

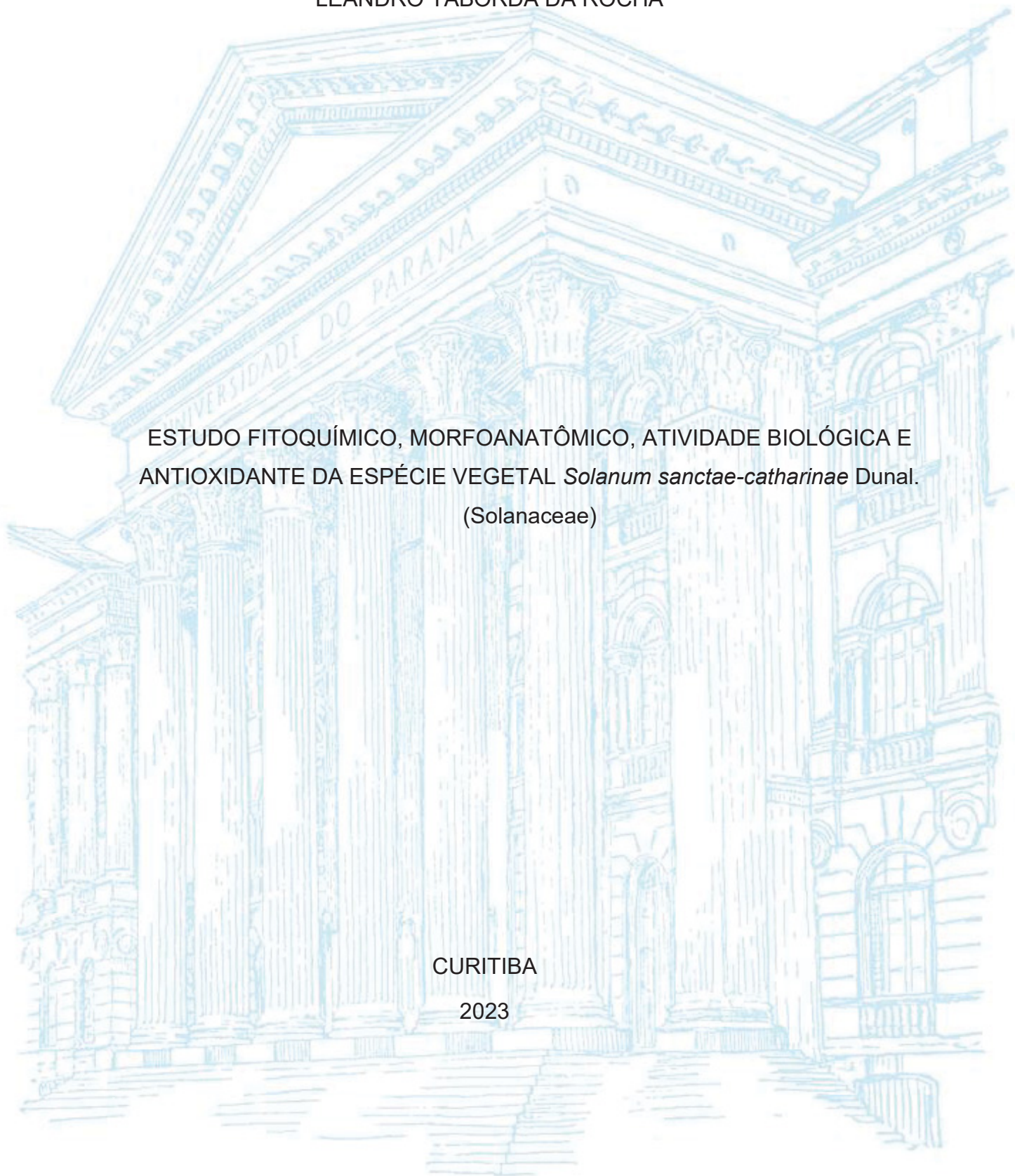
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LEANDRO TABORDA DA ROCHA

ESTUDO FITOQUÍMICO, MORFOANATÔMICO, ATIVIDADE BIOLÓGICA E
ANTIOXIDANTE DA ESPÉCIE VEGETAL *Solanum sanctae-catharinae* Dunal.
(Solanaceae)

CURITIBA

2023



LEANDRO TABORDA DA ROCHA

ESTUDO FITOQUÍMICO, MORFOANATÔMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICA E
ANTIOXIDANTE DA ESPÉCIE VEGETAL *Solanum sanctae-catharinae* Dunal
(Solanaceae)

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre 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. Dr^a. Lorene Armstrong

CURITIBA

2023

Rocha, Leandro Taborda da

Estudo fitoquímico, morfoanatômico e atividades biológica e antioxidante da espécie vegetal *Solanum sanctae-catharinae* Dunal (Solanaceae) [recurso eletrônico] / Leandro Taborda da Rocha – Curitiba, 2023.

1 recurso online : PDF

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel

Coorientador: Profa. Dra. Lorene Armstrong

DOI 10.1002/jemt.24497.

1. Solanaceae. 2. *Solanum*. 3. Flavonoides. I. Miguel, Obdulio Gomes. II. Armstrong, Lorene. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 583.9593

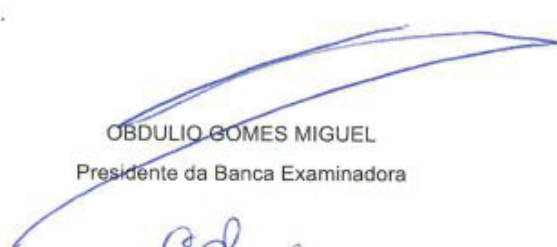
TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **LEANDRO TABORDA DA ROCHA** intitulada:

ESTUDO FITOQUÍMICO, MORFOANATÔMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICA E ANTIOXIDANTE DA ESPÉCIE VEGETAL *Solanum sanctae-catharinae* Dunal (Solanaceae), sob orientação do Prof. Dr. OBDULIO GOMES MIGUEL, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua Aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre 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, 15 de Dezembro de 2023.



OBDULIO GOMES MIGUEL

Presidente da Banca Examinadora



CRISTIANE DA SILVA PAULA DE OLIVEIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



LUCIANE DALARMI

Avaliador Externo (CENTRO DE ENSINO SUPERIOR DE MARINGÁ - CURITIBA)

Dedico esse trabalho principalmente à minha mãe Cirça Ramos, que sempre foi a minha maior inspiração e a maior incentivadora para que eu sempre seguisse estudando, também é a pessoa que devo a vida. Gostaria de dedicar a minha avó Maria Pacheco e minha tia-avó Geralda da Cruz que sempre me apoiaram nas minhas escolhas, me ensinaram o caminho da vida e por isso serei para sempre grato. Aos meus amigos que me apoiaram nesse período, lamentaram quando era luto e celebraram quando era glória e é por isso que escolhemos compartilhar nossas histórias.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e pelas pessoas que participam dela.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade de realizar meu sonho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel, pela orientação, conselhos, conversas, cafés, ensinamentos e inspiração.

À Profa. Dra. Marilis Dallarmi Miguel pelo apoio incondicional, aconselhamento, compreensão, confiança no meu trabalho e por me acolher no laboratório sendo minha “mãe científica” por consideração.

À Profa. Dra. Lorene Armstrong por todo o suporte durante a pesquisa, disposição, contribuição com os conhecimentos morfoanatômicos.

À Profa. Dra. Luciane Dalarmi e Profa. Dra. Cristiane Paula, pelo suporte e presença na banca de defesa.

Aos técnicos Paulo do laboratório de farmacotécnica e Maria da Graça da central analítica do departamento de farmácia, por todo o auxílio técnico e suporte e companheirismo.

À técnica do laboratório de microbiologia Monica Surek, por todo auxílio e orientação no ensaio antimicrobiano.

A todos meus amigos que fiz nesse período de mestrado que contribuíram de forma direta ou indireta para realizar esse trabalho contribuíram para a realização desse sonho.

À bolsa capes CNPQ pelo suporte financeiro da pesquisa.

De todo coração, muito obrigado.

Ozymandias

Ao vir de antiga terra, disse-me um viajante:

Duas pernas de pedra, enormes e sem corpo,

Acham-se no deserto. E jaz, pouco distante,

Afundando na areia, um rosto já quebrado,

De lábio desdenhoso, olhar frio e arrogante:

Mostra esse aspecto que o escultor bem conhecia

Quantas paixões lá sobrevivem, nos fragmentos,

À mão que as imitava e ao peito que as nutria

No pedestal estas palavras notareis:

“Meu nome é Ozymandias, e sou Rei dos Reis:

Desesperai, ó Grandes, vendo as minhas obras!”

Nada subsiste ali. Em torno à derrocada

Da ruína colossal, a areia ilimitada

Se estende ao longe, rasa, nua, abandonada.

- Percy B. Shelley, 1818

Somos os grãos de areia.

RESUMO

Solanum sanctae-catharinae Dunal é uma espécie vegetal nativa, que tem sua distribuição pela região Sul e Sudeste do Brasil, presente na Mata Atlântica do Rio Grande do Sul até o Espírito Santo. Este trabalho teve como objetivo desempenhar o estudo fitoquímico, morfoanatômico, histoquímico, antimicrobiano, de toxicidade preliminar e potencial antioxidante das partes aéreas de *S. sanctae-catharinae*. A marcha fitoquímica preliminar foi feita com dois extratos um etanólico e um extrato aquoso, foram feitos ensaios para os principais grupos de metabólitos secundários. Para o estudo morfoanatômico das partes aéreas de *S. sanctae-catharinae* após a coleta estas foram fixadas e armazenadas em etanol. As partes fixadas foram cortadas à mão livre em secção transversal, estas foram coradas com Fucsina e Azul de Astra. A diafanização foi feita para a análise da epiderme da face abaxial e adaxial foi feita a diafanização da folha que foram coradas com safranina. Também foi feito um ensaio de toxicidade com *Artemia salina* Leach, o teste foi feito utilizando os extratos brutos e suas frações particionadas. Foi realizado o ensaio de fenólicos totais e flavonoides totais dos extratos e frações de *S. sanctae-catharinae*, com as amostras na concentração de 200 µg/mL. Para determinar o potencial antioxidante dos extratos e frações de *S. sanctae-catharinae* foram realizados os ensaios com fosfomolibdênio e DPPH, com as amostras na concentração de 200 µg/mL. Também foi utilizado o programa estatístico Past® para analisar a significância estatística entre os grupos testados por meio do teste ANOVA (uma via) com teste de Tukey acoplado. Visando o isolamento de metabólitos provenientes das frações, também foram realizadas colunas cromatográficas simples com as frações hexânicas de ambos os extratos brutos. Após análise dos dados obtidos observamos características morfoanatômicas como tricomas estrelados não glandulares longo-estipitado, tricomas estrelados não glandulares, morfotipos de cristais descritos, tais como cristais piramidais e lamelares, cristais prismáticos simples, cristais piramidais simples e cristais de areia piramidais que podem contribuir para a identificação desta espécie. O ensaio fitoquímico preliminar revelou a presença de alcaloides, flavonoides, cumarinas, esteroides, saponinas e amino grupo. O teste com *A. salina* demonstrou que apenas os extratos brutos e as frações do extrato bruto etanólico clorofórmio e hidroalcoólica remanescente apresentaram toxicidade, as demais frações não apresentaram toxicidade. Os ensaios de fenólicos totais e flavonoides totais demonstraram que *S. sanctae-catharinae* é uma planta rica em flavonoides e substâncias fenólicas. Os ensaios para determinar o potencial antioxidante dos extratos e frações de *S. sanctae-catharinae* apresentaram resultados promissores com as frações clorofórmio e remanescente do extrato bruto etanólico. Os resultados desta pesquisa fitoquímica indicam a presença de compostos secundários de

interesse, dessa forma, essa planta emerge como um objeto de estudo significativo para a pesquisa fitoquímica, podendo ser uma potencial fonte de compostos bioativos.

Palavras-chave: Solanaceae; flavonoides; fenólicos; DPPH; histoquímica.

ABSTRACT

Solanum sanctae-catharinae Dunal is a native plant species distributed throughout the south and southeast of Brazil, found in the Atlantic Forest from Rio Grande do Sul to Espírito Santo. The aim of this work was to carry out a phytochemical, morphoanatomical, histochemical, antimicrobial, preliminary toxicity and antioxidant potential study of the aerial parts of *S. sanctae-catharinae*. The preliminary phytochemical analysis was carried out using two extracts, one ethanolic and one aqueous, and tests were carried out for the main groups of secondary metabolites. For the morphoanatomical study of the aerial parts of *S. sanctae-catharinae*, after collection they were fixed and stored in ethanol. The fixed parts were cut in cross-section by hand and stained with Fuchsin and Astra Blue. Diaphanization was carried out to analyze the epidermis surfaces of the leaves, which were then stained with safranin. A toxicity test was also carried out on *Artemia salina* Leach, using the crude extracts and their partitioned fractions. The total phenolics and total flavonoids of the extracts and fractions of *S. sanctae-catharinae* were tested at a concentration of 200 µg/mL. To determine the antioxidant potential of the extracts and fractions of *S. sanctae-catharinae*, phosphomolybdenum and DPPH assays were carried out on the samples at a concentration of 200 µg/mL. The statistical program Past® was also used to analyze the statistical significance between the groups tested using the one-way ANOVA test with Tukey's test attached. Aiming isolate metabolites from the fractions, simple chromatographic columns were also made with the hexane fractions of both crude extracts. After analyzing the data obtained, we observed morphoanatomical characteristics such as stellate trichomes and crystal morphotypes described can contribute to the identification of this species. The preliminary phytochemical test revealed the presence of alkaloids, flavonoids, coumarins, steroids, saponins and amino groups. The test on *A. salina* showed that only the crude extracts and the fractions of the crude chloroform ethanolic extract and the remaining hydroalcoholic extract were toxic, while the other fractions were not. The total phenolic and total flavonoid tests showed that *S. sanctae-catharinae* is a plant rich in flavonoids and phenolic substances. The tests to determine the antioxidant potential of the extracts and fractions of *S. sanctae-catharinae* showed promising results with the chloroform and remaining fractions of the crude ethanolic extract. As the results of this phytochemical research indicate the presence of secondary compounds of interest, this plant emerges as a significant object of study for phytochemical research and could be a potential source of bioactive compounds.

Keywords: Solanaceae, flavonoids, phenolics, DPPH, histochemistry.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURAS QUÍMICAS DE ALCALOIDES ENCONTRADOS EM SOLANÁCEAS.....	29
FIGURA 2 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i> NO BRASIL.....	35
FIGURA 3 – FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA UTILIZADA NA PESQUISA DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	36
FIGURA 4 - FOTO DA EXCICATA DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i> DEPOSITADA NO HERBÁRIO ESCOLA DE FLORESTAS DA UFPR.....	38
FIGURA 5 - ELUIÇÃO DA FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA EM COLUNA CROMATOGRÁFICA SIMPLES.....	67
FIGURA 6 - ELUIÇÃO DA FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA-ACÉTICA EM COLUNA CROMATOGRÁFICA SIMPLES.....	68
FIGURA 7 - FOTO DA FOLHA COMPLETA DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	72
FIGURA 8 - PRANCHA DO LIMBO FOLIAR MONTADA COM FOTOS E ELETROMICROGRAFIAS DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	74
FIGURA 9 - PRANCHA DO PECÍOLO MONTADA COM FOTOS E ELETROMICROGRAFIAS DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	77
FIGURA 10 - PRANCHA DO CAULE MONTADA COM FOTOS E ELETROMICROGRAFIAS DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	79
FIGURA 11 – PRANCHA MONTADA COM FOTOS DAS PARTES AÉREAS QUE APRESENTARAM RESULTADOS POSITIVOS NA BATERIA DE TESTES HISTOQUÍMICOS DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	83
FIGURA 12 - ESPECTROS DE CRISTAL PIRÂMIDAL EDS ESPECTRO DE UM IDIOBLASTO CRISTALÍFERO DE CAULE CONTENDO CRISTAIS PIRAMIDAIS.....	85

FIGURA 13 – PRANCHA MONTADA COM FOTOS DAS PLACAS DO SCREENING FITOQUÍMICO VIA CCD DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	95
FIGURA 14 – FOTO DOS CRISTAIS LAMELARES FORMADOS NO FRASCO 11 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	121
FIGURA 15 – ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (AMPLIADO) DO COMPOSTO ISOLADO CHEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	122
FIGURA 16 – ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C (AMPLIADO) DO COMPOSTO ISOLADO CHEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	123
FIGURA 17 – ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (AMPLIADO) DO COMPOSTO ISOLADO C2HEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	125
FIGURA 18 – ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C DO COMPOSTO ISOLADO C2HEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	126
FIGURA 19 – ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C (AMPLIADO) DO COMPOSTO ISOLADO C2HEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	127
FIGURA 20 – ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO ÁCIDO HEXADECANÓICO DO BANCO DE ESPECTROS DO SITE SPECTRABASE.....	128
FIGURA 21 – ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C DO ÁCIDO HEXADECANÓICO DO BANCO DE ESPECTROS DO SITE SPECTRABASE.....	129
FIGURA 22 – ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C (AMPLIADO) DO ÁCIDO HEXADECANÓICO DO BANCO DE ESPECTROS DO SITE SPECTRABASE.....	129
FIGURA 23 – FOTO DOS MONOCRISTAIS FORMADOS NO FRASCO 8 DA SEGUNDA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	131

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – CURVA PADRÃO FEITA COM ÁCIDO GÁLICO.....	105
GRÁFICO 2 – REPRESENTAÇÃO EM BARRAS DOS RESULTADOS EM $\mu\text{g EQ/mg}$ EM ÁCIDO GÁLICO DAS AMOSTRAS DOS EXTRATOS BRUTOS E SUAS PARTIÇÕES DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	106
GRÁFICO 3 – CURVA PADRÃO FEITA COM QUERCETINA.....	110
GRÁFICO 4 – REPRESENTAÇÃO EM BARRAS DOS RESULTADOS EM $\mu\text{g EQ/mg}$ EM QUERCETINA DAS AMOSTRAS DOS EXTRATOS BRUTOS E SUAS PARTIÇÕES de <i>S. sanctae-catharinae</i>	111
GRÁFICO 5 – REPRESENTAÇÃO EM BARRAS DOS RESULTADOS EM % EQUIVALENTE EM ÁCIDO ASCÓRBICO DAS AMOSTRAS DOS EXTRATOS BRUTOS E SUAS PARTIÇÕES DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	116
GRÁFICO 6 – REPRESENTAÇÃO EM BARRAS DOS RESULTADOS EM EQTROLLOX $\mu\text{g/mg}$ DAS AMOSTRAS DOS EXTRATOS BRUTOS E SUAS PARTIÇÕES DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	118

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE <i>S. Sanctae-catharinae</i> SEGUNDO SISTEMA APG IV.....	34
TABELA 2 FASES MÓVEIS E REVELADORES UTILIZADOS NA ANÁLISE VIA CCD.....	57
TABELA 3 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO MATERIAL VEGETAL FRAGMENTADO DAS PARTES AÉREAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	71
TABELA 4 - MEDIDAS DAS FOLHAS OBTIDAS COM A ANÁLISE MACROSCÓPICA DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	71
TABELA 5 – ANÁLISES DOS METABÓLITOS PRESENTES NAS PARTES AÉREAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i> ATRAVÉS DE TESTES HISTOQUÍMICOS	81
TABELA 6 – ANÁLISES DOS METABÓLITOS DAS PARTES AÉREAS DE <i>S.</i> <i>sanctae-catharinae</i> POR MEIO DE TESTES FITOQUÍMICOS COM O EXTRATO ETANÓLICO 20% E AQUOSO	91
TABELA 7 – ANÁLISES DO TEOR DE SÓLIDOS E RENDIMENTO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	93
TABELA 8 - RESULTADOS DA ANÁLISE DE TOXICIDADE PRELIMINAR PELO MÉTODO UTILIZANDO <i>Artemia salina</i> COM AS AMOSTRAS DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES.....	101
TABELA 9 - RESULTADOS DA CL50 ANÁLISE PELO MÉTODO UTILIZANDO <i>Artemia salina</i> COM AS AMOSTRAS DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES CLASSIFICADAS DE ACORDO COM OS ÍNDICES DE MEYER E CLARKSON	102
TABELA 10 - RESULTADOS DO ENSAIO DE FENÓLICOS TOTAIS EM ug EQ/mg DE ÁCIDO GÁLICO ($\pm$ DP DA MÉDIA) E O EQUIVALENTE EXTRAÍDO DE ACORDO COM O RENDIMENTO DE CADA FRAÇÃO DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	107

TABELA 11 - RESULTADOS DO ENSAIO DE FLAVONOIDES TOTAIS EM ug EQ/mg DE QUERCETINA ($\pm$ DP DA MÉDIA) E O EQUIVALENTE EXTRAÍDO DE ACORDO COM O RENDIMENTO DE CADA FRAÇÃO DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	112
TABELA 12 - RESULTADOS DO ENSAIO COM FOSFOMOLIBDÊNIO EM % EQUIVALENTE EM ÁCIDO ASCÓRBICO ($\pm$ DP DA MÉDIA) E O EQUIVALENTE EXTRAÍDO DE ACORDO COM O RENDIMENTO DE CADA FRAÇÃO DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	115
TABELA 13 - RESULTADOS DO ENSAIO ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH UTILIZANDO AMOSTRAS DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES	119
TABELA 14 – ABSORÇÕES REGISTRADAS EM RMN DE ¹³ C PARA O ÁCIDO HEXADECANÓICO.....	128

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

CCD	- Cromatografia em Camada Delgada
CIFLOMA	- Ciências Florestais e da Madeira
CIM	- Concentração Inibitória Mínima
CL50	- Concentração Letal 50%
cm	- Centímetro
DMSO	- Dimetilsulfóxido
DPPH	- 2,2 -diphenyl-1picrylhydrazyl
EAG	- Equivalente em Ácido Gálico
EDS	- Energy dispersive spectroscopy
EQ	- Equivalente
et al	- “e outros”
g	- Grama
h	- Horas
kg	- Kilograma
HCL	- Ácido clorídrico 37%
H2SO4	- Ácido sulfúrico
m	- Metro
mg	- Miligrama
mL	- Mililitro
mm	- Milímetro
mM	- Milimol
N	- Normal
NaOH	- Hidróxido de sódio
NH2	- Amina primária
NH4OH	- Hidróxido de amônio
Nm	- Nanômetro
OH	- Hidroxila
pH	- Potencial de Hidrogênio
R2	- Coeficiente de determinação da reta

¹³ CRMN	- Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
¹ HRMN	- Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
SPSS	- Statistical Package for the Social Sciences
Trollox	- 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametacromato-Ácido 2- carboxílico
UV	- Ultravioleta
v/v	- Volume/volume

LISTA DE SÍMBOLOS

% - por cento

°C - graus celsius

® - marca registrada

µG - micrograma

µL - microlitro

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	25
1.1	OBJETIVO.....	27
1.2	OBJETIVO GERAL.....	27
1.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	28
2.1	A FAMÍLIA SOLANACEAE.....	28
2.2	GÊNERO <i>Solanum</i>	30
2.3	ALCALOIDES DE SOLANUM SP.	31
2.4	A ESPÉCIE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	33
3.	METODOLOGIA DA PESQUISA	36
3.1	CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DA PESQUISA.....	36
3.2	MATERIAL BOTÂNICO.....	37
3.3	ENSAIOS DE PUREZA.....	38
3.3.1	Perda por dessecação/Teor de umidade (método gravimétrico)....	38
3.3.2	Determinação do resíduo por incineração	39
3.4	ANATOMIA DAS PARTES AÉREAS de <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	40
3.4.1	Análise macroscópica das folhas de <i>S. sanctae-catharinae</i>	40
3.4.2	Análise morfoanatômica de <i>S. sanctae-catharinae</i>	40
3.5	Teste microquímicos em <i>S. sanctae-catharinae</i>	41
3.6	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	42

3.7	ENSAIO PARA ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	43
3.7.1	Metabólitos solúveis em álcool.....	43
3.7.2	Pesquisa de alcaloides	44
3.7.3	Pesquisa de leucoantocianidinas	45
3.7.4	Pesquisa de cumarinas.....	45
3.7.5	Pesquisa de heterosídeos flavônicos.....	46
3.7.6	Pesquisa de substâncias iridoidais	47
3.7.7	Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos.....	48
3.7.8	Pesquisa de esteróides e/ou triterpenos	48
3.7.9	Metabólitos solúveis em água	49
3.7.10	Pesquisa de heterosídeos antociânicos.....	49
3.7.11	Pesquisa de heterosídeos saponínicos.....	50
3.7.12	Pesquisa de heterosídeos cianogenéticos	50
3.7.13	Pesquisa de taninos.....	51
3.7.14	Pesquisa de amino grupo.....	52
3.8	OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO, ETANÓLICO- ACÉTICO E FRAÇÕES DAS PARTES AÉREAS DE <i>S. sanctae</i> <i>catharinae</i>	52
3.8.1	Determinação do teor de sólidos totais e rendimento das extrações	53
3.8.2	Particionamento dos extratos brutos extraídos de <i>S. sanctae-</i> <i>catharinae</i>	54
3.8.3	Determinação do rendimento percentual das frações particionadas dos extratos brutos	55

3.9	SCREENING FITOQUÍMICO VIA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD).....	56
3.10	ENSAIO ANTIBACTERIANO COM O EXTRATO BRUTO ETANÓLICO E ETANÓLICO-ACÉTICO DAS PARTES AÉREAS DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	57
3.10.1	Preparo dos inóculos	58
3.10.2	Técnica de microdiluição em caldo para determinação da CIM	58
3.11	ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE A <i>Artemia salina</i> Leach. COM OS EXTRATOS BRUTOS E PARTIÇÕES DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	59
3.11.1	Preparo da solução salina para incubar os ovos de <i>A. salina</i>	59
3.11.2	Eclosão dos Ovos de <i>A. salina</i>	60
3.11.3	Preparo das amostras com extratos brutos e frações particionadas de <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	60
3.11.4	Acondicionamento dos náuplios de <i>A. salina</i> para o teste de toxicidade	61
3.11.5	Análise estatística da toxicidade dos extratos vegetais de <i>Solanum sanctae-catharinae</i> frente à <i>Artemia salina</i>	61
3.12	DETERMINAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	62
3.13	DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	63
3.14	DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i> UTILIZANDO O TESTE COM FOSFOMOLIBDÊNIO	64
3.15	DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE <i>S.</i>	

<i>sanctae-catharinae</i> UTILIZANDO O TESTE COM RADICAL DPPH .	65
3.16 ISOLAMENTO DE SUBSTÂNCIAS EXTRAÍDAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i> A PARTIR DAS FRAÇÕES HEXANO	66
3.17 CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS EXTRAÍDAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i> UTILIZANDO ANÁLISE COM APARELHO DE RMN	69
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4.1 ENSAIOS DE PUREZA	70
4.1.1 Perda por dessecação (método gravimétrico)	70
4.1.2 Determinação de resíduos por incineração	70
4.2 ANATOMIA DAS PARTES AÉREAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	71
4.2.1 Análise macroscópica das folhas de <i>S. sanctae-catharinae</i>	71
4.2.2 Análise morfoanatômica de <i>S. sanctae-catharinae</i>	72
4.2.3 Testes microquímicos em <i>S. sanctae-catharinae</i>	80
4.2.4 Análise dos cristais de <i>S. sanctae-catharinae</i>	84
4.3 ENSAIOS PARA MARCHA FITOQUÍMICA PRELIMINAR	87
4.3.1 Pesquisa de alcaloides	87
4.3.2 Pesquisa de leucoantocianidinas	87
4.3.3 Pesquisa de cumarinas	88
4.3.4 Pesquisa de heterosídeos flavônicos	88
4.3.5 Pesquisa de substâncias iridoidais	88
4.3.6 Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos	89
4.3.7 Pesquisa de triterpenos e/ou esteroides	89
4.3.8 Pesquisa de heterosídeos antociânicos	89
4.3.9 Pesquisa de heterosídeos saponínicos	90

4.3.10	Pesquisa de heterosídeos cianogenéticos	90
4.3.11	Pesquisa de taninos	90
4.3.12	Pesquisa de amino grupo.....	90
4.4	OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO E ETANÓLICO- ACÉTICO DAS PARTES AÉREAS DE <i>Solanum sanctae-catharinae</i>	92
4.4.1	Determinação do teor de sólidos totais, seu percentual e rendimento das extrações.....	92
4.4.2	Determinação do rendimento percentual das frações particionadas dos extratos brutos das partes aéreas de <i>Solanum sanctae-</i> <i>catharinae</i>	93
4.5	SCREENING FITOQUÍMICO VIA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD).....	94
4.6	ENSAIO ANTIBACTERIANO COM OS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	96
4.7	ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE a <i>Artemia salina</i> Leach. COM OS EXTRATOS BRUTOS E PARTIÇÕES DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	96
4.8	DETERMINAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	104
4.9	DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE <i>S. sanctae-catharinae</i>	109
4.10	DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE <i>S.</i> <i>sanctae-catharinae</i> UTILIZANDO O TESTE COM FOSFOMOLIBDÊNIO	114
4.11	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH	117

4.12	ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE FITOSTERÓIS DA FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA E FRAÇÃO ETANÓLICA ACÉTICA.....	120
4.12.1	Isolamento e identificação do composto CHE1	120
4.12.2	Isolamento e identificação do composto C2HE1	123
4.12.3	Isolamento e identificação do composto CHEA1.....	131
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	132
6.	REFERÊNCIAS	134

1 INTRODUÇÃO

Com a crescente demanda por produtos naturais de origem vegetal, animal e mineral, é notável o interesse público nas diversas aplicabilidades dessas variadas biomoléculas provenientes da natureza. Além disso os produtos naturais destacam-se como principal objeto de estudo dos setores da indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia.

A dor fez com que o homem buscasse o analgésico, a doença o fez buscar o remédio. Portanto é fácil inferir que o uso de partes de plantas no combate às doenças seja tão antigo quanto a própria humanidade. A experiência da medicina pré-histórica nos campos da fitoterapia, dietoterapia e cirurgia, enriqueceram o conhecimento da medicina popular. (PETROVSKA, 2012). No ocidente Hipócrates é considerado como pai da medicina, contudo é importante salientar que existem formulações anteriores à medicina de Hipócrates, nas culturas orientais Chinesa, Indiana e Egípcia, que tiveram uma influência mais duradoura do que a medicina Hipocrática, que por muitas vezes tem sido considerada derivativa e não completamente original (FORRESTER, 2015).

Os vegetais com frequência fornecem novos tipos de moléculas, farmacologicamente ativas, que são empregadas no tratamento de enfermidades ou na síntese de outras moléculas igualmente ativas ou de uso mais vantajoso. No Brasil muitas plantas são empregadas tradicionalmente como medicinais, sem nenhuma comprovação científica. Conhecimentos etnobotânicos, ou seja, conhecimentos baseados no uso tradicional de plantas, têm despertado cada vez mais o interesse da comunidade científica, visto que existem substâncias medicamentosas naturais, usadas diariamente no tratamento de enfermidade, cuja síntese ainda não foi possível de ser executada (OLIVEIRA, 2009).

O uso popular de plantas pela população sem o real conhecimento fitoquímico, aliado as buscas de insumos de origem natural contribuem para busca de espécie com interesse farmacológico. O mercado farmacêutico ao redor do globo viu um aumento crescente na última década e a previsão é que essa tendência continue assim (OSTWALD, 2020). Com o mercado farmacêutico impulsionando a

demanda por novos fármacos a busca de novas fontes de drogas vegetais é justificada.

Nesse contexto a família Solanaceae vem se destacando por apresentar classes de metabólitos como alcaloides, flavonoides, antocianinas, carotenoides, licopenos, ácidos graxos (KOWALCZYK *et al.*, 2022). E inserido na família das solanáceas o gênero *Solanum* possui um grande potencial fitoterápico validado com testes farmacológicos que demonstraram efeitos anti-inflamatórios, anti-hipertensivos, anti-neurodegenerativos antitumorais, bactericidas e diurético, *Solanum capsicoides* All. e *Solanum cernuum* Vell por exemplo são plantas utilizadas pela medicina popular (KAUNDA & ZHANG, 2019). Tendo sempre que a análise de novas fontes de drogas vegetais deve ser iniciada pelo estudo morfológico e anatômico, posteriormente complementada com um estudo químico (OLIVEIRA, 2009). Tendo isso em consideração pretende-se de forma inédita fazer o estudo morfoanatômico, fitoquímico, da atividade biológica e a potencial atividade antioxidantes da espécie *Solanum sanctae-catharinae* Dunal (Solanaceae), a fim de encontrar substâncias de potencial atividade biológica.

1.1 OBJETIVOS

1.2 OBJETIVO GERAL

Realizar o estudo fitoquímico, morfoanatômico, da atividade biológica e antioxidante das partes aéreas da espécie *Solanum sanctae-catharinae* Dunal, Solanaceae.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a coleta e identificação botânica.
- Obter o perfil físico-químico das partes aéreas fragmentadas da espécie *S. sanctae-catharinae*.
- Realizar um estudo morfoanatômico das partes aéreas de *S. Sanctae-catharinae*.
- Realizar um estudo histoquímico das partes aéreas de *S. Sanctae-catharinae*.
- Realizar o estudo das microestruturas das partes aéreas de *S. Sanctae-catharinae*.
- Realizar a análise fitoquímica preliminar das partes aéreas da espécie *S. sanctae-catharinae*.
- Extrair e fracionar os extratos brutos da espécie *S. sanctae-catharinae*.
- Realizar um screening fitoquímico por cromatografia em camada delgada da espécie *S. sanctae-catharinae*.
- Analisar a toxicidade do extrato e frações da espécie *S. sanctae-catharinae* frente à *Artemia Salina*.
- Analisar a atividade antimicrobiana dos extratos brutos da espécie *S. sanctae-catharinae*.
- Avaliar a propriedade antioxidante dos extratos e frações da espécie *S. sanctae-catharinae*.
- Isolar moléculas extraídas das partes aéreas de *S. sanctae-catharinae* através de cromatografia em coluna.
- Identificar os metabólitos secundários extraídos das partes aéreas da espécie *S. sanctae-catharinae*, através de ressonância magnética nuclear de carbono e hidrogênio e espectrofotômetro de ultravioleta de varredura.

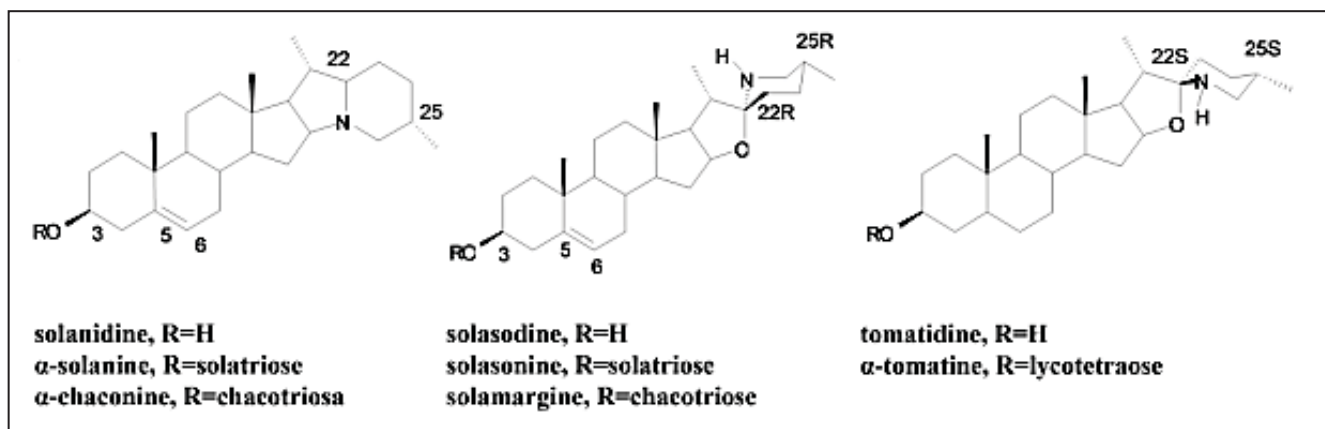
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FAMÍLIA SOLANACEAE

A família Solanaceae é uma das maiores e mais variadas no grupo das angiospermas, contendo 90 gêneros e cerca de 2500 espécies conhecidas (POMILIO, FALZONI, VITALE, 2008; SHAH, 2016). Temos que as solanáceas possuem uma grande importância para economia global, dentre as plantas desta família destacam-se uma ampla variedade de metabólitos secundários com valor agregado tendo este grupo diversas propriedades biológicas e medicinais, e devido a isso essa família tem sido extensivamente usada pela medicina popular tradicional (KOWALCZYK *et al.*, 2022; NKWE *et al.*, 2021).

Os metabólitos secundários possuem um amplo espectro de atividade, geralmente suas ações causam distúrbios celulares e fisiológicos, afetando os processos responsáveis pela homeostase, tendo as solanáceas como um dos táxons dentre as plantas que produzem compostos altamente tóxicos (CHOWAŃSKI, *et al.*, 2016). Essa família em particular produz diversos metabólitos secundários que podem ter efeitos tóxicos, dentre estes, os alcaloides das solanáceas (FIGURA 1) são conhecidos por além de possuir uma ampla variedade de moléculas diferentes, os alcaloides são os mais comuns dentre os metabólitos biologicamente ativos dessa família (CHOWAŃSKI, *et al.*, 2016).

FIGURA 1 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DE ALCALOIDES ENCONTRADOS EM SOLANÁCEAS



FONTE: CHOWAŃSKI (2016).

Terapeuticamente os alcaloides das solanáceas são conhecidos por ser agentes anticolinérgicos significativamente potentes, modulando negativamente/inibindo os sinais neurológicos do neurotransmissor endógeno acetilcolina (SHAH, 2016). Desta forma os alcaloides de solanáceas podem ser utilizados também para o tratamento de intoxicações/envenenamentos por pesticidas e armamentos químicos como o Sarin. São ainda comumente empregados no tratamento de muitos tipos de reações alérgicas e utilizados pelo seu potencial antiemético por pessoas que estão em tratamento de quimioterapia (KOWALCZYK *et al.*, 2022; SHAH, 2016).

As espécies que contêm alcaloides representam significativos recursos farmacológicos, contudo possuem alto impacto fisiológico para organismos vivos. Sendo que sua toxicidade tem um alto impacto fisiológico para os animais, incluindo o ser humano, podendo variar entre uma leve irritação/inflamação e uma fatalidade com pequenas quantidades destes metabólitos (CHOWAŃSKI *et al.*, 2016; SHAH, 2016).

As propriedades biológicas de muitas plantas pertencentes a família das solanáceas ainda não foram investigadas, o que representa um desafio por um lado e uma oportunidade para tratamentos terapêuticos por outro (KOWALCZYK *et al.*, 2022).

2.2 GÊNERO *SOLANUM*

O gênero *Solanum* é o maior dentro da família Solanaceae compreendendo mais de 2000 espécies, considerado um grupo cosmopolita por conta destas plantas estarem distribuídas por todo o globo (FRODIN, 2004; KAUNDA & ZHANG, 2019; OLMSTEAD & BOHS, 2007). Esse gênero foi descrito primeiramente por Linnaeus (1753), que o categorizou em dois grupos, se baseando na presença ou ausência de espinhos.

De acordo com a revisão de Kaunda, 2019 o gênero *Solanum* está distribuído pela região tropical e subtropical da Ásia, África (região não árida) nas américas, Austrália e Índia. No Brasil o gênero *Solanum* é distribuído de norte a sul em várias regiões fitogeográficas, tendo espécies desse gênero sendo catalogadas na Bahia, Ceará, Mato Grosso do Sul, Paraná e Santa Catarina contando um total de 269 espécies do gênero *Solanum* no Brasil (STEHMANN, 2015; KAUNDA & ZHANG, 2019).

Sendo extensivamente utilizadas na medicina popular, as plantas do gênero *Solanum*, possuem um grande potencial terapêutico, podendo ser utilizadas como novas fontes para fármacos. Tendo diversos experimentos sido feitos para se comprovar a aplicação medicinal desses compostos, validando a medicina tradicional relacionada ao gênero *Solanum* (KAUNDA & ZHANG, 2019; PAUMGARTTEN *et al.*, 2022).

Segundo a revisão de Kaunda (2019), os estudos de atividade farmacológica com o gênero *Solanum* demonstraram efeitos analgésicos, anti-helmínticos, antialérgicos, anti-anêmicos, antiasmáticos, bactericidas, anti-câncer, antifúngicos, anti-histamínicos, anti-hipertensivos, anti-inflamatórios, anti-leishmania, anti-melanogénicos, anti-molluscidas, anti-nociceptivos, anti-psorícticos, antiplasmodial, anti-protozoários, anti-trypanossoma, antiurolítico, antivirais, cardiovasculares, diuréticos, hepato-protetivos, hipolipodêmicos, larvicidas, nefrotóxicos, espasmolíticos, schistosomicidas, vaso-relaxantes e vasoconstritores.

No gênero *Solanum* os grupos de substâncias mais frequentes são os alcaloides e os flavonoides, tendo que muitos alcaloides desse gênero estão

conjugados com um glicosídeo, denominados glicoalcaloides (MILNER *et al.*, 2011; SARMENTO *et al.*, 2003). No entanto ainda existem muitos outros grupos de metabólitos no gênero das solanáceas, esses compostos incluem saponinas esteroidais, pregnanos, lignanas, esteróis, fenóis, cumarinas, cumestanos, ácidos graxos e ésters (KAUNDA & ZHANG; 2019; MILNER *et al.*, 2011).

2.3 ALCALOIDES DE *SOLANUM SP.*

Os alcaloides são o grupo de metabólitos secundários dos vegetais que possuem a maior atividade farmacológica dentre os que possuem nitrogênio em sua estrutura. A etimologia desse composto provém de álcali-tipo, e de fato os alcaloides são bases orgânicas similares as bases orgânicas do tipo álcali (WINK, 1998; CHOWAŃSKI, 2016). Os alcaloides são considerados um grupo químico muito grande, com cerca de 12.000 alcaloides descritos. São definidos como compostos básicos que contêm nitrogênio em sua estrutura que são principalmente derivados de aminoácidos. Quando derivados de bases de terpenos, purinas e pirimidinas são considerados pseudo-alcaloides (CHOWAŃSKI, 2016).

Os glicoalcaloides esteroidais são um grupo de glicosídeos derivados de esteroides que contêm nitrogênio, e por conta da presença desse elemento não estar inserido em um grupo não proveniente de um aminoácido, são considerados pseudo-alcaloides, são principalmente encontrados em espécies vegetais das famílias Solanaceae e Liliaceae (CHOWAŃSKI, 2016). Os glicoalcaloides são constituídos de um esqueleto colestano com 27 carbonos (aglicona) ao qual se anexa uma molécula de carboidrato (de 1 a 5 monossacarídeos) na posição 3-OH da aglicona (RODDICK, 1996). As variações estruturais dos glicoalcaloides vegetais são divididos em 2 grupos principais que são diferenciados pelo tipo de esqueleto da aglicona (FRIEDMAN, 1997; CHOWAŃSKI, 2016).

Os glicoalcaloides do gênero *Solanum* são metabolitos secundários formados a partir dos mesmos precursores que esteróides como colesterol, colesteroanol e cicloartenol, essas moléculas são precursoras alternativas para a biosíntese do grupo aglicona. As agliconas estão divididas em cinco diferentes categorias

dependendo da sua estrutura: os solanidanos têm anéis indolizidínicos fundidos os espirosolanos têm uma porção alcalóide oxa-azaspirodecano, 22, 26-epiminocholestanos, a-epiminociclohemias, e 3-aminospirostanos. A maioria dos glicoalcaloides encontrados nas espécies pertencentes ao gênero *Solanum* pertencem aos grupos solanidanos e spirosolanos, sendo os spirosolanos formados por um tetrahydrofurano e um sistema biciclico de uma piperidina spiro-ligada com um oxa-azaspiro decano, como na solasodina. O tipo solanidano é constituído de um anel indolizidina, o qual é ligado por um nitrogênio terciário que conecta outro anel indolizidínico, como na solanidina. Em ambos os grupos principais de glicoalcaloides o nitrogênio pode estar ligado como um grupamento amina (NH₂) primária, livre ou metilada a qual forma bases simples de esteróides com anel fechado ao esqueleto (como uma amina secundária) ou em dois anéis como nitrogênio terciário, o que muitas vezes influencia nas características químicas da molécula (DINAN, 2001; CHOWAŃSKI, 2016).

Todos os tipos de glicoalcaloides podem conter ligações duplas e hidroxilas (OH) em várias posições e pelo menos 90 estruturas únicas de glicoalcaloides esteroidais, já foram identificados em 350 espécies do gênero *Solanum* (FRIEDMAN, 1997; CHOWAŃSKI, 2016).

Os glicoalcaloides são compostos potencialmente tóxicos que têm um papel no sistema de proteção da planta. O tomate e a batata são as plantas mais conhecidas e mais utilizadas neste grupo, e sintetizam constitutivamente níveis baixos de muitos glicoalcaloides diferentes. Contudo, sob stress (por exemplo, o aparecimento de herbívoros), aumentam a síntese destes compostos, e no caso da batata (*Solanum tuberosum* L.), os glicoalcaloides funcionam como substâncias de defesa contra agentes patogênicos e insetos (LACHMAN, 2001).

Glicoalcaloides individuais foram testados quanto à sua atividade em sistemas biológicos. No entanto, os glicoalcaloides atuam em sinergia, o que significa que a toxicidade dos glicoalcaloides individuais não preveem a toxicidade das misturas de glicoalcaloides (RAYBURN et al., 1994; SMITH et al., 2001). Os espirosolanos mostraram uma atividade inferior à dos solanidanos, sendo a solanidina a mais teratogénica em comparação com solasodina e tomatidina (GAFFIELD & KEELER,

1996). Outros espirosolanos, como a solamargina, têm efeitos anti-inflamatórios e parecem atuar contra o vírus da herpes e células cancerígenas (IKEDA et al., 2003; LAWSON, 2003; CARTER & LAKE, 2004; LIU et al., 2004).

A sua toxicidade baseia-se na sua atividade anti-colinesterase no sistema nervoso central, à ruptura das membranas celulares por complexação com 3 β -hydroxysteroids da membrana, e às alterações causadas no transporte ativo de íons através das membranas, resultando em perturbações no metabolismo geral do corpo (FRIEDMAN et al., 1992; KEUKENS et al., 1995; BLANKEMEYER et al., 1992). Os sintomas tóxicos nos humanos incluem perturbações neurológicas e gastrointestinais, tais como vômitos, dores de estômago, aumento do ritmo cardíaco, e alucinações. A natureza anfifílica dos glicoalcaloides é de grande contribuição para a sua atividade anti-colinesterase, sendo as agliconas como um grupo químico muito menos ativos do que os glicoalcaloides, contudo pesquisas subsequentes mostraram que embora a presença do grupo açúcar seja obrigatória para tal atividade, a estrutura aglicona determina o nível de atividade da molécula (RODDICK et al., 2001).

2.4 ESPÉCIE *Solanum sanctae-catharinae*

Solanum sanctae-catharinae Dunal também conhecida popularmente como Joá-manso ou Juá-uva é uma Solanaceae do gênero *Solanum* (TABELA 1), sendo esta uma espécie vegetal nativa, uma árvore semidecídua heliófita e pioneira, tendo como sinônimos *Solanum ochrandrum* Dunal e *Solanum citrifolium* (STEHMANN, 2015; LORENZI, 2011). Essa espécie pode atingir a altura de 3-6 metros, de copa aberta com ramos flexuosos, de râmulos cobertos por pubescência pálido-estrelada, com tronco curto e cilíndrico de 15-25 centímetros de diâmetro, revestido por casca fina e um pouco enrugada de cor acinzentada (LORENZI, 2011). As folhas são completas com o pecíolo espesso-pubescente, as folhas têm à disposição alterna, possui a base assimétrica-arredondada, a lâmina elíptica com o ápice acuminado ou longo agudo, é considerada uma folha de consistência membranácea com a face adaxial glabra e a face adaxial pálido-estrelada (LORENZI, 2011). Essa árvore

piorneira ocorre nos mais variados habitats desde solos muito úmidos até encostas íngremes e tanto no interior das florestas quanto nas orlas/bordas (LORENZI, 2011).

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE *S. Sanctae-catharinae* SEGUNDO SISTEMA ANGIOSPERM PHILOGENY GROUP IV

REINO	PLANTAE
FILO	TRACHEOPHYTA
CLASSE	EQUISETOPSIDA
SUBCLASSE	MAGNOLIIDAE
SUPERORDEM	ASTERANAE
ORDEM	SOLANALES
FAMÍLIA	SOLANACEAE
GÊNERO	SOLANUM
ESPÉCIE	<i>Solanum sanctae-catharinae</i>

FONTE: Tropicos (2023).

A distribuição de *S. Sanctae-catharinae* ocorre no domínio fitogeográfico da Mata Atlântica no Sul e no Sudeste do Brasil (FIGURA 2), foi confirmada sua presença nos tipos vegetacionais da Floresta Ciliar, Floresta Estacional semidecidual, Floresta Pluvial e Floresta Ombrófila Mista, assim estando presente nos estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais (STEHMANN, 2015).

FIGURA 2 – MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DE *Solanum sanctae-catharinae* NO BRASIL



FONTE: STEHMANN (2015).

LEGENDA: No mapa de distribuição geográfica de *S. Sanctae catharinae*, a região Sul está representada em azul e parte em vermelho representa a região Sudeste.

3 METODOLOGIA DA PESQUISA

3.1 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DA PESQUISA

A pesquisa é do tipo experimental e exploratória, possuindo fins práticos, incluindo vários experimentos para a pesquisa fitoquímica, morfoanatômica, de propriedades antioxidantes e atividades biológicas da espécie *Solanum Sanctae-catharinae*. Esse estudo também contempla uma revisão bibliográfica nas bases de pesquisa Google Acadêmico, Scielo, PubMed, Springer, Periódicos CAPES e Biblioteca Digital de Teses de Dissertações, para realizar a fundamentação teórica. Para a análise dos dados obtidos a pesquisa foi qualitativa e quantitativa.

FIGURA 3 – FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA UTILIZADA NA PESQUISA DE *S. sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023)

LEGENDA: Hex) Hexano, Clrf) Clorofórmio, AcEt) Acetato de etila, EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FH, Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto

Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético.

3.2 MATERIAL BOTÂNICO

As amostras de folhas e galhos de *Solanum sanctae-catharinae*, pertencente à família Solanaceae foram coletadas por Leandro Taborda da Rocha, Biólogo e mestrando em ciências farmacêuticas e Rodrigo Trompinski, graduando de Ciências biológicas, ambos alunos da UFPR. A coleta foi feita no Capão CIFLOMA da UFPR campus Jardim Botânico, na cidade de Curitiba, no estado do Paraná, com localização via GPS S25°26' 49.4" WO 49° 14' 21.7", no mês de março de 2022. A identificação foi feita por comparação com a espécie catalogada no Herbário Escola de Florestas da UFPR, de número 11836. A pesquisa foi registrada no Sisgen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento tradicional Associado) com número de cadastro A11D443 (FIGURA 4).

As partes aéreas (galhos e folhas) foram secas na Universidade Federal do Paraná, no laboratório de fitoquímica em estufa com circulação de ar forçada na temperatura de 50°C por cerca de 24 horas.

FIGURA 4 – FOTO DA EXSICATA DE *S. sanctae-catharinae* DEPOSITADA NO HERBÁRIO ESCOLA DE FLORESTAS DA UFPR



FONTE: O autor (2023).

3.3 ENSAIOS DE PUREZA

3.3.1 Perda por dessecação/Teor de umidade (Método gravimétrico)

Para realizar a determinação da perda por dessecação da espécie *S. sanctae-catharinae*, foram utilizados folhas e caules secundários fragmentados em triturador de facas e martelo. Foi pesado em balança analítica um cadinho de porcelana previamente acondicionados em um dessecador por 30 minutos, após

registrado o peso do cadinho vazio, foi depositado 3 g da droga vegetal em cada cadinho de porcelana. Os cadinhos com a amostra foram colocados em estufa a 100°C, por um período de 6 horas, até a amostra se manter em peso constante. Os cadinhos foram retirados da estufa e colocados para resfriamento em um dessecador por 30 minutos (FARMACOPEIA, 2019). Após este processo o cadinho contendo a amostra dessecada da espécie *S. sanctae-catharinae* foi pesada novamente e foi realizado o seguinte cálculo para a obtenção do teor da umidade da amostra:

$$\% \text{ umidade} = (P_a - P_s) / P_a \times 100$$

P_a = Peso do cadinho + peso da amostra, P_s = Peso do cadinho + peso da amostra seca.

Os testes foram feitos em triplicata, tendo a média dos três resultados como resultado final.

3.3.1 Determinação do resíduo por incineração

Para realizar a determinação do teor de cinzas totais foi utilizado os resíduos de sólidos inorgânicos na amostra seca resultantes do ensaio de perda por dessecação, e estes foram incinerados a 600±25°C em aparelho MUFLA até o peso constante, por cerca de 7 horas. Os cadinhos foram mantidos no aparelho MUFLA por 12 horas para resfriar e retirados da mufla e colocados no dessecador por 30 minutos. Em seguida a amostra foi pesada para determinação da percentagem (%) do teor das cinzas totais presentes na amostra (FARMACOPEIA, 2019). Realizou-se o seguinte cálculo:

$$\% \text{ de cinzas} = (P_a - P_i) / P_a \times 100$$

P_a = Peso do cadinho + peso da amostra, P_i = Peso do cadinho + peso da amostra incinerada.

Os testes foram feitos em triplicata, tendo a média dos três resultados como resultado final.

3.4 ANATOMIA DAS PARTES AÉREAS DE *S. sanctae-catharinae*

3.4.1 Análise macroscópica das folhas de *S. sanctae-catharinae*

A análise macroscópica das folhas foi feita de acordo com a metodologia descrita por SILVA, 1997. Foram utilizadas 20 folhas adultas e saudáveis (com o mínimo de patógenos possíveis) de *S. sanctae-catharinae*. Essas folhas foram colocadas sob papel milimetrado e foram medidas com o auxílio de uma régua a altura da base do pecíolo até o ápice da lâmina foliar (altura total), a altura da base da lâmina foliar até o ápice da lâmina foliar (altura da lâmina foliar) e foi medido a distância do terço médio da lâmina foliar entre uma margem e outra (largura da lâmina foliar).

3.4.2 Análise morfoanatômica das partes aéreas de *Solanum sanctae-catharinae*

Para o estudo morfoanatômico de *S. sanctae-catharinae* foram coletados galhos e folhas adultas que logo após a coleta, foram fixadas em FAA 50 (Formalina-Aceto-Álcool 50%; 5:5:90) (v/v) com o tempo mínimo de 36 horas (JOHANSEN, 1940). O processo de fixação tem a finalidade de provocar a morte do protoplasma, preservando e fixando os detalhes mais finos da estrutura e endurecer o material, facilitando os cortes à mão livre do material vegetal (OLIVEIRA, 2009). Após a fixação das partes aéreas, as mesmas foram lavadas seis vezes com álcool

70% (v/v) e após o material vegetal foi armazenada também em álcool 70% (v/v) para fins de preservação dos tecidos (BERLYN & MIKSHE, 1976).

Com o auxílio de um suporte de isopor e uma lâmina de barbear, foram feitos à mão livre no terço médio com a orientação transversal a nervura principal (OLIVEIRA, 2009). Para a visualização das estruturas basófilas e acidófilas de *S. sanctae-catharinae*, os cortes foram corados respectivamente com Fucsina e Azul de Astra (OLIVEIRA, 2009). Para visualizar os cortes em microscópio foi feita a montagem das lâminas, os cortes corados foram posicionados no centro da lâmina, então com duas gotas de glicerina 50% (v/v) aplicadas sobre os cortes, que foram fechados com lamínula e selados com esmalte transparente, com o intuito de preservar os materiais seccionados por mais tempo evitando o contato com o ambiente (KRAUS & ARDUIN 1997; PAULETE e BEČAK, 1976). As lâminas montadas foram analisadas no microscópio Olympus CX 31, onde estava acoplada a câmera fotográfica digital Olympus C-7070, no laboratório de farmacognosia da UEPG, campus Uvaranas.

3.5 TESTES MICROQUÍMICOS EM *S. sanctae-catharinae*

Para identificação dos principais metabólitos secundários de *S. sanctae-catharinae* cortes transversais da nervura central das folhas foram submetidos a testes microquímicos com reagentes específicos. Os reagentes Dragendorff e Wagner para alcaloides (BAERHEIM; VELPOORTE, 1983; FURR; MALBERG, 1981), lugol para amidos (COSTA, 1994), Sudan III para compostos lipofílicos (JOHANSEN, 1940), fluoroglucinol para lignina (JENSEN, 1982), 2N HCl para cristais de oxalato de cálcio (CHAMBERLAIN, 1932), vanilina clorídrica e cloreto férrico para compostos fenólicos (MACE & HOWELL 1974; JOHANSEN, 1940), dicromato de potássio para taninos (GABE, 1968) e azul de metileno para polissacarídeos ácidos (PEARSE, 1980).

3.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Para a análise das microestruturas presentes na superfície de *S. sanctae-catharinae* foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) segundo a metodologia de HADDAD, 2007 (modificado). Foram utilizados galhos e folhas adultas, que foram fixadas em FAA 50 com a metodologia previamente descrita na análise morfoanatômica. Foi seccionada a lâmina foliar em amostras retangulares de 2 x 3 cm do terço médio, foram seccionados em secção transversal amostras de pecíolo e caule de cerca de 1 cm de comprimento. As amostras em água destilada foram levadas ao sonicador (Digital Ultrasonic Cleaner CD-4860) por 15 minutos para evitar uma possível contaminação por fungos presentes na epiderme da planta, essas amostras então, foram submetidas a desidratação etanólica crescente, utilizando três soluções com respectivamente 80%, 90% e 100% (v/v) tendo as amostras permanecido 15 minutos em cada solução.

Após esse processo as amostras foram coladas com fita adesiva dupla face no stub e então as eletromicrofias foram feitas em alto vácuo e visualizadas microscópio eletrônico de varredura (VEGA3 TESCAN) (SOUZA, 1998), por meio de procedimento de ponto crítico (Balzers CPD 030) e então foram metalizadas com ouro (Balzers Sputtering SCD 030), a metalização da amostra com ouro aumenta a condutividade da superfície da amostra a ser analisada, por conta da fina camada de metal que por meio do bombeamento de íons pesados de argônio os átomos de ouro penetram/adentram todas as reentrâncias e proeminências das ultraestruturas da superfície da amostra, que foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM 6360 LV), que produziu micrografias eletrônicas que formam imagens tridimensionais das ultraestruturas das superfícies analisadas de *Solanum sanctae-catharinae*. Tendo esse procedimento sendo realizado no laboratório multiusuário (C-LABMU/PROPESP), na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Para a análise espectroscópica de Raios-X de energia dispersiva (EDS – Energy Dispersive X-ray Spectroscopy) foi feita de forma aleatória em cristais e em

células que não possuíam cristais como controle, com um raio-X detector. Com este acoplado ao MEV e operado nas mesmas condições de funcionamento explicitadas no parágrafo anterior para obter micrografias eletrônicas. Tendo esse procedimento também sido desempenhado no laboratório multiusuário (C-LABMU/PROPESP), na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

3.7 ENSAIO PARA ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR

A análise fitoquímica preliminar é de suma importância quando se trata de uma espécie vegetal que ainda não possui estudos farmacológicos, sendo os protocolos realizados com uma extração alcoólica (70%) e uma extração aquosa com água destilada. Os protocolos fitoquímicos empregados para essa bateria de ensaios por Moreira (1979, p. 3-19), adaptada por Miguel (2003), nas etapas descritas a seguir.

3.7.1 Metabólitos Solúveis em Álcool

Para a extração alcoólica foi utilizado 40g do material vegetal seco e triturado, logo após foi estabilizado em 200mL de álcool etílico, a 70% v/v. Este material foi deixado em maceração em banho-maria, a 75°C, por uma hora e trinta minutos. Depois da digestão o material foi filtrado em algodão e completamos o volume com o líquido extrator para 200mL. E então o extrato etanólico foi concentrado até um terço do seu volume e particionado com solventes de polaridade crescente: hexano, clorofórmio e acetato de etila, em funil de separação.

Para cada partição foram utilizados 200mL do solvente no extrato etanólico, sendo feitas dez extrações com 20mL com o respectivo solvente. Após a partição por polaridade crescente o resíduo do extrato é a fração hidroalcoólica remanescente, tendo seu volume completado para 200mL com etanol 70% v/v.

Essas 4 frações obtidas foram usadas para a pesquisa dos seguintes grupos fitoquímicos: alcaloides, leucoantocianidinas, cumarinas, heterosídeos flavônicos, substâncias iridoidais, heterosídeos antraquinônicos, esteróides e/ou triterpenos.

3.7.2 Pesquisa de alcaloides

A pesquisa qualitativa de alcaloides foi realizada utilizando reativos conhecidos como reativos gerais de alcaloides: mercúrio tetraiodeto de potássio (Reativo de Mayer), tetraiodeto bismuto de potássio (Reativo de Dragendorff), ácido sílico túngico (Reativo de Bertrand), Iodo Iodeto de potássio (Reativo de Bouchardat).

Para desempenhar a pesquisa de alcaloides foi retirada uma fração de 50 mL das 4 frações (hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica remanescente). As amostras foram evaporadas até *secura* em banho-maria a 70°C. Dissolveu-se o resíduo seco em 1mL de etanol (99,2%) e acrescentou-se 20mL de HCl (1%). Para cada reativo utilizado na pesquisa foram feitos 5 tubos de ensaio, cada um com 1mL do respectivo extrato clorídrico de cada amostra, para cada tubo adicionou-se três gotas dos reativos utilizados na pesquisa qualitativa de alcaloides.

Sendo desempenhada essa pesquisa utilizando reativos conhecidos para alcaloides que foram descritos abaixo. Sendo que são consideradas positivas as reações quando as amostras apresentaram as seguintes reações para cada reativo, indicando a presença de alcaloides:

- Mayer (mercúrio tetraiodeto de potássio): precipitado branco com turvação branca sutil.
- Dragendorff (tetraiodeto bismuto de potássio): precipitado com coloração de tijolo.
- Bouchardat (Iodo Iodeto de potássio): precipitado com coloração alaranjada.
- Bertrand (ácido sílico túngico): precipitado branco ou turvação branca sutil.

Foi utilizado um tubo de ensaio somente com uma amostra das frações particionadas em solventes o para controle negativo.

3.7.3 Pesquisa de leucoantocianidinas

Para a pesquisa de leucoantocianidinas foi retirada 10 mL de cada uma das quatro frações (hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica remanescente) e levados a secar em cápsulas de porcelana, sendo evaporadas em banho-maria (70° C). Após secar as frações foram resuspensas em 1 mL de etanol (99,2%) e então foi adicionado 5 gotas de HCl fumegante nas quatro frações, em seguida as cápsulas foram levadas à fervura em chapa de aquecimento.

Caso o extrato acidificado apresente coloração vermelha após levantar fervura, é considerado positivo para leucoantocianidinas.

3.7.4 Pesquisa de cumarinas

Para a pesquisa de Cumarinas foi amostrado 30 mL das 4 frações (hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica remanescente). As amostras foram colocadas em cápsulas de porcelana, e então apenas a fração hidroalcoólica remanescente foi acidificada com HCl 2 N até pH 1 e então todas as frações foram levadas à concentração de 5 mL em banho-maria (70° C). Posteriormente a fração hidroalcoólica remanescente foi extraída com éter etílico 2 vezes com 10 mL em funil de separação e após, levada a concentração de 5mL em banho-maria (70° C). Foram retirados 3 mL de cada fração e essas amostras foram colocadas em 4 tubos de ensaio, após foi adicionado 2 mL de NaOH N (recém preparado) e os tubos foram levados a câmara UV (366 nm) por 15 minutos. Se o tubo exposto a luz UV por 15 min apresentar fluorescência de coloração azul ou verde-amarelada, o resultado é considerado positivo.

3.7.5 Pesquisa de heterosídeos flavônicos

- Ensaio de Shinoda

Para essa pesquisa de heterosídeos flavônicos foi retirado 30 mL das 3 frações (hexano, clorofórmio, acetato de etila), as amostras foram colocadas em 3 cápsulas de porcelana e então foram evaporadas em banho-maria (70° C) até secura, a fração hidroalcoólica não é necessário evaporar, então foi amostrado 5 mL e acondicionado em tubo de ensaio. As frações evaporadas a secura foram resuspensas em 10 mL de etanol (99,2%), em seguida foram amostrados 5 mL dessas frações e dispensadas em tubo de ensaio, e então foi adicionado 1 cm de fita de Magnésio e 2 mL de HCl fumegante nos 4 tubos de ensaio dentro da capela em um becker com gelo. Quando a reação no tubo é positiva apresenta, coloração vermelho a vermelho-sangue para flavonol e dihidroflavonol, coloração amarela a vermelha para flavona, coloração vermelho tornando-se rosa para derivados antociânicos.

- Ensaio de Taubock

Para essa pesquisa de heterosídeos flavônicos foi transferido para cápsula de porcelana 10 mL de cada fração (hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica remanescente), em seguida as cápsulas foram evaporadas a secura em banho-maria (70° C). Após secura das amostras, foi adicionado 5 gotas de acetona e 30 mg de uma mistura racêmica (1:1) de ácido bórico e ácido oxálico em pó, após solubilizar a mistura oxálico bórica as frações foram levadas a secura em banho-maria (70°) e resuspensos em 5 mL de éter etílico, as frações etéreas então, foram dispensadas em tubos de ensaio e levadas a câmara UV (366 nm). Caso o tubo de ensaio apresente fluorescência amarela-esverdeada, é considerada positiva para flavononois.

3.7.6 Pesquisa de substâncias iridoidais

- Ensaio com Fluoroglucina

Para realizar o primeiro teste da pesquisa de substâncias iridoidais foram amostrados 2 mL de cada fração particionada (hexano, clorofórmio, acetato de etila), as amostras foram colocadas cada uma em um tubo de ensaio e então foi adicionado aos tubos 3 gotas de fluoroglucina 1% em etanol (v/v) e 1 mL de HCl concentrado. Demonstrando reação positiva para substâncias iridoidais gerais o tubo de ensaio apresenta coloração verde-escura.

- Ensaio com Ácido Sulfúrico

Para realizar o segundo teste da pesquisa de substâncias iridoidais foram amostrados 2 mL de cada fração particionada (hexano, clorofórmio, acetato de etila), as amostras foram colocadas cada uma em um tubo de ensaio e então foi adicionado aos tubos duas gotas de ácido sulfúrico concentrado. Demonstrando reação positiva o tubo de ensaio apresenta o aparecimento de coloração rosa violáceo.

- Ensaio com Vanilina

Para realizar o terceiro teste da pesquisa de substâncias iridoidais foram amostrados 2 mL de cada fração particionada (hexano, clorofórmio, acetato de etila), as amostras foram colocadas cada uma em um tubo de ensaio e então foi adicionado aos tubos 0,5 mL de vanilina 1% em etanol (v/v) e 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Demonstrando reação positiva o tubo de ensaio apresenta coloração rosa cereja.

3.7.7 Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos

Para realizar a pesquisa de heterosídeos antraquinônicos foram amostrados 30 mL de cada fração particionada (hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica remanescente) e cada uma foi transferida para balão de fundo redondo e depois acidificada com 5 mL de solução de ácido sulfúrico 10% (v/v), foram então adicionadas 5 pérolas de vidro em cada balão, que foi acoplado a condensadores de bolas de vidro, o sistema foi aquecido à fervura (80° C) por chapa de aquecimento e deixados em refluxo por 30 minutos. Após saírem do refluxo as frações, ainda quentes, foram filtradas em papel filtro, aos filtrados foi adicionado 30 mL de água destilada em cada um, e então a fração hidroalcoólica remanescente foi levada a funil de separação e extraída duas vezes com 10 mL de éter etílico sendo retirada a fração etérea para proceder o estudo. Os filtrados de hexano, clorofórmio e acetato de etila foram levados a funil de separação e então foi retirada a parte orgânica das frações. Então as frações foram concentradas a 5 mL em banho-maria (70° C), e depois cada uma foi transferida para um tubo de ensaio, tendo então sido realizada a reação de Borntranger, adicionando 5 mL de hidróxido de amônia e agitando lentamente. A reação é dada como positiva caso seja observado o desenvolvimento de coloração vermelha na fase alcalina, indicando a presença de naftoquinonas e/ou antraquinonas.

3.7.8 Pesquisa de triterpenos e/ou esteroides

Para realizar a pesquisa de triterpenos e/ou esteroides foram amostrados 30 mL de cada fração particionada (hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica remanescente), e estas frações foram transferidas cada uma para uma cápsula de porcelana, em seguida as cápsulas foram levadas para evaporar a secura em banho-maria (70° C). Após as frações secarem, elas foram resuspensas em clorofórmio em auxílio de bastão de vidro seco, e então filtrados em papel filtro. Os filtrados das 4 frações foram retiradas 3 amostras de cada um, sendo essas amostras de 0,1; 0,5; 1,0 mL, tendo que cada uma foi transferida para um tubo de

ensaio, tendo sido completado o volume dos tubos de ensaio com clorofórmio até 2 mL. Com os tubos de ensaio em suporte foi efetuada a reação de Libermann Bouchard em capela, adicionando 1 mL de ácido sulfúrico concentrado lentamente. Tendo reação positiva o tubo de ensaio apresenta a coloração rosa-escura ou azul para triterpenos pentacíclicos, a coloração verde para esteroides e a coloração amarela indica possivelmente a presença de metila em C₁₄.

3.7.9 Metabólitos Solúveis em Água

Para a extração aquosa foi utilizado 40g do material vegetal seco e triturado, logo após foi estabilizado em 200mL de água destilada. Este material foi deixado em maceração em banho-maria, a 75°C, por uma hora e trinta minutos. Depois da digestão o material foi filtrado em algodão e completado o volume com o líquido extrator para 200mL.

3.7.10 Pesquisa de heterosídeos antociânicos

Para realizar a pesquisa de heterosídeos antocianos foram realizadas duas reações de coloração. O primeiro teste consistiu em separar 3 amostras de 5 mL do extrato aquoso em 3 diferentes tubos de ensaio. O primeiro tubo foi acidificado com H₂SO₄ N (v/v) até pH 4, o segundo tubo foi alcalinizado com NaOH N (p/v) até pH 10 e o terceiro deve estar neutralizado, com pH neutro caso necessário. Para confirmar a presença de antocianinas o tubo acidificado deve desenvolver a coloração avermelhada, o tubo alcalinizado deve apresentar coloração azulada e no tubo de pH neutro deve ser notada a coloração violácea. Para o segundo teste foi levado ao funil de separação 10 mL do extrato aquoso e em seguida foi extraído com 10 mL de álcool butílico saturado com água duas vezes. Levar a evaporação em banho-maria (60° C) a fração butílica em cápsula de porcelana até o volume de 5 mL, após adicionar 5 gotas de HCL levar a ebulição em chapa de aquecimento. Caso a reação

apresente resultado positivo deve ser observado um efeito batocrômico com a mudança de função e desenvolvimento de coloração avermelhada pela formação da antocianidina.

3.7.11 Pesquisa de heterosídeos saponínicos

Para realizar a pesquisa de heterosídeos saponínicos foi realizado o teste da espuma. O teste foi feito utilizando 3 amostras de 5 mL do extrato aquoso adicionadas 3 diferentes tubos de ensaio. O primeiro tubo foi acidificado com H_2SO_4 N (v/v) até pH 4, o segundo tubo foi alcalinizado com NaOH 1N (p/v) até pH 10 e o terceiro deve estar neutralizado, com pH neutro caso necessário. Os tubos foram selados com o auxílio de plástico filme e uma rolha de cortiça e então agitados com movimentos succínicos por 5 minutos e então foram mantidos em repouso por 30 minutos. Caso a coluna de espuma apresente pelo menos 1 cm de comprimento o resultado é considerado positivo, contudo, esse teste não é determinante para a presença de saponinas e necessita de confirmação com o ensaio da hemólise.

3.7.12 Pesquisa de heterosídeos cianogenéticos

Para realizar a pesquisa de heterosídeos cianogenéticos foram realizados dois testes. O primeiro teste, com a reação do isopurpurato de sódio, utilizando o método de Guignard foi feito utilizando uma amostra de 5 mL do extrato aquoso adicionada em um tubo de ensaio (sem umedecer as paredes do tubo) e então foi adicionado 1 mL de H_2SO_4 N (v/v). Suspender uma tira de papel picro sódico com auxílio de uma rolha de cortiça, de modo a não encostar o papel no extrato acidificado. O tubo então, foi levado a banho-maria (60°C) por 30 minutos. Caso a reação apresente resultado positivo o papel picro sódico (de cor amarela) desenvolve uma coloração avermelhada, indicando a presença do heterosídeo

cianogenético pela formação do isopurpurato de sódio (de cor castanho-avermelhada). Para o segundo teste foi utilizada a reação de Schoembein para detectar a presença dos heterosídeos cianogenéticos. Foi adicionada a uma cápsula de porcelana 5 mL do extrato aquoso, 4 gotas de NaOH 10% (v/v), 3 cristais de sulfato ferroso e uma gota de cloreto férrico 1% (v/v). E então a cápsula foi levada a ebulição em chapa de aquecimento e após ebulir foi adicionada uma gota de HCl concentrado. Caso seja observado o desenvolvimento de coloração azul da Prússia ou anil, decorrente da formação do cianeto férrico, o resultado é considerado positivo.

3.7.13 Pesquisa de Taninos

Para realizar o ensaio fitoquímico de taninos foi amostrado 5 mL, para cada teste, e dispensado em tubo de ensaio. E então a pesquisa prosseguiu utilizando reativos conhecidos para taninos que foram descritos abaixo. Sendo que são consideradas positivas as reações quando as amostras apresentaram as seguintes reações para cada reativo, indicando a presença de taninos:

- Cloreto férrico 1%, 3 a 5 gotas: desenvolvimento de cor azul para taninos, verde para flavonoides e marrom para polifenóis;
- Sulfato de ferro amoniacal 1%, 2 gotas: desenvolvimento de cor azul para taninos, verde para flavonoides e marrom para polifenóis;
- Cianeto de potássio 10%, 1 ml com uma gota de ácido acético glacial: taninos contendo ácido gálico apresentam coloração azul, que se desfaz com a substância em repouso, mas que reaparece por agitação;
- Dicromato de potássio 1%; 3 gotas: desenvolvimento de precipitado indica que a reação foi positiva;

Com exceção do teste da gelatina e o teste com cloridrato de emetina. O teste da gelatina utilizou 3 amostras de 0,5; 1 e 2 mL do extrato aquoso. Essas amostras foram dispensadas em tubos de ensaio e posteriormente adicionado 2 mL de solução de gelatina 2,5% (p/v) recém preparada. O desenvolvimento de precipitado gelatinoso indica que a reação foi positiva. Para o teste com cloridrato de emetina foi amostrado 1 mL do extrato aquoso, que foi dispensado em em um tubo de ensaio. Ao tubo de ensaio foi adicionado 4 mL de H₂O destilada e então foram adicionadas 2 gotas da solução de cloridrato de emetina a 1%. Se houver o desenvolvimento de precipitado a reação é considerada positiva.

3.7.14 Pesquisa de amino grupo

A pesquisa de amino grupo foi desempenhada com uma amostra de 10 mL do extrato aquoso que foi dispensado em uma cápsula, esta foi levada a banho-maria (60° C) para evaporar até o volume de 5 mL. Com o extrato concentrado foi feita a deposição de 5 gotas deste em papel filtro, que após evaporar, foi adicionada uma gota de ninhidina 1% sobre o extrato seco. O papel filtro então, sobre uma placa de Petr, foi acondicionado em estufa (100° C) por 15 minutos. Caso desenvolva a coloração azul violácea o resultado é considerado positivo.

3.8 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO, ETANÓLICO-ACÉTICO E FRAÇÕES DAS PARTES AÉREAS DE *S. sanctae catharinae*

O extrato bruto foi obtido a partir de 2 kg das partes aéreas, secas e fragmentadas, em 7,5L de etanol, com a utilização do aparelho de Soxhlet, por 22 horas para cada 400 g de droga vegetal extraída. Após essa etapa o material vegetal remanescente foi extraído novamente por 12 horas com 5,55L de solução etanólica-acética (95:5). Estes extratos brutos foram concentrados em aparelho

evaporador rotatório em sistema de baixa pressão, até 550ml. E então os extratos brutos foram utilizados para obtenção das frações por partição líquido/líquido com solventes de diferentes polaridades (hexano, clorofórmio e acetato de etila) que após particionados foram levados ao banho maria (70° C) para remover o solvente residual. Assim obtendo as frações hexano, clorofórmio, acetato e remanescente.

3.8.1 Determinação do teor de sólidos totais e rendimento das extrações

Para a determinação do teor de sólidos totais foi amostrado 3 ml dos dois extratos brutos, o etanólico e o etanólico-acético, com auxílio de uma pipeta volumétrica e depositando em placa de Petri, tendo três placas de Petri para cada extrato, com estas sendo previamente dessecadas e taradas. As seis placas foram levadas a estufa, para dar início ao processo de dessecação, ficando por pelo menos 24h, até peso constante, e então as placas foram pesadas para obter as médias das triplicatas dos dois extratos brutos. Os valores de média então, foram submetidos a fórmula:

$$\text{Teor de Sólidos Total} = \frac{\text{Pes} \times \text{Vte}}{\text{Va} \times 100}$$

Pes= Peso do extrato seco (média)

Vte= Volume total do extrato

Va= Volume da amostra

Para o cálculo do rendimento das extrações foi necessário calcular os valores do percentual do teor de sólidos total de cada extração, que foram obtidos através da fórmula:

$$\% \text{ Teor de Sólidos Total} = \frac{Tst \times 100}{Ptpe}$$

Tst= Teor de sólidos total

Ptpe= Peso total de planta extraída

Com o resultado do percentual do teor de sólidos totais dos extratos brutos foi calculado o rendimento percentual das extrações através da fórmula:

$$\text{Rendimento \%} = \frac{Vte \times \%Tst}{Ptpe}$$

Vte= Volume total do extrato

%Tst= % Teor de sólidos total

Ptpe= Peso total de planta extraída

3.8.2 Particionamento dos extratos brutos extraídos de *S. sanctae-catharinae*

O particionamento líquido-líquido dos extratos etanólico e etanólico-acético foram feitos seguindo um gradiente de polaridade crescente utilizando os solventes (de grau analítico), nessa respectiva ordem, hexano, clorofórmio, acetato de etila. O extrato residual foi denominado hidroalcoólico remanescente. O particionamento do Extrato Bruto Etanólico foi feito em aparelho Soxhlet modificado, acoplado em um condensador de bolas de vidro e um balão de fundo redondo com capacidade de 1L, com 4 cacos de porcelana dentro (CARVALHO, 2001). O sistema foi aquecido por uma manta aquecedora, sendo deixado em refluxo até a cor do extrato no sifão do

Soxhlet estar translucido ou com uma tonalidade constante/persistente, o que levou cerca de 6 horas para cada solvente.

Após o fracionamento, os extratos particionados foram armazenados em frascos de vidro transparente com tampa de rosca e levados ao banho-maria (70° C) para remoção do solvente residual. Os frascos de vidro tiveram seu peso anotado/aferido com uma balança analítica, assim como o peso das amostras para futuros cálculos de rendimento.

3.8.3 Determinação do rendimento percentual das frações particionadas dos extratos brutos

Para calcular o rendimento percentual de cada fração particionada dos extratos brutos foi utilizada as frações particionadas (hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica remanescente) em aparelho Soxhlet descritas previamente. As frações foram depositadas em frascos transparentes com tampa de rosca, previamente limpos, dessecados e tarados o peso anotado. Os frascos com as partições foram evaporados em banho maria a 60° C, até que as frações obtivessem o aspecto de extrato seco ou extrato mole, retirando o máximo de solvente possível.

Após a evaporação do solvente, os frascos com as frações particionadas foram pesados em balança analítica. Com o peso respectivo de cada fração particionada foi possível calcular o rendimento percentual relativo ao teor de sólidos total dos extratos brutos com a fórmula:

$$\text{Rendimento da fração \%} = \frac{\text{Pee} \times \%Tst}{Tst}$$

Pee= Peso do extrato evaporado

%Tst= % Teor de sólidos total

Tst= Teor de sólidos total

3.9 SCREENING FITOQUÍMICO VIA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD).

Para realizar o screening fitoquímico via CCD, foram utilizadas as frações que apresentaram resultado positivo durante a marcha fitoquímica preliminar. Tendo que as frações que tiveram prévio resultado positivo foram testadas novamente via CCD para confirmar a presença e atestar caso exista mais de uma molécula do respectivo metabólito pesquisado na fração das frações particionadas de *S. sanctae-catharinae*. Como fase estacionária foram utilizadas placas de CCD Sílica Gel 60G F 254 (Merck), foram utilizados padrões de cada metabólito secundário como controle positivo, as fases móveis, reveladores e padrões utilizados estão descritos na TABELA 2.

TABELA 2 – FASES MÓVEIS E REVELADORES UTILIZADOS NA ANÁLISE VIA CCD

Metabólito Secundário	Padrão	Fase móvel	Revelador	Referência
Alcaloides	Papaverina	Clorofórmio: Metanol (95:05)	Dragendorff acético	Wagner, 1996
Glico-alcaloides	Glicoalcalóide de <i>S. mauritianum</i>	Acetato de etila: Piridina: Água (35:10:20)	Paraformaldeído- fosfórico	Wagner, 1996
Flavonoides	Quercetina	Acetato de etila: Ácido fórmico: Água (95:03:02)	NEU	Wagner, 1996
Cumarinas	Kelina	Tolueno: Acetato de etila (80:20)	NaOH 1N	Miguel, 2003
Esteroides e/ou triterpenos	Beta-Sitosterol	Tolueno: Acetato de etila (93:07)	Vanilina sulfúrica	Wagner, 1996
Saponinas	Glicosídeos saponosídico	Acetato de etila: Ácido fórmico: Acetona: Água (100:11:11:27)	Vanilina sulfúrica	Wagner, 1996

FONTE: O autor (2023).

3.10 ENSAIO ANTIBACTERIANO COM OS EXTRATOS BRUTOS E PARTIÇÕES DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO E ETANÓLICO-ACÉTICO DAS PARTES AÉREAS DE *S. sanctae-catharinae*.

Para realizar o teste antimicrobiano a fim de determinar a atividade antimicrobiana dos extratos e frações de *S. sanctae-catharinae*, foi utilizado o

método da concentração inibitória mínima (CIM), a metodologia que seguimos foi descrita por Surek *et al.*, 2021. Foram selecionadas 4 espécies de bactérias para serem submetidas ao teste, incluindo assim os grupos de bactérias gram positivas e gram negativas. Foram utilizados os seguintes microrganismos para o teste antimicrobiano *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923), *Escherichia coli* (ATCC® 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 27853), *Enterococcus faecalis* (ATCC® 29212).

As cepas foram preservadas em glicerol a -80°C, depois reativadas em caldo BHI e cultivadas em ágar Mueller-Hinton. No entanto, no caso de *E. coli* (ATCC 35218) e *E. faecalis* (ATCC 51299), elas foram cultivadas em ágar Mueller-Hinton contendo 100 µg/mL de ampicilina e 4 µg/mL de vancomicina, respectivamente.

3.10.1 Preparo dos inóculos

Os inóculos para as linhagens de referência foram preparados na forma de suspensões em tubos contendo solução salina estéril (NaCl a 0,85%) com uma concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC/ml, equivalente ao tubo 0,5 de McFarland.

3.10.2 Técnica de microdiluição em caldo para determinação da CIM

Utilizando microplacas de 96 poços com fundo em “U” foram preparadas as amostras, controle positivo e controle negativo. Os extratos brutos foram preparados na concentração de 20 mg/ml, sendo diluídos em DMSO. No primeiro poço foi adicionado 190,0 µL de caldo e 10 µL das soluções estoque das amostras em DMSO, totalizando 200 µL no micropoço, em seguida foram realizadas diluições seriadas transferindo 100 µL do primeiro micropoço para outro micropoço contendo 100 µL de caldo, após duas diluições foi dispensado 100 µL do terceiro micropoço. Esse procedimento foi repetido visando a obtenção das concentrações 1000 µg/mL; 500 µg/mL e 100 µg/mL). Ao final foram adicionadas 100 µL da suspensão

bacteriana para cada concentração (COCKERILL et al., 2012). Os controles negativos foram 95 µL de caldo, com 10 µL de suspensão bacteriana e 5 µL. As microplacas foram então mantidas em estufa bacteriológica a 35 °C por 24 horas para realização da leitura dos resultados. Todos os extratos e grupos incluídos no ensaio foram feitos em triplicata.

A determinação das concentrações que apresentaram inibição total ou parcial do crescimento bacteriano foi realizada a olho nu, caso o micropoço apresentasse turbidez significa que amostra testada não apresentou efeito antimicrobiano. As atividades de inibição do crescimento bacteriano apresentadas pelos extratos brutos foram classificadas de acordo com Pessini et al., (2003). onde CIM menor que 100 µg/mL é considerado bom, de 100,0 a 500,0 µg/mL moderado, de 500 a 1000 µg/mL fraco e acima de 1000 µg/mL é considerado inativo.

3.11 ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE A *Artemia salina* Leach. COM OS EXTRATOS BRUTOS E PARTIÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*.

O ensaio de toxicidade preliminar frente à *Artemia salina* desenvolvido por Meyer e colaboradores em 1982, é um ensaio biológico eficiente para determinar a toxicidade de extratos vegetais, além de ser um teste acessível por necessitar de um baixo investimento, não necessita um ambiente asséptico e pode ser feito rapidamente, dentro de até 72 horas. Esse ensaio também demanda um alto número de organismos para realizar a análise estatística (MEYER, B. N. et al., 1982; HAMIDI, 2014).

3.11.1 Preparo da solução salina para incubação dos ovos de *A. salina*.

A solução salina, utilizada para simular a água do mar, foi preparada dissolvendo 38g de sal marinho (Blue Treasure ®) (23g NaCl, 11 g MgCl₂·6H₂O; 4 g Na₂SO₄; 1,3 g CaCl₂·2H₂O ou CaCl₂·6H₂O; 0,7 g KCl) em 800mL de água destilada.

Para realizar o ajuste do pH foi utilizada 1 mL de solução saturada com Na_2CO_3 , basificando o meio para pH 9. Tendo que é relatado na literatura que a diminuição do pH durante a incubação causa a letalidade dos náuplios, é necessário um pH no mínimo superior a 6 para o desenvolvimento de *A. salina*, tendo ainda que um pH superior a 10,5 se torna tóxico para os náuplios (HAMIDI, 2014).

3.11.2 Eclosão dos Ovos de *A. salina*

Foram pesados 200 mg de ovos de *A. salina* e foram colocados em 400 mL de solução salina preparada anteriormente. A solução então foi mantida sob aeração constante por 48 horas para que os ovos eclodissem. Os ovos também foram expostos a luz incandescente durante todo o período de incubação, essa luz artificial (20W) também permitiu manter a temperatura entre 27° e 30° C.

3.11.3 Preparo das amostras com extratos brutos e frações particionadas de *S. sanctae-catharinae*

O teste de toxicidade com *A. salina* foi feito com amostras dos extratos brutos e frações particionadas de *S. sanctae-catharinae*. Para realizar o preparo das soluções estoque, cada amostra foi pesada em balança analítica 20 mg, que posteriormente foram diluídas em 10 mL de dimetil-sulfóxido (DMSO) com o auxílio de um aparelho sonicador.

Com uma pipeta automática (100 – 1000 μL) foram amostrados respectivamente 250; 190 e 125 μL para obter as concentrações de 1000; 750 e 500 μg com o volume final de 5 mL. Para as concentrações de 250 e 100 μg foi necessário realizar uma diluição da solução estoque original de 20 mg/mL para uma solução de 10 mg/mL, visto que o volume que seria amostrado da solução estoque original para essas concentrações seria muito pequeno, implicando em um aumento na margem de erro da amostragem. Desta solução de 10 mg/mL foram amostradas

com pipeta automática (20 – 200 μL) 125 e 50 μL para obter as concentrações de 250 e 100 $\mu\text{g/mL}$ com o volume final de 5 mL.

3.11.4 Acondicionamento dos náuplios de *A. salina* para o teste de toxicidade

Após colocar 3 mL de água do mar artificial em cada frasco de vidro com volume de 10 mL, foram selecionados 10 náuplios de *A. salina* em um volume de 1 mL para cada frasco que foram posteriormente depositadas nestes. Com as artemias acondicionadas nos frascos foram depositadas as amostras vegetais sendo adicionado o respectivo volume necessário para obter o volume final de 5 mL com os extratos e frações obtidas do vegetal. O grupo controle negativo foi feito com 500 controle negativo, feito com DMSO e controle positivo, feito a partir de uma solução estoque de 5 mg/mL de sulfato de quinidina em DMSO com as concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{g/mL}$. Todos os grupos e concentrações foram feitos em triplicata.

3.11.5 Análise estatística da toxicidade dos extratos vegetais de *S. sanctae-catharinae* frente à *Artemia salina*

Para realizar a análise estatística da toxicidade dos extratos frente ao modelo de estudo *in vivo* *A. Salina* foi utilizada o index de toxicidade de Meyer, que classifica como tóxico os compostos que apresentarem o CL50 (taxa percentual de mortalidade 50%) em concentração menor que 1000 $\mu\text{g/mL}$. Também foi utilizado a classificação de toxicidade de Clarkson para o teste com *A. salina*, que classifica de uma maneira mais específica dentro da faixa de toxicidade estabelecida por Meyer. Clarkson em 2004 em sua classificação de toxicidade estabeleceu que compostos que apresentem o CL50 entre 1000 e 500 $\mu\text{g/mL}$ são considerados de baixa toxicidade, entre 500 e 100 $\mu\text{g/mL}$ são considerados de média toxicidade e entre 100 e 0 $\mu\text{g/mL}$ são considerados de alta toxicidade.

A concentração média letal CL₅₀ das amostras do teste foi obtida com a taxa percentual de camarões mortos (após 24 horas da inoculação do extrato) contra o logaritmo da concentração da amostra (MEYER *et al.*, 1982; MOSHI *et al.*, 2010). Os valores CL₅₀ foram estimados utilizando uma análise de regressão de probit (FINNEY, 1971). O método estatístico de Finney foi incorporado em vários pacotes de software, incluindo IBM SPSS que foi utilizado nesse estudo, esse software permite cálculos computadorizados de CL₅₀ com intervalos de confiança. Os resultados obtidos por meio desses cálculos podem não estimar o valor de CL₅₀ exato do extrato, mas sem dúvida esses valores obtidos representam dados preliminares significativos para ensaios de toxicidade posteriores. Os dados obtidos do teste de toxicidade preeliminar com *A. salina* foram analisados posteriormente com o teste ANOVA (uma via) com teste de Tukey acoplado, utilizando o programa estatístico Past®, visando atestar a diferença estatística significativa entre os grupos e suas concentrações com o controle negativo e positivo.

3.12 DETERMINAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE *S. sanctae-catharinae*

Para realizar a avaliação do conteúdo de polifenóis totais foi utilizado o método espectrofotométrico em microplaca com reativo de Folin-Ciocalteu (SUREK, 2022). Nesse ensaio foram testados os extratos brutos e suas respectivas frações, sendo dez amostras no total.

Para a proceder com a análise, de cada extrato ou fração foi retirado 200 mg e diluído com 10 mL metanol grau analítico com auxílio de um sonicador, os frascos contendo as amostras foram submetidos a um banho ultrassônico por 45 minutos para assim obtermos uma solução estoque de 20 mg/mL. As soluções-estoque dos extratos e frações foram diluídas para a concentração de 200 µg/mL em metanol para proceder com o teste em microplaca.

Foi montada uma curva de calibração utilizando uma série de concentrações (25, 50, 75, 100 e 150 µg/mL) a partir de uma solução estoque com padrão de ácido

gálico em metanol 1 mg/mL, com um total de 5 pontos ($R^2 = 0,9909$), tendo o valor da equação da reta representada por $y = 0,0324x + 0,0373$. Essa curva de calibração foi utilizada para determinar as concentrações dos compostos fenólicos totais presentes nas amostras submetidas ao teste, utilizando como base os valores de absorbância medidos a 690 nm, em placa de fundo chato com 96 micropoços, com um espectrofotômetro (Shimadzu®, modelo UV-1601 PC).

Os valores de absorbância obtidos foram submetidos ao teste ANOVA (uma via) com teste de Tukey acoplado para testar a confiança e a diferença estatística significativa dos dados de cada amostra contra o controle. Os resultados foram expressos em microgramas equivalentes de ácido gálico por miligrama de extrato ($\mu\text{g EAG/mg}$) e foram obtidos por meio da média em triplicata dos valores da absorbância, substituindo o y da equação da reta obtido com a curva de calibração com ácido gálico.

3.13 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE *S. sanctae-catharinae*

Para realizar esse ensaio de determinação de flavonoides totais foram utilizados os extratos brutos e frações particionadas de *S. sanctae-catharinae*, as amostras analisadas foram preparadas da mesma maneira que no doseamento de polifenóis totais. Foram testadas no total 10 amostras provenientes dos extratos brutos e suas partições, consistindo em cinco frações do extrato bruto de galhos e cinco frações do extrato bruto de folhas (hidroalcoólico, hexano, clorofórmio, acetato de etila e a fração remanescente). E prosseguimos de acordo com o método de Devequi-Nunes (2018), com pequenas modificações (Dowd method) descrito, no artigo de Surek (2022) para avaliar quantitativamente o teor de flavonoides presentes em cada amostra testada.

Foi construída uma curva de calibração com uma solução estoque com o padrão de flavonoide quercetina em metanol na concentração de 1 mg/mL. A partir dessa solução estoque foram diluídas 5 concentrações, sendo essas 5, 10, 15, 20, 25 e 30 $\mu\text{g/mL}$, diluídas também metanol para montar uma curva de calibração com

5 pontos ($R^2 = 0,9908$), tendo o valor da equação da reta representada por $y = 0,0324x + 0,0373$. Foi utilizada essa equação para determinar a concentração de flavonoides totais com base nos valores da absorbância medidos em 540 nm, em placa de fundo chato com 96 micropoços, utilizando um espectrofotômetro (Shimadzu® modelo UV-1601 PC).

Os valores de absorbância obtidos foram submetidos ao teste ANOVA (uma via) com teste de Tukey acoplado para testar a confiança e a diferença estatística significativa dos dados de cada amostra contra o controle. Os resultados foram expressos em microgramas equivalentes de quercetina por miligrama de extrato ($\mu\text{g EQ/mg}$) em quercetina foram obtidos por meio da média em triplicata dos valores da absorbância, substituindo o y da equação da reta obtido com a curva de calibração com quercetina.

3.14 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE *S. sanctae-catharinae* UTILIZANDO O TESTE COM FOSFOMOLIBDÊNIO

Para realizar esse ensaio de determinação do potencial da atividade antioxidante foram utilizados os extratos brutos e frações particionadas de *S. sanctae-catharinae*, as amostras analisadas foram preparadas da mesma maneira que no doseamento de polifenóis totais. Foram testadas no total 10 amostras provenientes dos extratos brutos e suas partições, consistindo em 4 frações do extrato bruto etanólico e 4 frações do extrato bruto acético das partes aéreas das partes aéreas de *S. sanctae-catharinae*. Para realizar esse ensaio de determinação do potencial da capacidade antioxidante foram utilizados os extratos brutos e frações particionadas de *S. sanctae-catharinae* foi utilizado o método de Prieto, Pineda e Aguilar (1999) com algumas modificações. As amostras analisadas foram preparadas da mesma maneira que no doseamento de polifenóis totais. Uma alíquota de 300 μL do extrato bruto, frações particionadas e padrão de ácido ascórbico (200 $\mu\text{g/mL}$), com exceção da fração hidroalcoólica remanescente do extrato etanólico que por ter ultrapassado o valor máximo de absorbância (<1000) foi

ajustada para 20 µg/mL, então as frações foram combinadas com 1 mL da solução reagente (ácido sulfúrico 0,6 M, fosfato de sódio 28 mM e molibdato de amônia 4 mM) e 1,5 mL de água purificada. Os tubos foram tampados (não selando completamente a rosca visto o risco de acidente) e incubados num banho maria (95 °C) durante 90 min. Depois de as amostras terem esfriado até a temperatura ambiente, 200 µL do conteúdo de cada tubo foi adicionado a uma cavidade de microplaca com 96 poços. A absorbâncias das soluções aquosas foram mensuradas usando uma leitora de microplacas Multiskan FC (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) a 690 nm contra o branco.

Uma solução em branco típica contendo 1 mL de solução reagente, 300 µL do mesmo solvente utilizado para a amostra e 1,5 mL de água purificada foi incubada nas mesmas condições que as restantes amostras. Para as amostras de extrato bruto e amostras particionadas por frações, a capacidade antioxidante solúvel em água foi expressa como o equivalente percentual de ácido ascórbico a 100% (% EQAA). Os valores de absorbância obtidos foram submetidos ao teste ANOVA (uma via) com teste de Tukey acoplado para testar a confiança e a diferença estatística significativa dos dados de cada amostra contra o controle.

3.15 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE *S. sanctae-catharinae* UTILIZANDO O TESTE COM RADICAL DPPH

A avaliação da propriedade antioxidante foi conduzida utilizando o método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) conforme descrito por com). Para realizar esse teste antioxidante com o radical DPPH foram utilizados os extratos brutos e frações particionadas de *S. sanctae-catharinae*, as amostras analisadas foram preparadas da mesma maneira que no doseamento de polifenóis totais e flavonoides totais. Foram testadas no total 10 amostras provenientes dos extratos brutos e suas partições, consistindo em 4 frações do extrato bruto etanólico e 4 frações do extrato bruto etanólico-acético das partes aéreas de *S. sanctae-catharinae*.

Para a realização do ensaio, uma solução de DPPH foi preparada pesando 0,0024 g e em seguida diluindo está em 50 mL de metanol (0,1 mMol/L) com o auxílio de um balão volumétrico âmbar. O ensaio foi conduzido em microplacas de 96 poços, sendo adicionados 190 µL de DPPH e 10 µL de cada amostra em cada poço. A curva de calibração apresentou um coeficiente de determinação $R^2=0,9893$ e uma equação de regressão linear $y = -0,0115x + 0,1956$. Utilizamos a fórmula a seguir para calcular a porcentagem de atividade antioxidante em relação ao Trolox:

$$\% \text{ da atividade antioxidante} = (MA - MCN / MB) \times 100.$$

MA: Média da Amostra Negativo; MCN: Media do Controle; e MB: Média do Branco

Os ensaios foram realizados em triplicata. Após 30 minutos de reação em repouso no escuro, as absorbâncias foram medidas a 540nm utilizando um leitor de microplacas Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA. Também foram feitos controles positivos com ácido ascórbico e BHT, também na concentração de 200 µg/mL em metanol, para comparação com as amostras de *S. sanctae-catharinae*. Os valores de absorbância obtidos foram submetidos ao teste ANOVA (uma via) com teste de Tukey acoplado para testar a confiança e a diferença estatística significativa dos dados de cada amostra contra o controle.

3.16 ISOLAMENTO DE SUBSTÂNCIAS EXTRAÍDAS DE *S. sanctae-catharinae* A PARTIR DAS FRAÇÕES HEXANO ETANÓLICO E HEXANO ETANÓLICO-ACÉTICO ATRAVÉS DE CROMATOGRAFIA EM COLUNA ABERTA

Após a análise das frações dos extratos por meio da bateria de testes histoquímicos e ensaio fitoquímico preliminar, com o intuito de identificar os grupos fitoquímicos presentes em cada amostra, selecionamos as frações hexano para eluir em coluna cromatográfica (FIGURAS 5 E 6).

FIGURA 5 - ELUIÇÃO DA FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA EM COLUNA CROMATOGRÁFICA SIMPLES



FONTE: O autor (2023).

Foram separados 40 g da fração hexano do extrato bruto etanólico e 1 g da fração hexano do extrato bruto etanólico acético extraído das partes aéreas de *S. sancte-catharinae*. Essas frações foram dissolvidas em clorofórmio e foram encapsuladas em sílica com auxílio de uma capsula e de um pistilo, a pastilha foi feita utilizando 5x o peso da fração em gramas, contudo é indicado utilizar a menor quantidade possível de sílica-gel (60 Merck® 0,063 - 0,200 mm).

FIGURA 6 - ELUIÇÃO DA FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA-ACÉTICA EM COLUNA CROMATOGRÁFICA SIMPLES



FONTE: O autor (2023).

Após a volatilização completa do solvente a pastilha estava pronta para ser depositada na coluna. Em uma coluna de vidro aberta simples, preparou-se a sílica-gel a ser depositada na proporção de 5 partes em relação à quantidade de pastilha, então foi dispensado 200 mL de hexano e eluído 100 mL do solvente visando compactar a sílica e assim retirar as bolsas/bolhas de ar. O 100 ml (deixando pelo menos “dois dedos” / 5 cm acima da sílica) de hexano restante foi mantido na coluna para receber a cápsula contendo a pastilha, evitando a formação de bolsa/bolhas de ar entre a sílica dentro da coluna. A pastilha foi colocada no topo da coluna com auxílio de um funil de bico longo e eluída com misturas de solventes orgânicos de

polaridade crescente, com alteração na composição a cada 100,0 mL de fase móvel aplicada. A eluição da amostra foi feita aplicando o método de graduação de fase móvel, o sistema de eluição começou com 100% de hexano, utilizando acetato de etila como gradiente de polaridade, com variação de 5% até 100% de acetato de etila. Foram coletadas frações de 10 mL em frascos diferentes, numerados e relacionados a cada grupo de frações correspondente à fase móvel utilizada. Os frascos foram acondicionados em local arejado e sem exposição direta a luz e em temperatura ambiente, favorecendo o processo de cristalização.

Após a primeira coluna com a fração hexano etanólica foi realizada outra coluna com as alíquotas mais promissoras da primeira coluna que apresentaram maiores quantidades de fitosteróis e ou terpenos, reveladas através por cromatografia em camada delgada, utilizando a fase móvel para esteroides e terpenos, tolueno e acetato de etila (97:3) e revelados com vanilina 1% e ácido fosfórico 10% (1:1), estufa a 100° C por 15 minutos.

3.17 CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS EXTRAÍDAS DE *S. sanctae-catharinae* UTILIZANDO ANÁLISE COM APARELHO DE RMN

Foram separadas 3 amostras das colunas cromatográficas para a análise de RMN, provenientes da fração hexano etanólica e fração etanólica-acética, foram designadas como CHE1 (proveniente da primeira coluna feita com a fração hexano-etanólica), C2HE1 (proveniente da segunda coluna feita com a fração hexano etanólica) e CHEA1 (proveniente da primeira coluna feita com a fração hexano etanólica-acética). Procedeu-se aos testes de solubilidade da amostra em clorofórmio e DMSO P.A, em seguida, essas amostras foram suspensas em 500 µL clorofórmio deuterado 97,5% (Cambridge Isotope Laboratories³), sendo solicitadas análises de RMN de ¹H e ¹³C. Para essas análises, utilizou-se o aparelho de Ressonância Magnética Nuclear Bruker DPX 200, operando a 4,7 Tesla, com observação dos núcleos de ¹H a 200,13 MHz e ¹³C a 50,62 MHz.

Os espectros resultantes foram investigados para realizar a elucidação da estrutura molecular desses compostos separados por cromatografia em coluna.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ENSAIOS DE PUREZA

4.1.1. Perda por dessecação (método gravimétrico)

A análise de perda por dessecação feita em triplicata e foi calculado o resultado médio com os desvios padrões das triplicatas e após submetida a fórmula apresentada na metodologia, obtemos o resultado de perda por dessecação de $7,54\% \pm 0,035$ do seu peso como droga vegetal da espécie *S. sanctae-catharinae* (TABELA 3). O resultado apresentado está de acordo com os padrões estabelecidos pela FARMACOPEIA Brasileira 6ed. de 2019, que é de até 10% para a família Solanaceae. O ensaio de perda por dessecação é usado para determinar a quantidade de substância volátil de qualquer natureza eliminada nas condições empregadas na monografia (FARMACOPEIA, 2019).

4.1.2. Determinação de resíduos por incineração

A análise da determinação de cinzas totais foi feita em triplicata com o valor médio com os desvios padrões dos pesos das triplicatas que depois foram submetidas a fórmula apresentada na metodologia, tendo obtido o resultado de $5,986\% \pm 0,026$ como percentual de cinzas totais da espécie *S. sanctae-catharinae* (TABELA 3). O resultado apresentado está de acordo com os padrões estabelecidos pela FARMACOPEIA Brasileira 6ed. de 2019, que é de até 16% para a família Solanaceae. O ensaio da determinação do resíduo por incineração é utilizado para determinar o conteúdo de impurezas inorgânicas presentes em uma substância orgânica, também é utilizada para a determinação de componentes inorgânicos em misturas e de impurezas presentes em substâncias inorgânicas termolábeis (FARMACOPEIA, 2019).

TABELA 3 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO MATERIAL VEGETAL FRAGMENTADO DAS PARTES AÉREAS DE *S. sanctae-catharinae*

Parâmetros de Qualidade	Resultados obtidos (média ± DP)
Teor de umidade	7,54% ± 0,035
Teor de resíduos incinerados	5,986% ± 0,026

Fonte: O autor (2023).

LEGENDA: DP) Desvio Padrão.

4.2 ANATOMIA DAS PARTES AÉREAS DE *S. sanctae-catharinae*

4.2.1. Análise macroscópica das folhas de *S. sanctae-catharinae*

A análise macroscópica das folhas foi feita com a média e os desvios padrões das medidas tomadas das folhas de *S. sanctae-catharinae* que apresentou como resultado das médias com 20 folhas adultas (FIGURA 7), a largura média do limbo foliar de $6,47 \pm 0,78$ cm, o comprimento médio do pecíolo de $2,41 \pm 0,51$ cm e a altura média da folha inteira de $18,80 \pm 1,89$ cm (Tabela 4). Após realizar medidas foi determinada a média ponderada dos parâmetros analisados a fim de determinar as medidas macroscópicas da folha de *Solanum sanctae-catharinae*.

TABELA 4 - MEDIDAS DAS FOLHAS OBTIDAS COM A ANÁLISE MACROSCÓPICA DE *S. sanctae-catharinae*

Região mensurada	Resultados obtidos (média ± DP)
Largura média do limbo	6,475 cm ± 0,78
Comprimento médio do pecíolo	2,41 cm ± 0,51
Comprimento médio da folha completa	18,805 cm ± 1,89

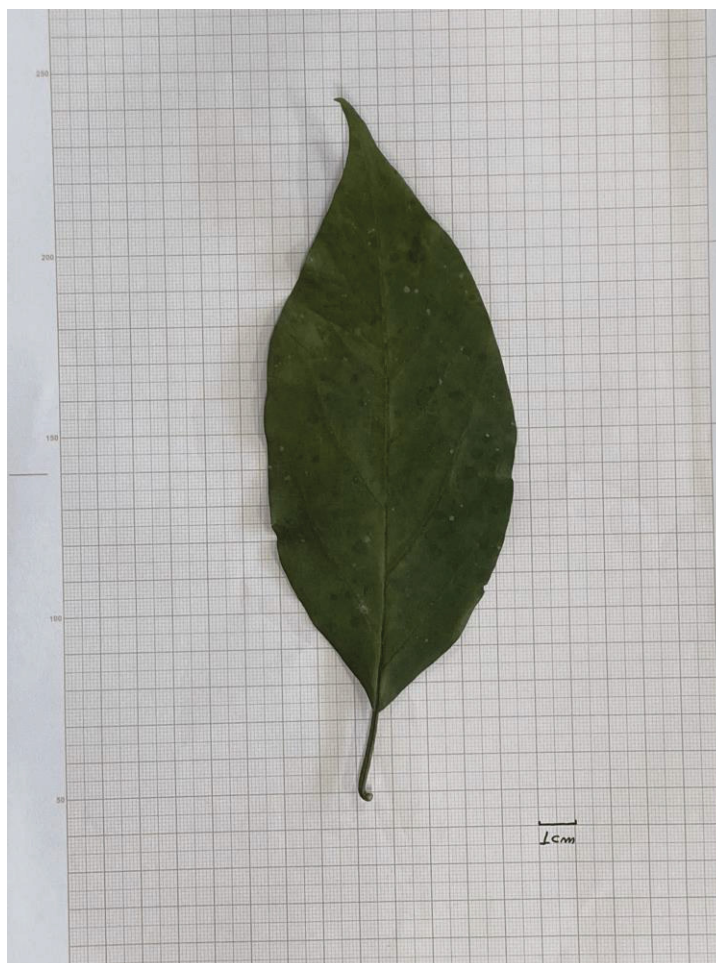
Fonte: O autor (2023).

LEGENDA: DP) Desvio Padrão.

Durante todo o período de pesquisa da espécie *Solanum sanctae-catharinae* não foi encontrada nenhuma descrição macroscópica que incluísse as medidas de

largura do limbo, comprimento do pecíolo e folha como um todo. Sugerindo que as informações apresentadas nesse trabalho contribuem para o auxílio da identificação taxonômica dessa espécie.

FIGURA 7 – FOTO DA FOLHA COMPLETA DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

4.2.2. Análise morfoanatômica de *S. sanctae-catharinae*

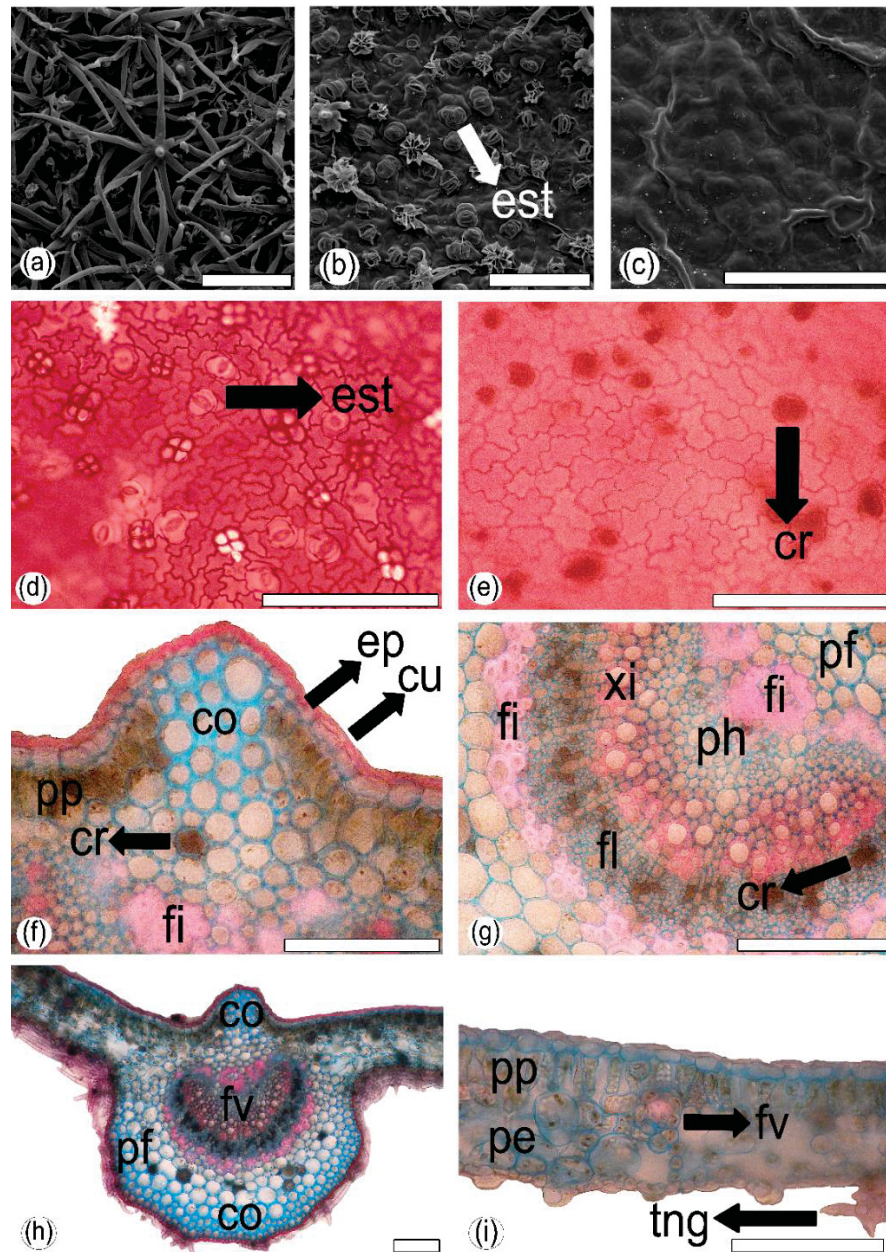
Em perspectiva frontal da epiderme da face adaxial, as células da epiderme se apresentam sinuosas e são observados idioblastos cristalíferos (FIGURA 8e). A face abaxial apresenta também, epiderme paredes anticlinais sinuosas e levemente espessadas, é hipoestomática com estômatos anomocíticos (FIGURA 8d). Foram

observados também tricomas tectores estrelados abundantes com estes tendo 4 células em sua base (FIGURA 8d).

Em secção transversal a epiderme é uniestratificada com células tabulares justapostas, com paredes periclinais com uma cutícula delgada e lisa. Os estômatos se mostram mais proeminentes em relação as células da epiderme (FIGURA 8f, i).

O mesofilo em secção transversal é dorsiventral, possuindo uma camada de parênquima paliádico unisseriado (FIGURA 8i), adjacente a este observa-se o parênquima lacunoso com 3-7 extratos com feixes vasculares colaterais de pequeno porte, com fibras justapostas ao floema (FIGURA 8i).

FIGURA 8 – PRANCHA DO LIMBO FOLIAR MONTADA COM FOTOS E ELETROMICROGRAFIAS DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: A) Eletromicrografia feita com MEV da face abaxial evidenciando os tricomas (40x); B) Eletromicrografia feita com MEV da face abaxial sem os tricomas evidenciando os estômatos (40x); C) Eletromicrografia feita com MEV da face adaxial evidenciando a cutícula e o contorno das células da epiderme (40x); D) Foto da face abaxial diafanizada em safranina evidenciando os estômatos (40x); E) Foto da face adaxial diafanizada em safranina evidenciando as células da epiderme e idioblastos cristalíferos (40x); F) Foto de corte transversal na nervura central em azul de alciano e fucsina evidenciando o colênquima espessado (40x); G) Foto de corte transversal

na nervura central em azul de alcião e fucsina evidenciando o sistema vascular (40x); H) Foto de corte transversal na nervura central em azul de alcião e fucsina em perspectiva ampla (4x); I – Foto de corte transversal no mesofilo em azul de alcião e fucsina evidenciando o parênquima paliçádico (40x) . (Barras do 10 μ M em A e B; Barras de 100 μ M de C – I). co, colênquima; cr, cristais; cu, cutícula; cx, córtex; ep, epiderme; est, estômato; fi, fibras; fl, floema; fv, feixe vascular; me, medula; pe, parênquima esponjoso; pf, parênquima fundamental; pp, parênquima paliçádico; tng, tricoma não glandular; xi, xilema. Barras de escala = 100 μ M.

A nervura central em secção transversal exibe um contorno biconvexo (FIGURA 8g, h), tendo na face adaxial a epiderme uniestratificada com células justapostas com tricomas estrelados, a epiderme é uniestratificada e revestida por uma cutícula delgada e lisa (FIGURA 8f, h, i). O colênquima é de angular a lamelar, formado por cerca de 5 camadas de células na face adaxial e 3 na face abaxial (FIGURA 8f, h). Tendo o sistema vascular formado por um feixe bicolateral, como um arco aberto/boomerang voltado para a face abaxial, sendo o floema circundado por uma bainha descontínua de fibras perivasculares. Na nervura também ocorrem tricomas tectores estrelados na face abaxial (FIGURA 8h, i).

Em secção transversal, a folha de *Solanum macrocarpon* L. apresenta a região da nervura central biconvexa e um mesofilo fino. A folha é dorsiventral e hipostomática, e sob a epiderme superior possui uma fileira de parênquima paliçádico que é descontínuo sobre a região da nervura central (ALSHERBINY, 2015). Na literatura, uma secção transversal da folha de *Solanum seaforthianum* Andrews também mostrou uma nervura central biconvexa (ALSHERBINY, 2015). Essas características também foram observadas em *S. sanctae-catharinae*.

As folhas de *Solanum americanum* Mill., *Solanum capsicoides*, *Solanum nigrum* L. e *Solanum gilo* Raddi. também apresentam células epidérmicas na superfície adaxial, que são irregulares com paredes anticlinais sinuosas (BELLO, 2017; DHARMAN & ANILKUMAR, 2018). A superfície abaxial de *S. americanum*, *S. nigrum*, *S. capsicoides* e *S. gilo* apresenta células epidérmicas de formato irregular, com paredes anticlinais profundamente sinuosas (BELLO, 2017; DHARMAN & ANILKUMAR, 2018). *Solanum indicum* Linn. e *Solanum macrocarpum* L. também são hipostomáticas, dorsiventrais e apresentam uma única e contínua camada de

parênquima paliçádico (SRIVIDYA, 2009; ALSHERBINY, 2015). *S. macrocarpum* e *S. capsicoides* também têm uma cutícula que cobre as células epidérmicas. Nestas plantas também foram observados idioblastos cristalíferos e abundantes tricomas estrelados multiangulares (DHARMAN & ANILKUMAR, 2018; ALSHERBINY, 2015).

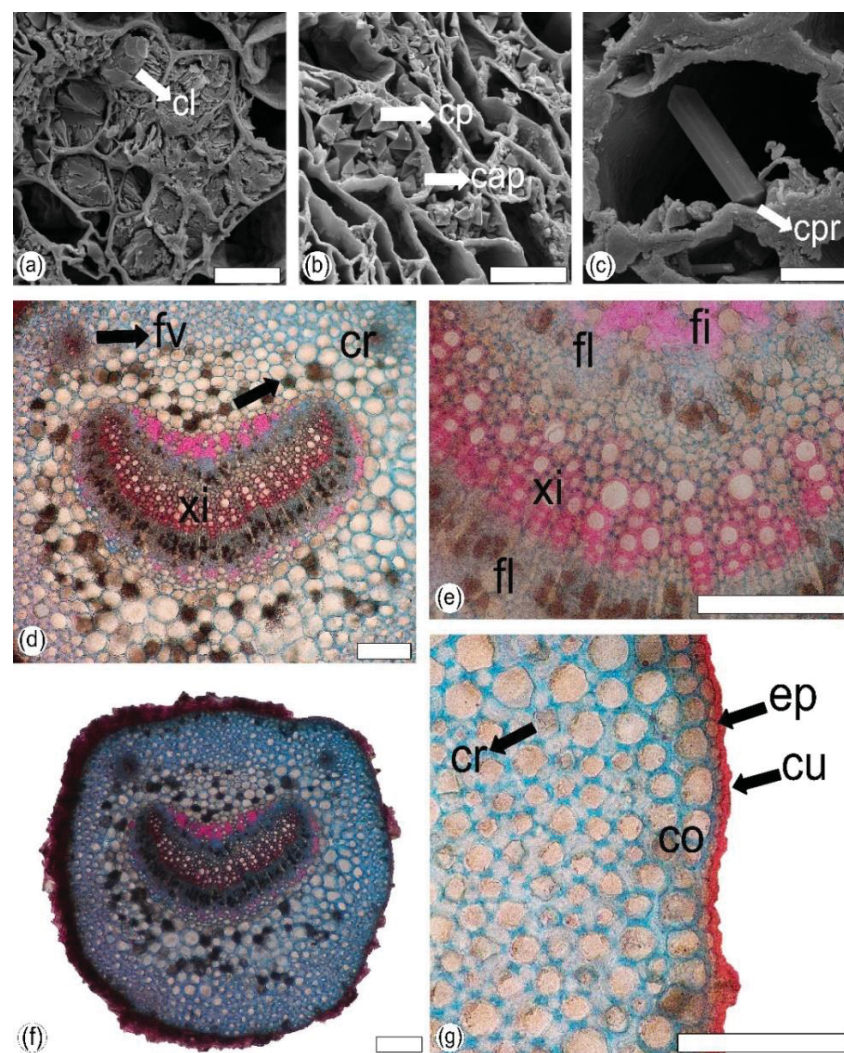
Outra espécie deste gênero, *Solanum granulosum-leprosum* Dunal, também apresenta idioblastos cristalíferos e tricomas estrelados na lâmina foliar (PICOLI, 2013). Ambos os tipos de tricomas encontrados em *S. sanctae-catharinae* também foram observados nas superfícies epidérmicas das folhas de *S. granuloso-leprosum*, estando estes tricomas de acordo com a literatura de Solanaceae visto que já haviam descrito essa característica para este grupo (SIDDIQI, 1980; D'ARCY et al, 2001; MAITI et al., 2002; ELIAS et al., 2003; ALIERO et al., 2006; ALVES et al., 2007; PICOLI et al., 2013). Nas espécies *Solanum erianthum* D. Don. e *S. gilo*, tricomas não glandulares, do tipo estrelado multiangulado, estão presentes e densamente distribuídos na superfície abaxial. *S. Indicum* revelou camadas epidérmicas abaxiais com um denso tapete de tricomas estrelados, principalmente na nervura central (SRIVIDYA, 2009), semelhante a *S. sanctae-catharinae*.

Os feixes vasculares bicolaterais e a ocorrência de feixes de floema intramedulares, situados profundamente na medula, são característicos da família Solanaceae (METCALFE & CHALK, 1950). *S. indicum* e *S. capsicoides* apresentam um feixe vascular, único e bicolateral (em forma de arco) (SRIVIDYA, A.R, 2009; ALSHERBINY, 2015). *S. indicum* também apresenta uma nervura central angular (SRIVIDYA, A.R, 2009). Outras espécies deste gênero também têm estomas anomocíticos presentes na epiderme abaxial: *S. capsicoides*, *Solanum gilo*, *Solanum crinitum* Lam., *Solanum nigrum* L., *Solanum gomphodes* Dunal, e *Solanum lycocarpum* A. St.-Hill. (ARAÚJO, 2010; FERREIRA, 2013; BELLO, 2017).

Levando em consideração as informações apresentadas acima podemos concluir que *S. sanctae-catharinae* não possui nenhuma característica única em suas folhas que a diferencie completamente de outras espécies do gênero *Solanum*, contudo temos que essa sequência de caracteres específicos descritos anteriormente contribui para o conhecimento científico inerente a esta espécie.

O pecíolo em secção transversal apresenta um contorno plano-convexo (FIGURA 9d, f) a epiderme é uniestratificada e unisseriada, com as células sendo justapostas com paredes periclinais externas com uma cutícula lisa e fina, apresentando também tricomas estrelados por toda epiderme. Adjunto da epiderme observamos uma camada de colênquima espesso do tipo lamelar a angular com 6-9 extratos celulares (FIGURA 9g). É possível observar a presença de idioblastos contendo cristais amorfos e raros cristais prismáticos (FIGURA 9a, b, c).

FIGURA 9 – PRANCHA DO PECÍOLO MONTADA COM FOTOS E ELETROMICROGRAFIAS DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: A) Eletromicrografia feita com MEV de corte transversal evidenciando os cristais lamelares e amorfos; B) Eletromicrografia feita com MEV de corte transversal evidenciando cristais prismáticos; C) Eletromicrografia feita com MEV de corte transversal evidenciando um cristal retângular/quadrangular; D) Foto de corte transversal na nervura central em azul de alcião e fucsina evidenciando o sistema vascular (10x); E) Foto de corte transversal na nervura central em azul de alcião e fucsina evidenciando os traqueófitos (40x); F) Foto de corte transversal na nervura central em azul de alcião e fucsina em perspectiva ampla do pecíolo (40x); G) Foto de corte transversal no pecíolo evidenciando o colênquima espesso em sua margem (4x). (Barras do 10µM em A – C; Barras de 100µM de D – G). cap, cristais de areia piramidal; co, colênquima; cx, córtex; cr, cristais; cl, cristais lamelares; cp, cristais piramidais; cpr, cristal prismático; cu, cutícula; ep, epiderme; fl, floema; fv, feixe vascular; xi, xilema. Barras de escala: a, b, c = 10 µM; d, e, f, g = 100 µM.

O sistema vascular é formado um feixe central bicolateral aberto, com floema interno e externo circundados também por bainha esclerenquimática descontínua, e dois traços dorsais, do tipo colateral (FIGURA 9d, e). O parênquima cortical apresenta maior quantidade de idioblastos cristalíferos em relação ao colênquima.

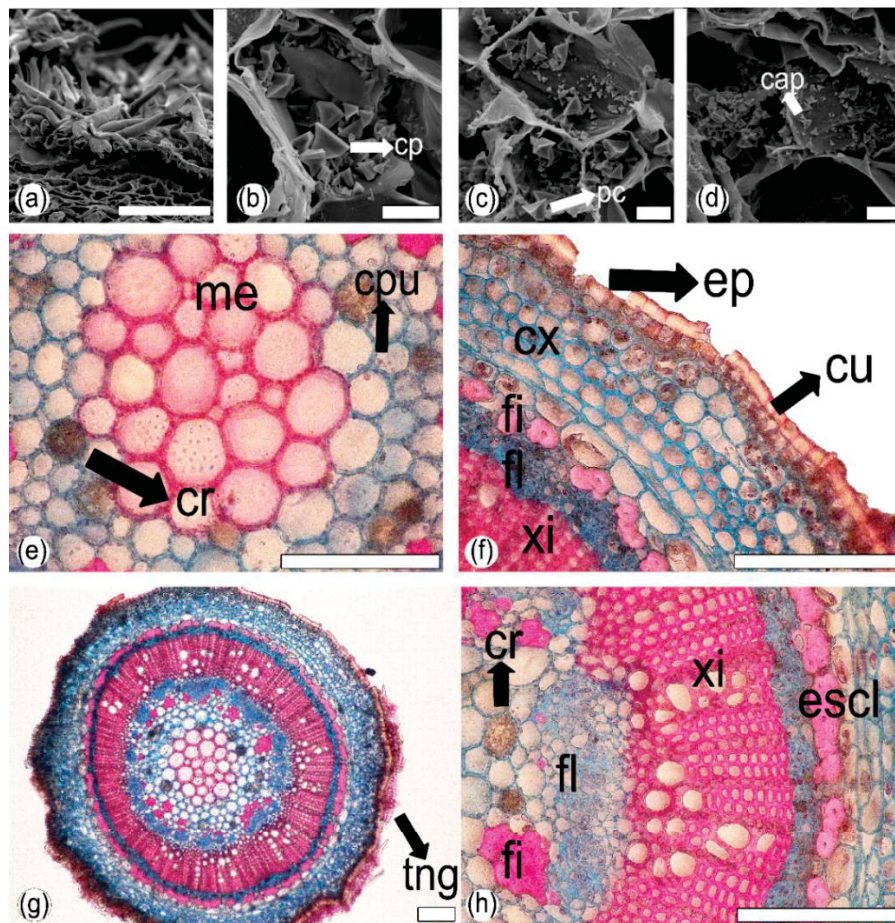
O pecíolo em secção transversal mostra a epiderme não estratificada e unisseriada, justaposta às paredes periclinais. Outras espécies do gênero *Solanum*, como *S. lycocarpum*, *Solanum crinitum* Lam., *Solanum caavurana* Vell. e *S. capsicoides*, também apresentaram pecíolos com epiderme uniestratificada com paredes periclinais (ARAÚJO, 2010; DELBY, 2009; FERREIRA, 2013). A literatura científica atesta que as espécies *S. lycocarpum*, e *S. crinitum* possuem o mesmo formato bicolateral do sistema vascular e apresentam tricomas estrelados no pecíolo semelhantes aos encontrados no pecíolo de *S. sanctae-catharinae* (ARAÚJO, 2010).

É possível observar a presença de idioblastos contendo cristais e raros cristais prismáticos, ambos de oxalato de cálcio, na região do pecíolo de *S. sanctae-catharinae* e tendo que o parênquima cortical apresenta a maioria dos idioblastos cristalíferos quando comparado com o colênquima, essas características podem ser utilizadas para diferenciar essa espécie de outras espécies de *Solanum* contempladas nesse estudo.

O caule em secção transversal em sua estrutura secundária, possui contorno circular (FIGURA 10g). Tendo a epiderme uniestratificada e unisseriada, com células retangulares justapostas revestidas por cutícula delgada e lisa, adjunto ao

colênquima do tipo lamelar a angular que possui de 5-7 camadas celulares, que formam um cilindro (FIGURA 10f, g, h). Adjacente a este cilindro são observados conjuntos de feixes esclerenquimáticos descontínuos e por cerca de 5 extratos de parênquima cortical que circundam os feixes de fibras esclerenquimáticas.

FIGURA 10 – PRANCHA DO CAULE MONTADA COM FOTOS E ELETROMICROGRAFIAS DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: A) Eletromicrografia feita com MEV de corte transversal evidenciando um tricoma tector; B, C e D) Eletromicrografia feita com MEV de corte transversal evidenciando cristais prismáticos; E) Foto de corte transversal na nervura central em azul de alciano e fucsina evidenciando o sistema vascular (40x); F) Foto de corte transversal na nervura central em azul de alciano e fucsina evidenciando a margem do caule (40x); G) Foto de corte transversal na nervura central em azul de alciano e fucsina em perspectiva ampla do caule (10x); H) Foto de corte transversal no pecíolo em azul de alciano e fucsina evidenciando o sistema vascular (40x). (Barras do 10µM em B – D; Barras de 100µM de A, E – H). cap, cristais de areia piramidais; co, colênquima; cp, cristal piramidal; cpu, cristal

piramidal único; cr, cristais; cu, cutícula; cx, córtex; ep, epiderme; escl, esclerênquima; fi, fibras; tng, tricoma não glandular; fl, floema; xi, xilema. Barras de escala: a, b, e, f, g, h = 100 µM; c, d = 10 µM.

O sistema vascular é formado um feixe central bicolateral tipo eustele (FIGURA 10e, f, g, h), delimitado por um extrato de feixes esclerenquimáticos descontínuos que circundam o floema externo. Adjacente ao floema externo são observados feixes esclerenquimáticos descontínuos que circundam o floema interno (FIGURA 10e, f, g). O xilema possui a forma de um cilindro contínuo e maciço tendo seus elementos de vaso dispostos radialmente permeando as fibras lignificadas.

S. capsicoides e *S. caavurana* também apresentam células epidérmicas do caule cobertas por uma cutícula e o feixe vascular principal é considerado bicolateral (DHARMAN & ANILKUMAR, 2018; DELBY, 2009). Outras espécies, como *S. macrocarpon*, *S. seaforthianum* e *S. caavurana*, apresentam um contorno arredondado semelhante (ALSHERBINY, 2015; DELBY, 2009). *S. capsicoides* também apresenta tricomas não glandulares na epiderme do caule (DHARMAN & ANILKUMAR, 2018). Cristais de oxalato de cálcio em idioblastos também foram observados em *S. erianthum*, *S. indicum*, *S. seaforthianum* e *S. macrocarpon* (BELLO, 2017; SRIVIDYA, 2009; ALSHERBINY, 2015). No entanto, apenas em *S. seaforthianum* e *S. macrocarpon* os cristais estavam localizados na medula e no córtex (ALSHERBINY, 2015), semelhante a *S. sanctae-catharinae*.

Considerando as características apresentadas acima por outras espécies do gênero *Solanum* sugerimos que no caso do caule também podemos concluir que *S. sanctae-catharinae* não possui nenhuma característica única em seu caule que a diferencie completamente de outras espécies do gênero *Solanum*, contudo temos que essa sequência de caracteres específicos descritos anteriormente colabora para o conhecimento científico inerente a esta espécie.

4.2.3. Testes microquímicos em *S. sanctae-catharinae*

Os testes microquímicos foram feitos utilizando seções transversais da nervura central da folha, pecíolo e caule de *S. sanctae-catharinae*, as seções apresentaram resultados positivos para alcaloides, compostos lipídicos, amido, lignina e cristais de

oxalato de cálcio. Também sendo notada a presença de idioblastos cristalíferos contendo cristais de oxalato de cálcio.

Os cortes transversais da nervura central da folha revelaram a presença de alcaloides com os reagentes Dragendorff e Wagner nos feixes vasculares do floema e na região do córtex (FIGURA 11a, b). Ainda na nervura central foi evidenciada a presença de amido, com o marcador histoquímico lugol, sendo notada a presença de amiloplastos no tecido parênquimático da região do córtex, circundando o floema (FIGURA 11c, d, e). O teste com Sudan III foi positivo para compostos lipídicos, revelando a presença de corpos lipídicos no clorênquima adaxial da nervura central da folha (FIGURA 11f). O teste com HCl 2N foi positivo para cristais de oxalato de cálcio, visto que durante o teste quando ocorreu a degradação dos corpos cristalíferos, esta não apresentou efervescência. Os cristais de oxalato de cálcio serão discutidos com maior atenção na seção 5.2.4. As seções transversais do caule apresentaram resultado positivo no teste com fluoroglucinol, evidenciando a presença de fibras esclerênquimáticas do sistema vascular (FIGURA 11g).

TABELA 5 – ANÁLISES DOS METABÓLITOS PRESENTES NAS PARTES AÉREAS DE *S. sanctae-catharinae* ATRAVÉS DE TESTES HISTOQUÍMICOS

Reagente	Metabólito	Resultado	Órgão
Dragendorff	Alcaloides	+	LF
Wagner	Alcaloides	+	LF
Lugol	Amido	+	LF
Sudan III	Compostos lipídicos	+	LF
HCl 2N	Oxalato de cálcio	+	LF; P
Fluoroglucinol	Lignina	+	C
Dicromato de potássio	Compostos fenólicos	-	-
Cloreto férrico	Compostos fenólicos	-	-
Vanilina clorídrica	Flavonoides	-	-
Azul de metileno	Polissacarídeos ácidos (mucilagem)	-	-

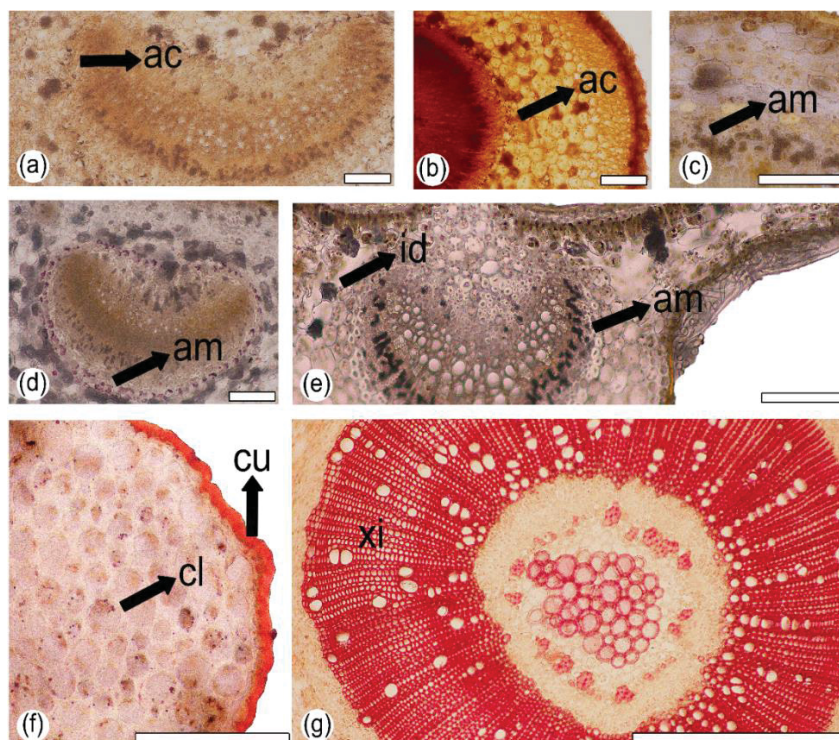
Fonte: O Autor

Nota: LF = Limbo Foliar, P = Pecíolo, C = Caule

Os testes histoquímicos com dicromato de potássio, cloreto férrico, vanilina clorídrica e azul de metileno apresentaram resultados negativos para as partes aéreas contempladas neste estudo.

Os metabólitos secundários estão provavelmente associados às propriedades terapêuticas das plantas medicinais, e a distribuição destes compostos orienta a forma como a utilização tradicional ocorre. Os testes histoquímicos são um método de baixo custo e eficaz para identificar componentes do metabolismo vegetal e sua distribuição nos tecidos. Esta abordagem é uma forma rápida para identificar metabólitos bioativos em plantas, além disso, a triagem histoquímica prévia pode facilitar a busca por compostos de interesse econômico em espécies de plantas relacionadas, resultando em um custo menor para a pesquisa farmacêutica (DE MIRANDA et al., 2012; DEMARCO et al., 2013; BEDETTI et al., 2014; MATIAS et al., 2016; SASLIS-LAGOUDAKIS et al., 2012). A análise histoquímica representa um passo importante para investigar diferentes resultados e comparar as diferenças entre estações, ambientes, órgãos e espécies vegetais (DE MIRANDA et al., 2012; ADAMS et al., 2013; MATIAS et al., 2016).

FIGURA 11 – PRANCHA MONTADA COM FOTOS DAS PARTES AÉREAS QUE APRESENTARAM RESULTADOS POSITIVOS NA BATERIA DE TESTES HISTOQUÍMICOS DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: Análise histoquímica das folhas de *S. sanctae-catharinae* (microscopia de luz, coradas com o reagente de Wagner, lugol, Sudam III e floroglucinol). A) Secção transversal de feixe vascular do pecíolo de *S. sanctae-catharinae* corado com o reagente de Wagner (10x). B) Secção transversal do córtex do caule de *S. sanctae-catharinae* corado com o reagente de Wagner (40x). C) Secção transversal do córtex da margem do caule de *S. sanctae-catharinae* corado com lugol (40x). D) Secção transversal de feixe vascular do pecíolo de *S. sanctae-catharinae* corado com lugol (10x). E) Secção transversal do córtex da face adaxial da nervura central da folha de *S. sanctae-catharinae* corado com lugol (10x). F) Secção transversal do córtex da nervura central da folha (face adaxial) de *S. sanctae-catharinae* corado com Sudam III (40x). G) Secção transversal do pecíolo de *S. sanctae-catharinae* corado com floroglucinol (40x), fibras em vermelho/laranja. ac, alcaloide; am, amido; cl, corpos lipídicos; cr, cristais; cu, cutícula; cx, córtex; ep, epiderme; xi, xilema. Barras de escala = 100 μm

É bem estabelecido que a família Solanaceae é conhecida por conter alcaloides (MAITI et al., 2002), este ensaio histoquímico apresenta um resultado positivo para a presença de alcaloides nos feixes vasculares do floema. No entanto,

em *S. capsicoides*, o teste de Wagner revelou a presença de alcaloides nos tricomas (DHARMAN & ANILKUMAR, 2018). No mesmo ensaio, Dharman & Anilkumar efetuaram um teste histoquímico com solução de lugol-iodo que revelou uma deposição abundante de grãos de amido no córtex do caule secundário. Esse teste revelou uma deposição semelhante em *S. sanctae-catharinae*, cujo teste de lugol para amido também indicou células parenquimáticas com amiloplastos na região do parênquima cortical. O teste histoquímico com Sudan III em *S. granuloso-leprosum* indicou a presença de corpos lipídicos no parênquima esponjoso (PICOLI, 2013), assim como observado em *S. sanctae-catharinae*, porém os corpos lipídicos nesta espécie foram encontrados por toda a área do mesofilo do limbo e nos tricomas estrelados. As substâncias lipídicas estavam presentes no parênquima clorofiliano de *S. granuloso-leprosum* e podem representar características notáveis num contexto ecológico e de utilização medicinal. Além disso, características histoquímicas e micro morfológicas sugerem que os tricomas não glandulares das folhas podem apresentar algum papel de proteção (PICOLI, 2013).

Considerando as características apresentadas acima por outras espécies do gênero *Solanum* inferimos que devido a presença de substâncias lipídicas nos tricomas estrelados, essa característica pode ser útil em uma identificação taxonômica. Contudo deve se levar em consideração que devido a não amostragem sazonal desse estudo essa característica deve ser explorada em futuros estudos para confirmar tal característica taxonômica. Finalmente podemos concluir que *S. sanctae-catharinae* não possui nenhuma característica única que a diferencie completamente de outras espécies do gênero *Solanum*.

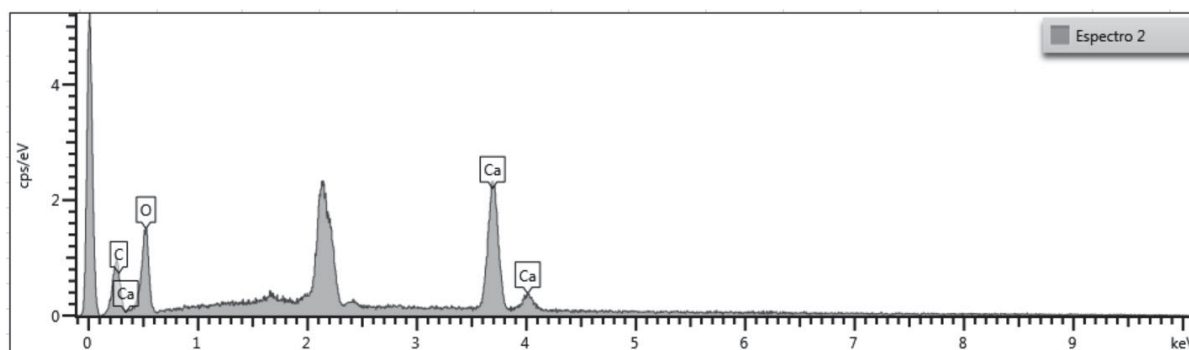
4.2.4. Análise dos cristais de *S. sanctae-catharinae*

A análise dos cristais pela microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva de raios X (X-ray EDS) no pecíolo, demonstrou a presença de cristais de oxalato de cálcio agrupados apenas no interior de idioblastos cristalíferos que estão localizados no tecido parenquimático na região do

córtex, com estes cristais possuindo os morfotipos piramidal lamelar e cristais de areia piramidal (FIGURA 9 a, b, c).

A mesma análise feita com o caule revelou que a maioria dos cristais estão agrupados com diferentes morfotipos e estão localizados no interior de idioblastos cristalíferos. Contudo alguns cristais isolados foram encontrados próximo a parede celular interna de células parenquimáticas. Através da análise X-ray EDS, verificamos a presença de Ca (cálcio), O (oxigênio) e C (carbono) (FIGURA 12), indicando a presença de cristais de oxalato de cálcio.

FIGURA 12 - Espectros de cristal pirâmidal EDS. Espectro de um idioblasto cristalífero de caule contendo cristais piramidais. Os picos não identificados correspondem ao elemento ouro utilizado na amostra de revestimento por pulverização com átomos de ouro.



FONTE: O autor (2023).

Os idioblastos cristalíferos estão presentes em todas as partes aéreas contempladas neste estudo. No caule os idioblastos cristalíferos foram encontrados ao redor da medula, no pecíolo e nervura central da folha os idioblastos cristalíferos foram encontrados na região do córtex.

A detecção com espectroscopia de energia dispersiva de raios X permitiu a descrição dos morfotipos dos cristais contidos nos idioblastos cristalíferos do caule, contendo cristais de oxalato de cálcio com o morfotipos piramidal e cristais de areia piramidal além destes também foi encontrado um idioblasto com um único cristal retangular prismático (FIGURA 10d), localizado na região da medula do caule (FIGURA 10b, c, d). Além destes também foi encontrado um cristal fora de um idioblasto na região do floema, próximo a medula (FIGURA 10e).

Com base na composição química obtida através da análise EDS, os cristais encontrados neste ensaio e a reação com HCl 2N confirmam que estes cristais são constituídos por oxalato de cálcio. A análise de cristais por EDS tem sido realizada para confirmar a composição química de cristais em várias espécies de plantas (TOLOUEI et al, 2019; PAES et al., 2020; D'ALMEIDA et al., 2021). A análise dos cristais por EDS demonstra que, devido às relações percentuais dos elementos, os cristais da amostra correspondem a cristais de oxalato de cálcio (CaC_2O_4) (KARABOURNIOTIS et al., 2020). A presença de cristais de areia piramidais foi relatada em várias outras espécies do gênero *Solanum* (METCALFE & CHALK, 1957). Também foi observada nos idioblastos do caule e pecíolo de *S. sanctae-catharinae*.

A síntese de cristais de oxalato de cálcio é realizada pelo ácido oxálico endógeno e pelo cálcio absorvido do ambiente, e o principal papel dos cristais parece ser o de regular a concentração de cálcio nos tecidos em desenvolvimento, o que é necessário para a expansão dos tecidos em mitose (FRANCESCHI & NAKATA, 2005; PAIVA & MACHADO, 2005; MATIAS, 2015). Os cristais de oxalato de cálcio estão relacionados com o papel de defesa da planta ao impedir a predação de herbívoros. Os cristais também são importantes no equilíbrio iônico, na rigidez dos tecidos, na remoção de metais pesados (como a desintoxicação do alumínio) da planta, e até mesmo na captação e reflexão da luz (NAKATA, 2003; FRANCESCHI & NAKATA, 2005; TÛTÛNCÛ, 2014; PAES, 2021). A análise de cristais vegetais é uma importante ferramenta para a investigação e caracterização sistemática, tanto ecofisiológica quanto filogenética, de muitos grupos vegetais (LERSTEN & HORNER, 2011). Além disso, a presença ou ausência de um determinado morfotipo de cristal e a sua localização dentro da planta são marcadores anatômicos cruciais que podem ser usados para resolver e construir melhores classificações e ajudar na resolução de problemas taxonômicos (RAESKI, 2023).

É possível observar a presença de idioblastos contendo os morfotipos específicos de cristais, que incluem cristais piramidais lamelares, cristais prismáticos únicos, cristais piramidais únicos e cristais de areia piramidais contribuem para o conhecimento científico inerente a essa espécie. Tendo também que a identificação

dos morfotipos de cristais de oxalato de cálcio previamente descritos desta espécie pode ser utilizada para diferenciar essa espécie de outras espécies de *Solanum* contempladas nesse estudo.

4.3 ENSAIOS PARA MARCHA FITOQUÍMICA PRELIMINAR

4.3.1. Pesquisa de alcaloides

A pesquisa de alcaloides foi realizada com o as frações do extrato de *S. sanctae-catharinae* utilizando os reativos gerais de alcaloides. Os testes apresentaram resultados positivos para alcaloides na fração hidroalcoólica remanescente com todos os reagentes na fração clorofórmio com o reagente Dragendorff. Resultado apresentado no TABELA 6.

Os resultados positivos indicados pela marcha fitoquímica preliminar com os reativos para alcaloides Dragendorff e Bouchardat / Wagner já eram esperados por conta dos resultados positivo dos mesmos reativos na bateria de testes histoquímicos. Além disso os resultados positivos na marcha fitoquímica preliminar também sugerem que por conta do resultado positivo para alcaloides na fração clorofórmio e hidroalcoólica remanescente podemos inferir que temos presença de um alcaloide terciário e um quaternário respectivamente.

4.3.2. Pesquisa de leucoantocianidinas

A pesquisa de leucoantocianidinas, feita com todas as frações particionadas do extratoetanólico 20% de *S. sanctae-catharinae*, apresentou resultado negativo. Resultado apresentado no TABELA 6.

4.3.3. Pesquisa de cumarinas

A pesquisa de cumarinas, feita com as frações do extrato etanólico 20% de *S. sanctae-catharinae*, obteve resultado positivo nas frações acetato de etila e hidroalcoólica remanescente. Apresentando respectivamente fluorescência azul e amarela-esverdeada. Resultado apresentado no TABELA 6.

4.3.4. Pesquisa de heterosídeos flavônicos

A pesquisa de heterosídeos flavônicos, feita com as frações do extratoetanólico 20% de *S. sanctae-catharinae*, obteve resultado positivo na fração hidroalcoólica remanescente nos testes de Shinoda e Taubock. Indicando a presença respectivamente de flavonol (coloração amarela-vermelha) e flavononois (fluorescência verde-amarelada). Resultado apresentado no TABELA 6.

Os resultados positivo na marcha fitoquímica preliminar com as reações para flavonoides não eram esperados visto que durante a marcha fitoquímica preliminar obtivemos resultado negativo para esse metabólito secundário. Além disso os resultados positivos na marcha fitoquímica preliminar para flavonoides ocorreram na fração hidroalcoólica remanescente sugere que esse flavonoide possa estar associado com uma molécula de açúcar por conta solubilização desse açúcar em meio etanólico/aquoso.

4.3.5. Pesquisa de substâncias iridoidais

A pesquisa de substâncias iridoidais, feita com todas as frações particionadas do extrato etanólico 20% de *S. sanctae-catharinae*, apresentou resultado negativo. Resultado apresentado no TABELA 6.

4.3.6. Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos

A pesquisa de heterosídeos antraquinônicos, feita com todas as frações particionadas do extrato etanólico 20% de *S. sanctae-catharinae*, apresentou resultado negativo. Resultado apresentado no TABELA 6.

4.3.7. Pesquisa de triterpenos e/ou esteroides

A pesquisa de triterpenos e/ou esteroides, feita com as frações do extrato etanólico 20% de *S. sanctae-catharinae*, obteve resultado positivo nas frações hexano, clorofórmio e acetato de etila. Apresentando respectivamente coloração esverdeada nos tubos de ensaio com a menor concentração utilizada, indicando a presença de esteroides de função hidroxila na posição 3 e duplo enlace em 5, 6. Resultado apresentado no TABELA 6.

O resultado positivo na marcha fitoquímica preliminar para esteroides com a reação de Liebermann Burchard, corroboram com o resultado positivo para substâncias lipídicas com Sudan III durante a bateria de testes histoquímicos. Além disso dentre as frações que deram resultado positivo, a fração hexano foi a que apresentou maior intensidade de coloração verde, seguido pela fração clorofórmio e fração acetato de etila. Isso sugere que dentre todas as frações que deram positivo a fração hexano é a que possui a maior quantidade de esteroides, seguida pela fração e fração acetato de etila respectivamente. A maior quantidade de esteroides na fração hexano se dá por conta da afinidade por substâncias apolares que esse solvente possui.

4.3.8. Pesquisa de heterosídeos antocianicos

A pesquisa de heterosídeos antocianicos, feita com o extrato aquoso 20% de *S. sanctae-catharinae*, apresentou resultado negativo. Resultado apresentado no TABELA 6.

4.3.9. Pesquisa de heterosídeos saponínicos

A pesquisa de heterosídeos saponínicos, feita com o extrato aquoso 20% de *S. sanctae-catharinae*, apresentou resultado positivo para o teste da espuma, que é indicativo para saponinas. Contudo um ensaio hemolítico é necessário para confirmar a presença dessa classe de moléculas no extrato bruto etanólico e etanólico-acético. Resultado apresentado no TABELA 6.

4.3.10. Pesquisa de heterosídeos cianogenéticos

A pesquisa de heterosídeos cianogenéticos, feita com o extrato aquoso 20% de *S. sanctae-catharinae*, apresentou resultado negativo. Resultado apresentado no TABELA 6.

4.3.11. Pesquisa de taninos

A pesquisa de taninos, feita com o extrato aquoso 20% de *S. sanctae-catharinae*, apresentou resultado negativo. Resultado apresentado no TABELA 6.

4.3.12. Pesquisa de amino grupo

A pesquisa de amino grupo, feita com o extrato aquoso 20% de *S. sanctae-catharinae*, apresentou resultado positivo no ensaio com ninhidrina. Resultado apresentado no TABELA 6.

TABELA 6 – ANÁLISES DOS METABÓLITOS DAS PARTES AÉREAS DE *Solanum sanctae-catharinae* POR MEIO DE TESTES FITOQUÍMICOS COM O EXTRATO ETANÓLICO 20% E AQUOSO

Reagente/Reação	Metabólitos	Frações Extrato Acoólico 20%			
		Hexano	Clorofórmio	Acetato de etila	Hidroalcoólica Remanescente
Mayer		-	-	-	+
Dragendorff		-	+	-	+
Bouchardat / Wagner		-	-	-	+
Bertrand	Alcaloides	-	-	-	+
Hidrólise (HCl)	Leucoantocianidinas	-	-	-	-
Quebra do anél lactônico + Luz UV	Cumarinas	-	-	+	+
Shinoda					
		-	-		+
Taubock	Heterosídeos flavônicos	-	-	-	+
Fluoroglucina + H ₂ SO ₄		-	-	-	-
Vanilina + H ₂ SO ₄		-	-	-	-
Carbonização (H ₂ SO ₄)	Iridoides	-	-	-	-
Borntrager	Heterosídeos antraquinônicos	-	-	-	-
Liebermann Burchard	Esteroides e/ou triterpenos	+	+	+	-

Extrato Aquoso		
Acidificação (HCl), alcalinização (NaOH) e neutralização		-
Extração com Butanol + Hidrólise (HCl)	Heterosídeos antociânicos	-
Agitação com movimentos succínicos/ Teste da espuma	Heterosídeos saponínicos	+
Isoporporato de sódio		-
Schoembein/ Azul da Prússia	Heterosídeos cianogénicos	-
Sulfato de ferro amoniacal		-
Cloridrato de papaverina		-
Cianeto de potássio		-
Dicromato de potássio	Taninos	-
Ninhidrina	Amino grupo/ Aminoácidos	+

FONTE: O autor (2023).

4.4 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO E ETANÓLICO-ACÉTICO DAS PARTES AÉREAS DE *S. sanctae-catharinae*

4.4.1. Determinação do teor de sólidos totais, seu percentual e rendimento das extrações

Com a análise do teor de sólidos totais e percentual do teor de sólidos totais dos extratos brutos etanólico e etanólico-acético, foi calculado o teor de sólidos totais e seu percentual do extrato etanólico foi respectivamente 155g, correspondendo à 7,75% do peso total de droga vegetal extraída e para o extrato etanólico-acético foi de 20,3g, correspondendo à 1,1% do peso total de droga vegetal extraída. Com o resultado do percentual do teor de sólidos totais foi calculado o valor de rendimento percentual de cada extração, de ambos os extratos brutos. A extração com álcool apresentou um rendimento de 7,754% e a extração

com etanol-acético teve um rendimento de 0,119%. Esses resultados estão dentro dos padrões estabelecidos pela FARMACOPEIA Brasileira 6ed. de 2019.

4.4.2. Determinação do rendimento percentual das frações particionadas dos extratos brutos das partes aéreas de *Solanum sanctae-catharinae*.

O extrato bruto etanólico das partes aéreas de *Solanum sanctae-catharinae* teve seu rendimento percentual relativo ao teor de sólidos totais, nas frações: hexano 27,52% (55,032g), clorofórmio 5,98% (11,962g), acetato de etila 1,42% (2,841g) e hidroalcoólica remanescente 33,19% (66,386g).

O extrato bruto etanólico-acético das partes aéreas de *Solanum sanctae-catharinae* apresentou o rendimento percentual relativo ao teor de sólidos total, nas frações: hexano 8,5% (1,565g), clorofórmio 12,9% (2,385g), acetato de etila 0,35% (0,648g) e hidroalcoólica remanescente 76,2% (11,064g).

TABELA 7 – ANÁLISES DO TEOR DE SÓLIDOS E RENDIMENTO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*

Amostra	Rendimento (g)	Rendimento percentual sob a matéria extraída/fracionada
EBE	155	7,754
EBEA	20,3	0,119
FHEBE	55,032	27,52
FHEBEA	1,565	8,5
FCEBE	11,962	5,98
FCEBEA	2,385	12,9
FAEEBE	2,841	1,42
FAEEBEA	0,648	0,35
FHREBE	66,386	33,19
FHREBEA	11,064	76,2

FONTE: O autor (2023).

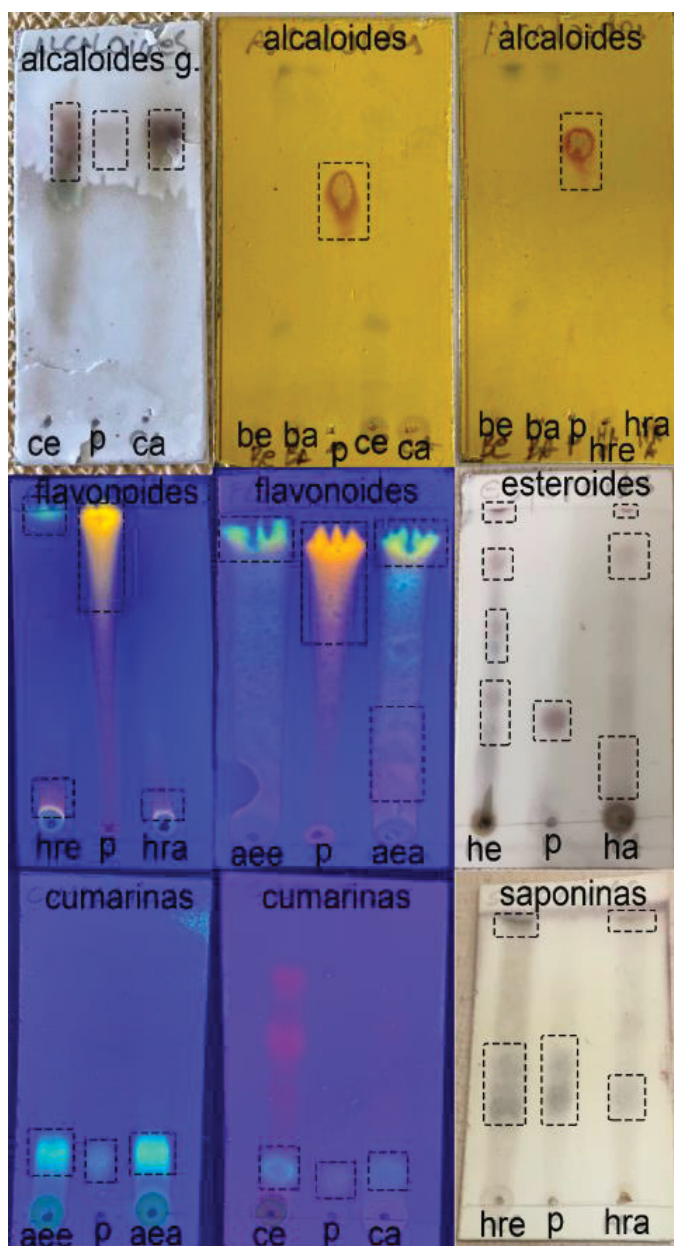
LEGENDA: EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético.

Somando os valores pesados das frações após o fracionamento foi determinado que o valor de perda por manipulação, decorrente do processo de fracionamento, para o extrato bruto etanólico foi de 12,115% e para o extrato bruto etanólico acético foi de 22,847%.

4.5 SCREENING FITOQUÍMICO VIA CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD).

Os extratos brutos e frações de *S. solanum sanctae-catharinae* analisadas via CCD confirmaram a presença dos metabólitos secundários previamente positivados no ensaio fitoquímico preliminar (FIGURA 13).

FIGURA 13 – PRANCHA MONTADA COM FOTOS DAS PLACAS DO SCREENING FITOQUÍMICO VIA CCD DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: aea, acetato de etila acético; aee, acetato de etila etanólico; ba, bruto acético; be, bruto etanólico; ca, clorofórmio acético; ce, clorofórmio etanólico; ha, hexano acético; he, hexano etanólico; hra, hidroalcoólico remanescente acético; hre, hidroalcoólico remanescente etanólico; p, padrão.

Como observado na FIGURA 13 o teste para alcaloides com o reativo de Dragendorff foi negativo, contudo, esse teste evidencia alcaloides terciários (que

possuem nitrogênio azoto). Posteriormente foi realizado um teste específico para alcaloides do gênero *Solanum*, que são ligados a uma molécula de açúcar, assim determinamos que os alcaloides presentes nas frações clorofórmio são glicosilados. Também foram evidenciados flavonoides nas quatro frações testadas sendo que três delas apresentaram mais de uma mancha (frações acetato de etila e fração remanescente etanólica), indicando mais de um flavonoide em cada fração, já na fração remanescente acética foi evidenciada apenas uma mancha, indicando a presença de apenas um flavonoide. No teste para esteroides e/ou triterpenos também foram evidenciados mais um esteroide em ambas as frações hexano. No teste para cumarinas as quatro frações (frações clorofórmio e frações acetato de etila) apresentaram resultado positivo e apenas uma mancha por fração indicando a presença de apenas uma molécula por fração. No teste para saponinas as frações remanescentes apresentaram resultado positivo e mais de uma mancha, indicando a presença de mais de uma molécula por fração.

4.6 ENSAIO ANTIBACTERIANO COM OS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*.

Os extratos brutos de *S. solanum sanctae-catharinae* em todas as concentrações testadas não apresentaram atividade contra nenhum dos microrganismos selecionados para o teste sendo estes *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923, *Escherichia coli* ATCC® 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212.

4.7 ENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE a *Artemia salina* Leach. COM OS EXTRATOS BRUTOS E PARTIÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*.

O extrato bruto etanólico extraído de *S. sanctae-catharinae* de acordo com o index de toxicidade de Meyer, para o ensaio de *A. salina*, demonstrou ser tóxico, apresentando o CL50 em concentração menor ou igual a 1000 µg/mL, sendo essas 1000, 750, 500 e 250 µg/mL. Referente a classificação de toxicidade de Clarkson,

para o ensaio com *A. salina*, o extrato bruto etanólico obtido de *S. sanctae-catharinae* é considerado de média toxicidade, tendo que obtivemos o CL50 com a concentração de 390 µg/mL. A classificação de toxicidade de Clarkson nos dá que quando o CL50 está entre 500 e 100 µg/mL é considerado de média toxicidade. As concentrações de 1000, 750, 500, 250 µg/mL demonstraram respectivamente as taxas percentuais de mortalidade de 77%, 63%, 55% e 43% tendo constatada diferença estatística significativa em relação ao controle. A concentração de 100 µg/mL não apresentou uma diferença estatística significativa quando comparado com o controle.

O extrato bruto etanólico-acético extraído de *S. sanctae-catharinae* de acordo com o index de toxicidade de Meyer, para o ensaio de *A. salina*, demonstrou ser tóxico, apresentando o CL50 em concentração menor ou igual a 1000 µg/mL. Referente a classificação de toxicidade de Clarkson, para o ensaio com *A. salina*, o extrato bruto etanólico obtido de *S. sanctae-catharinae* é considerado de baixa toxicidade, tendo que obtivemos o CL50 com a concentração de 835 µg/mL. A classificação de toxicidade de Clarkson nos dá que quando o CL50 está entre 1000 e 500 µg/mL é considerado de baixa toxicidade. As concentrações de 1000, 750, 500, 250 µg/mL demonstraram respectivamente as taxas percentuais de mortalidade de 60%, 47% e 27% tendo constatada diferença estatística significativa em relação ao controle. As concentrações de 250 e 100 µg/mL não apresentaram diferença estatística significativa quando comparadas com o controle.

As frações hexano do extrato bruto etanólico e extrato bruto etanólico-acético extraídos de *S. sanctae-catharinae* de acordo com o index de toxicidade de Meyer, para o ensaio de *A. salina*, demonstraram não ser tóxicos, apresentando o CL50 em concentração maior que 1000 µg/mL. Referente a classificação de toxicidade de Clarkson, para o ensaio com *A. salina*, as frações hexano dos extratos brutos obtido de *S. sanctae-catharinae* são considerados não tóxicos. Não foi possível obter o valor da CL50 com o intervalo de 95% de confiança visto que as concentrações não apresentaram uma curva de toxicidade dose-dependente para frações hexano do extrato bruto etanólico e extrato bruto etanólico-acético. A classificação de toxicidade de Clarkson nos dá que quando o CL50 está acima de 1000 µg/mL é considerado

não tóxico, tendo que obtivemos o CL50 com a concentração de 2213 µg/mL para fração hexano do extrato etanólico e 2522 µg/mL para a fração hexano do extrato bruto etanólico acético. As concentrações de 1000, 750, 500, 250 e 100 µg/mL não demonstraram toxicidade, as concentrações testadas não apresentaram diferença estatística significativa quando comparadas com o controle.

A fração clorofórmio do extrato bruto etanólico extraído de *S. sanctae-catharinae* de acordo com o index de toxicidade de Meyer, para o ensaio de *A. salina*, demonstrou ser tóxico, apresentando o CL50 em concentração menor ou igual a 1000 µg/mL. Referente a classificação de toxicidade de Clarkson, para o ensaio com *A. salina*, a fração clorofórmio do extrato bruto etanólico obtido de *S. sanctae-catharinae* é considerado de baixa toxicidade, tendo que obtivemos o CL50 com a concentração de 994 µg/mL. A classificação de toxicidade de Clarkson nos dá que quando o CL50 está entre 1000 e 500 µg/mL é considerado de baixa toxicidade. As concentrações de 1000, 750, 500 e 250 µg/mL demonstraram a taxa percentual de mortalidade de 60%, 36% e 33% respectivamente, tendo essas concentrações uma diferença estatística significativa constatada em relação ao controle. A concentrações de 250 e 100 µg/mL não apresentaram diferença estatística significativa quando comparadas com o controle.

A fração clorofórmio do extrato bruto etanólico-acético extraído de *S. sanctae-catharinae* de acordo com o index de toxicidade de Meyer, para o ensaio de *A. salina*, demonstrou não ser tóxico, apresentando o CL50 em concentração maior que 1000 µg/mL. Referente a classificação de toxicidade de Clarkson, para o ensaio com *A. salina*, a fração clorofórmio do extrato bruto etanólico-acético obtido de *S. sanctae-catharinae* é considerado de não toxico, tendo que obtivemos o CL50 com a concentração de 1385 µg/mL. Não foi possível obter o valor da CL50 com o intervalo de 95% de confiança visto que a concentração não apresentou uma curva de toxicidade dose-dependente para a fração clorofórmio do extrato bruto etanólico-acético. A classificação de toxicidade de Clarkson nos dá que quando o CL50 está entre 1000 e 500 µg/mL é considerado de baixa toxicidade. As concentrações de 750, 500, 250 e 100 µg/mL não apresentaram toxicidade não sendo constatada uma

diferença estatística significativa quando essas concentrações foram comparadas com o controle.

As frações acetato de etila do extrato bruto etanólico e extrato bruto etanólico-acético extraídos de *S. sanctae-catharinae* de acordo com o index de toxicidade de Meyer, para o ensaio de *A. salina*, demonstraram não ser tóxicos, apresentando o CL50 em concentrações maiores que 1000 µg/mL. Referente a classificação de toxicidade de Clarkson, para o ensaio com *A. salina*, as frações acetato de etila dos extratos brutos obtido de *S. sanctae-catharinae* são considerados não tóxicos, tendo que obtivemos o CL50 com a concentração de 2870 µg/mL para a fração acetato de etila do extrato bruto etanólico e 6683 µg/mL para a fração acetato de etila do extrato bruto etanólico acético. Não foi possível obter o valor da CL50 com o intervalo de 95% de confiança visto que as concentrações não apresentaram uma curva de toxicidade dose-dependente para frações acetato de etila do extrato bruto etanólico e extrato bruto etanólico-acético. A classificação de toxicidade de Clarkson nos dá que quando o CL50 está acima de 1000 µg/mL é considerado não tóxico. As concentrações de 1000, 750, 500, 250 e 100 µg/mL não demonstraram toxicidade. As concentrações testadas não apresentaram uma diferença estatística significativa quando comparadas com o controle.

A fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico extraído de *S. sanctae-catharinae* de acordo com o index de toxicidade de Meyer, para o ensaio de *A. salina*, demonstrou ser tóxico, apresentando o CL50 em concentrações menores ou iguais a 1000 µg/mL, sendo essas 1000, 750 e 500 µg/mL. Referente a classificação de toxicidade de Clarkson, para o ensaio com *A. salina*, a fração hidroalcoólica remanescente extrato bruto etanólico obtido de *S. sanctae-catharinae* é considerado de média toxicidade, tendo que obtivemos o CL50 com a concentração de 373 µg/mL. A classificação de toxicidade de Clarkson nos dá que quando o CL₅₀ está entre 500 e 100 µg/mL é considerado de média toxicidade. As concentrações de 1000, 750, 500, 250 µg/mL demonstraram respectivamente as taxas percentuais de mortalidade de 87%, 80%, 47% e 36% tendo constatada diferença estatística significativa em relação ao controle. A concentração de 100

$\mu\text{g/mL}$ não apresentou uma diferença estatística significativa quando comparado com o controle.

A fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico-acético extraído de *S. sanctae-catharinae* de acordo com o index de toxicidade de Meyer, para o ensaio de *A. salina*, demonstrou não ser tóxico, apresentando o CL50 em concentração maior que 1000 $\mu\text{g/mL}$. Referente a classificação de toxicidade de Clarkson, para o ensaio com *A. salina*, a fração hidroalcoólica remanescente extrato bruto etanólico-acético obtido de *S. sanctae-catharinae* é considerado não tóxico, tendo que obtivemos o CL50 com a concentração de 3029 $\mu\text{g/mL}$. Não foi possível obter o valor da CL50 com o intervalo de 95% de confiança visto que a concentração não apresentou uma curva de toxicidade dose-dependente para a fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico-acético. A classificação de toxicidade de Clarkson nos dá que quando o CL50 está acima de 1000 é considerado não tóxico. As concentrações de 1000, 750, 500, 250 e 100 $\mu\text{g/mL}$ não demonstraram toxicidade. As concentrações testadas não apresentaram uma diferença estatística significativa quando comparadas com o controle.

TABELA 8 - RESULTADOS DA ANÁLISE DE TOXICIDADE PRELIMINAR PELO MÉTODO UTILIZANDO *Artemia salina* COM AS AMOSTRAS DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES

Amostras	Mortalidade (%) /concentração (ug/mL)					CL50 (ug/mL)
	1000	750	500	250	100	
EBE**	77	63	55	43	13	390
EBEA*	60	47	27	10	10	835
FHEBE	7	3	0	0	0	2213
FHEBEA	13	10	3	3	3	2522
FCEBE*	60	36	33	13	10	994
FCEBEA	63	13	10	6	6	1385
FAEEBE	33	26	20	13	10	2870
FAEEBEA	26	20	13	10	6	6683
FHREBE**	87	80	47	36	13	373
FHREBEA	26	30	26	20	6	3029
Controle +	-	-	-	-	-	210

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético, +) Positivo, *) $p < 0,05$, **) $p < 0,01$.

TABELA 9 - RESULTADOS DA CL50 ANÁLISE PELO MÉTODO UTILIZANDO *Artemia salina* COM AS AMOSTRAS DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES CLASSIFICADAS DE ACORDO COM OS ÍNDICES DE MEYER E CLARKSON

Amostras	CL50 (ug/mL)	Classificação de Meyer	Classificação de Clarkson
EBE	390	Tóxico	Média toxicidade
EBEA	835	Tóxico	Baixa toxicidade
FHEBE	2213	Não Tóxico	Não Tóxico
FHEBEA	2522	Não Tóxico	Não Tóxico
FCEBE	994	Tóxico	Baixa toxicidade
FCEBEA	1385	Não Tóxico	Não Tóxico
FAEEBE	2870	Não Tóxico	Não Tóxico
FAEEBEA	6683	Não Tóxico	Não Tóxico
FHREBE	373	Tóxico	Média toxicidade
FHREBEA	3029	Não Tóxico	Não Tóxico
Controle +	210	Tóxico	Média toxicidade

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético, +) Positivo.

Os extratos brutos, extraídos com etanol das partes aéreas da espécie *S. americanum* e das folhas de *Solanum cordifolium* Dunal apresentaram um valor de CL50 <1000 ug/mL. (MAYORGA, 2010; FAITANIN, 2015). Os extratos brutos

extraídos com metanol das partes aéreas das espécies *S. asperum* Rich e *S. megalonyx* Sendtn também apresentaram valor da CL50 >1000 ug/mL (SILVA, 2007). Sendo esses extratos brutos mencionados acima considerados não tóxicos pela classificação de Meyer e Clarkson. Já os extratos brutos também extraídos com metanol das partes aéreas de outras espécies do gênero *Solanum* apresentaram valores de CL50 <1000 ug/mL sendo estas *Solanum torvum* SW. (CL50 = 295,2), *Solanum sisymbriifolium* Lam. (CL50 = 382,7), *Solanum capsicoides* (CL50 = 440,1), *Solanum diamantinense* Agra (CL50 = 481), *Solanum panilacanthum* Dunal (CL50 = 488), *Solanum asteraphorum* Mart. (CL50 = 552), *Solanum crinitum* (CL50 = 835,4) e *Solanum paniculatum* L. (CL50 = 953,9) e apresentaram toxicidade frente a *A. salina* segundo a classificação de Meyer e Clarkson. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados nessa pesquisa com o extrato bruto etanólico, o extrato bruto etanólico-acético que também foram considerados tóxicos segundo as classificações de Meyer e Clarkson.

Além disso a toxicidade apresentada pela fração clorofórmio do extrato bruto etanólico (CL50 = 994 ug/mL) nos indica que possa existir alguma molécula ou associação de moléculas com efeito sinérgico que pode estar causando a letalidade nos náuplios de *A. salina*. A fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico também apresentou toxicidade (CL50 = 373 ug/mL) no teste com *A. salina*, possuindo o menor valor de CL50 sendo considerada mais tóxica das amostras testadas. Por conta do valor de CL50 do extrato bruto etanólico (CL50 = 390 ug/mL) e da fração hidroalcoólica remanescente (CL50 = 373 ug/mL), é sugerido que a molécula ou associação de moléculas com efeito sinérgico responsáveis pela toxicidade possa não ter sido extraída no particionamento do extrato bruto, visto que se encontra na fração hidroalcoólica remanescente.

O extrato bruto etanólico-acético por sua vez, apresentou toxicidade de acordo com a classificação de Meyer e Clarkson, contudo nenhuma de suas frações particionadas apresentou tal resultado, indicando que talvez a toxicidade apresentada no extrato bruto etanólico-acético seja proveniente de uma associação de moléculas com efeito sinérgico, que podem ter sido separadas durante o particionamento do extrato bruto e acarretado na perda do efeito tóxico. É importante

frisar que foi notada uma escassez com relação a artigos que fracionaram o extrato bruto de partes aéreas de espécies do gênero *Solanum* para realizar o teste de toxicidade preliminar com *A. salina*.

4.8 DETERMINAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE *S. sanctae-catharinae*

O método de ensaio de Folin-Ciocalteu é amplamente utilizado para determinar a quantidade de fenóis totais e é geralmente empregado em estudos juntamente com métodos que envolvem a transferência de elétrons, evidenciando uma correlação entre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante (SINGLETON et al. 1999). Este método envolve uma mistura dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico em meio básico (resultando em uma coloração amarela). Os compostos fenólicos presentes na amostra são oxidados, formando O_2 , que reage com os ácidos e leva a uma mudança na cor. Os resultados da determinação de fenóis são frequentemente expressos em termos de equivalentes de ácido gálico (SINGLETON et al. 1999).

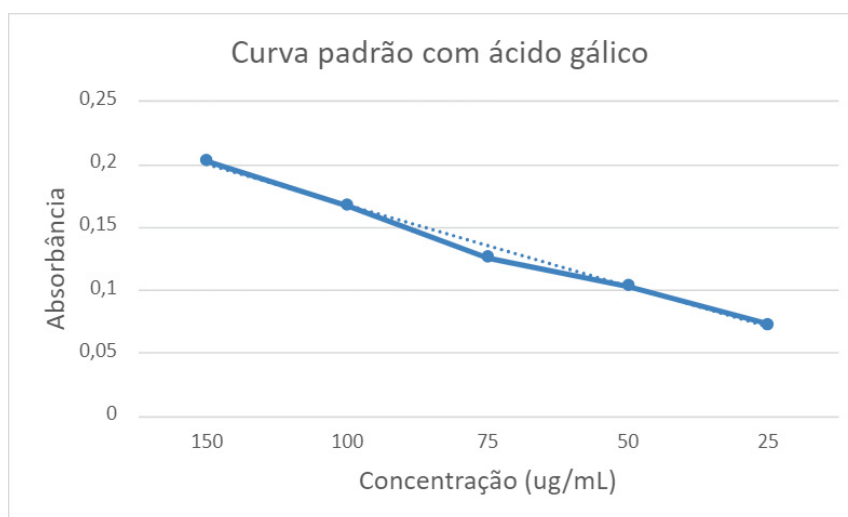
As plantas contribuem para esta área principalmente devido à atividade antioxidante dos compostos polifenólicos (HIGDON & FREI, 2003; JACOB, HAKIMUDDIN, PALIYATH, & FISHER, 2008). Os compostos fenólicos são considerados os principais responsáveis pela atividade antioxidante em drogas vegetais (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBYLIA, 2002). Vários estudos revelaram que a maior parte da atividade antioxidante pode ser proveniente de compostos como flavonoides, isoflavonas, flavonas, antocianinas, catequinas e outros fenólicos (MHATRE et al., 2009; ISABELLE et al., 2010; DANINO et al, 2009).

Investigações recentes sobre a atividade antioxidante das plantas mostram que os compostos fenólicos e os flavonoides possuem um amplo espectro de efeitos biológicos, incluindo a eliminação de radicais livres (MAILLARD et al., 1996; BORS, MICHEL & STETTMAIER, 2001; ZHENG & WANG, 2001). Outros autores também encontraram uma maior correlação entre os compostos fenólicos e a atividade de

eliminação de radicais livres (KATALINIĆ, 2004; CHIZZOLA et al., 2008; KHANAVI et al., 2009).

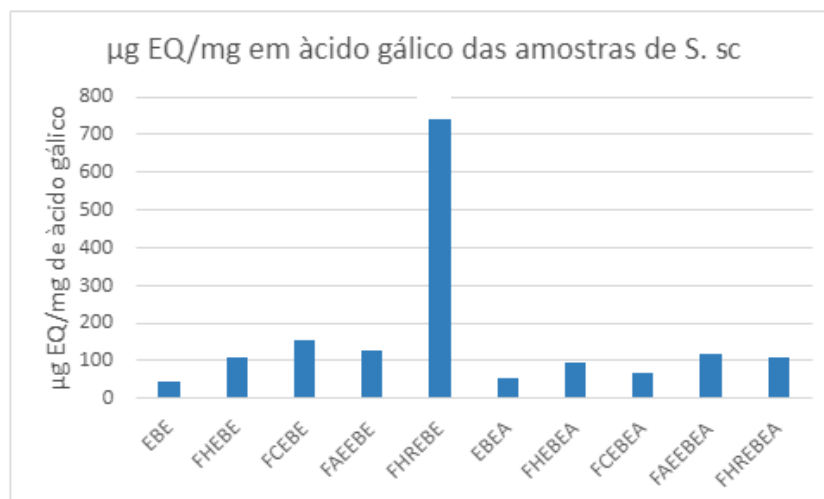
Os resultados das análises de polifenóis totais estão apresentados na TABELA 10 e no GRÁFICO 2. A amostra de *S. sanctae-catharinae* que teve a atividade mais proeminente foi a fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico, seguido pela fração clorofórmio do extrato bruto etanólico, fração acetato de etila do extrato bruto etanólico, fração acetato de etila do extrato bruto etanólico acético, fração hexano do extrato bruto etanólico, fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico acético, fração hexano do extrato bruto etanólico acético, extrato bruto etanólico acético e extrato bruto etanólico. Destacando a fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico que apresentou um valor 391% superior a fração clorofórmio do extrato bruto etanólico, indicando ser a fração que mais contém polifenóis por mg de amostra.

GRÁFICO 1 – CURVA PADRÃO FEITA COM ÁCIDO GÁLICO



FONTE: O autor (2023).

GRÁFICO 2 – REPRESENTAÇÃO EM BARRAS DOS RESULTADOS EM $\mu\text{g EQ/mg}$ EM ÁCIDO GÁLICO DAS AMOSTRAS DOS EXTRATOS BRUTOS E SUAS PARTIÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023)

LEGENDA: $\mu\text{g EQ}$) Microgramas equivalentes por, EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético, *) $p < 0,05$.

As demais frações particionadas apresentaram resultados relativamente parelhos não apresentando diferença estatística entre as amostras salvo a fração hidroalcoólica remanescente do extrato etanólico. As amostras testadas com os extratos brutos não apresentaram diferença estatística significativa quando comparados as demais amostras testadas. Além disso já era esperado que a maior parte das frações particionadas dos extratos brutos etanólicos de *S. sanctae-catharinae* obteriam valores mais altos que as frações particionadas do extrato etanólico acético visto que as extrações foram feitas em sequência com o mesmo material vegetal, fato esse que não despreza ou descredibiliza tais valores, mas de fato destaca seus resultados quando comparados desta maneira. A partir desta

perspectiva podemos destacar a fração acetato de etila do extrato bruto etanólico acético.

TABELA 10 - RESULTADOS DO ENSAIO DE FENÓLICOS TOTAIS EM $\mu\text{g EQ/mg}$ DE ÁCIDO GÁLICO ($\pm$ DP DA MÉDIA) E O EQUIVALENTE EXTRAÍDO DE ACORDO COM O RENDIMENTO DE CADA FRAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*

Amostras	$\mu\text{g EQ/mg}$ de amostra	$\pm$ DP da média	mg EQ pelo rendimento
EBE	43,261	2,320	6705,504
FHEBE	108,591	3,101	5975,954
FCEBE	150,772	2,357	1803,530
FAEEBE	126,080	1,543	358,194
FHREBE	740,792	2,537	49178,230
EBEA	51,492	0,786	1045,283
FHEBEA	91,615	2,320	143,378
FCEBEA	66,924	1,572	159,613
FAEEBEA	116,307	0,786	75,367
FHREBEA	104,990	1,819	1161,606

FONTE: O autor (2023)

LEGENDA: $\pm$ DP) Desvio Padrão, EQ) Equivalente, EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético.

Para comparar os resultados obtidos no teste de fenólicos totais com os extratos e frações de *S. sanctae-catharinae* com os resultados de outras espécies do gênero *Solanum* foi feita uma conversão com os resultados em µg EQ/mg de amostra para mg EQ/g de amostra utilizando uma regra de três (onde Y = é o resultado em µg/mg e X = o resultado em mg/g) prosseguimos com a seguinte racionalização:

$$0,000001 \cdot Y - 0,001 \text{ mg}$$

$$0,001 \cdot X - 1\text{g}$$

$$0,001 \cdot Y = 0,001 \cdot X$$

$$X = \frac{0,001 \cdot Y}{0,001}$$

$$X = Y$$

Então µg/mg = mg/g, demonstrando que nossos resultados estão equivalentes, fato que foi confirmado modificando alguns valores da fórmula aplicada para obtermos os valores em equivalentes em ácido gálico (EqAG)

Outras espécies do gênero *Solanum* no ensaio de fenólicos totais como *Solanum elagnifolium* Cav. apresenta o valor de 2,54 mg EqAG/g em seu extrato etanólico das folhas (BOUSLAMTI, 2022), *Solanum virginianum* L. apresentou o resultado de 0,69 mg EqAG/mL em seu extrato metanólico feito com a planta inteira (MORANKAR, 2019), *Solanum fastigatum* Var. apresentou o valor de 141,1 mg EqAG/g em seu extrato metanólico feito com a planta inteira (SABIR & ROCHA, 2008). A espécie *Solanum guaraniticum* A. St-Hil teve suas folhas extraídas com etanol, clorofórmio e acetato de etila e seu ensaio de fenólicos totais apresentou respectivamente os valores 259,9; 195,9 e 546, mg EqAG/g (ZADRA, 2012). Outra espécie do gênero, *Solanum nigrum* L. teve suas partes aéreas extraídas com metanol e então foi particionada com n-hexano, diclorometano e acetato de etila e

seu ensaio de fenólicos totais apresentou os respectivos valores 128, 228; 416; e 426 mg EqAG/g (SADDIQUE, 2013). Além disso foi mencionado na pesquisa de Saddique em 2013 que a espécie *S. nigrum*, de acordo com os valores obtidos no ensaio de fenólicos totais, é uma planta rica em substâncias fenólicas. Os valores obtidos no ensaio de fenólicos totais com os extratos e frações de *S. sanctae-catharinae* não foram semelhantes a nenhum dos resultados apresentados anteriormente de espécies de seu gênero citadas nessa pesquisa. Apesar disso é notável o valor obtido no teste de fenólicos totais com a fração hidroalcoólica remanescente do extrato etanólico que apresentou um valor de 740,79 mg EqAG/g, sendo um valor superior a todos os outros mencionados nessa pesquisa.

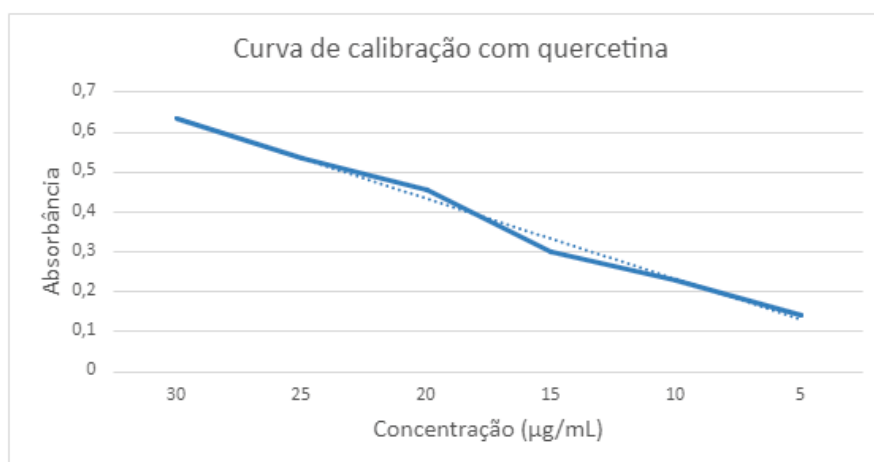
Também não houve diferença estatística significativa entre os resultados do teor de fenólicos totais entre os extratos brutos etanólico (46,26 mg EqAG/g) e etanólico-acético (51,49 mg EqAG/g) além das frações hexano do extrato etanólico (108,59 mg EqAG/g) e hexano etanólico-acético (91,65 mg EqAG/g) e as frações Acetato de etila do extrato etanólico (126,08 mg EqAG/g) e acetato de etila do extrato etanólico-acético (116,36 mg EqAG/g). Levando em consideração que as extrações foram realizadas primeiramente com etanol após com etanol-acético com o mesmo material vegetal, pode se inferir que a extração etanólica-acética retirou uma quantidade relevante de substância fenólicas em relação a extração etanólica.

4.9 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE *S. sanctae-catharinae*

Os processos oxidativos nos sistemas biológicos são complexos e a atividade contra os processos oxidativos envolvem diferentes substâncias, incluindo compostos fenólicos e flavonoides (BORS MICHEL & STETTMAIER, 2001). Os flavonoides, presentes principalmente como pigmentos corantes nas plantas, também funcionam como potentes antioxidantes em vários níveis. Alguns estudos mostraram que os flavonoides podem proteger os lipídios das membranas contra a oxidação (TERAO, PISKULA, & YAO, 1994). Os flavonoides e os compostos fenólicos constituem um grupo importante de compostos ativos que são derivados

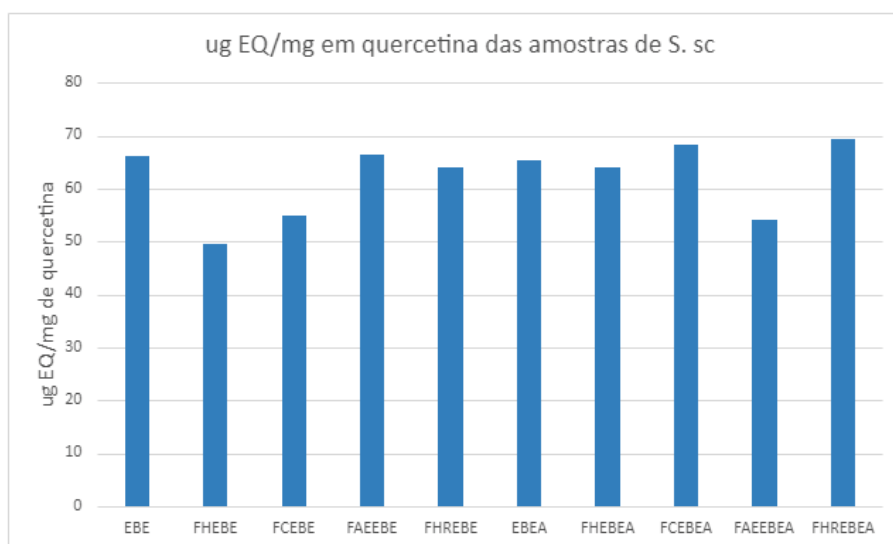
antioxidantes ativos nas plantas (FRANZ et al., 2009). Investigações recentes sobre a atividade antioxidante de plantas aromáticas mostram que os compostos fenólicos e os flavonoides possuem um vasto espectro de efeitos biológicos, incluindo a eliminação de radicais livres (BORS MICHEL & STETTMAIER, 2001; ZHENG & WANG, 2001). Os resultados da análise de flavonoides totais estão apresentados no TABELA 11 e no GRÁFICO 4. Não foram constatadas diferenças estatísticas significativas entre as amostras testadas. As amostras provenientes do fracionamento do extrato bruto etanólico (com exceção da fração acetato de etila) apresentaram valores menores em $\mu\text{g EQ/mg}$ em quercetina quando comparadas as amostras fracionadas do extrato bruto etanólico-acético. Destacando a fração hidroalcoólica remanescente extrato bruto etanólico-acético que obteve o maior valor dentre as amostras testadas, seguido pela fração clorofórmio do extrato bruto etanólico-acético, fração acetato de etila do extrato bruto etanólico, extrato bruto etanólico, extrato bruto etanólico-acético, fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico, fração hexano do extrato bruto etanólico-acético, fração clorofórmio do extrato bruto etanólico e fração acetato de etila do extrato bruto etanólico.

GRÁFICO 3 – CURVA PADRÃO FEITA COM QUERCETINA



FONTE: O autor (2023).

GRÁFICO 4 – REPRESENTAÇÃO EM BARRAS DOS RESULTADOS EM $\mu\text{g EQ/mg}$ EM QUERCETINA DAS AMOSTRAS DOS EXTRATOS BRUTOS E SUAS PARTIÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: $\mu\text{g EQ}$) Microgramas equivalentes por, EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético

TABELA 11 - RESULTADOS DO ENSAIO DE FLAVONOIDES TOTAIS EM $\mu\text{g EQ/mg}$ DE QUERCETINA ($\pm$ DP DA MÉDIA) E O EQUIVALENTE EXTRAÍDO DE ACORDO COM O RENDIMENTO DE CADA FRAÇÃO DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*

Amostras	$\mu\text{g EQ/mg}$ de amostra	$\pm$ DP da média	mg EQ pelo rendimento
EBE	66,186	0,099	10258,868
FHEBE	49,454	0,148	2721,540
FCEBE	55,015	0,352	658,087
FAEEBE	66,449	0,148	188,783
FHREBE	64,163	0,050	4259,495
EBEA	65,298	0,197	1325,545
FHEBEA	64,064	0,248	100,260
FCEBEA	68,440	0,198	163,230
FAEEBEA	54,061	0,247	35,031
FHREBEA	69,312	0,643	766,871

FONTE: O autor (2023)

LEGENDA: $\pm$ DP) Desvio Padrão, EQ) Equivalente em Quercetina, EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético

Para comparar os resultados obtidos no teste de flavonoides totais com os extratos e frações de *S. sanctae-catharinae* com os resultados de outras espécies do gênero *Solanum* foi feita uma conversão com os resultados em $\mu\text{g EQ/mg}$ de

amostra para mg EQ/g de amostra da mesma maneira que foi feita para o ensaio de fenólicos totais.

Outras espécies do gênero *Solanum* no ensaio de flavonoides totais como *Solanum elaeagnifolium* Cav. apresentou o valor de 0,067 mg EQ/g em quercetina em seu extrato etanólico das folhas (BOUSLAMTI, 2022), *Solanum virginianum* L. apresentou o resultado de 1,37 mg EQ/g em quercetina em seu extrato metanólico feito com a planta inteira (MORANKAR, 2019), *Solanum fastigiatum* Var. apresentou o valor de 224 mg EQ/g em quercetina em seu extrato metanólico feito com a planta inteira (SABIR & ROCHA, 2008).

Outra espécie do gênero, *Solanum nigrum* L. teve suas partes aéreas extraídas com metanol e então foi particionada com n-hexano, diclorometano e acetato de etila e seu ensaio de fenólicos totais apresentou os respectivos valores 128; 44; 140 e 188 mg EQ/g em quercetina (SADDIQU, 2013). Além disso foi mencionado na pesquisa de Saddique em 2013 que a espécie *S. nigrum*, de acordo com os valores obtidos no ensaio de flavonoides totais, é uma planta rica em flavonoides. Os valores obtidos no ensaio de flavonoides totais com os extratos e frações de *S. sanctae-catharinae* não foram semelhantes a nenhum dos resultados apresentados anteriormente de espécies de seu gênero citadas nessa pesquisa.

Como já mencionado foi notado que não houve tanta diferença nos resultados do ensaio de flavonoides totais entre os extratos brutos etanólico (66,18 mg EQ/g) e etanólico-acético (65,29 mg EQ/g), no entanto nas frações hexano do extrato etanólico (49,45 mg EQ/g) e hexano etanólico-acético (64,06 mg EQ/mL), clorofórmio do extrato bruto etanólico (55,01 mg EQ/g) e clorofórmio do extrato bruto etanólico acético (68,44 mg EQ/g) e nas frações remanescente do extrato bruto etanólico (64,16 mg EQ/g) e remanescente do extrato bruto etanólico-acético (69,31 mg EQ/mL), tivemos que nas frações que eram provenientes do extrato bruto etanólico-acético os valores obtidos no ensaio de flavonoides totais foram mais altos quando comparados com as frações provenientes do extrato etanólico. Já nas frações Acetato de etila do extrato etanólico (66,44 mg EQ/g) e acetato de etila do extrato etanólico-acético (54,01 mg EQ/g) tivemos que na fração proveniente do extrato bruto etanólico o valor obtido no teste de flavonoides totais foi maior que a

fração proveniente do extrato bruto etanólico acético. Levando em consideração que as extrações foram realizadas primeiramente com etanol após com etanol-acético com o mesmo material vegetal, pode se inferir que a extração etanólica-acética retirou uma quantidade relevante flavonoides em relação a extração etanólica.

4.10 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES PARTICIONADAS DE *S. sanctae-catharinae* UTILIZANDO O TESTE COM FOSFOMOLIBDÊNIO

Este ensaio se baseia na conversão do molibdênio (VI) para molibdênio (V), que, na presença de certas substâncias antioxidantes, leva à formação de um complexo verde entre fosfato/molibdênio (V). Esse complexo é avaliado espectrofotometricamente em seu pico ótimo a 695nm em um ambiente ácido.

A atividade antioxidante das amostras dos extratos brutos e frações etanólica e etanólica-acética neste estudo foi calculada em relação à vitamina C, que foi considerada 100% de atividade antioxidante neste modelo. Os resultados estão apresentados na TABELA 12.

TABELA 12 - RESULTADOS DO ENSAIO COM FOSFOMOLIBDÊNIO EM % EQUIVALENTE EM ÁCIDO ASCÓRBICO ($\pm$ DP DA MÉDIA) E O EQUIVALENTE EXTRAÍDO DE ACORDO COM O RENDIMENTO DE CADA FRAÇÃO DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*

Amostras	% EQ em Ácido ascórbico $\pm$ DP
EBE	7,20 $\pm$ 0,46
FHEBE	11,63 $\pm$ 0,83
FCEBE	19,31 $\pm$ 1,05
FAEEBE	13,88 $\pm$ 0,53
FHREBE	67,85 $\pm$ 1,7
EBEA	8,98 $\pm$ 0,31
FHEBEA	12,05 $\pm$ 0,94
FCEBEA	13,22 $\pm$ 1,23
FAEEBEA	18,47 $\pm$ 0,13
FHREBEA	11,69 $\pm$ 0,1

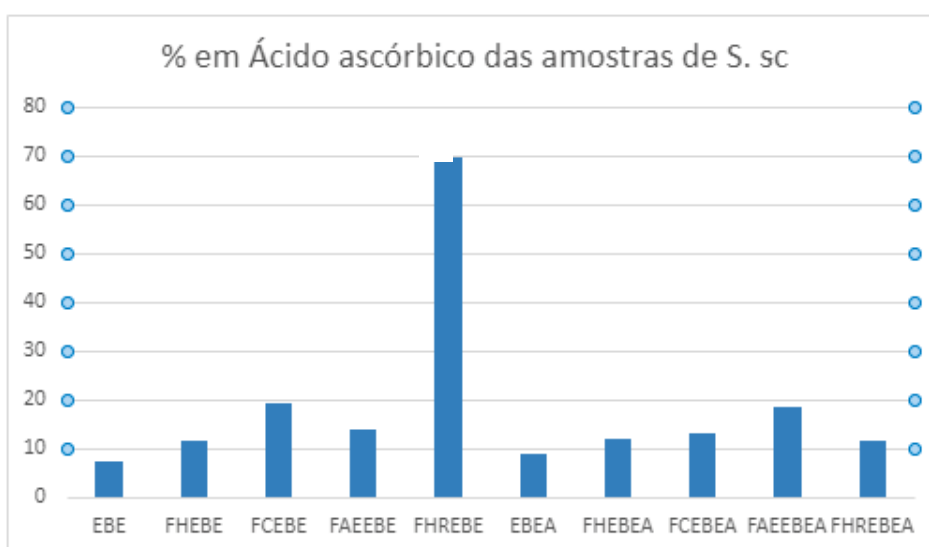
FONTE: O autor (2023)

LEGENDA: $\pm$ DP) Desvio Padrão, EQ) Equivalente, EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético

Com base nos dados coletados, foi possível concluir que todas as amostras analisadas demonstraram atividade antioxidante pela redução do complexo fosfomolibdênio. Quando comparadas à vitamina C que é um padrão amplamente estudados em relação à atividade antioxidante, a fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico obteve o maior potencial antioxidante entre todas as amostras em seguida temos a fração clorofórmio do extrato bruto etanólico, fração acetato de etila do extrato bruto etanólico-acético, fração acetato de etila do extrato bruto etanólico, fração clorofórmio do extrato bruto etanólico-acético, fração hexano do extrato bruto etanólico-acético, fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico-acético, fração hexano do extrato bruto etanólico, extrato bruto etanólico-acético e extrato bruto etanólico de *S. sanctae-catharinae*.

Esse resultado era esperado devido à presença de compostos apolares na fração hexano. A fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico apresentou um resultado esperado visto seu notório resultado na determinação de fenólicos totais demonstrando uma atividade significativa neste método.

GRÁFICO 5 – REPRESENTAÇÃO EM BARRAS DOS RESULTADOS EM % EQUIVALENTE EM ÁCIDO ASCÓRBICO DAS AMOSTRAS DOS EXTRATOS BRUTOS E SUAS PARTIÇÕES de *S. sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: %) Percentual, EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético, *) $p < 0,05$.

Não foi possível comparar os resultados obtidos no teste do potencial antioxidante com método fosfomolibdênio com os extratos e frações de *S. sanctae-catharinae* com os resultados de outras espécies do gênero *Solanum*, visto que todas as pesquisas encontradas utilizaram na metodologia uma curva com ácido ascórbico para determinar a quantidades em EQ/mg de ácido ascórbico e várias concentrações das amostras para estabelecer o CL50.

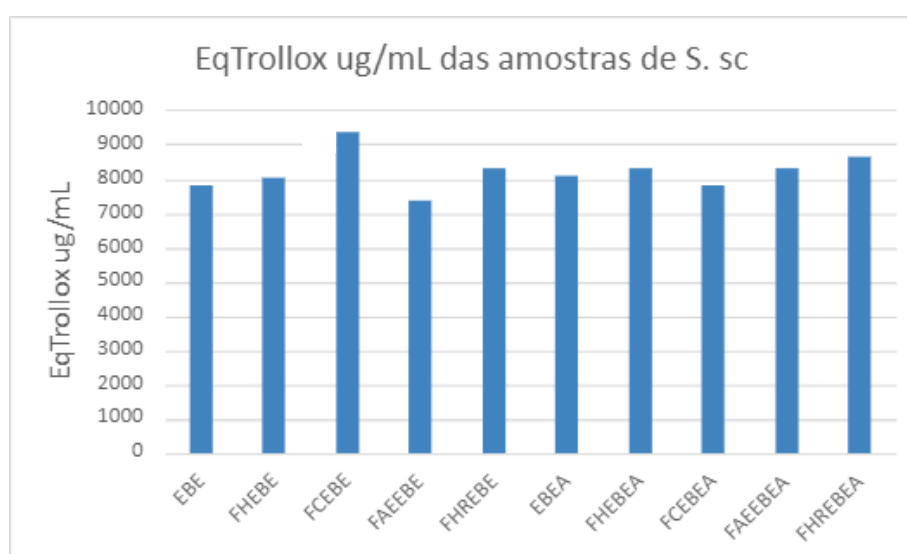
O extrato bruto etanólico-acético obteve no ensaio de potencial antioxidante com fosfomolibdênio valores mais altos quando comparados com as frações provenientes do extrato etanólico tendo que o extrato bruto etanólico apresentou o resultado 7,20 % EQ em ácido ascórbico e etanólico-acético 8,98 % EQ em ácido ascórbico. Levando em consideração que as extrações foram realizadas primeiramente com etanol após com etanol-acético com o mesmo material vegetal, pode se inferir que a extração etanólica-acética retirou uma quantidade relevante flavonoides em relação a extração etanólica.

4.11 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH

Estudos anteriores de Thaipong et al. de 2006 e Sourì et al. de 2008 revelaram que os métodos DPPH pode ser utilizado para medir a atividade antioxidante em diversos extratos de plantas. Os estudos anteriores (FIDRIANNY et al., 2014; GANDHIAPPAN & RENGASAMY, 2012; PRAKASH et al., 2014;

LOGANAYAKI et al., 2010) exibiram capacidades antioxidantes de algumas plantas, incluídas no gênero *Solanum*. Os valores obtidos nos ensaios para avaliação das propriedades antioxidantes estão descritos no GRÁFICO 6 e TABELA 13, apresentados como μg equivalente ao Trolox por miligrama de extrato (EQTrollox $\mu\text{g}/\text{mg}$).

GRÁFICO 6 – REPRESENTAÇÃO EM BARRAS DOS RESULTADOS EM EQTROLLOX $\mu\text{g}/\text{mg}$ DAS AMOSTRAS DOS EXTRATOS BRUTOS E SUAS PARTIÇÕES DE *S. sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: EQ) equivalente, EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético, *) $p < 0,05$.

As frações acetato de etila demonstraram maior presença de compostos polifenólicos e flavonoides. As frações hexano não demonstraram ação antioxidante significativa, provavelmente pela baixa concentração destes compostos. A maior inibição de radical DPPH foi apresentada pela fração clorofórmio do extrato bruto etanólico, seguindo da fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto

etanólico-acético, fração hidroalcoólica remanescente do extrato bruto etanólico, fração clorofórmio do extrato bruto etanólico-acético, extrato bruto etanólico-acético, fração hexano do extrato bruto etanólico-acético, fração acetato de etila do extrato bruto etanólico-acético, extrato bruto etanólico e fração acetato de etila do extrato bruto etanólico.

TABELA 13 - RESULTADOS DO ENSAIO ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH UTILIZANDO AMOSTRAS DOS EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS E SUAS PARTIÇÕES

Frações	EqTrollox ug/mL	EqTrollox %
EBE	7792,706	15,155
FHEBE	7807,353	15,216
FCEBE	9539,057	22,412
FAEEBE	7344,858	13,295
FHREBE	8294,174	17,239
EBEA	8091,581	16,397
FHEBEA	8331,118	15,564
FCEBEA	7785,615	16,846
FAEEBEA	8331,118	15,420
FHREBEA	8654,755	18,117
Ácido ascórbico	6879,722	11,362
BHT	5272,715	4,685

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: EBE) Extrato Bruto Etanólico, EBEA) Extrato Bruto Etanólico Acético, FHEBE) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico, FHEBEA) Fração Hexano Extrato Bruto Etanólico Acético, FCEBE) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico, FCEBEA) Fração Clorofórmio Extrato Bruto Etanólico

Acético, FAEEBE) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico, FAEEBEA) Fração Acetato de Etila Extrato Bruto Etanólico Acético, FHREBE) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico, FHREBEA) Fração Hidroalcoólica Remanescente Extrato Bruto Etanólico Acético.

Não foi possível comparar os resultados obtidos no teste do potencial antioxidante com método DPPH com os extratos e frações de *S. sanctae-catharinae* com os resultados de outras espécies do gênero *Solanum*, visto que todas as pesquisas encontradas utilizaram na metodologia uma curva com ácido ascórbico para determinar a quantidades em equivalentes em ácido ascórbico, tendo também que outros estudos utilizaram várias concentrações das amostras para estabelecer o CL50. Futuramente essas etapas serão adicionadas a pesquisa para compararmos com respaldo científico os resultados obtidos no ensaio do potencial antioxidante com o radical DPPH.

Dentre todas as frações extraídas de *S. sanctae-catharinae* a fração clorofórmio do extrato bruto etanólico obteve no ensaio de potencial antioxidante com o radical DPPH o valor mais alto quando comparados com as demais frações extraídas tendo que a fração clorofórmio do extrato bruto etanólico apresentou uma diferença estatística significativa em relação as demais frações. As frações hidroalcoólicas remanescentes dos dois extratos brutos apresentaram valores um pouco maiores que as demais frações, contudo as demais frações apresentaram valores semelhantes.

4.12 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE FITOSTERÓIS DA FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA E FRAÇÃO ETANÓLICA ACÉTICA

4.12.1. Isolamento e identificação do composto CHE1

O isolamento da substância CHE1, foi feito por meio de coluna cromatográfica aberta utilizando sílica-gel para separar substâncias, provenientes do metabolismo vegetal, presentes na fração hexano etanólica, como descrito no item 4.15. A substância CHE1 foi encontrada nos frascos 1-30 e estava pura, visto que só havia uma banda quando revelada por CCD em luz UV, foi utilizada uma fase móvel

para terpenos e esteroides, tolueno:acetato de etila (93:07). Além disso após a evaporação do solvente foi observado a formação de cristais lamelares translúcidos (FIGURA 14). Obtivemos o rendimento de 0,09 g.

FIGURA 14 – FOTO DOS CRISTAIS LAMELARES FORMADOS NO FRASCO 11 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE *Solanum sanctae-catharinae*

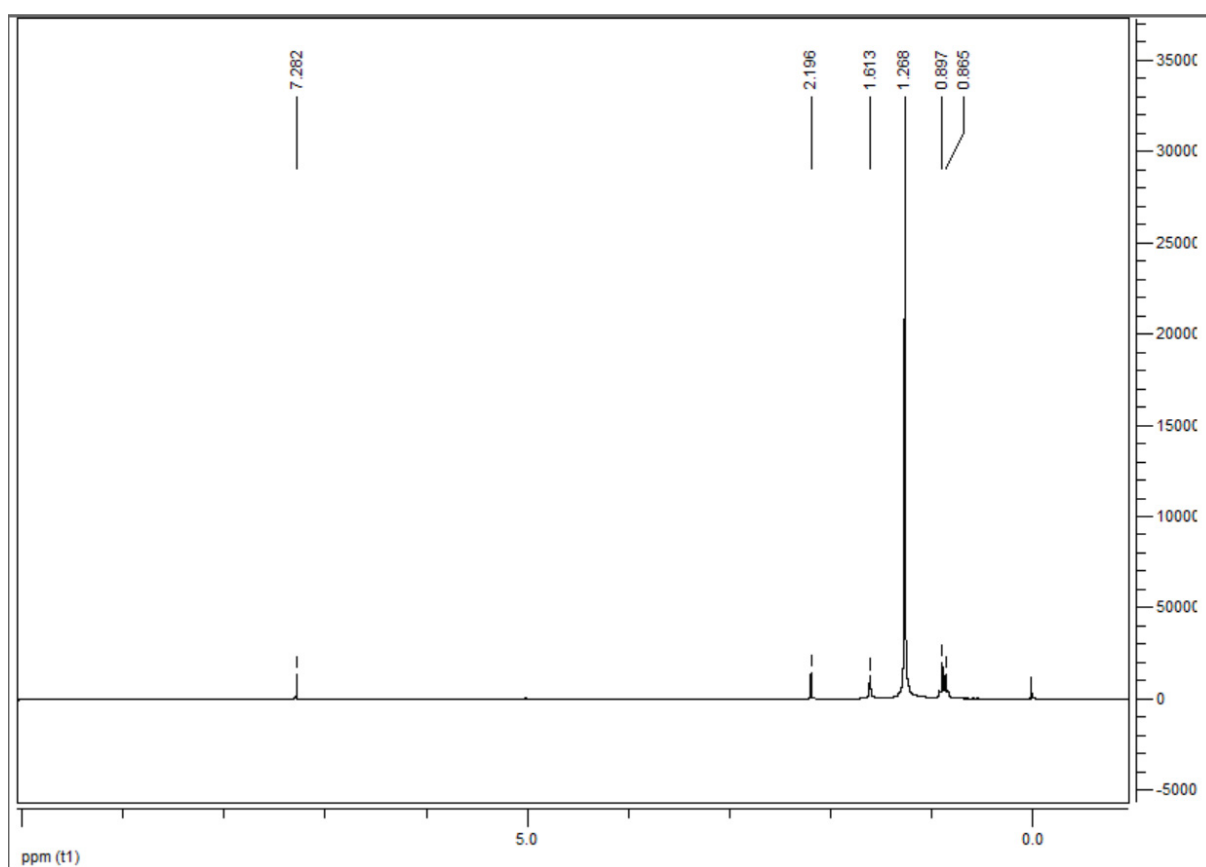


FONTE: O autor (2023).

Após a diluição dos cristais (FIGURA 14) em clorofórmio deuterado a análise prosseguiu como descrito no item 4.16. Analisando o espectro obtido no $^1\text{HMRN}$ (FIGURA 15), foram notados 4 picos ($\delta = 0,88$; $\delta = 1,25$; $\delta = 1,5$; $\delta = 2,17$) na região espectral de compostos alifáticos (abaixo de $\delta = 2,5$ ppm), indicando a presença de um hidrocarboneto de cadeia longa, a presença de uma cadeia longa se dá pela intensidade do pico $\delta = 1,25$. Também foram notados 2 picos ($\delta = 0,805$; $\delta = 0,897$) que indicam presença de um grupo metila. No espectro obtido no C^{13}RMN (FIGURA 16) foram evidenciados 6 picos ($\delta = 14,1$; $\delta = 22,68$; $\delta = 29,35$; $\delta = 29,65$; $\delta = 29,69$; $\delta = 31,92$), estes também estão na região espectral de compostos alifáticos. Indicando que a substância CHE1 de fato é um hidrocarboneto de cadeia longa.

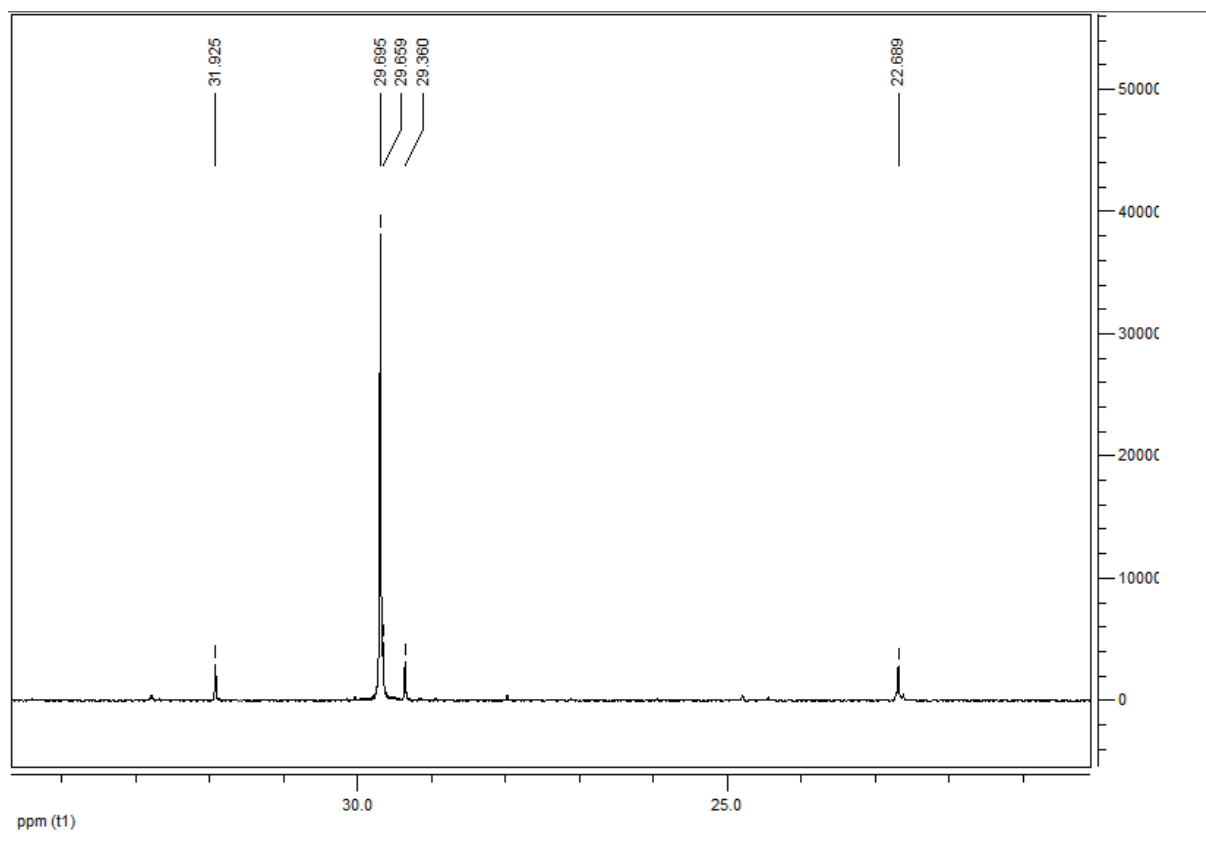
Mais testes são necessários para elucidar com precisão a estrutura química dessa molécula.

FIGURA 15 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (AMPLIADO) DO COMPOSTO ISOLADO CHEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

FIGURA 16 – ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C (AMPLIADO) DO COMPOSTO ISOLADO CHEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

4.12.2. Isolamento e identificação do composto C2HE1

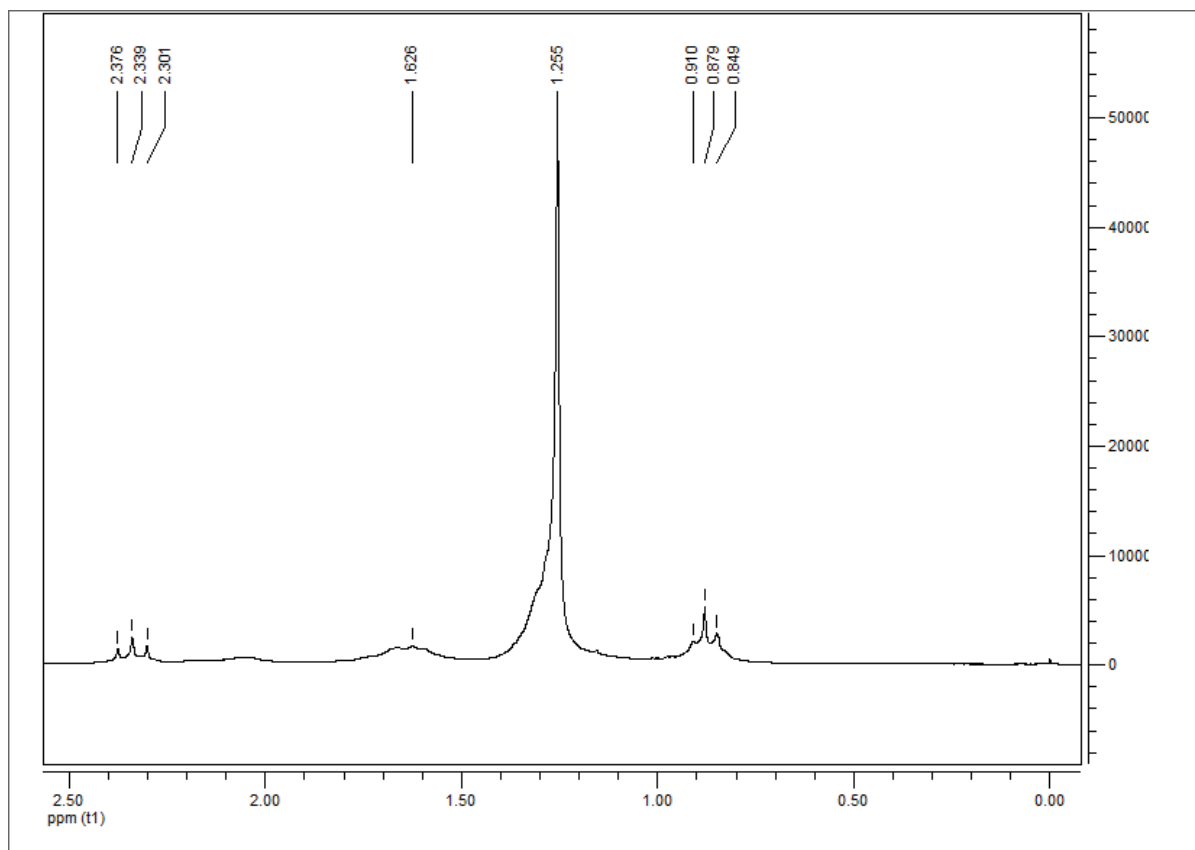
O isolamento da substância C2HE1 foi feita com os conteúdos dos frascos 35-100, da primeira coluna feita com a fração hexano do extrato etanólico. Por meio de coluna cromatográfica aberta utilizando sílica-gel visamos isolar os componentes químicos que não foram separados durante a primeira coluna, esse fato provavelmente ocorreu por conta da pastilha ter sido preparada alguns dias antes da eluição com solvente e pela grande quantidade da fração hexano etanólica utilizada para preparar a pastilha em relação a quantidade de solvente e pratos teóricos que

não foram suficientes para realizar a separação dos componentes químicos adequadamente durante a 1ª coluna com esta fração.

A substância C2HE1 foi encontrada nos frascos 12-16 e estava purificada, visto que quando feito uma CCD havia apenas uma banda, mas também foi notado um “rastro” que também foi revelado após ser eluída com fase móvel para terpenos como descrito anteriormente, e após revelado com vanilina fosfórica. Não ocorreu a formação de cristais por conta das propriedades físico-químicas da molécula, formando uma massa amorfa pastosa de coloração branca levemente esverdeada. Obtivemos o rendimento de 0,12 g.

Após diluir o conteúdo dos frascos em clorofórmio deuterado como descrito no item 4.16. Analisando o espectro adquirido no $^1\text{HRMN}$ (FIGURA 17), se destacam 8 picos ($\delta = 0,84$; $\delta = 0,87$; $\delta = 0,9$; $\delta = 1,25$; $\delta = 1,62$; $\delta = 2,3$; $\delta = 2,33$; $\delta = 2,37$), sendo que os picos $\delta = 0,84$; $\delta = 0,87$; $\delta = 0,9$ e $\delta = 1,25$ se encontram na região espectral de compostos alifáticos, sendo que o sinal em tripleto ($\delta = 0,84$; $\delta = 0,87$; $\delta = 0,9$) indicam um grupo metil e o pico mais intenso ($\delta = 1,25$) indica um hidrocarboneto de cadeia longa. Os demais picos ($\delta = 1,62$; $\delta = 2,3$; $\delta = 2,33$; $\delta = 2,37$) se encontram na região espectral de grupamentos químicos ligados a um átomo de oxigênio, sendo o sinal em tripleto ($\delta = 2,3$; $\delta = 2,33$; $\delta = 2,37$) indica o grupo ácido carboxílico e o sinal em multipletto ($\delta = 1,62$) indica um grupo hidroxila ligado a molécula.

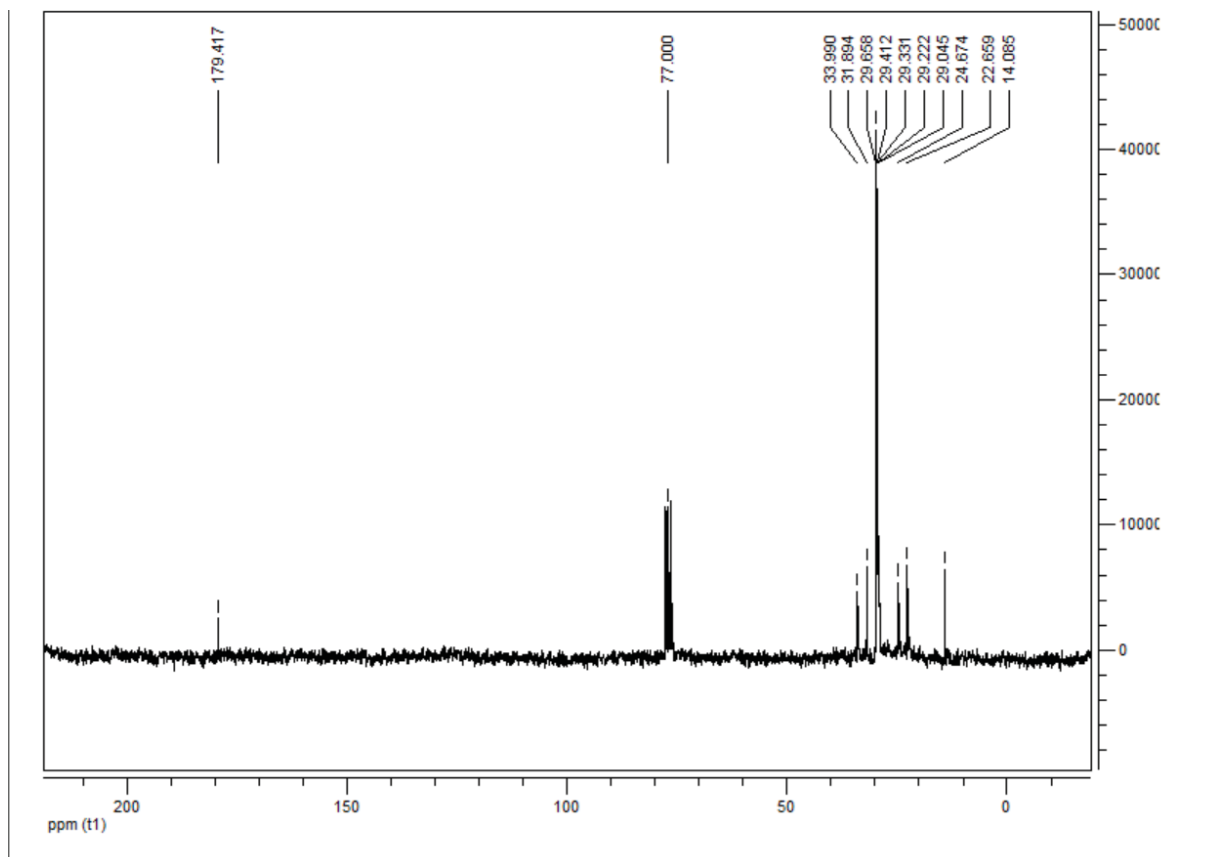
FIGURA 17 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (AMPLIADO) DO COMPOSTO ISOLADO C2HEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

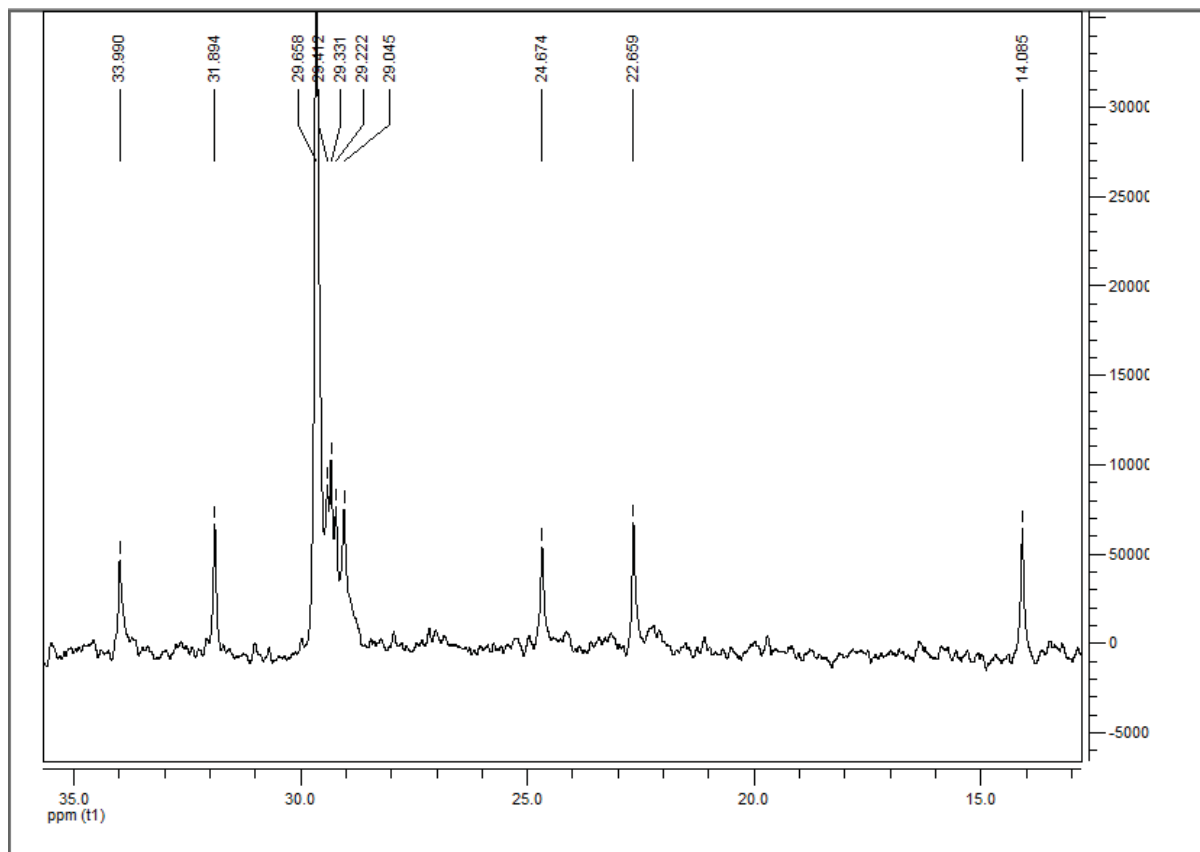
No espectro obtido no ^{13}C RMN também foram evidenciados 8 picos ($\delta = 14,08$; $\delta = 22,65$; $\delta = 24,67$; $\delta = 29,04$; $\delta = 29,22$; $\delta = 29,33$; $\delta = 29,41$; $\delta = 29,65$; $\delta = 31,89$; $\delta = 33,98$; $\delta = 179,41$), sendo que do pico $\delta = 14,08$ ao $\delta = 33,98$ se encontram na região espectral dos compostos alifáticos, corroborando com o pico encontrado no experimento de ^1H RMN, sugerindo a presença de um hidrocarboneto de cadeia longa. O sinal $\delta = 179,41$ se encontra na região espectral de grupamento químico aldeído.

FIGURA 18 – ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO ISOLADO C2HEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

FIGURA 19 – ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C (AMPLIADO) DO COMPOSTO ISOLADO C2HEA1 DA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

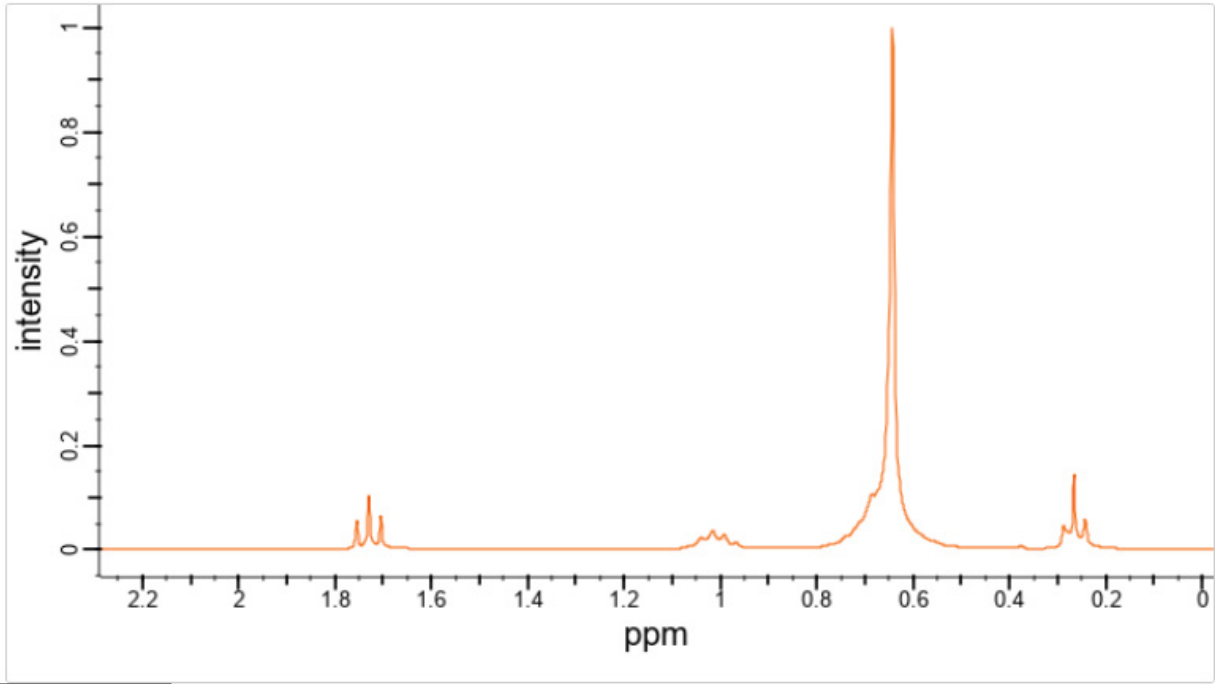
Após consultar o banco de dados espectrais de moléculas SpectraBase, obtivemos as correlações entre os picos dos espectros de ^1H RMN e ^{13}C RMN adquiridos e a molécula de ácido hexadecanóico e ácido octadecanóico (FIGURAS 20, 21 e 22). Além disso foi feita uma consulta a dissertação de Montrucchio (2001), que isolou o ácido hexadecanóico e ou ácido octadecanóico em seu estudo com *Ptychopetallum olacoides* BENTHAM em 2001. Comparando nossos espectros adquiridos no ^1H RMN e ^{13}C RMN com os apresentados na dissertação mencionada acima foi feita a correlação entre os picos obtidos (TABELA 14), sendo confirmada a estrutura do ácido hexadecanóico ou ácido octadecanóico (FIGURAS 19, 20 e 21).

TABELA 14 – ABSORÇÕES REGISTRADAS EM RMN DE ¹³C PARA O ÁCIDO HEXADECANÓICO

Montrucchio, 2001			Taborda, 2024		
Carbono	Tipo	Absorção (ppm)	Carbono	Tipo	Absorção (ppm)
1	CH ₃	14,13	1	CH ₃	14,085
2	CH ₂	22,7	2	CH ₂	22,659
3	CH ₂	31,92	3	CH ₂	24,674
4 a 13	CH ₂	29,05 a 29,68	4 a 11	CH ₂	29,045 a 29,658
14	CH ₂	24,66	12	CH ₂	31,894
15	CH ₂	34,05	13	CH ₂	33,99
16	C=O	180,17	14	C=O	179,417

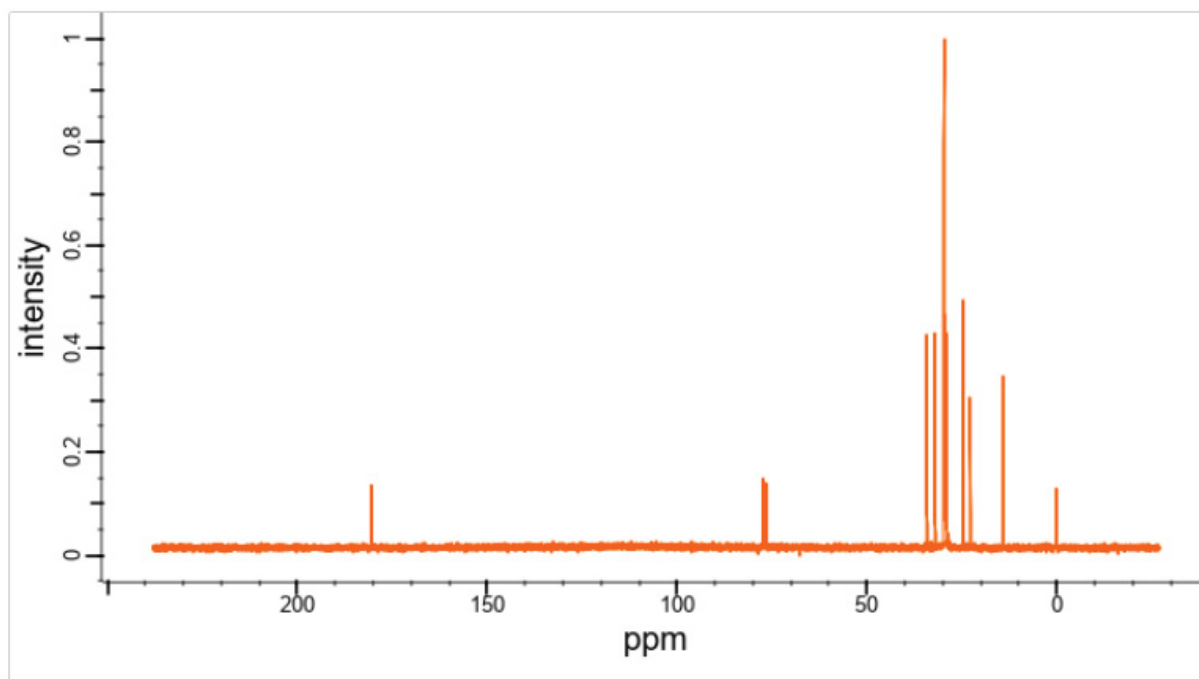
FONTE: O autor (2023).

FIGURA 20 – ESPECTRO DE RMN DE ¹H DO ÁCIDO HEXADECANÓICO DO BANCO DE ESPECTROS DO SITE SPECTRABASE



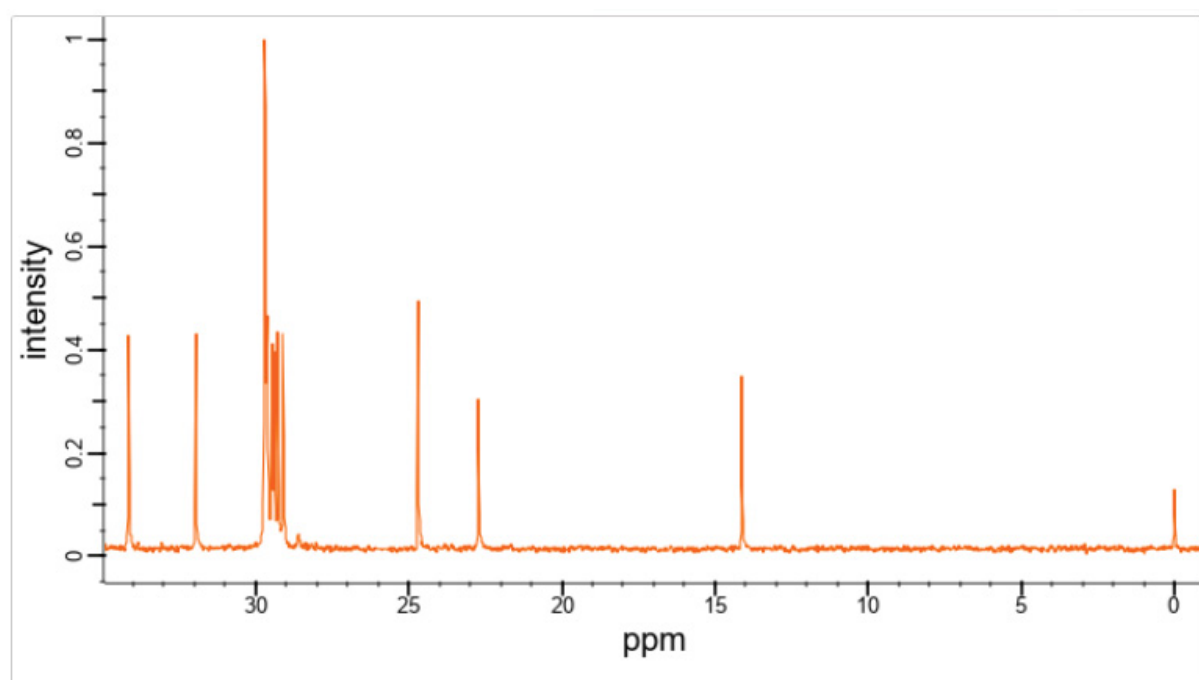
FONTE: O autor (2023).

FIGURA 21 – ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO ÁCIDO HEXADECANÓICO DO BANCO DE ESPECTROS DO SITE SPECTRABASE



FONTE: O autor (2023).

FIGURA 22 – ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C (AMPLIADO) DO ÁCIDO HEXADECANÓICO DO BANCO DE ESPECTROS DO SITE SPECTRABASE



FONTE: O autor (2023).

O ácido hexadecanóico é um dos principais componentes do óleo de palma (44% do total de gorduras), mas quantidades significativas de ácido hexadecanóico também podem ser encontradas na carne e nos produtos lácteos (50-60% do total de gorduras), bem como na manteiga de cacau (26%) e no azeite (8-20%). Além disso, o ácido palmítico está presente no leite materno com 20-30% do total de gorduras (INNIS, 2016).

No entanto, na presença de outros fatores, como o balanço energético positivo, a ingestão excessiva de carboidratos (em particular mono e dissacarídeos) e um estilo de vida sedentário, os mecanismos para manter um estado estável de concentração de ácido palmítico podem ser interrompidos, levando a um acúmulo excessivo de ácido palmítico tecidual, resultando em dislipidemia, hiperglicemia, aumento do acúmulo de gordura ectópica. Nas últimas décadas, estudos controversos relataram potenciais efeitos prejudiciais para a saúde do óleo de palma devido ao elevado teor de ácido hexadecanóico (MANCINI, 2015).

O ácido hexadecanóico é um dos principais ácidos graxos que formam praticamente todos os lipídios naturais sendo o primeiro ácido graxo superior sintetizado na célula, enquanto quase todos os outros ácidos graxos de lipídios naturais são os produtos de sua modificação posterior causada por alongamento, dessaturação, inserção de vários grupos funcionais, como metil, hidroxil, epóxi, entre outros (SIDOROV, 2014). Levando isso em consideração era esperado que essa molécula estivesse presente em *S. sanctae-catharinae*, devido a sua importância para o metabolismo. Também foi notado que havia uma molécula de água ligada a estrutura de ácido hexadecanóico, visto a interferência dessa molécula no espectro de ¹H RMN e durante o isolamento, essa substância que seria um pó branco, que se tornou uma massa amorfa devido a presença de água.

4.12.3. Isolamento e identificação do composto CHEA1

O isolamento da substância CHEA1, foi realizado por meio de coluna cromatográfica aberta utilizando sílica gel para isolar as substâncias provenientes do metabolismo vegetal da fração hexano etanólica. A substância CHEA1 purificada foi encontrada nos frascos 4-11, visto que após uma CCD eluída com a fase móvel para terpenos mencionada anteriormente e revelada em luz UV foi notada apenas uma banda nos frascos mencionados. Outro fator que contribui para atestar sua pureza foi a formação de cristais após a evaporação do solvente (FIGURA 22). Obtivemos o rendimento de 0,07 g.

FIGURA 23 – FOTO DOS MONOCRISTAIS FORMADOS NO FRASCO 8 DA SEGUNDA COLUNA CROMATOGRÁFICA COM A FRAÇÃO HEXANO ETANÓLICA DE *Solanum sanctae-catharinae*



FONTE: O autor (2023).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As partes aéreas coletadas da espécie *S. sanctae-catharinae* coletadas no Capão do CIFLOMA, no Campus Jardim Botânico da Universidade Federal do Paraná foram submetidas a processos de estabilização, extração, particionamento, isolamento e purificação além de análises morfoanatômicas, histoquímicas, ultraestruturais, fitoquímicas, antibacteriana, de toxicidade preliminar, potencial antioxidante e de elucidação estrutural que resultaram em dados que contribuem para o conhecimento e desenvolvimento científico.

As características morfoanatômicas da espécie apresentaram tricomas estrelados. Os tricomas estrelados não glandulares longo-estipitado e os tricomas estrelados não glandulares com são características importantes que podem auxiliar a classificação taxonômica e a identificação da espécie *S. sanctae-catharinae*. Os morfotipos específicos de cristais descritos, tais como cristais piramidais e lamelares, cristais prismáticos simples, cristais piramidais simples e cristais de areia piramidais também podem contribuir para a identificação desta espécie. A espécie *S. sanctae-catharinae* também revelou durante a bateria de testes histoquímicos a presença de alcaloides, compostos lipofílicos, amido, lignina e cristais de oxalato de cálcio. Durante o ensaio fitoquímico preeliminar com a espécie *S. sanctae-catharinae* foram identificados alcaloides, flavonoides, cumarinas, esteroides, saponinas e amino grupo. Não foi constatado efeito antibacteriano com os extratos brutos de *S. sanctae-catharinae*. O teste de toxicidade preliminar com *A. salina* demonstrou que apenas os extratos brutos e as frações do extrato bruto etanólico clorofórmio e hidroalcoólica remanescente apresentaram toxicidade, as demais frações não apresentaram toxicidade frente a *A. salina*. Os ensaios de fenólicos totais e flavonoides totais demonstraram que *S. sanctae-catharinae* é uma planta rica em flavonoides e polifenóis. Os ensaios para determinar o potencial antioxidante dos extratos e frações testadas de *S. sanctae-catharinae* apresentaram resultados muito preliminares, impossibilitando a comparação com outras espécies do gênero *Solanum* visto que necessitam ser adicionadas etapas aos ensaios com fosfomolibdênio e radical DPPH. A análise com aparelho RMN indicou a presença de

ácido hexadecanóico, um ácido graxo presente no metabolismo de inúmeras espécies.

Os resultados desta pesquisa fitoquímica indicam a presença de compostos secundários de interesse, que fomentam e direcionam estudos futuros com o intuito de melhor compreender a composição química e alguma possível aplicação terapêutica ou industrial inerente a espécie *S. sanctae-catharinae*. Assim, esta planta revela-se um objeto de estudo relevante para a investigação fitoquímica, sendo uma possível fonte de compostos bioativos. Além disso, é importante ressaltar que existe uma falta de descrições de morfotipos de cristais no gênero *Solanum*. Além disso, este estudo forneceu a primeira investigação morfoanatômica, histológica, histoquímica, fitoquímica, toxicológica preliminar e potencial antioxidante de *S. sanctae-catharinae* Dunal.

REFERÊNCIAS:

ADAMS, S. JOHN ET AL. PHARMACOGNOSTIC AND PHYTOCHEMICAL STUDIES ON AYURVEDIC DRUGS ATIVISHA AND MUSTA. **REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA**, v. 23, n. 3, p. 398-409, 2013.

ALIERO, ADAMU ALIYU; GRIERSON, DONALD S.; AFOLAYAN, ANTHONY J. THE FOLIAR MICROMORPHOLOGY OF SOLANUM PSEUDOCAPSICUM. **FLORA-MORPHOLOGY, DISTRIBUTION, FUNCTIONAL ECOLOGY OF PLANTS**, v. 201, n. 4, p. 326-330, 2006.

ALSHERBINY, M. A. COMPARATIVE BOTANICAL AND GENETIC CHARACTERIZATION OF CERTAIN SOLANUM SPECIES GROWN IN EGYPT. **INT J PHARM PHARM SCI**, n. 7, p. 286–295, 2015.

ALVES, TÂNIA MARIA ALMEIDA ET AL. MORPHOLOGICAL, ANATOMICAL, MACRO AND MICROMOLECULAR MARKERS FOR SOLANUM CERNUUM IDENTIFICATION. **REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA**, v. 17, p. 542-548, 2007.

ARAÚJO, N. D.; COELHO, V. P. DE M.; AGRA, M. DE F. ESTUDO FARMACOBOTÂNICO COMPARATIVO DE FOLHAS DE SOLANUM CRINITUM LAM., SOLANUM GOMPHODES DUNAL E SOLANUM LYCOCARPUM A. ST.-HIL., SOLANACEAE. **REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA: ORGAO OFICIAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA**, v. 20, n. 5, p. 666–674, 2010.

ARMINE, S. A. HISTORY OF MEDICINE. [S.L: S.N.]. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://YSMUBOOKS.AM/UPLOADS/THE_MANUAL_OF_HISTORY_OF_MEDICINE 1.PDF](https://ysmubooks.am/uploads/the_manual_of_history_of_medicine_1.pdf)>. ACESSO EM: 23 MAIO. 2022.

BAERHEIM-SVENDSEN, ANDERS; VERPOORTE, ROBERT. CHROMATOGRAPHY OF ALKALOIDS. DISTRIBUTORS FOR THE US AND CANADA, ELSEVIER/NORTH HOLLAND, 1983.

BEDETTI, C. S.; MODOLO, L. V.; ISAIAS, R. M. DOS S. THE ROLE OF PHENOLICS IN THE CONTROL OF AUXIN IN GALLS OF PIPTADENIA GONOACANTHA (MART.) MACBR

(FABACEAE: MIMOSOIDEAE). BIOCHEMICAL SYSTEMATICS AND ECOLOGY, V. 55, P. 53–59, 2014.

BELLO, A. O.; OLANIRAN, T.;; SEFIU, A. LEAF EPIDERMAL STUDIES OF SOME SOLANUM (SOLANACEAE) SPECIES IN NIGERIA. PHYTOLOGIA BALCANICA, N. 23, P. 55–63, 2017.

BERLYN, GRAEME P.; MIKSCH, JEROME P. BOTANICAL MICROTECHNIQUE AND CYTOCHEMISTRY. SYSTEMATIC BOTANY, V. 1, N. 2, P. 200, 1976.

BLANKEMEYER, J. T. ET AL. EFFECT OF POTATO GLYCOALKALOIDS, A-CHACONINE AND A-SOLANINE ON MEMBRANE POTENTIAL OF FROG EMBRYOS. J AGRIC FOOD CHEM, V. 40, P. 2022–2025, 1992.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. L. W. T. KINETICS AND MECHANISMS OF ANTIOXIDANT ACTIVITY USING THE DPPH. FREE RADICAL METHOD. LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, V. 30, N. 6, P. 609-615, 1997.

BORS, WOLF; MICHEL, CHRISTA; STETTMAIER, KURT. STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS GOVERNING ANTIOXIDANT CAPACITIES OF PLANT POLYPHENOLS. IN: METHODS IN ENZYMOLOGY. ACADEMIC PRESS, 2001. P. 166-180.

BOUSLAMTI, MOHAMMED ET AL. TOTAL POLYPHENOLS CONTENT, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF LEAVES OF SOLANUM ELAEAGNIFOLIUM CAV. FROM MOROCCO. MOLECULES, V. 27, N. 13, P. 4322, 2022.

BUKATSCH, F. BEMERKUNGEN ZUR DOPPELFÄRBUNG ASTRABLAU-SAFRANIN. MIKROKOSMOS, V. 61, N. 8.

CARTER, S. J.; LAKE, R. METHOD USING GLYCOALKALOIDS FOR MODULATING INTERLEUKIN 6, AND THERAPEUTIC USE. PCT INTERNATIONAL APPLICATION, P. 39, 2004.

CARVALHO, JOÃO LUIZ DE SOUZA ET AL. TERMOESTABILIDADE DE PROCESSOS EXTRATIVOS DE NASTURTIUM OFFICINALE R. BR., BRASSICACEAE POR SISTEMA SOXHLET MODIFICADO. QUÍMICA NOVA, V. 32, P. 1031-1035, 2009.

CHAM, B. E. ANTICANCER MEDICINAL COMPOSITIONS COMPRISING SOLASODINE GLYCOSIDES. PCT INTERNATIONAL APPLICATION, P. 51, 2000.

CHAMBERLAIN, C. J. METHODS IN PLANT HISTOLOGY. 5. ED. CHICAGO, ILL.,: THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS, P. 86, 1932.

CHIZZOLA, REMIGIUS; MICHITSCH, HANNELIESE; FRANZ, CHLODWIG. ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF THYMUS VULGARIS LEAVES: COMPARISON OF DIFFERENT EXTRACTS AND ESSENTIAL OIL CHEMOTYPES. JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, V. 56, N. 16, P. 6897-6904, 2008.

CHOWAŃSKI, S. ET AL. A REVIEW OF BIOINSECTICIDAL ACTIVITY OF SOLANACEAE ALKALOIDS. TOXINS, V. 8, N. 3, P. 60, 2016.

COCKERILL, FRANKLIN R. ET AL. METHODS FOR DILUTION ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTS FOR BACTERIA THAT GROW AEROBICALLY: APPROVED STANDARD. (No Title), 2012.

COSTA, A.F. 4ª ED. FARMACOGNOSIA. LISBOA: FUNDAÇÃO CALOUSTE GULBENKIAN, V. 4, P. 18-74, 1994.

D'ALMEIDA, WAGNER ET AL. MICROSCOPY OF EUGENIA INVOLUCRATA, CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE VOLATILE OIL. REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA, V. 31, P. 239-243, 2021.

D'ARCY, WILLIAM G. ET AL. THE GENUS TUBOCAPSICUM (SOLANACEAE). BOTANICAL BULLETIN OF ACADEMIA SINICA, V. 42, 2001.

DANINO, ORTAL ET AL. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 1, 3-DICAFFEYOYLQUINIC ACID ISOLATED FROM INULA VISCOSA. FOOD RESEARCH INTERNATIONAL, V. 42, N. 9, P. 1273-1280, 2009.

DE MIRANDA COELHO, VICTOR PEÇANHA ET AL. ANATOMY, HISTOCHEMISTRY AND PHYTOCHEMICAL PROFILE OF LEAF AND STEM BARK OF BATHYSA CUSPIDATA (RUBIACEAE). AUSTRALIAN JOURNAL OF BOTANY, V. 60, N. 1, P. 49-60, 2012.

DEMARCO, DIEGO; DE MORAES CASTRO, MARILIA; ASCENSÃO, LIA. TWO LATICIFER SYSTEMS IN *SAPIUM HAEMATOSPERMUM*—NEW RECORDS FOR EUPHORBIACEAE. *BOTANY*, v. 91, n. 8, p. 545-554, 2013.

DELBY, L. ET AL. ESTUDO MORFOANATÔMICO DE ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE *SOLANUM CAAVURANA* VELL.(*SOLANACEAE*). *LAT. AM. J. PHARM*, v. 28, n. 5, p. 675–681, 2009.

DEVEQUI-NUNES, DANIELLE ET AL. CHEMICAL CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SIX DIFFERENT EXTRACTS OF PROPOLIS THROUGH CONVENTIONAL METHODS AND SUPERCRITICAL EXTRACTION. *PLOS ONE*, v. 13, n. 12, p. e0207676, 2018.

DHARMAN, A. K.; ANILKUMAR, M. PHARMACOGNOSTIC STUDIES IN *SOLANUM CAPSICOIDES* ALL. *JOURNAL OF PHARMACOGNOSY AND PHYTOCHEMISTRY*, n. 4, p. 397–410, 2018.

DINAN, L.; HARMATHA, J.; LAFONT, R. CHROMATOGRAPHIC PROCEDURES FOR THE ISOLATION OF PLANT STEROIDS. *JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A*, v. 935, n. 1–2, p. 105–123, 2001.

ELIAS, SANDRA RM ET AL. ANATOMIA FOLIAR EM PLANTAS JOVENS DE *SOLANUM LYCOCARPUM* A. ST.-HIL.(*SOLANACEAE*). *BRAZILIAN JOURNAL OF BOTANY*, v. 26, p. 169-174, 2003.

FARMACOPEIA. FARMACOPEIA BRASILEIRA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA. [S. L.: S. N.], 2019. v. I E-BOOK. DISPONÍVEL EM: [HTTP://PORTAL.ANVISA.GOV.BR](http://portal.anvisa.gov.br).

FAITANIN, R. ET AL. PHYTOCHEMICAL SCREENING, CYTOTOXIC AND THROMBOLYTIC ACTIVITY EVALUATION OF *MYRCIARIA STRIGIPES* O. BERG, *IPOMOEALBA* L. AND *SOLANUM CORDIFOLIUM* DUNAL LEAVES. *PHARMACOLOGY ONLINE*, v. 3, p. 131-135, 2015.

FERREIRA, R. A. LEAF MORPHOANATOMY OF *SOLANUM CAPSICOIDES* ALL.(*SOLANACEAE*) FROM RESTINGA AREA. *LAT AM J PHARM*, v. 32, p. 287–291, 2013.

FINNEY, D. J. A STATISTICAL TREATMENT OF THE SIGMOID RESPONSE CURVE. PROBIT ANALYSIS. CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, LONDON, V. 633, 1971.

FORRESTER, R. THE HISTORY OF MEDICINE REVISED. JAMA: THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION, V. 309, P. 3–9, 2016.

FRANCESCHI, VINCENT R.; NAKATA, PAUL A. CALCIUM OXALATE IN PLANTS: FORMATION AND FUNCTION. ANNU. REV. PLANT BIOL., V. 56, P. 41-71, 2005.

FRANZ, C. H. ET AL. TOTAL FLAVONOIDS, TOTAL PHENOLICS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *BETONICA OFFICINALIS* L. FROM KOSOVO. IN: IV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BREEDING RESEARCH ON MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS-ISBMAP2009 860. 2009. P. 75-80.

FIDRIANNY, IRDA ET AL. ANTIOXIDANT CAPACITIES FROM DIFFERENT POLARITIES EXTRACTS OF THREE KINDS GINGER USING DPPH, FRAP ASSAYS AND CORRELATION WITH PHENOLIC, FLAVONOID, CAROTENOID CONTENT. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES, P. 521-525, 2014.

FRIEDMAN, M.; MCDONALD, G. M.; FILADELFI-KESZI, M. POTATO GLYCOALKALOIDS: CHEMISTRY, ANALYSIS, SAFETY, AND PLANT PHYSIOLOGY. CRITICAL REVIEWS IN PLANT SCIENCES, V. 16, N. 1, P. 55–132, 1997.

FRIEDMAN, M.; RAYBURN, J. R.; BANTLE, J. A. STRUCTURAL RELATIONSHIPS AND DEVELOPMENTAL TOXICITY OF *SOLANUM* ALKALOIDS IN THE FROG EMBRYO TERATOGENESIS ASSAY - *XENOPUS*. J AGRIC FOOD CHEM, V. 40, P. 1617–1624, 1992.

FRODIN, D. G. HISTORY AND CONCEPTS OF BIG PLANT GENERA. TAXON, V. 53, N. 3, P. 753–776, 2004.

FURR, Y.; MAHLBERG, P. HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF LATICIFERS AND GLANDULAR TRICHOMES IN *CANNABIS SATIVA*. J. NAT. PROD., V. 44, P. 153–159, 1981.

GABE, M., 1968. TECHNIQUES HISTOLOGIQUES. MASSON AND CIE, PARIS

GAFFIELD, W.; KEELER, R. F. INDUCTION OF TERATA IN HAMSTERS BY SOLANIDANE ALKALOIDS DERIVED FROM SOLANUM TUBEROSUM. CHEMICAL RESEARCH IN TOXICOLOGY, V. 9, N. 2, P. 426–433, 1996.

GANDHIAPPAN, J.; RENGASAMY, R. COMPARATIVE STUDY ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIFFERENT SPECIES OF SOLANACEAE FAMILY. ADV. APPL. SCI. RES, V. 3, N. 3, P. 1538-1544, 2012.

HADDAD, ANTONIO ET AL. TÉCNICAS BÁSICAS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA APLICADAS ÀS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS. RIO DE JANEIRO: SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROSCOPIA. ACESSO EM: 16 OUT. 2022.

HAMIDI, M. R.; BLAGICA; PANOVSKA, T. TOXICOLOGICAL EVALUATION OF THE PLANT PRODUCTS USING BRINE SHRIMP (ARTEMIA SALINA L.) MODEL. MACED PHARM BULL. P. 9–18, 2014.

HEIM, KELLY E.; TAGLIAFERRO, ANTHONY R.; BOBILYA, DENNIS J. FLAVONOID ANTIOXIDANTS: CHEMISTRY, METABOLISM AND STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS. THE JOURNAL OF NUTRITIONAL BIOCHEMISTRY, V. 13, N. 10, P. 572-584, 2002.

HIGDON, JANE V.; FREI, BALZ. TEA CATECHINS AND POLYPHENOLS: HEALTH EFFECTS, METABOLISM, AND ANTIOXIDANT FUNCTIONS, CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION, 43:1, 89-143, 2003. DOI: 10.1080/10408690390826464

INNIS, SHEILA M. PALMITIC ACID IN EARLY HUMAN DEVELOPMENT. CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION, V. 56, N. 12, P. 1952-1959, 2016.

ISABELLE, MIA ET AL. ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PROFILES OF COMMON FRUITS IN SINGAPORE. FOOD CHEMISTRY, V. 123, N. 1, P. 77-84, 2010.

IKEDA, T. ET AL. CYTOTOXIC ACTIVITY OF STEROIDAL GLYCOSIDES FROM SOLANUM PLANTS. BIOLOGICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN, V. 26, N. 8, P. 1198–1201, 2003.

JACOB, JISSY K. ET AL. ANTIOXIDANT AND ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF POLYPHENOLS IN NOVEL HIGH-POLYPHENOL GRAPE LINES. FOOD RESEARCH INTERNATIONAL, V. 41, N. 4, P. 419-428, 2008.

JOHANSEN, D. A. PLANT MICROTECHNIQUE. NOVA IORQUE, NY, USA: MCGRAW-HILL, 1940.

JENSEN, W. A. BOTANICAL HISTOCHEMISTRY: PRINCIPLES AND PRACTICE. BERKLEY: W. H. FREEMAN & Co, 1962.

KARABOURNIOTIS, GEORGE ET AL. NEW INSIGHTS INTO THE FUNCTIONS OF CARBON–CALCIUM INCLUSIONS IN PLANTS. NEW PHYTOLOGIST, V. 228, N. 3, P. 845-854, 2020.

KATALINIĆ, VISNJA ET AL. ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF PROPOLIS FROM DALMATIA (CROATIA). ACTA MEDICA CROATICA: CASOPIS HRVATSKE AKADEMIJE MEDICINSKIH ZNANOSTI, V. 58, N. 5, P. 373-376, 2004.

KAUNDA, J. S.; ZHANG, Y.-J. THE GENUS SOLANUM: AN ETHNOPHARMACOLOGICAL, PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES REVIEW. NATURAL PRODUCTS AND BIOPROSPECTING, V. 9, N. 2, P. 77–137, 2019.

KEUKENS, E. A. J. ET AL. MOLECULAR BASIS OF GLYCOALKALOID INDUCED MEMBRANE DISRUPTION. BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. BIOMEMBRANES, V. 1240, N. 2, P. 216–228, 1995.

KHANAVI, MAHNAZ ET AL. COMPARISON OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL PHENOLIC CONTENTS IN SOME STACHYS SPECIES. AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, V. 8, N. 6, 2009.

KOWALCZYK, TOMASZ ET AL. HIDDEN IN PLANTS—A REVIEW OF THE ANTICANCER POTENTIAL OF THE SOLANACEAE FAMILY IN IN VITRO AND IN VIVO STUDIES. CANCERS, V. 14, N. 6, P. 1455, 2022.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. MANUAL BÁSICO DE MÉTODOS EM MORFOLOGIA VEGETAL. SEROPÉDICA, RJ, BR: EDITORA UNIVERSIDADE RURAL (EDUR), 1997.

KUO, K. W. ET AL. ANTICANCER ACTIVITY EVALUATION OF THE SOLANUM GLYCOALKALOID SOLAMARGINE. TRIGGERING APOPTOSIS IN HUMAN HEPATOMA CELLS. BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, V. 60, N. 12, P. 1865–1873, 2000.

LACHMAN, J. ET AL. POTATO GLYCOALKALOIDS AND THEIR SIGNIFICANCE IN PLANT PROTECTION AND HUMAN NUTRITION-REVIEW. ROSTL. VYR, V. 47, P. 181–191, 2001.

LANKEMEYER, J. T.; ATHERTON, R.; FRIEDMAN, M. EFFECT OF POTATO GLYCOALKALOIDS ACHACONINE AND A-SOLANINE ON SODIUM ACTIVE TRANSPORT IN FROG SKIN. J AGRIC FOOD CHEM, V. 43, P. 636–639, 1995.

LAWSON, C. USE OF SOLAMARGINE FOR TREATING SKINTUMORS. PCT INTERNATIONAL APPLICATION, P. 10, 2003.

LERSTEN, NELS R.; HORNER, HARRY T. UNIQUE CALCIUM OXALATE “DUPLEX” AND “CONCRETION” IDIOBLASTS IN LEAVES OF TRIBE NAUCLEEAE (RUBIACEAE). AMERICAN JOURNAL OF BOTANY, V. 98, N. 1, P. 1-11, 2011.

LIU, L. F. ET AL. ACTION OF SOLAMARGINE ON HUMAN LUNG CANCER CELLS - ENHANCEMENT OF THE SUSCEPTIBILITY OF CANCER CELLS TO TNFs. FEBS LETTERS, V. 577, P. 67–74, 2004.

LOGANAYAKI, NATARAJ; SIDDHURAJU, PERUMAL; MANIAN, SELLAMUTHU. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF TWO TRADITIONAL INDIAN VEGETABLES: SOLANUM NIGRUM L. AND SOLANUM TORVUM L. FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY, V. 19, P. 121-127, 2010.

LORENZI, H. ÁRVORES BRASILEIRAS: MANUAL DE IDENTIFICAÇÃO E CULTIVO DE PLANTAS ARBÓREAS NATIVAS DO BRASIL. V. 3.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R. HISTOCHEMISTRY AND IDENTIFICATION OF CONDENSED TANNIN PRECURSORS IN ROOTS OF COTTON SEEDLINGS. CANADIAN JOURNAL OF BOTANY, N. 11, P. 2423–2426, 1974.

MAILLARD, M.-N. ET AL. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BARLEY AND MALT: RELATIONSHIP WITH PHENOLIC CONTENT. LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, V. 29, N. 3, P. 238-244, 1996.

MAITI, R. K. SOME ASPECTS ON PHARMACOGNOSY OF TEN SPECIES OF THE FAMILY SOLANACEAE UTILIZED IN TRADITIONAL MEDICINE/ALGUNOS

ASPECTOS DE LA FARMACOGNOSIA DE DIEZ ESPECIES DE LA FAMILIA SOLANACEAE EMPLEADAS EN MEDICINA TRADICIONAL. CALDASIA. P. 317–321, 2002.

MANCINI, ANNAMARIA ET AL. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E NUTRICIONAIS DO ÓLEO DE PALMA E DO ÁCIDO PALMÍTICO: EFEITOS NA SAÚDE. MOLECULES, V. 20, N. 9, P. 17339-17361, 2015.

MATIAS, LAUDINEIA J. ET AL. STRUCTURE AND HISTOCHEMISTRY OF MEDICINAL SPECIES OF SOLANUM. REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA, V. 26, P. 147-160, 2016.

MAYORGA, PABLO ET AL. COMPARISON OF BIOASSAYS USING THE ANOSTRACAN CRUSTACEANS ARTEMIA SALINA AND THAMNOCEPHALUS PLATYURUS FOR PLANT EXTRACT TOXICITY SCREENING. REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA, V. 20, P. 897-903, 2010.

MEYER, B. N. BRINE SHRIMP: A CONVENIENT GENERAL BIOASSAY FOR ACTIVE PLANT CONSTITUENTS. PLANTA MÉDICA, V. 45, P. 31–34, 1982.

METCALFE, CHARLES RUSSELL ET AL. ANATOMY OF THE DICOTYLEDONS: LEAVES, STEM, AND WOOD, IN RELATION TO TAXONOMY, WITH NOTES ON ECONOMIC USES. ANATOMY OF THE DICOTYLEDONS: LEAVES, STEM, AND WOOD, IN RELATION TO TAXONOMY, WITH NOTES ON ECONOMIC USES., 1950.

MIGUEL, O. G. ENSAIO SISTEMÁTICO DE ANÁLISE EM FITOQUÍMICA. APOSTILA DA DISCIPLINA DE FITOQUÍMICA DO CURSO DE FARMÁCIA DA UFPR, CURITIBA, 2003.

MILNER, S. E. ET AL. BIOACTIVITIES OF GLYCOALKALOIDS AND THEIR AGLYCONES FROM SOLANUM SPECIES. JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, V. 59, N. 8, P. 3454–3484, 2011.

MIKSCH, J. P. BOTANICAL MICROTECHNIQUE AND CYTOCHEMISTRY. SYSTEMATIC BOTANY, V. 1, N. 2, P. 200, 1976.

MHATRE, MINAL ET AL. EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF NON-TRANSFORMED AND TRANSFORMED PINEAPPLE: A COMPARATIVE STUDY. FOOD AND CHEMICAL TOXICOLOGY, V. 47, N. 11, P. 2696-2702, 2009.

MONTRUCCHIO, P. D. ESTUDO FITOQUÍMICO E DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *PTYCHOPETALUM OLACOIDES* BENTHAM. DISSERTAÇÃO (MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS) – PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO, UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. CURITIBA, P. 100. 2001. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://ACERVODIGITAL.UFPR.BR/HANDLE/1884/43842](https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/43842)>. ACESSO EM: 10 DEZ. 2023.

MORANKAR, PRAVIN; JAIN, ALOK PAL. EXTRACTION, QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF SECONDARY METABOLITES OF AERIAL PARTS OF *CLEMATIS HEYNEI* AND *SOLANUM VIRGINIANUM*. JOURNAL OF DRUG DELIVERY AND THERAPEUTICS, v. 9, N. 1-s, P. 260-264, 2019.

MOREIRA, E. A.; MARCHA SISTEMÁTICA DE ANÁLISE EM FITOQUÍMICA. TRIBUNA FARMACÊUTICA, v.47, N.1, P.1-19, 1979.

MOSHI, M. J. ET AL. BRINE SHRIMP TOXICITY OF SOME PLANTS USED AS TRADITIONAL MEDICINES IN KAGERA REGION, NORTH WESTERN TANZANIA. TANZANIA JOURNAL OF HEALTH RESEARCH, v. 12, N. 1, P. 63-67, 2010.

NKWE, D. O. ET AL. ANTICANCER MECHANISMS OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM SOLANACEAE: AN UPDATE. CANCERS, v. 13, N. 19, P. 4989, 2021.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. FUNDAMENTOS DE FARMACOBOTÂNICA E DE MORFOLOGIA VEGETAL. SÃO PAULO, SP, BR: ATHENEU, 2009.

OLMSTEAD, R. G.; BOHS, L.; PAUMGARTTEN, F. J. R. ANALGESIC PROPERTIES OF PLANTS FROM THE GENUS *SOLANUM* L. (SOLANACEAE). TREATMENTS, MECHANISMS, AND ADVERSE REACTIONS OF ANESTHETICS AND ANALGESICS. ACTA HORTICULTURAE, v. 745, P. 457–471, 1982.

OSTWALD, D. ET AL. THE GLOBAL ECONOMIC IMPACT OF THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY. RETRIEVED FEBRUARY 25, 2022 FROM [HTTPS://WWW. IFPMA. ORG/WP-CONTENT/UPLOADS/2021/04/WIFOR_GLOBAL_ECONOMIC_FOOTPRINT_STUDY_SEPTMBER_2020](https://www.ifpma.org/wp-content/uploads/2021/04/WIFOR_GLOBAL_ECONOMIC_FOOTPRINT_STUDY_SEPTMBER_2020.pdf). PDF, 2020.

PAES DE ALMEIDA, VALTER ET AL. MICROSCOPY AND HISTOCHEMISTRY OF LEAVES AND STEMS OF *BACCHARIS* SUBGENUS *CORIDIFOLIAE* (ASTERACEAE) THROUGH LM AND SEM-EDS. MICROSCOPY AND MICROANALYSIS, v. 27, N. 5, P. 1273-1289, 2021.

PAIVA, ELDER ANTÔNIO SOUSA; MACHADO, SILVIA RODRIGUES. ROLE OF INTERMEDIARY CELLS IN PELTODON RADICANS (LAMIACEAE) IN THE TRANSFER OF CALCIUM AND FORMATION OF CALCIUM OXALATE CRYSTALS. BRAZILIAN ARCHIVES OF BIOLOGY AND TECHNOLOGY, V. 48, P. 147-153, 2005.

PAULETE, J.; BEÇAK, W. TÉCNICAS DE CITOLOGIA E HISTOLOGIA. LIVROS TÉCNICOS E CIENTÍFICOS. SÃO PAULO, 1976.

PAUMGARTTEN, F. J. R. ANALGESIC PROPERTIES OF PLANTS FROM THE GENUS SOLANUM L. (SOLANACEAE). TREATMENTS, MECHANISMS, AND ADVERSE REACTIONS OF ANESTHETICS AND ANALGESICS. P. 457–471, 2022.

PEARSE, A. G. EVERSON HISTOCHEMISTRY: PREPARATIVE AND OPTICAL TECHNOLOGY V.1: THEORETICAL AND APPLIED. 4. ED. LONDRES, ENGLAND: CHURCHILL LIVINGSTONE, 1980.

PETROVSKA, BILJANA BAUER. HISTORICAL REVIEW OF MEDICINAL PLANTS' USAGE. PHARMACOGNOSY REVIEWS, V. 6, N. 11, P. 1, 2012.

PICOLI, E. A.; DE, T. ANATOMY, HISTOCHEMISTRY AND MICROMORPHOLOGY OF LEAVES OF SOLANUM GRANULOSO-LEPROSUM DUNAL. BIOSCIENCE JOURNAL, V. 29, N. 3, P. 655–666, 2013.

POMILIO, ALICIA B.; FALZONI, ELVIRA M.; VITALE, ARTURO A. TOXIC CHEMICAL COMPOUNDS OF THE SOLANACEAE. NATURAL PRODUCT COMMUNICATIONS, V. 3, N. 4, P. 1934578X0800300420, 2008.

POMILIO, A. B. ET AL. OCCURRENCE OF FLAVONES AND FLAVONOLS AGLYCONES AND ITS GLYCOSIDES IN SOLANUM (SOLANACEAE). QUIMICA NOVA, P. 517–522, 2003.

PRAKASH, NK UDAYA ET AL. ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COMMON PLANTS OF NORTHERN TAMIL NADU, INDIA. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES, V. 6, N. 4, P. 128-132, 2014.

PRIETO, PILAR; PINEDA, MANUEL; AGUILAR, MIGUEL. SPECTROPHOTOMETRIC QUANTITATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY THROUGH THE FORMATION OF A

PHOSPHOMOLYBDENUM COMPLEX: SPECIFIC APPLICATION TO THE DETERMINATION OF VITAMIN E. ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, V. 269, N. 2, P. 337-341, 1999.

RAESKI, PAOLA APARECIDA ET AL. CALCIUM OXALATE CRYSTAL MACROPATTERN AND ITS USEFULNESS IN THE TAXONOMY OF BACCHARIS (ASTERACEAE). MICROSCOPY RESEARCH AND TECHNIQUE, 2023.

RAYBURN, J. R.; BANTLE, J. A.; FRIEDMAN, M. ROLE OF CARBOHYDRATE SIDE CHAINS OF POTATO GLYCOALKALOIDS IN DEVELOPMENTAL TOXICITY. JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, V. 42, N. 7, P. 1511–1515, 1994.

RODDICK, J. G. STEROIDAL GLYCOALKALOIDS: NATURE AND CONSEQUENCES OF BIOACTIVITY. ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY, V. 404, P. 277–295, 1996.

RIOS, JOSE-LUIS; RECIO, MARIA CARMEN; VILLAR, A. SCREENING METHODS FOR NATURAL PRODUCTS WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY: A REVIEW OF THE LITERATURE. JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, V. 23, N. 2-3, P. 127-149, 1988.

SABIR, S. M.; ROCHA, J. B. T. ANTIOXIDANT AND HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF SOLANUM FASTIGIATUM (FALSE “JURUBEBA”) AGAINST PARACETAMOL-INDUCED LIVER DAMAGE IN MICE. JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, V. 120, N. 2, P. 226-232, 2008.

SADDIQUE, ZEB; MAIMOONA, ALYA. PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND ANTHELMINTIC ACTIVITY OF EXTRACTS OF AERIAL PARTS OF SOLANUM NIGRUM L.. BIOLOGIA (PAKISTAN), 59 (2), 205-211, 2013.

SALGUEIRO, FERNANDA B.; CASTRO, ROSANE N. COMPARAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERDE. QUÍMICA NOVA, V. 39, P. 1192-1199, 2016.

SÁNCHEZ-MORENO, CONCEPCIÓN. METHODS USED TO EVALUATE THE FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITY IN FOODS AND BIOLOGICAL SYSTEMS. FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY INTERNATIONAL, V. 8, N. 3, P. 121-137, 2002.

SARMENTO DA, S.; MARIA, T. OCCURRENCE OF FLAVONES AND FLAVONOLS AGLYCONES AND ITS GLYCOSIDES IN SOLANUM (SOLANACEAE). QUIMICA NOVA, P. 517–522, 2003.

SASLIS-LAGOUDAKIS, C. H. ET AL. PHYLOGENIES REVEAL PREDICTIVE POWER OF TRADITIONAL MEDICINE IN BIOPROSPECTING. PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, V. 109, N. 39, P. 15835–15840, 2012.

SHAH, VISHAL VILAS; SHAH, NUTAN DHANPAL; PATREKAR, PRASAD VASANTRAO. MEDICINAL PLANTS FROM SOLANACEAE FAMILY. RESEARCH JOURNAL OF PHARMACY AND TECHNOLOGY, V. 6, N. 2, P. IV, 2013.

SIDDIQI, S. A.; AHMAD, R.; SIDDIQUI, S. P. STUDIES ON THE STRUCTURE AND ONTOGENY OF STOMATA AND TRICHOMES ON THE LEAVES OF SOME SOLANUM SPECIES. GEOPHYTOLOGY, 1980.

SIDOROV, R. A. ET AL. PALMITIC ACID IN HIGHER PLANT LIPIDS. PALMITIC ACID: OCCURRENCE, BIOCHEMISTRY AND HEALTH EFFECTS. NOVA PUBLISHERS, NEW YORK, P. 125-144, 2014. SMITH, D. B.; RODDICK, J. G.; JONES, J. L. SYNERGISM BETWEEN THE POTATO GLYCOALKALOIDS A - CHACONINE AND A -SOLANINE IN INHIBITION OF SNAIL FEEDING. PHYTOCHEMISTRY, V. 57, P. 229–234, 2001.

SILVA, G.; ALVES DA, ;.; AKISEU, G. MORFODIAGNOSE DE CISSUS SICYOIDE L.(INSULINA-VEGETAL). LECTA-USF. P. 63–97, 1997.

SILVA, TANIA MARIA S. ET AL. BRINE SHRIMP BIOASSAY OF SOME SPECIES OF SOLANUM FROM NORTHEASTERN BRAZIL. REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA, V. 17, P. 35-38, 2007.

SINGLETON, VERNON L.; ORTHOFER, RUDOLF; LAMUELA-RAVENTÓS, ROSA M. [14] ANALYSIS OF TOTAL PHENOLS AND OTHER OXIDATION SUBSTRATES AND ANTIOXIDANTS BY MEANS OF FOLIN-CIOCALTEU REAGENT. IN: METHODS IN ENZYMOLOGY. ACADEMIC PRESS, 1999. P. 152-178.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO SOBRE A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA, SIBBR. SOLANUM SANCTAE-CATHARINAE DUNAL. ACESSO EM: 02/09/2022 DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://ALA-BIE.SIBBR.GOV.BR/ALA-BIE/SPECIES/281981?LANG=PT_BR#CLASSIFICATION](https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/281981?lang=pt_br#classification)>.

SMITH, DAVID B.; RODDICK, JAMES G.; JONES, J. LEIGHTON. SYNERGISM BETWEEN THE POTATO GLYCOALKALOIDS A-CHACONINE AND A-SOLANINE IN INHIBITION OF SNAIL FEEDING. PHYTOCHEMISTRY, v. 57, n. 2, p. 229-234, 2001.

SOURI, EFFAT ET AL. SCREENING OF THIRTEEN MEDICINAL PLANT EXTRACTS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY. IRANIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL RESEARCH, v. 7, n. 2, p. 149-154, 2008.

SRIVIDYA, A. R. ET AL. PHARMACOGNOSTIC, PHYTOCHEMICAL AND ANTI-MICROBIAL STUDIES OF SOLANUM INDICUM LEAVES. ANCIENT SCIENCE OF LIFE, v. 29, n. 1, p. 3, 2009.

STEHMANN, J.R.; MENTZ, L.A.; AGRA, M.F.; VIGNOLI-SILVA, M.; GIACOMIN, L.; RODRIGUES, I.M.C. 2015 SOLANACEAE IN LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL. JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. DISPONÍVEL EM: <[HTTP://FLORADOBRASIL.JBRJ.GOV.BR/JABOT/FLORADOBRASIL/FB14716](http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14716)>.

SUREK, MONICA ET AL. CHEMICAL COMPOSITION, CYTOTOXICITY, AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PROPOLIS FROM AFRICANIZED HONEYBEES AND THREE DIFFERENT MELIPONINI SPECIES. JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, v. 269, p. 113662, 2021.

SUREK, MONICA ET AL. PROPOLIS AUTHENTICATION OF STINGLESS BEES BY MID-INFRARED SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRIC ANALYSIS. LWT, v. 161, p. 113370, 2022.

TROPICOS.ORG. MISSOURI BOTANICAL GARDEN. SOLANUM SANCTAE-CATHARINAE DUNAL. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://TROPICOS.ORG/NAME/29601865](https://tropicos.org/name/29601865)>. ACESSO EM: 9 SET. 2023.

TERAO, JUNJI; PISKULA, MARIUSZ; YAO, QING. PROTECTIVE EFFECT OF EPICATECHIN, EPICATECHIN GALLATE, AND QUERCETIN ON LIPID PEROXIDATION IN PHOSPHOLIPID BILAYERS. ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, V. 308, N. 1, P. 278-284, 1994.

THAIPONG, KRIENGSAK ET AL. COMPARISON OF ABTS, DPPH, FRAP, AND ORAC ASSAYS FOR ESTIMATING ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM GUAVA FRUIT EXTRACTS. JOURNAL OF FOOD COMPOSITION AND ANALYSIS, V. 19, N. 6-7, P. 669-675, 2006.

TOLOUEI, SARA EMILIA LIMA ET AL. ETHNOPHARMACOLOGICAL APPROACHES TO TALINUM PANICULATUM (JACQ.) GAERTN.-EXPLORING CARDIORENAL EFFECTS FROM THE BRAZILIAN CERRADO. JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, V. 238, P. 111873, 2019.

TÜTÜNCÜ KONYAR, SEVİL; ÖZTÜRK, NECLA; DANE, FERUZAN. OCCURRENCE, TYPES AND DISTRIBUTION OF CALCIUM OXALATE CRYSTALS IN LEAVES AND STEMS OF SOME SPECIES OF POISONOUS PLANTS. BOTANICAL STUDIES, V. 55, N. 1, P. 1-9, 2014.

WINK, M. A SHORT HISTORY OF ALKALOIDS. EM: ALKALOIDS. BOSTON, MA: SPRINGER US, 1998. P. 11–44.

WAGNER, HILDEBERT; BLADT, SABINE. PLANT DRUG ANALYSIS: A THIN LAYER CHROMATOGRAPHY ATLAS. SPRINGER SCIENCE & BUSINESS MEDIA, 1996.

ZADRA, MARINA ET AL. ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHYTOCHEMICAL COMPOSITION OF THE LEAVES OF SOLANUM GUARANITICUM A. ST.-HIL. MOLECULES, V. 17, N. 11, P. 12560-12574, 2012.

ZHENG, WEI; WANG, SHIOW Y. ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHENOLIC COMPOUNDS IN SELECTED HERBS. JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, V. 49, N. 11, P. 5165-5170, 2001.