NELSON, C. J. Effects of light, growth media, and seedling orientation on bioassays of alfalfa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v. 92 p. 715 - 720, 2000.

CHOWDHURY, N.; BHATTACHARJEE, I.; LASKAR, S.; CHANDRA, G. Efficacy of *Solanum villosum* Mill. (Solanaceae: Solanales ) as a Biocontrol Agent against Fourth Instar Larvae of *Culex quinquefasciatus* Say. **Turkish Journal of Zoology**, v. 31, p. 365-370, 2007.



CHUNG, I. M.; AHN, L. K.; YUN, S. J. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v. 20, p. 921-928, 2001.

CHUNG, Y. C.; CHIEN, C. T.; TENG, K.; CHOU, S. Antioxidative and mutagenic properties of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb & zucc. **Food Chemistry**, v. 97, n. 3, p. 418-425, 2006.

CODY, V.; MIDDLETON, E.; HARBORNE, J. B. **PlantFlavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Phar-macological and Structure Activity Relationships**. Alan R.Liss, New York, 1986.

CODY, V.; MIDDLETON, E.; HARBORNE, J. B.;BERTZ, A. **Plant Flavonoids in Biology and Medicine II: Biochemical, Cellular and Medicinal Properties**. Alan R. Liss, New York, 1988.

COELHO, A. M.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Atividade Larvicida de Extratos Vegetais sobre *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), em Condições de Laboratório. **BioAssay**, 2009.

COLTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L. **Phatologic basis of diseade**. 5 ed. USA: Saunders Company, 1994.

CORNELIUS, M. T. F.; DE CARVALHO, M. G.; DA SILVA, T. M. S.; ALVES, C. C. F.; SISTON, A. P. N.; ALVES, K. Z.; SANT'ANNA, C. M. R.; MARIO, B.; EBERLIN, M. N.; BRAZ-FILHO, R. Other chemical constituents isolated from *Solanum crinitum* Lam. (Solanaceae). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 2211-2219, 2010.

COLEGATE, S. M.; MOLYNEUX, R. J. **Bioactive natural products: Detection, isolation and structure determination**. CRC Press, Boca Raton, 2008.

CORREA, A. C. C. Participação dos canais de potássio na ação espasmolítica de *Solanum agrarium* Sendtner em íleo de cobaia e útero de rata. **Dissertação** (Setor da Saúde - Farmácia), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, p. 124, 2009.

COSTA, J. G. M.; CAMPOS, A. R.; BRITO, S. A.; PEREIRA, C. K. B.; SOUZA, E. O.; RODRIGUES, F. F. G. Biological screening of Araripe basin medicinal plants using *Artemia salina* Leach and pathogenic bacteria. **Pharmacognosy Magazine**, Bangalore, v. 6, p. 331–334, 2010.

COWAN, M. M.; Plant products as antimicrobial agent. **Clinical Microbiology Review**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CRONQUIST, A.. **The evolution and classification of flowering plants**. 2<sup>nd</sup> edition. New York Botanical Garden, Bronx, 1988.

CRUZ-MORALES, S. E.; SANTOS, N. R.; BRANDÃO, M. L. One-trial tolerance to midazolam is due to enhancement of fear and reduction of anxiolytic-sensitive behaviors in the elevated plus-maze retest in the rat. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 72, n. 4, p. 973-8, 2002.

CRYAN, J. F.; MARKOU, A.; LUCKI I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 23, p. 238–245, 2002.

DALL'AGNOL, R.; VON POSER, G. L. The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 1–2, p. 337–341, 2000.

DAS, N. P. Flavonoids in Biology and Medicine III. **National University of Singapore**, 1989.

DEB, P. K.; DAS, L.; GHOSH, R.; DEBNATH, R.; BHAKTA, T. Evaluation of laxative and cardiotoxic activity of *Solanum indicum* linn. Fruits. **Journal of Pharmacy and Phytotherapeutics**. v. 1, n. 3, p. 11–14, 2013.

DEKERMENDJIAN, K.; KAHNBERG, P.; WITT, M. R.; STERNER, O.; NIELSEN, M.; LILJEFORS, T.. Structure–activity relationships and molecular modeling analysis of flavonoids binding to the benzodiazepine site of the rat brain GABA(A) receptor complex. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.42, n. 21, p. 4343–4350, 1999.

DENG, J.; ZHOU, Y. J.; BAI, M. M.; LI, H. W.; LI, L. Anxiolytic and sedative activities of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **Journal of Ethnopharmacol**, v. 128, p. 148-153, 2010.

DE MORAIS, H.; DE SOUZA, C. P.; DA SILVA, L. M.; FERREIRA, D. M.; BAGGIO, C. H.; VANVOSSSEN, A. C.; DE CARVALHO, C. M.; DA SILVA, S. J. E.; BERTOGLIO, L. J.; CUNHA, J. M.; ZANOVELI, J. M. Anandamide reverses depressive-like behavior, neurochemical abnormalities and oxidative-stress parameters in streptozotocin-diabetic rats: Role of CB1 receptors. **European Neuropsychopharmacol**, v. 10, p. 1590-600, 2016.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: A biosynthetic approach**. 3rd edn. Wiley, Great Britain, 2009.

DIAS, S. L. R. Efeitos dos neuroesteróides diosgenina e solasodina sobre o comportamento de animais submetidos ao labirinto em cruz elevado. **Monografia** (Graduação em Psicologia), Brasília, **Universidade Católica de Brasília**, p. 22, 2009

DIETZ, H.; WINTERHALTER, P. Phytotoxic constituents from *Bunias orientalis* leaves. **Phytochemistry**, Nantes, v. 42, p. 1005-1010, 1996.

DI ROSA, M.; WILLOUGHBY, D. A. Screens of anti-inflammatory drugs. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.23, n.4, p.297-8, 1971.

DSM-V - Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. **Porto Alegre**, Ed. Artes Médicas, 2013.

DISTL, M.; WINK, M. Identification and quantification of steroidal alkaloids from wild tuber-bearing *Solanum* species by HPLC and LC-ESI-MS. **Potato Research**, v. 52, p. 79, 2009.

DONG, M.H.; KAUNITZ, J.D. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**.v.22.,n.6, p.599-606, 2006.

DUMAN, E. N.; KESIM, M.; KADIOGLU, M. YARIS, E.; KALYONCU, N. I. Possible involvement of opioidergic and serotonergic mechanisms in antinociceptive effect of paroxetine in acute pain. **Journal of Pharmacological Sciences**, Shishigatani, p. 161-165, 2004.

EDDY, N.B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 107: 385-393, 1953

EDWIN, J. E.; EDWIN, S.; SAINI, V.; DEB, L.; GUPTA, V. B.; WATE, S. P.; BUSARI, K. P. Anti-inflammatory and anthelmintic activities of *Solanum khasianum* Clarke. **Natural Products Research**, v. 22, p. 269 2008.

BROWN, A. W. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 2, p.123-140, 1986.

EINHELLIG, F.A. The physiology of allelochemical action: Clues and Views. In: REIGOSA, M.; PEDROL, N. (Ed.). *Allelopathy from Molecules to Ecosystems*. **Vigo**: Universidade de Vigo, p.1-23, 2002.

ERNAWATI, T. B. Acute toxicity study of ethanolic extract of *Solanum sanitwongsei* crab fruits on mice. **International Journal of PharmTech Research**, v .8, n. 4, p. 642-647, 2015.

EVANS, W. C. **Trease y Evans Farmacognosy**. 13. ed. Mexico: McGraw-Hill, 1991.

FALCÃO, R. P.; CALADO, R. T. **Heterogeneidade das células do sangue: órgãos hematopoéticos e linfopoéticos**. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. *Hematologia: fundamentos e prática*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, cap. 1, p. 3-13, 2004.

FAO. FAOSTAT. Crop Production Data for 2010, Available online: <http://faostat.fao.org> (accessed on 27 February 2015).

FATEGBE, M. A.; IBUKUN, E. O.; KADE, I. J.; ROCHA, J. B. T. A comparative study on ripe and unripe eggplant (*Solanum melongena*) as dietary antioxidant sources. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 6, p. 209-218, 2013.

FERNANDEZ, S.P.; NIGUYEN M.; YOW, T. T.; CHU, C.; JOHNSTON, G. A. R.; HANRAHAN, J. R.; CHEBIB, M. The flavonoid glycosides, myricitrin, gossypin and narigin exert anxiolytic action in mice. **Neurochemical Research**, v. 34, p. 1867-1875, 2009.

FERNANDES, C.; FILE, S. The influence of open arm ledges and maze experience in the elevated plus-maze. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 54, n. 1, p. 31 –40, 1996.

FERRÁNDIZ, M. L.; ALCARAZ, M. J. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. **Agens and Actions**, v. 32, n. 3-4, p. 283-288, 1991.

FERREIRA, A.G., AQUILA, M. E. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v. 12, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre, Artmed, p.323, 2004.

FERREIRA, J.; CAMPOS, M.M.; PESQUERO, J.B.; ARAÚJO, R.C.; BADER, M.; CALIXTO, J.B. Evidence for the participation of kinins in Freund's adjuvant-induced inflammatory and nociceptive responses in kinin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> receptor knockout mice. **Neuropharmacology** 41: 1006-1012, 2001

FERRONATO, R. **Análise química e antimicrobiana do óleo essencial de *Helietta apiculata* Benth. (Rutaceae)**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Comunitária Regional de Chapecó, Chapecó, 2010.

FILHO, V. C. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: Estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 680-685, 2000.

FILE, S. E. One trial tolerance to the anxiolytic effects of chlordiazepoxide in the plus-maze. **Psychopharmacology**, v. 100, p. 281–2, 1990.

FINNEY, D. J. **Probit analysis**. Cambridge: Cambridge University, 1956.

FLATTERS, S.J.L.; BENNETT, G.J. Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine-induced painful peripheral neuropathy. **Pain** 109: 150-161, 2004

FOCKS, D. A. Toxorhynchites as biocontrol agents. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 23, p. 118–127, 2007.

FORATTINI, O. G. M. Nota sobre o encontro de *Aedes aegypti* em bromélias. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 543-544, 2000.

FOX, I. Resistance of *Aedes aegypti* to certain chlorinated hydrocarbon and organophosphorus insecticides in Puerto Rico. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 24, p. 489-494, 1961.

FREITAS, M. Z. Avaliação da atividade larvicida do extrato etanólico de frutos de *Solanum crinitum* Lam., em diferentes concentrações para controle de imaturos de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) Linnaeus, 1762, em Porto Velho-RO. Monografia (Conclusão de curso) - Faculdade São Lucas, **Porto Velho**, RO, P. 49, 2009.

FRIEDMAN, M.; HENIKA, P.R.; MACKEY, B.E. Feeding of potato, tomato an aggplant alkaloid affects food consumption and body and liver weights in mice. **The Journal of nutrition**, v. 4, p. 989-999, 1996.

FRIEDMAN, M.; LEE, K., R.; KIM, H., J.; LEE, I., S.; KOZUKUE, N. Anticarcinogenic effects of glycoalkaloids from potatoes against human cervical, liver, lymphoma, and stomach cancer cells. **Journal of Agriculture Food and Chemistry**, v. 53, p. 6162, 2005.

FRIEDMAN, M. MCDONALD, G. Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety, and plant physiology. **Critical Review in Plant Sciences**, v. 16, p. 55-132, 1997.

FRIEDMAN, M.; RAYBURN, J. R.; BANTLE, J. A. Developmental toxicology of potato alkaloids in the frog embryo teratogenesis assay – *Xenopus* (FETAX). **Food and Chemical Toxicology**, v. 29, p. 537-547, 1991.

FUNASA. **Fundação nacional de saúde. - programa nacional de controle da dengue (PNCD)**. Brasília: FUNASA, 2002

GABOR, W. E.; VEATCH, C. Isolation of phytotoxin from quackgrass (*Agropyron repens*) rhizomes. **Weed Science**, Champaign, v. 29, p. 155-159, 1981.

GALLON, M. E.; DIAS, S. H. M.; SILVA, M. A.; BARROS, B. S. P.; ALVES-DA-SILVA, G. Determinação dos parâmetros anatômicos, físico-químico e fitoquímicos das folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.- Hill / Determination of the anatomics, physical-chemicals and phytochemicals parameters of the *Solanum lycocarpum* A.St.-Hill leaves. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, supl.2, p. 937-944, 2015.

GAMBETA, E.; DE SOUZA, C. P.; DE MORAIS, H.; ZANOVELI, J. M. Reestablishment of the hyperglycemia to the normal levels seems not to be essential to the anxiolytic-like effect induced by insulin. **Metabolic Brain Disease**, v. 31, n. 3, p. 563–571, 2016.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; HAMERSKI, L. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of some plants native to the West-Central region of Brazil. **Bioresource Technology**, v.100, p.6647-6650, 2009.

GAY, G. B., Parker K. Understanding the complete blood count with differential. **Journal of PeriAnesthesia Nursing**, v. 18, p. 96-117, 2003.

GOMEZ, R.; BARROS, H. M. Ethopharmacology of the antidepressant effect of clonazepam in diabetic rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 66, n. 2, p. 329-335, 2000.

GLASSER, D. M. C. Entomological surveillance and control of dengue fever vectors. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, p. 259-272, 2002.

GORLA, C.M.; PEREZ, S.C.J.G.A. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, n.2, p.260-265, 1997.

GRIGSBY, A. B.; ANDERSON, R. J.; FREEDLAND, K. E.; CLOUSEA, R. E. B.; LUSTMAN, P. J. Prevalence of anxiety in adults with diabetes. A systematic review. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 53, p. 1053– 1060, 2002.

GRUNDMANN, O.; WANG, J.; MC GREGOR, G. P.; BUTTERWERCK, V. Anxiolytic activity of a phytochemically characterized *Passiflora incarnate* extract is mediated via the GABAergic system. **Planta Medica**, v. 74, p. 1769-1773, 2008

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRS, p.13-26, 2001.

GÜNTNER, C.; GONZALES, A.; REIS, R.; GONZALEZ, G.; VAZQUEZ, A.; FERREIRA, A. & MOYNA, P. Effect of *Solanum* glycoalkaloids on potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, p. 1651-1659, 1997.

GUPTA, G. L.; RANA, A. C. Protective effect of *Withania somnifera* dunal root extract against protracted social isolation induced behavior in rats. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.51, n. 4, p. 345–353, 2007.

GUPTA, R.; HUSSAIN, T.; PANIGRAHI, G.; DAS, A.; SINGH, G. N.; SWEETY K.; FAIYAZUDDIN, M.D.; RAO, C. V. Hepatoprotective effect of *Solanum xanthocarpum* fruit extract against CCl<sub>4</sub> induced acute liver toxicity in experimental animals. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Nagasaki, v. 4, p. 964-948, 2011

GUPTA, D.; RADHAKRISHNAN, M.; KURHE, Y. Insulin reverses anxiety-like behavior evoked by streptozotocin-induced diabetes in mice. **Metabolic Brain Disease**, v. 29, n. 3, p. 737–746, 2014.

HAIDER, S.; AHMED, S.; TABASSUM, S.; MEMON, Z.; IKRAM, M.; HALEEM, D. J. Streptozotocin-induced insulin deficiency leads to development of behavioral deficits in rats. **Acta Neurologica Belgica**, v. 113, n. 1, p. 35-41, 2013.

HALE, A. L.; REDDIVARI, L.; NZARAMBA, M. N.; BAMBERG, J. B.; MILLER JR, J. C. Interspecific Variability for Antioxidant Activity and Phenolic Content Among *Solanum* Species. **American Journal of Potato Research**, v. 85, p. 332, 2008.

HANSON, P.M. HANSON, R.-Y. YANG, S.C.S. TSOU, D. LEDESMA, L. ENGLE, T.C. LEE. Diversity in eggplant (*Solanum melongena*) for superoxide scavenging activity, total phenolics and ascorbic acid. **Journal of Food Composition and Analysis**, v,19, p. 594–600, 2006.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**. v. 86, p. 985- 990, 1999.

HARAGUCHI, M.; UCHIMURA, R. T.; MOTIDOME, M.; GOTTLIEB, O. Aproveitamento dos esteróides dos frutos da lobeira. **Ciência e Cultura**, v. 32, p. 81-82, 1978.

HARBORNE, J. B.; BAXTER, H. **Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants**. Taylor & Francis, London, 1995.

HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L.E.; GOODMAN, A. **Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics**. New York: Mc Graw Hill, p. 1414, ed. 10, 2001

HARPER, H. A. **Review of Physiological Chemistry**, 14th ed. Lange Medical Publications, California, 1973

HAYASE, T. Differential effects of TRPV1 receptor ligands against nicotine-induced depression-like behaviors. **BMC Pharmacology**, v. 11, n. 6, 2011.

HEO, K. S.; LIM, K. T. J. Glycoprotein isolated from *Solanum nigrum* L. Modulates the Apoptotic-Related Signals in 12-O-Tetradecanoylphorbol 13-Acetate-Stimulated MCF-7 Cells. **Journal of Medicinal Food**, v. 7, p. 349, 2004.

HERRERA-RUIZ, M.; ROMAN-RAMOS, R.; ZAMILPA, A.; TORTORIELLO, J.; JIMENEZ-FERRER, J. E. Flavonoids from *Tilia americana* with anxiolytic activity in plus-maze test. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 312-317, 2008.

HILALY, E. J.; ISRAILI, Z. H.; LYOUSSI, B. Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga Iva* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 43–50, 2004.



HILAKIVI-CLARKE, L. A.; WOZNIAK, K. M.; DURCAN, M. J.; LINNOILA, M. Behavior of streptozotocin-diabetic mice in tests of exploration, locomotion, anxiety, depression and aggression. **Physiology & Behavior**, v. 48, n. 3, p. 429-433, 1990.

HICKS, S. K.; WENDT, C. W.; GANNAWAY, J. R. & BAKER, R. B. Allelopathic effects of wheat straw on cotton germination, emergence and yield. **Crop Science**, v. 29, p. 1057-1061, 1989.

HO, N.; BALU, D. T.; HILARIO, M. R.; BLENDY, J. A.; LUCKI, I. Depressive phenotypes evoked by experimental diabetes are reversed by insulin. **Physiology & Behavior**, v.105, n. 3, p. 702-8, 2012.

HOOK, J. B.; GOLDSTEIN, R. S. **Toxicology of the Kidney**, 2nd ed. Raven Press, New York, p. 222, 1993.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C.; **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFSCAR, 2003. p. 152.

HUANG, x.; LIU, T.; GU, J.; LUO, X.; JI, R.; CAO, Y. 3D-QSAR model of flavonoids binding at benzodiazepine site in GABAA receptors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.44, v. 12, p. 1883–1891, 2001.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O.B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of Neuroscience Methods** 14: 69-76, 1985

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, São Francisco, v.30, p.103-114, 1987.

HUNZIKER, A.T. South American Solanaceae: A synoptic survey. In: **The Biology and Taxonomy of the Solanaceae**; Hawkes, J.G., LESTER, R.N., SKELDING, A.D., Eds.; Academic Press: London, UK, p. 49–85, 1979

IABLOKOV, V.; SYDORA, B. C.; FOSHAUG, R.; MEDDINGS, J.; DRIEDGER, D.; CHURCHILL, T.; FEDORAK, R. N. Naturally occurring glycoalkaloids in potatoes aggravate intestinal inflammation in two mouse models of inflammatory bowel disease. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 55, n. 11, p. 3078-85, 2010.

IAUK, L.; MANGANO, A. R.; RAGUSA, S.; MAIOLINO, R. M.; CONSTANZO, R.; SERRA, A.; SPECIALE, A. Protection against murine endotoxemia by treatment with *Ruta chalepensis* L., a plant with anti-inflammatory properties. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 90, p. 267-272, 2004.

IKEDA, T.; TSUMAGARI, H.; NOHARA, T. Cytotoxic activity of steroidal glycosides from *Solanum* plants. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 26, p. 1198, 2003.

ILAHY, R.; HDIDER, C.; LENUCCI, M. S. ; TLILI, I.; DALESSANDRO, G. Phytochemical composition and antioxidant activity of high-lycopene tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars grown in Southern Italy. **Scientia Horticulturae**, v. 127, n. 3, p. 255-261, 2011.

ISLAM, A.; SAYEED, A.; BHUIYAN, M. S. A.; MOSADDIK, M. A.; ISLAM, M. A. U.; KHAN G. R. M. A. M. Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Zanthoxylum budrunga*. **Fitoterapia**, Milano, v. 72, p. 428-430, 2001.

IVANOVA , A.; MIKHOVA, B.; NAJDENSKI, H.; TSVETKOVA, I.; KOSTOVA, I. Antimicrobial and cytotoxic activity of *Ruta graveolens*. **Fitoterapia**, Milano, v. 76, p. 344-347, 2005.

JACKSON, S. R.; CARTER, J. M. Platelet volume: Laboratory measurement and clinical application. **Blood Reviews**, v. 7, n. 104, 1993.

JACOMASSI, E.; MOSCHETA, I. S.; MACHADO, S. R. Morfoanatomia e histoquímica de *Brosimum guadichaudii* Trécul (Moraceae). *Acta Botanica Brasilica*, v. 21, n. 3, p. 575-597, 2007.

JADHAV, S. J.; SHARMA, R. P.; SALUNKHE, D. K. Naturally occurring toxic alkaloids in foods. **Toxicology**, v. 9, p. 21-104, 1981.

JOLY, A. B. **Botânica Introdução à taxonomia vegetal**. 12. ed. São Paulo: Nacional, p. 407, 1998.

JULLIAN, V.; BOURDY, D.; GEORGES, S.; MAUREL, S.; SAUVAIN, M. Validation of use of a traditional antimalarial remedy from French Guiana, *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.106, p. 348–352, 2006.

JÚNIOR, G. M. V.; ROCHA, C. Q.; RODRIGUEST. S.; LIMAC. A. H.; VILEGAS, W. New steroidal saponins and antiulcer activity from *Solanum paniculatum* L. **Food Chemistry**, v, 186, p. 160–167, 2015.

KAR, D. M.; MAHARANA, L.; PATTNAIK, S.; DASH, G. K. Studies on hypoglycaemic activity of *Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl. fruit extract in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Lausanne, v. 108, p. 251–256, 2006.

KATEMO, M.; MPIANA, P. T., MBALA, B. M.; MIHIGO, S. O.; NGBOLUA, K. N.; TSHIBANGU, D. S. T.; KOYANGE, P. R. Ethnopharmacological survey of plants used against diabetes in Kisangani city (DR Congo). *Journal of Ethnopharmacology*, Lausanne, v. 144, p. 39–43, 2012.

KAVVADIAS, D.; ABOU-MANDOUR, A. A.; CZYGAN, F. C.; BECKMANN, H.; SAND, P.; RIEDERER, P.; SCHREIER, P. Identification of benzodiazepines in *Artemisia dracuncululus* and *Solanum tuberosum* rationalizing their endogenous formation in plant tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 269, p. 290-295, 2000.

KEELER, R. F.; BAKER, I. D. C.; GAFFIELD, W. Spirosolane-containing *Solanum* species and induction of congenital craniofacial malformations. *Toxicol*, Gran Bretanha, v. 28, n. 8, p. 873-884, 1990.

KESSLER, R. C.; MCGONAGLE, K. A.; ZHAO, S.; NELSON, C. B.; HUGHES, M.; ESHLEMAN, S.; WITTCHEN, H. U.; KENDLER, K. S.; Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. *Archives General Psychiatry*; v. 51, p.8– 19, 1994.

KING, A., YOUNG, G.; Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*, Chicago, v.99, n.2, p.213-218, 1999.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DeBEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings* 18: 418-420, 1959

KRÜGER, E. R. et al. Protocolo para cultivo in vitro de células de traquéia de feto bovino. *Archives of Veterinary Science*, Curitiba, v. 3, n. 1, p. 25-30, 1998.

KUMAR P. M.; MURUGAN, K.; KOVENDAN, K.; PANNEERSELVAM, C.; KUMAR, K. P.; AMERASAN, D.; SUBRAMANIAM, J.; KALIMUTHU, K.; NATARAJ, T. Mosquitocidal activity of *Solanum xanthocarpum* fruit extract and copepod *Mesocyclops thermocyclopoides* for the control of dengue vector *Aedes aegypti*. *Parasitology Research*, v. 111, n. 2, p. 609-618, 2012.

LABORIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington, p. 170, 1983.

LADER, M. H. Limitations on the use of benzodiazepines in anxiety and insomnia: are they justified? **European Neuropsychopharmacology**, n. 9, p. 399-S405, 1999.

LAPA, A. J. et al. Plantas medicinais. **Métodos de avaliação da atividade Farmacológica**. Campinas: Editora Unifesp, p. 143, 2008.

LEVIN, D. A. Alkaloids-bearing plants: ecogeographic perspective. **American Naturalist**, Chicago, v. 110, p. 261-284, 1976.

LISTER, R. G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacol. Ther.**, v. 46, n. 3, p. 321-340, 1990.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LEVINSKY, R. J. et al. Phorbol myristate acetate stimulated NBT test: a simple method suitable for antenatal diagnosis of chronic granulomatous disease. **Clinical & Experimental Immunology**, v.54, p.595-598, 1983.

LEWIS, W. H. **Medical botany-plants affecting man's health**. Philadelphia: John Wiley and Sons, p. 419-425, 1977.

LIMA, L. O., SILVA, A. D. S., SILVA, P. C. B., CORREIA, A. C. C., MACÊDO, C. L., PESSÔA, H. L. F., SILVA, T. M. S., SILVA, B. A., CAVALCANTE, F. A. **Evaluation of the cytotoxic and spasmolytic activities of *Solanum asperum* Rich. (Solanaceae). Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related Toxins**, Joao Pessoa, p. 691, 2009.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v.92, p.180-5, 1987.

LOOMIS, T. A. **Fundamentos de Toxicologia**. Zaragoza: Acribia, p. 274, 1990.

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

LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 199-206, 2005.

LUSZCZKI, J.J.; CZUCZWAR, S.J. Isobolographic characterization of interactions between vigabatrin and tiagabine in two experimental models of epilepsy. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry** 31: 529-538, 2007

LUSTMAN, P. J.; GRIFFITH, L. S.; GAVARD, J. A.; CLOUSE, R. E. Depression in adults with diabetes. **Diabetes Care**, v. 15, n. 11, p. 1631-1639, 1992.

MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, p. 2512-2521, 2000.

MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; SANTOS, C. C.; SERRANO, D. R.; ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, L. A. Saponins from *Swartzia langsdorffii*: biological activities. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 713-718, 2003.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MAIA, A. C.; BRAGA, A. A.; PAES, F.; MACHADO, S.; NARDI, A. E.; SILVA, A. C. Psychiatric comorbidity in diabetes type 1: a cross-sectional observational study. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 60; p. 59–62, 2014.

MALHEIROS, A.; PERES, M. T. L. P. Alelopatia: interações químicas entre espécies. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. **Chapecó**: Argos, p. 503-523, 2001.

MALLIKA, J.; SHYAMALA, D. C. S. Antiulcerogenic and ulcer healing effects of *Solanum nigrum* (L.) on experimental ulcer models: Possible mechanism for the inhibition of acid formation. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 104, p. 156, 2006.

MANNA, S. S. S.; UMATHE, S. U. A possible participation of transient receptor potential vanilloid type 1 channels in the antidepressant effect of fluoxetine. **European Journal of Pharmacology**, v. 685, n. 1–3, p. 81–90, 2012.

MAPANGA, R. F.; MUSABAYANE, C. T. The renal effects of blood glucose-lowering plant-derived extracts in diabetes mellitus – an overview. **Renal Failure**, v. 32, p. 132–138, 2010.

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M. E. A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta botânica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 61-69, 2006.

MARDER, M.; ESTIU, G.; BLANCH, L. B.; VIOLA, H.; WASOWSKI, C.; MEDINA, J. H. Molecular modeling and QSAR analysis of the interaction of flavone derivatives with the benzodiazepine binding site of the GABA(A) receptor complex. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 2, p. 323–335, 2001.

MARDER, M.; PALADINI, A. C. GABA(A)-receptor ligands of flavonoid structure. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 2, n. 8, p. 853–867, 2002.

MARKERT, M.; ANDREWS, P.C.; BABIOR, B.M. Measurement of  $O_2^-$  production by human neutrophils. The preparation and assay of NADPH oxidase-containing particles from human neutrophils. **Methods in Enzymology**, v.105, p. 358-365, 1984.

MARUO, V. M. **Estudo dos possíveis efeitos tóxicos da exposição à *Solanum lycocarpum* em ratos adultos e em sua prole**. 84 f. Tese (doutorado em Veterinária e Zootecnia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

MATU, E. N.; STADEN, J. V. Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 87, p. 35–41, 2003.

MCLAUGHLIN, J. L. Crown gall tumours on potato discs and brine shrimp lethality: two simple bioassays for higher plant screening and fractions. In: DEY, P. M.; HARBONE, J. B. **Methods in plant biochemistry**. **New York**: Academic Press, 1991, p.1-32.

MCLAUGHLIN, J. L.; CHANG, C. J.; SMITH, D. L. “Benchtop” bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update. In: RAHMAN, A. **Studies in Natural Product Chemistry 9**. **Amsterdam**: Elsevier, 1991, p.383-409.

MCLAUGHLIN, J. L.; CHANG, C. J.; SMITH, D. L. Simple bench-top bioassays (BS & PD) for discovery of plant antitumor compounds-review of recent progress in human medicinal agents from plants. **Nova York**: Kinghorn & Balandrini, 1993, p.112-37.

MEDINA, F. R.; RITCHIE, L. S.; Molluscicidal activity of the puerto rican weed, *S. nodiflorum* against snail hosts of *Fasciola hepatica*. **Economic Botany**, v. 34, p. 368–375, 1980.

MELO, J. G.; MARTINS, S. D. G. R.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializadas no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiática* (L.) Urban). **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 1, p. 27 – 36, 2007.

MELO, M. F. F.; ZICKEL, C. S. Os gêneros *Zanthoxylum* L. e *Esenbeckia* Kunth (Rutaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 18, n. 1, p. 73-90, 2004.

MENNELLA, G.L. ROTINO, M. FIBIANI, A. D'ALESSANDRO, G. FRANCESE, L. TOPPINO, R. LO SCALZO. Characterization of health-related compounds in eggplant (*Solanum melongena* L.) lines derived from introgression of allied species **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 7598–7603, 2010.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, London, v. 15, p. 127-130, 2001.

MENTZ, L. A.; OLIVEIRA, P. L. *Solanum* (Solanaceae) na Região Sul do Brasil. Pesquisas, Botânica, n. 54. **Instituto Anchieta de Pesquisas**, p.327, 2004.

MENTZ, L. A.; OLIVEIRA, P. L.; VIGNOLI-SILVA, M. Tipologia dos tricomas das espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae) na Região Sul do Brasil. Iheringia, Serir Botânica, **Porto Alegre**, n. 54, p. 75-106, 2000.

MEOTTI, F.C.; LUIZ, A.P.; PIZZOLATTI, M.G.; KASSUYA, C.A.L.; CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.S. Analysis of the antinociceptive effect of the flavonoid myricitrin: evidence for a role of the L-arginine-nitric oxide and protein kinase C pathways. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 316: 789-796, 2006

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; McLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 45, p. 31-34, 1982.

MICHAEL, H. S. Y. **Neuroactive flavonoids : interaction via GABA[<sub>A</sub>] receptor complex.** Tese, Hong Kong University of Science, Biochemistry, p. 182, 2002

MIDDLETON, E. JR.; KANDASWAMI, C. Potential healthpromoting properties of citrus avonoids, **Food Technology**, v. 48, n. 11, p. 115-119, 1994.

MITTERMEIER, R. A.; GIL, P. R.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C. G.; LAMOREUX, J.; FONSECA, G. A. B. Hotspots revised: Earth's biologically and most endangered terrestrial ecorregions. **CEMEX**, Cidade do México, 2004.

MIGUEL, O. G. **Ensaio sistemático de análise em fitoquímica.** Apostila da disciplina de fitoquímica do curso de farmácia da UFPR, Curitiba, 2003.

MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K. Natural products: an evolving role in future drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 4769–4807, 2011

MOMIN, R.; MOHAN, M. Involvement of central noradrenaline, serotonin and dopamine system in the antidepressant activity of fruits of *Solanum torvum* (Solanaceae). **Natural Products Research**, v. 26, n. 5, p. 416-22, 2012

MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induces by móvel stimulation and exploratory behavior. **J. Comportmental. Physiol. And Psychol**, v. 48, p. 254-260, 1955.

MONTRUCCHIO, D.P. **Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato e do alcaloide S-(+)-dicentrina extraído de frutos de *Ocotea puberula* (Lauraceae).** Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria, 2012.

MONTRUCCHIO, D.P.; MIGUEL, O.G.; ZANIN, S.M.W.; SILVA, G.A.; CARDOZO, A.M.; SANTOS, A.R.S. Antinociceptive effects of a chloroform extract and the alkaloid dicentrine isolated from fruits of *Ocotea puberula*. **Planta Medica** 78: 1543-1548, 2012

MORAIS, S. M.; CATUNDA JUNIOR, F. E. A.; SILVA, A. R. A.; MARTINS NETO, J. S.; RONDINA, D.; CARDOSO, J. H. L. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 907-910, 2006.



MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Tribuna Farmacêutica**, Curitiba, v. 47, n. 1, p. 1-19, 1979.

MOTA, M. R. S.; SCHWARZ, A.; BERNARDI, M. M.; MAIORKA, P. C.; SPINOSA, H. S. Toxicological evaluation of 10% *Solanum lycocarpum* St. Hill fruit consumption in the diet of growing rats: Hematological, biochemical and histopathological effects. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 62, p. 549–553, 2010.

MOTIDOME, M.; LEEKNING, M.E. & GOTTLIEB, O.R. A química das Solanaceas brasileiras I. A presença de solamargina e de solasodina no juá e na lobeira. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 42 p. 375-376, 1970.

MOURA, N. F.; RIBEIRO, H. B.; MACHADO, E. C. S.; ETHUR, E. M., ZANATTA N.; MOREL, A. F. Benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium*. **Phytochemistry**, Great Britain, v. 46, n. 8, p. 1443-1446, 1997.

MUCENIECE, R.; SALENIECE, K.; KRIGERE, L.; RUMAKS, J.; DZIRKALE, Z.; MEZHAPUKE, R.; KVIESIS, J.; MEKSS, P.; KLUSA, V.; SCHIDTH, H. B.; DAMBROVA, M. Potato (*Solanum tuberosum*) juice exerts an anticonvulsant effect in mice through binding to GABA receptors. **Planta Medica**, v. 74, p. 491-496, 2008.

MUKINDA, J. T.; EAGKES, F. K. Acute and sub-chronic oral toxicity profile of the aqueous extract of *Polygala fruibosa* in female mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128(1), p.236–40, 2010.

MUKINDA, J. T.; SYCE, J. A.. Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.112, p.138–144, 2007.

MUNARI, C. C.; OLIVEIRA, P. F.; CAMPOS, J. C. L.; MARTINS, S. P. L.; COSTA, J. C.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. Antiproliferative activity of *Solanum lycocarpum* alkaloidic extract and their constituents, solamargine and solasonine, in tumor cell lines. **Journal of Natural Medicines**, v. 68, n. 1, p. 236–241, 2004

MUTALIK, S.; PARIDHAVI, K.; RAO, C. M.; UDUPA, N. Antipyretic and analgesic effect of leaves of *Solanum melongena* linn. In rodents. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 35, p. 312-315, 2003.

NAGEN, T.J., ALBUQUERQUE, T.T.O., MIRANDA, L.C.G.; Ácidos fenólicos em cultivares de soja: ação antioxidante. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.35, n.1, p.129-138, 1992.

NARWAL, S. S. Research on allelopathy in India. In NARWAL, S.S. (Ed.) Allelopathy Update. Enfield, **Science Publishers**, v.1, p.123-184, 1999.

NASCIMENTO, G. E. **Caracterização da estrutura química e avaliação da atividade antinociceptiva de polissacarídeos extraídos da polpa de *Solanum betaceum***. 103 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS: Method for Dilution. **Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically (Standard M7-A2)**, NCCLS, Villanova , 1985.

NATH, L. R.; GORANTLA, J. N.; THULASIDASAN, A. K.; VIJAYAKURUP, V.; SHAH, S.; ANWER S.; JOSEPH, S. M.; ANTONY, J.; VEENA, K. S.; SUNDARAM, S.; MARELLI, U.; LANKALAPALLI, R. S.; ANTO, R. J. Evaluation of uttroside B, a saponin from *Solanum nigrum* Linn, as a promising chemotherapeutic agent against hepatocellular carcinoma. **Science Report**, v. 6, n. 36318 , 2016.

NAVARRIA, A.; TAMBURELLA, A.; IANNOTTI, F.A.; VINCENZO, A.; CAMILLIERI, G.; GOZZOA, L.; VERDE , R.; IMPERATORE, R.; LEGGIOA, G. M.; DRAGOA, F.; MARZO, V. The dual blocker of FAAH/TRPV1 N-arachidonoylserotonin reverses the behavioral despair induced by stress in rats and modulates the HPA-axis. **Pharmacological Research**, v. 87, p. 151–159, 2014

NEE, M. Solanaceae Systematics the 21ST Century. In:Van Der Berg RG, Barendse GWM; VAN DER WEERDSEN, C. M. Solanaceae V. Advances in Taxonomy and Utilization, **Nijmegen University Press**, Nijmegen, p. 3-22, 2001.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M.; The influence of natural products upon drug discovery. **Natural Products Reports**, v.17, n. 215, 2000.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M.; J. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. **Natural Products Reports**, v.66, n.1022 2003.

NEWMAN, D. J., CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 311–335, 2012.

NGANE, A. N.; BIYITI, L.; AMVAM, P. H.; BOUCHET, P. Evaluation of antifungal activity of extracts of two Cameroonian Rutaceae: *Zanthoxylum leprieurii* Guill. et Perr. and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Waterm. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 70 p. 335–342, 2000.

NGASSOUM, M. B.; ESSIA-NGANG, J. J.; TATSADJIEU, L. N.; JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; ADJOUDJI, O. Antimicrobial study of essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* fruits from Cameroon. **Fitoterapia**, Milano, v. 74, p. 284-287, 2003.

NIÑO, J.; NARVÁEZ, D. M.; MOSQUERA, O. M.; CORREA, Y. M. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of eight Asteraceae and two Rubiaceae plants from colombian biodiversity. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n 4, p. 566-570, 2006.

NJUNG'E, K.; HADLEY, S. L. Evaluation of marble-burying behavior as a model of anxiety. **Pharmacol Biochemistry Behavior**, v.38, p.63–67, 1991.

NOGUEIRA, R. M. R.; MIAGOSTOVICH, M. P.; SCHATZMAYR, H. G.; SANTOS, F. B.; ARAUJO, E. S. M.; FILIPPIS, A. M. B.; SOUZA, R. V.; ZAGNE, S. M. O.; NICOLAI, C.; BARAN, M.; TEIXEIRA-FILHO, G.. Dengue in the State of Rio de Janeiro, Brazil 1986-1998. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 94: 297-304. 1999

O'BRIEN, P.; CARRASCO-POZO, A.; e SPEISKY, H. Boldine and its antioxidant or health-promoting properties. **Chemico-Biological Interactions**, v. 159, p. 1-17, 2006.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, p. 2, 1998.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1991.

OLIVEIRA, R. C. M.; MONTEIRO, F. S.; SILVA, J. L. V.; RIBEIRO, L. A. A.; SANTOS, R. F.; NASCIMENTO, R. J. B.; DUARTE, J. C.; AGRA, M. F.; SILVA, T. M. S.; ALMEIDA, F. R. C.; SILVA, B. A. Extratos metanólico e acetato de etila de *Solanum megalonyx* Sendtn. (Solanaceae) apresentam atividade espasmolítica em íleo isolado de cobaia: um estudo comparativo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 146-151, 2006.

OLIVEIRA, S. C. C.; FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Efeito alelopático de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) sob diferentes temperaturas.

**Acta botânica brasílica**, n. 18, v. 3, p. 401-406, 2004.

PAGANO, R. L.; DIAS, M. A.; DALE, C. S.; GIORGI, R. Neutrophils and the calcium-binding protein MRP-14 mediate carrageenan-induced antinociception in mice.

**Mediators of Inflammation**, v.11, p. 203-210, 2002.

PAHO 1995. *Dengue y Dengue Hemorrágico en las Américas Guías para su Prevención y Control*, Pan American Health Organization, Pub Cient 548, Washington.

PALMER, J. A.; HIGUERA, E. S.; CHANG, L.; CHAPLAN S. R. Fatty acid amide hydrolase inhibition enhances the anti-allodynic actions of endocannabinoids in a model of acute pain adapted for the mouse. **Neuroscience**, v. 154, p. 1554-1561, 2008.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO) website, 2008. Number of Reported Cases of Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever (DHF), Region of the Americas. <<http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/Dengue.htm>>.

PARK, B.H.; GOOD, R.A. N.B.T. test stimulated. **The Lancet**, p. 616, 1970.

PARK, B.H.; FIKRIG, S.M.; SMITHWICK, E.M. Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. **The Lancet**, p. 532-534, 1968.

PATEL, B.; SCHUTTE, R.; SPORNS, P.; DOYLE, J.; JEWEL, L.; FEDORAK, R. N. Potato glycoalkaloids adversely affect intestinal permeability and aggravate inflammatory bowel disease. **Inflammatory Bowel Disease**, v. 8, n. 5, p.340-6, 2002.

PATEL, K.; SINGH, R. B.; PATEL, D. K. Medicinal significance, pharmacological activities, and analytical aspects of solasodine: A concise report of current scientific literature. **Journal of Acute Disease**, p.92-98, 2013.

PATEL, P. K.; PATEL, M. A.; SARALAI, M. G.; GANDHI, T. R. Antiurolithiatic effects of *Solanum xanthocarpum* fruit extract on ethylene-glycol-induced nephrolithiasis in rats. **Journal of Young Pharmacists**, v. 4, n. 3, p. 164-170, 2012.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validadion of open closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J. Neurosci. Meth**, v. 14, n. 3, p. 149-167, 1985.

PENELUC, T.; DOMINGUES, L. F.; ALMEIDA, G. N.; AYRES, M. C. C.; MOREIRA, E. L. T.; CRUZ, A. C. F.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C. Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (Rutaceae), **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, supl. 1, p. 43-48, 2009.

PEREIRA, M. C. A.; CARVALHO, J. C. T.; LIMA, L. M.; CAPUTO, L. R. G.; FERREIRA, B. L. R.; FIORINI, J. E.; BASTOS, J. K. Toxicity of a subchronic treatment with hydroalcoholic crude extract from *Solanum grandiflorum* (Ruiz et Pav) in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, p. 97–99, 2003.

PEREIRA, S. S.; LOPES, L. S.; MARQUES, R. B.; FIGUEIREDO, K. A.; COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. C. R. Antinociceptive effect of *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (Rutaceae) in models of acute pain in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 129, p. 227–231, 2010.

PEREZ, A. C.; FRANCA, V.; DALDEGAN JR, V. M.; DUARTE, I. D. G. Effect of *Solanum lycocarpum* St. Hill on various haematological parameters in diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 106, p. 442-444, 2006.

PETIT P. R., SANVALRE Y, PONSIN G, MANTEGHETTI M, FARE A, RIBES G. Effects of a fenugreek seed extract on feeding behaviour in the rat: metabolic-endocrine correlates. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 45, p. 369-374, 1993.

PETIT, P. R.; SAUVAIRE, Y. D.; HILLAIRE-BUYS, D. M.; LCONTEO. M.; BAISSACY. G.; PONSIN, G. R.; RIBESG. R. Steroid saponins from fenugreek seeds: Extraction, purification, and pharmacological investigation on feeding behavior and plasma cholesterol. **Steroids**, v. 60, p. 674--680, 1995.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. **Tecnologia de sementes**: Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Germinação do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-282.

PINHEIRO, R. M.; CALIXTO, J. B. Effect of the selective COX-2 inhibitors, celecoxib and rofecoxib in rat acute models of inflammation. **Inflammation Research**, v. 51, p. 603-610, 2002.

PINTO, A. C.; SIQUEIRA, S. D. H.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais: Atualidades, Desafios e Perspectivas. **Quimica Nova.**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

PIO CORRÊA, M. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, v. 2, p. 33, 1931. In REITZ, P. R.; COWAN R. S.; SMITH L. B.; KLEIN, R. M. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, p. 3, 1973.

PIPER, P. Leukotrienes. **Trends in Pharmacological Science**, v.4, n. 2, p.75-77, 1983.

PIRANI, J. R. Flora da reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Rutaceae. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 56, n. 86, p. 189-204, 2005.

PLAZAS, M.P. LÓPEZ-GRESA, S. VILANOVA , C. TORRES, M. HURTADO, P. GRAMAZIO, J. PROHENS. Diversity and relationships in key traits for functional and apparent quality in a collection of eggplant: Fruit phenolics content, antioxidant activity, polyphenol oxidase activity, and browning. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, p. 8871–8879, 2013.

POONGOTHAI, K.; PONMURUGAN, P.; AHMED, K. S. Z.; KUMAR, B. S.; SHERIFF, S. Antihyperglycemic and antioxidant effects of *Solanum xanthocarpum* leaves (field grown & in vitro raised) extracts on alloxan induced diabetic. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p.778-785, 2011.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 269, p. 337-341, 1999.

PROHENS, A. RODRIGUEZ-BURRUEZO, M.D. RAIGON, F. NUEZ. Total phenolic concentration and browning susceptibility in a collection of different varietal types and hybrids of eggplant: Implication for breeding for higher nutritional quality and reduced browning. **Journal of American Society of Horticulture Science**, v. 132, p. 1–9, 2007.

PROHENS, B.D. WHITAKER, M. PLAZAS, S. VILANOVA , M. HURTADO, M. BLASCO, J.R. STOMMEL. Genetic diversity in morphological characters and phenolic acids content resulting from an interspecific cross between eggplant, *Solanum melongena*, and its wild ancestor (*S. incanum*). **Annals of Applied Biology**, v. 162, p. 242–257, 2013.

PROKOFÉVA, N. G.; UTKINA, N. K.; CHAIKINA, E. L.; MAKARCHENKO, A. E.; Biological activities of marine sesquiterpenoid quinines: structure-activity relationships in citotoxic and hemolytic assay. **Physiology of comparative biochemistry and physiology**, part B: v. 139, p. 169-173, 2004.

RAHMAN, M. F.; SIDDIQUI, M. K.; JAMIL, K. Effects of Vepacide (*Azadirachta indica*) on aspartate and alanine aminotransferase profiles in a sub chronic study with rats. **Journal of Human and Experimental Toxicology**, v. 20, p. 243–249, 2001.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Scientific Note Oviposition deterrent and skin repellent activities of *Solanum trilobatum* leaf extract against the malarial vector *Anopheles stephensi*. **Journal of Insect Science**, v. 5, n. 1, 2015.

RAWANI, A.; GHOSH, A.; CHANDRA, G. Mosquito larvicidal activities of *Solanum nigrum* L. leaf extract against *Culex quinquefasciatus* Say. **Parasitology Research**, v. 107, n. 5, p. 1235–1240, 2010.

REBECCA, M. A.; ISHII-IWAMOTO, E. L.; GRESPAN, R.; CUMAN, R. K.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; MELLO, J. C.; BERSANI-AMADO, C. A. Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 101–104, 2002.

REIFSCHNEIDER, F.J.B. *Capsicum*. Pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, Brasília, 2000. 113p

REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 5, p. 577-608, 1999.

REITZ, P. R.; COWAN, R. S.; SMITH, L. B.; KLEIN, R. M. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1973. p. 3-12.

REN, L.; WANG, F.; XU, Z.; CHAN, W. M.; ZHAO, C.; XUE, H. GABA(A) receptor subtype selectivity underlying anxiolytic effect of 6-hydroxyflavone. **Biochemical Pharmacology**, v. 79, p. 1337-1344, 2010

RIBEIRO, E. A. N. **Estudo das ações cardiovasculares da fração aquosa do extrato etanólico do caule de *Solanum stipulaceum* Roem & Schult. (Solanaceae) em ratos**. João Pessoa, 101p. Dissertação de Mestrado - Programa

de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, 2001.

RIBEIRO, E. A. N.; BATITUCCI, M. C. P.; LIMA, J. A. T.; ARAÚJO, I. G. A.; MAUAD, H.; MEDEIROS, I. A. Cardiovascular effects induced by the aqueous fraction of the ethanol extract of the stem of *Solanum stipulaceum* in rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 34-35, 2002. Suplemento 1.

RIBEIRO, G. A. **Estudo das atividades antinociceptivas e anti-inflamatórias das subfrações semipurificadas de *Solanum variabile* MART.** 17 F. Trabalho acadêmico (Farmacologia) – Farmácia, Universidade de Sorocaba, Sorocaba, 2016.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. As principais fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: ecologia e flora.** Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, p. 151-212, 2008.

RIBEIRO, P. A. R. J.; NEYRA, L. C.; OSAKI, R. M.; ALMEIDA, E.; BRAGAGNOLO, N. efeito da berinjela sobre os lípides plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 70, p. 87-91, 1998.

RIBEIRO, R.; MELO, M. M. R. F.; BARROS, F.; GOMES, C.; TROLIN, G. Acute antihypertensive effect in conscious rats produced by some medical plants used in the state of São Paulo. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne v. 15, p. 261-269, 1986.

RICE, E.L. **Allelopathy.** 2ª ed. New York, Academic Press, 1984.

RODHAIN, F.; ROSEN, L. Mosquito vectors and dengue virus-vector relationships. In DJ Gubler, G Kuno (eds), *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever.* **CAB International**, New York, p. 45-60, 1997.

RODRIGUES, A. F.; ESCOBAR, A. L.; SANTOS, F.; AZEVEDO\*, M. S. **Atividade larvicida de frutos do *Solanum stramonifolium* Jacq. Contra *Anopheles darlingi* e a problemática da malária em área indígena.** (Trabalho de Iniciação Científica), curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Rondônia, Rondonia, p.9, 2003



RODRIGUES, A. L. S.; SILVA, G. L.; METEUSI, A. S. FERNANDES, E. S.; MIGUEL, O. G.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R. S. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of the hydroalcoholic extract of *Siphocampylus verticillatus*. **Life Sciences** 70: 1347-1358, 2002

RODRIGUES, K. C. S. **Verificação da atividade alelopática de *Myrciaria cuspidata* Berg. (Camboim)**. 2002. 78f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

SANDERSON, C. J. (Ed.), **Interleukin-5 from Molecule to Drug Target for asthma-in lung biology in health and disease**. Marcel Dekker, New York, pp. 299-300, 1999.

SAMUELS, J. The Solanaceae-novel crops with high potential. **Org. Grow**. v. 9, p. 32-34, 2009.

SAMPAIO, V. S. **O Gênero *Solanum* L. (Solanaceae) na Floresta Atlântica ao norte do Rio São Francisco**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE, 2013.

SANTOS, A. R. S.; BEIRITH, A.; CALIXTO, J. B.; HESS, S. C.; MESSANA, I.; FERRARI, F.; YUNES, R. A. Study of the antinociceptive action of the ethanolic extract and the triterpene 24-hydroxytormentonic acid isolated from the stem bark of *Ocotea suaveolens*. **Planta Medica**, Germany, v. 65, n.1, p. 50-55, 1999a.

SANTOS, A. R. S.; MIGUEL, O. G.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Antinociceptive properties of the new alkaloid, cis-8, 10-di-N-propyllobediol hydrochloride dihydrate isolated from *Siphocampylus verticillatus*: evidence for the mechanism of action. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 289, p. 4417-426, 1999b.

SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Further evidence for the involvement of tachykinins receptor subtypes on formalin and capsaicin models of pain in mice. **Neuropeptides**, v.31, p.381-389, 1997.

SCHMITT, EK, MOORE, CM, KRASTEL, P ET AL. Natural products as catalysts for innovation: a pharmaceutical industry perspective. **Curr Opin Chem Biol** 15:497-504, 2011.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.;

GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Estudo Farmacognóstico e Screening Biológico de *Solanum lycocarpum* St. Hill (Solanaceae) Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3 ed., Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, Capítulo 15, p. 301-332, 2001.

SCHUBERT, M.L.; PEURA, D.A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology.** , v.134, n.7, p.1842-1860, 2008.

SEIFULLA K., The effect of solasodine on the central nervous system. **Farmakol Toksikol.**, v. 28, n. 6, p. 657–658, 1965.

SHUM, O. L., CHIU, K. W. Hypotensive action of *Solanum melogena* on normotensive rats. **Phytotherapy Research**, v. 5, p. 76-81, 1991.

SILVA, E. P.; SILVA, D. F. S.; JANSEN, J. T.; LUDVIG, J.; NOGARA, M. A. S. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 54, p. 83-96, 1997.

SILVA, S. L.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. leaves. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 37(2), p. 281-286, 1997.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-102, 1999.

SILVA, P. C. B., VASCONCELOS, M. A. DE, LIMA, L. C. G. C., SILVA, L. O., SILVA, K. M., CORREIA, A. C. C., MACÊDO, C. L., PESSÔA, H. L. F., SILVA, T. M. S., SILVA, B. A., CAVALCANTE, F. A. Hemolytic and spasmolytic assays of *Solanum asterophorum* Mart. (Solanaceae). In: 8th **International Symposium on Poisonous Plants**, 2009, Joao Pessoa. Program and Abstracts, p. 150, 2009.

SILVA, S. L.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Chemotherapeutic potential of the volatile oils from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. leaves. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 576, p. 180-188, 2007.

SILVA, T. M. S.; AGRA, M. F. JNANABRATA, B. J. Studies on the alkaloids of *Solanum* of northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 292-293, 2005.

SILVA, T. M. S.; AGRA, M. F.; BHATTACHARYYA, J. Chemotaxonomic Investigation of Two Species of *Solanum* section *Brevantherum* Seithe (Solanaceae). **Acta Horticulturae**, v. 745, p. 295-300, 2007.

SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R.; AGRA, M. F. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae). **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 517 – 522, 2003.

SILVA, T. M. S.; NASCIMENTO, R. J. B.; BATISTA, M. M.; AGRA, M. F.; CAMARA, C. A. Brine shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, 2007.

SILVA, T. M. S.; SILVA, C. C.; BRAZ-FILHO, R.; CARVALHO, M. G.; SILVA, M. S.; AGRA, M. F.; Constituintes químicos do extrato acetato de etila das partes aéreas de *Solanum paludosum* Moric. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 12, Supl. 1, p. 85-86, 2002.

SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R.; AGRA, M. F. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (SOLANACEAE). **Química Nova**, v. 26, No. 4, 517-522, 2003.

SILVA, T. M. S.; BATISTA, M. M.; CAMARA, C. A.; AGRA, M. F. Molluscicidal activity of some Brazilian *Solanum* spp. (Solanaceae) against *Biomphalaria glabrata*. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 99, n. 4, p. 1–7. 2005.

SILVA, T. M. S., NASCIMENTO, R. J. B.; BATISTA, M. M.; AGRA, M. F.; CAMARA, C. A. Brine shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern. Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 1, p. 35-38, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2010. p. 765-884.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2004. p. 199-222.

SIMONI, I. C.; FELÍCIO, J. D.; GONÇALEZ, E.; ROSSI, M. H. Avaliação da citotoxicidade de biflavonóides isolados de *Ouratea spectabilis* (OCHINACEAE) em células de córnea de coelho SIRC. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 4, p. 95-97, 2002.

SCALBERT, A.; JOHNSON, I. T.; SALTMARSH, M.; Polyphenols: antioxidants and beyond. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, 2005.

SKALISZ, L. L.; BEIJAMINI, V.; ANDREATINI, R. Effect of *Hypericum perforatum* on marble-burying by mice. **Phytotherapy Research**. v. 18, n. 5, p. 399-402, 2004.

SOARES, K. A.; RESENDE, S.; SILVA JÚNIOR, W. **Avaliação do efeito da farinha da beringela (*Soalum melogena* L.) em roedores (*rattus norvergicus*) nos teores de glicose, colesterol total e triglicérides**. Anhanguera Educacional, v. 16, n. 6, p. 6-26, 2012.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC, 1999.

SONG, F. M.; ZHENG, Z.; CHUN, G. X. Role of active oxygen and membrane lipid peroxidation in plantpathogen interactions. **Plant Physiology Journal**. v. 32, p. 377-385, 1992.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 2007.

SOUZA, A. E.; SILVA, T. M. S.; ALVES, C. C. F.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R.; ECHEVARRIA, A. Citotoxic activities against Erlich 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.

SOUZA, C. S. M.; SILVA, W. L. P.; GUERRA, A. M. N. M.; CARDOSO, M. C. R.; TORRES, S. B. Alelopatia do extrato aquoso de folhas de aroeira na germinação de sementes de alface. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 2, p. 96-100, 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APGII**. 2. ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora, p. 485, 2008.

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. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14810>>. Acesso em: 17 Out. 2016

STEPONKUS, P.L.; LANPHEAR, F.O. Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. **Journal of Plant Physiology**, v. 42, p.1423-26, 1967.

STEVENS, K. R.; GALLO, M. **A. practical consideration in the conduct of chronic toxicity studies**. In HAYES, A. w. Principles and methods os toxicology, 2 nd, New York, Ravens, Press, p. 81-100, 1983.

SUBASH, K. R.; RAMESH, K. S.; CHARIAN, B. V.; BRITTO, F.; RAO, J. N.; VIJAYKUMAR, S. Study of hepatoprotective activity of *Solanum nigrum* and *Cichorium intybus*. **International Journal of Pharmacology**, Granada, p. 1-6, 2011.

SUDHEESH, S.; SANDHYA, C.; KOSHY, A. S.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Antioxidant Activity of Flavonoids from *Solanum melongena*. **Phytotherapy research**, v.13, p. 393–396,1999.

SZALLASI, A.; CORTRIGHT, D.N.; BLUM, C.A.; EID, S.R. The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept, **Nature Reviews. Drug Discovery**., 2007, vol. 6, no. 5, pp. 357–372.

TABORDA, M. E.; SUÁREZ, L. E. C. Nuevo alcaloide carbozólico de *Zanthoxylum rhoifolium*. **Scientia Et Technica**, Pereira, v. 13, n. 33, p.191-192, 2007.

TAGA, H.; KALITAA, P.; DWIVEDI, P.; DAS, A. K.; NAMSAC, N. D. Herbal medicines used in the treatment of diabetes mellitus in Arunachal Himalaya, northeast, India. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 141, p. 786–795, 2012.

TAKESHITA, N.; YAMAGUSHI, I. Meta-chlorophenylpiperazine attenuates formalin-induced nociceptive responses through 5-HT<sub>1/2</sub> receptors in both normal and diabetic mice. **British Journal of Pharmacology**, London, v. 116, p.3133-38, 1995.

TARAKA, D.; NAMSA, N. D.; TANGJANGC, S.; ARYAA, S. C.; RAJBONSHI, B.; SAMAL, P.K.; MANDAL, M. An inventory of the ethnobotanicals used as anti-diabetic by a rural community of Dhemaji district of Assam, Northeast India. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 138, p. 345–350, 2011.

TATSADJIEU, L. N.; NGANG, J. J. E.; NGASSOUM, M. B.; ETOA, F. X. Antibacterial and antifungal activity of *Xylopiya aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum leprieurii* from Cameroon. **Fitoterapia**, Milano, v. 74, p. 469–472, 2003.

TEIXEIRA, M. G.; COSTA, M. C. N.; BARRETO, F.; BARRETO, M. L. Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública Rio de Janeiro**, v. 25, 2009.

TENÓRIO, J. A. B. **Caracterização química, toxicológica e atividades farmacológicas do extrato de raízes de *Solanum paniculatum* L.** Tese de doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2015.

TEPPERMAN, B. L.; JACOBSON, E. D. **Circulatory actors in gastric mucosal defense and repair**, in *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. (L.R. Johnson, ed.), Raven Press, New York, p. 1331-52, 1994.

TEWARY, D. K.; BHARDWAJ, A.; SHANKER, A. Pesticidal activities in five medicinal plants collected from mid hills of western Himalayas. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam. v. 22, p. 241–247, 2005.

TJOLSEN, A.; BERGE, O. G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J. H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, Seattle v. 51, p. 5-17, 1992.

TÓTH, A.; BOCZÁN, J.; KEDEI, N.; LIZANECZ, E.; BAGI, Z.; PAPP, Z.; ÉDES, I.; CSIBA, L.; BLUMBERG, P. M. Expression and distribution of vanilloid receptor 1 (TRPV1) in the adult rat brain. **Molecular Brain Research**, v. 135, n. 1-2, p. 162-168, 2005.

TREIT, D.; PINEL, J. P.; FIBIGER, H. C. Conditioned defensive burying: a new paradigm for the study of anxiolytic agents. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 15, n. 4, p.619-26, 1981.

TRULSON, M. E.; HIMMEL, C. D. Decreased brain dopamine synthesis rate and increased [3H]spiroperidol binding in streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Neurochemistry**, v. 40, p.1456-1459; 1983.

TRULSON, M. E.; HIMMEL, C. D. Effects of insulin and streptozotocin-induced diabetes on brain norepinephrine metabolism in rats. **Journal of Neurochemistry**, 44:1873-1876; 1985.

TRULSON, M. E.; JACOBY, J. H.; MACKENZIE, R. G. Streptozotocin-induced diabetes reduces brain serotonin synthesis in rats. **Journal of Neurochemistry**, 46:1068-1072; 1986.

TRULSON, M. E.; MACKENZIE, R. G. Subsensitivity to 5-hydroxytryptamine in agonists occurs in streptozocin diabetic rats with no change in [3H]-5-HT receptor binding. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. 33: 472-474; 1981.

TWEDT, D. C.; MAGNE, M. L. Moléstia do estômago. In: ETTINGER, J. S. Tratado de Medicina Interna Veterinária. 3.ed. **São Paulo**: Manole, p.1353-1386, 1992.

VÄÄNÄNEN, T. Glycoalkaloid Content and Starch Structure in *Solanum* Species and Interspecific Somatic Potato Hybrids. Dissertação - Department of Applied Chemistry and Microbiology, University of Helsinki, **Helsinki**, 2007.

VERHOEVEN, J. T. J., JANSEN, C. C. C., & ROENHORST, J. W. Streptosolen jamesonii 'Yellow', a new host plant of Potato spindle tuber viroid. **Plant Pathology**, v. 57, n. 2, p. 399, 2008.

VERPOORTE, R. CROMMELIN, D., DANHOF, M. et al. Commentary: "A systems view on the future of medicine: inspiration from Chinese medicine?" **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, p. 479–481, 2009.

VIJAYAN, P.; PRASHANT, H. C.; PREETHI, V.; DHANRAJ, S. A., BADAMI, S.; SURESH, B. Hepatoprotective effect of the total alkaloid fraction of *Solanum pseudocapsicum* leaves. **Pharmaceutical Biology**, Hilo, v. 41, p. 443-448, 2003.

XIANG FL, LU X, STRUTT B, HILL DJ, FENG Q. NOX2 Deficiency protects against streptozotocin-Induced s-cell destruction and development of diabetes in mice. **Diabetes**, v.50, p.2603-2611, 2010.

YI, Z.; YU, Y.; LIANG, Y.; ZENG, B. In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 41, n. 4, p. 597-603, 2008.

YOKOZAWA T., SATOH A., CHO E. J., KASHIWADA Y., IKESHIRO Y., Protective role of Coptidis Rhizoma alkaloids against peroxynitrite-induced damage to renal tubular epithelial cells. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.57, p.367–374, 2005.

YOUNG, C. C.; ZHU THORNE, L. R. & WALLER, G. R. Phytotoxic potential of soils and wheat straw in rice rotation cropping systems of subtropical Taiwan. **Plant and Soil**, v. 120, p. 95-101, 1989.

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.

YOU, I. J.; JUNG, Y. H.; KIM, M. J.; KWON, S. H.; HONG, S.; LEES, Y.; JANG, C. G. Alterations in the emotional and memory behavioral phenotypes of transient receptor potential vanilloid type 1-deficient mice are mediated by changes in expression of 5-HT1A, GABAA, and NMDA receptors. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 2, p. 1034–1043, 2012.

YUNES, R. A.; CECHINEL V. F. Breve análise histórica da Química de Plantas Medicinais: Sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas Ocidental e Oriental: In: YUNES R. A.; CALIXTO J. B., **Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna**, Chapecó-SC, Argus, p. 523, 2001.

WAYHS, C. A.; MANFREDINI, V.; SITTA, A.; DEON, M.; RIBAS, G. Protein and lipid oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats submitted to forced swimming test: the insulin and clonazepam effect. **Metabolic Brain Disease**, v. 25, n. 3, p. 297-304, 2010.

WEBER, A. D. **Estudo Fitoquímico e de atividade biológica de *Zanthoxylum rhoifolium***. 137 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

WEISSENBERG, M.; LEVY, A.; SVOBODA, J. A.; ISHAAYA, I. The effect of some *Solanum* steroidal alkaloids and glycoalkaloids on larvae of the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, and the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. **Phytochemistry**, Lausanne, v. 47, p. 203– 209, 1998.

WHO, Quality control methods for medicinal plant material. **WHO Library Cataloguing in Publication Data**, London, 1998, p. 41.

WHO. *Vector Resistance to Pesticides*, Fifteenth report of the WHO expert committee on Vector Biology and Control. **World Health Organization**, Geneva, 1992



World Health Organization. Fiebre amarilla – 2008. Disponível em: [www.who.int/topics/yellow\\_fever/es/](http://www.who.int/topics/yellow_fever/es/). Acessado em: 04/10/2012

ZANETTI, M.; CAZETTA, J. O.; MATTOS JÚNIOR, D.; CARVALHO, S. A. Influência do extrato pirolenhoso na calda de pulverização sobre o teor foliar de nutrientes em limoeiro 'cravo'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 529-533, 2004.

ZANOVELI, J. M.; MORAIS, H. D.; DIAS, I. C.; SCHREIBER, A. K.; SOUZA C. P.; CUNHA, J. M. Depression Associated with Diabetes: From Pathophysiology to Treatment. **Current Diabetes Review**, v. 12, n. 3, p.165-78, 2016.

ZAKARIA, Z. A.; GOPALAN, H. K.; ZAINAL, H.; POJAN, N. H. M.; MORSID, N. A.; ARIS, A.; SULAIMAN, M. R. Antinoceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of *Solanum nigrum* chloroform extract in animal models. **Yakugaku Zasshi**, v. 126, n. 11, p. 1171-1178, 2006.

## ANEXOS

ANEXO 1 – Aprovação do comitê de ética para elaboração dos ensaios de nocicepção, atividade anti-inflamatória e toxicidade



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Setor de Ciências Biológicas  
Comissão de Ética no Uso de Animais  
(CEUA)



Nº 794

## CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA Nº 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento da CEUA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO Nº 01/03-BL, de 09 de maio de 2003 e considerando o contido no Regimento Interno da CEUA, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado, estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

## CERTIFICATION

The Ethics Animal Experiment Committee of the Setor de Ciências Biológicas of the Federal University of Paraná, established by the DECREE Nº 787/03-BL on June 11th 2003, based upon the RESOLUTION Nº 01/03-BL from May 9th 2003, and upon the CEUA internal regiment, CERTIFIES that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the ethical principals established by the Experimental Animal Brazilian Council (COBEA), and with the requirements of the "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

**PROCESSO:** 23075.011375/2014-31

**APROVADO:** 22/05/2014 – R.O. 04/2014



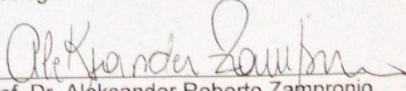
**TÍTULO:** Investigação farmacológica de extratos vegetais utilizados popularmente – ênfase em atividades antinociceptiva e anti-inflamatória

**AUTORES:** Deise Prehs Montrucchio, Fernanda Maria Martins Ocampos, Daniella Maria Soares de Oliveira, Ana Flávia Schvabe Duarte, Mariana Saragioto Krause, Vinicius Bednarczuck de Oliveira, Luciane Dalarmi

**DEPARTAMENTO:** Farmácia (Setor de Ciências da Saúde)

Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio  
Coordenador da CEUA

## ANEXO 2 – Aprovação do comitê de ética para elaboração dos ensaios de ansiedade e depressão associada ao diabetes

 <p><b>UFPR</b> UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ</p>	<p>Ministério da Educação <b>UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ</b> Setor de Ciências Biológicas Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)</p>	
<b>CERTIFICADO</b>		<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"><b>Nº 868</b></div>
<p>A Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR), instituída pela Resolução Nº 86/11 do Conselho de Ensino Pesquisa e Extensão (CEPE), de 22 de dezembro de 2011, <b>CERTIFICA</b> que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA) estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal.</p>		
<b>STATEMENT</b>		
<p>The Ethics Committee for Animal Use from the Biological Sciences Section of the Federal University of Paraná (CEUA/BIO – UFPR), established by the Resolution Nº 86/11 of the Teaching Research and Extension Council (CEPE) on December 22<sup>nd</sup> 2011, <b>CERTIFIES</b> that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the Brazilian Guidelines for Care and Use of Animals for Scientific and Teaching purposes established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and with the international guidelines for animal experimentation.</p>		
<b>PROCESSO/PROCESS:</b> 23075.055332/2014-67		
<b>APROVADO/APPROVAL:</b> 10/03/2015 – R.O. 02/2015		
<b>TÍTULO/TITLE:</b> Estudo do extrato etanólico de folhas de <i>Solanum megalochiton</i> Mart., Solanaceae como um potencial alvo farmacológico no tratamento da ansiedade e depressão associada ao diabetes		
<b>AUTORES/AUTHORS:</b> Janaína Menezes Zanoveli, Mariana Saragioto Krause, Isadora Pozzetti Siba, Roberto Andreatini		
<b>DEPARTAMENTO/DEPARTMENT:</b> Farmacologia		
 Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio Coordenador da CEUA		