



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

MESSIAS DE OLIVEIRA SILVA

**INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E FARMACOLÓGICA DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Solanum campaniforme* ROEM & SCHULT (Solanaceae)**

**CAMPINA GRANDE - PB
2020**

MESSIAS DE OLIVEIRA SILVA

**INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E FARMACOLÓGICA DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Solanum campaniforme* ROEM & SCHULT (Solanaceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Química da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Graduado em Licenciatura em Química.

Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Profa. Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres.

**CAMPINA GRANDE - PB
2020**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S586i Silva, Messias de Oliveira.
Investigação química e farmacológica do extrato obtido das folhas de *Solanum campaniforme* Roem & Schult (Solanaceae) [manuscrito] / Messias de Oliveira Silva. - 2020.
28 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2020.
"Orientação : Profa. Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres, Departamento de Química - CCT."
1. Solanum campaniforme. 2. Atividade anti-inflamatória. 3. Alcaloides esteroidais. I. Título

21. ed. CDD 615.19

MESSIAS DE OLIVEIRA SILVA

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E FARMACOLÓGICA DO EXTRATO OBTIDO DAS
FOLHAS DE *Solanum campaniforme* ROEM & SCHULT (Solanaceae)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Licenciatura em Química da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Graduado em Licenciatura em Química.

Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovada em: 20/11/2020.

BANCA EXAMINADORA


Profª. Dra. Maria da Conceição de Meêzes Torres (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Me. Lidiiane Gomes de Araújo
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. Dr. José Arimateia Nobrega
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Dedico este trabalho a Deus e a todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta para que este sonho fosse realizado.

AGRADECIMENTOS

A Deus que é o autor de toda criação e que me concedeu o dom da vida e que foi uma das minhas fortalezas para conseguir conquistar tudo que tenho hoje com esforço, dedicação e fé.

À professora Maria da Conceição de Menezes Torres pelas leituras sugeridas ao longo dessa orientação, pela paciência, pelos ensinamentos e pela dedicação, você é uma verdadeira mãe para mim, muito obrigado por tudo.

A minha mãe Terezinha por tudo que tem feito por mim, todo incentivo e por sempre acreditar em mim, você é um dos motivos que eu busquei para concluir essa graduação, pois sei o quanto lutou sempre para me proporcionar o melhor, te amo muito.

A minha tia Zulmira que durante toda graduação me acolheu em sua casa e fez um papel que foi muito importante na minha vida, muito obrigado pelos momentos divertidos, pelo cuidado comigo, você se tornou uma tia-mãe para mim como a senhora sempre falou. Ao meu avô José Machado e minha vó Mãe Rosa por sempre acreditarem em mim, seu sonho era me vê formado e graças a Deus isso está acontecendo, levarei tudo que fizeram por mim para o resto da minha vida.

Aos meus familiares e amigos por sempre estarem comigo compartilhando diversos momentos e que sempre depositaram toda confiança em mim, vocês foram um dos motivos de maior alegria em minha vida, obrigado pelas risadas, por me ouvirem e sempre estarem ao meu lado, me incentivar e pela compreensão por minha ausência nas reuniões familiares e de amizade.

Aos meus colegas de classe pelos momentos de amizade e apoio. Aos meus colegas de laboratório pelos momentos de amizade, de troca de conhecimentos e de apoio, em especial aos meus colegas do Laboratório de Síntese Orgânica e Produtos Naturais por terem me ajudado em momentos tão importantes desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes, do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco pela realização da atividade biológica. Ao Instituto Nacional do Semiárido na pessoa do Dr. Daniel Araújo.

Aos professores da UEPB por toda a amizade, incentivo e conhecimento repassado, serei eternamente grato a vocês.

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil, PIBIC – UEPB.

RESUMO

As plantas medicinais são utilizadas pelo homem desde a antiguidade e essa tradição vem passando de geração em geração. O uso medicinal dá-se devido a ação que essas plantas têm na cura e tratamento de algumas doenças, mostrando assim o potencial que as mesmas possuem. O gênero *Solanum* é considerado um dos maiores e mais complexos da família Solanaceae. Muitas espécies deste gênero são bastante utilizadas na medicina tradicional especialmente no tratamento de doenças da pele ou doenças relacionadas ao fígado e baço, também como diurético, anti-inflamatório, calmante, antiespasmódico, antiepilético e antiofídico. O presente trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico das folhas de *Solanum campaniforme* Roem. & Schult, visando o isolamento de seus metabólitos secundários e avaliação da atividade anti-inflamatória. A investigação química do extrato das folhas da referida espécie, foi realizada através de métodos cromatográficos como: cromatografia em coluna, empregando gel de sílica como adsorvente, cromatografia em camada delgada e cromatográfica líquida acoplada à espectrometria de massas, resultou em uma mistura contendo dois alcaloides esteroidais: 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona (Sc-01), 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-ona (Sc-02) e o isolamento de outro alcaloide esteroidal 3,9 β -dihidroxi-22 α ,23 α -epoxi-9,10-secosolanida-1,3,5(10)-trieno (Sc-03). As substâncias isoladas tiveram suas estruturas identificadas por comparação com dados descritos na literatura. O extrato de *S. Campaniforme* foi submetido a testes de atividade anti-inflamatória frente a Edema de orelha induzido por óleo de *Croton* e por 13-acetato-12-miristato de forbol (PMA) e apresentou teste positivo, reduzindo significativamente o edema.

Palavras-Chave: *Solanum campaniforme*. Atividade anti-inflamatória. Alcaloides esteroidais.

ABSTRACT

The medicinal plants are used by the mankind since antiquity and this tradition has been passing from generation through generation. The medicinal use occurs due to the action that these plants have in terms of healing and treatment of some diseases, and showing, this manner, the potential which these plants have. Gender *Solanum* is considered one of the biggest and complex of its group *Solanaceae*, many species from this gender are fairly used in the traditional medicine, especially in the treatment of skin diseases or some diseases related to the liver and spleen, as the diuretic, anti-inflammatory, soothing, antispasmodic, antiepileptic, and antiophidic. This search aims to accomplish the phytochemical study of the *Solanum campaniforme* Roem & Schult leaves, aiming the isolation of its secondary metabolic and evaluation of the anti-inflammatory activity. The chemical investigation of the leaves extract, through the chromatographic methods, such as: column chromatography, using silica gel as adsorbent, thin layer chromatography and liquid chromatographic coupled to mass spectrometry, which resulted in a mixture containing two steroidal alkaloids: 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona (Sc-01), 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-ona (Sc-02) and the isolation of other steroidal alkaloid 3,9 β -dihidroxi-22 α ,23 α -epoxi-9,10-secosolanida-1,3,5(10)-trieno (Sc-03). The isolated substances had their structures identified by comparison with described data in the reading. The *S. Campaniforme* extract was submitted to some anti-inflammatory activity tests compared to the Edema of ear induced by croton oil and by phorbol 12-myristate-13-acetate (PMA) and presented a positive test, fairly reducing the edema.

Keywords: *Solanum campaniforme*. Anti-inflammatory activity. Steroidal alkaloids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	<i>S. campaniforme</i> no seu habitat natural.....	12
Figura 2 –	Estruturas da solasodina e da tomatidina.....	14
Figura 3 –	Estruturas dos esqueletos básicos dos solanidanos e dos espirosolanos.....	15
Figura 4 –	Placa de CCD das substâncias semipurificadas.....	22
Figura 5 –	Cromatogramas da análise por CL-EM (Sc 01 e 02)	23
Figura 6–	Espectro de massas de SC-01.....	23
Figura 7 –	Espectro de massas de SC-02.....	24
Figura 8 –	Estrutura dos alcaloides esteroidais isolados.....	24
Figura 9 –	Atividade anti-inflamatória do extrato de <i>S. campaniforme</i>	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estruturas de alguns alcaloides esteroidais encontrados no gênero <i>Solanum</i>	16
Tabela 2 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico do extrato.....	20
Tabela 3 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da subfração 10-16.....	20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CL-EM	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral.....	13
2.2	<i>Objetivos específicos</i>	13
3.	REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1	A química do gênero <i>Solanum</i>	14
3.2	Classificação dos alcaloides esteroidais.....	14
3.3	Ocorrência de alcaloides esteroidais no gênero <i>Solanum</i>	15
4	METODOLOGIA	19
4.1	Partição líquido-líquido do extrato.....	19
4.2	Fracionamento da fração acetato de etila de <i>S. campaniforme</i>	19
4.3	Fracionamento da subfração 10-16.....	20
4.4	Análise da subfração 49-60 por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CL-EM)	21
4.5	Avaliação da atividade anti-inflamatória do extrato de <i>S. campaniforme</i>	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
5.1	Isolamento dos constituintes químicos.....	22
5.2	Avaliação da atividade anti-inflamatória.....	25
6	CONCLUSÃO	26
7	REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são utilizadas há muito tempo pelo homem, os nossos antepassados já utilizavam-se delas e foram passando a tradição de geração em geração. Esse uso dá-se devido a ação que essas plantas têm na cura e tratamento de algumas doenças, mostrando assim o potencial que as mesmas possuem.

As plantas originam uma série de metabólitos secundários, como esteroides, terpenoides, alcaloides, dentre outros, que apresentam diversas funções e aplicações, sendo assim de suma importância em áreas como a agricultura e a medicina (CRUZ et al., 2019).

O gênero *Solanum* é considerado um dos maiores e mais complexos gêneros da família Solanaceae, sendo assim um dos mais representativos desta família. No Brasil o gênero está bem representado, com cerca de 350 espécies distribuídas de norte a sul em diversas regiões fitogeográficas. Muitas espécies de *Solanum* são conhecidas como “jurubebas”, a palavra que se refere aos espinhos encontrados nas hastes de várias espécies (KAUNDA, 2019). São bastante utilizados na medicina tradicional, especialmente, no tratamento de doenças da pele ou doenças relacionadas ao fígado e baço, também como diurético, anti-inflamatório, calmante, antiespasmódico e antiepilético, além de terem sido relatadas para o tratamento antifídico (LORENZI & MATOS, 2008; LOC & KIET, 2011).

As plantas desse gênero destacam-se pela capacidade de bioproduzirem uma enorme variedade de metabólitos secundários, como alcaloides e saponinas esteroidais, flavonoides e terpenoides, no qual os alcaloides esteroidais são dominantes na química deste gênero (RAMOS et al., 2019). Devido a esta variedade de metabólitos, os mesmos despertam interesse terapêutico e um vasto leque de atividades biológicas como citotóxica, anticâncer, anti-inflamatória, entre outras, têm sido relatado na literatura (PINTO et al., 2011).

Solanum campaniforme Roem. & Schult (Figura 1), pertencente ao gênero *Solanum* L., é conhecido popularmente como "jurubeba brava", podendo ser encontrada em todas as regiões brasileiras, sendo no Nordeste, distribuído nos estados do Maranhão, Ceará, Paraíba e Pernambuco (STEHMANN et al., 2010).

Figura 1 – *S. campaniforme* no seu habitat natural



Estudos envolvendo *S. campaniforme* pelo nosso grupo de pesquisa relatam o isolamento de novos alcaloides esteroidais a partir das folhas de *S. campaniforme* e o potencial antiofídico dos mesmos, onde foi possível observar inibição significativa das atividades proteolíticas *in vitro* e a redução dos efeitos miotóxicos, hemorrágicos e necrosantes promovidos pelo veneno total de *Bothrops pauloensis* induzidos em camundongos (TORRES et al., 2011 e 2013).

Métodos cromatográficos são bastante utilizados para o isolamento de constituintes químicos de extratos de plantas como utilizados nesse trabalho. Quando isolados e identificados, muitos compostos são submetidos a testes para analisar atividades biológicas que podem ser identificadas em testes *in vitro* ou *in vivo*, com animais.

Em face do exposto, e como ainda havia extratos a serem analisados, associados as folhas da referida espécie, decidiu-se pela continuação da investigação dos extratos de *S. campaniforme* visando o isolamento e caracterização de seus metabólitos secundários para dar seguimento aos estudos dos efeitos biológicos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar o estudo fitoquímico da espécie *S. campaniforme* com vista ao isolamento de seus metabólitos secundários e avaliação da atividade anti-inflamatória, contribuindo assim, com o conhecimento químico e farmacológico da referida espécie.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar o fracionamento cromatográfico do extrato das folhas de *S. campaniforme*;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória do extrato;
- Isolar e caracterizar metabólitos secundários a partir de extrato das folhas de *S. campaniforme*;

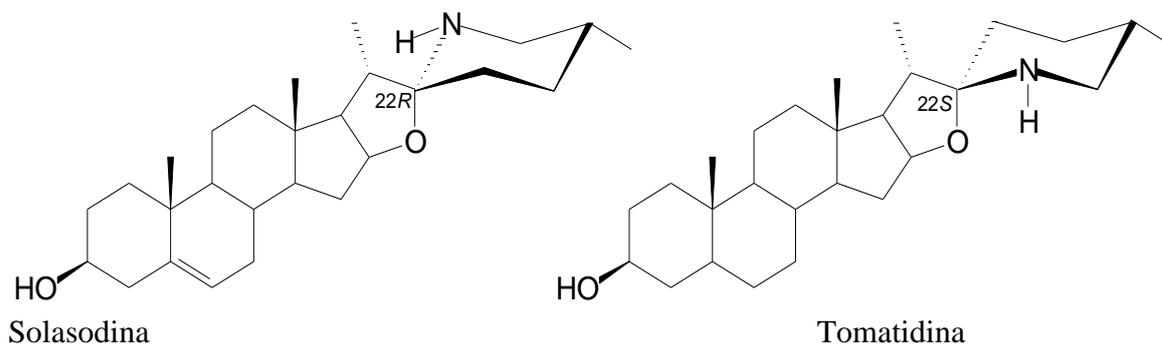
3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A química do gênero *Solanum*

Os alcaloides estereoidais são uma classe de substâncias químicas com grande abundância no gênero *Solanum* (RAMOS et al., 2019). Estes compostos formam uma grande classe de substâncias heterogêneas naturais que, normalmente, apresentam em sua estrutura química um ou mais átomos de nitrogênio, além do carbono e hidrogênio. Na maioria dos casos o átomo de nitrogênio forma parte de um anel heterocíclico que pode ser aromático ou não, sendo em sua grande maioria compostos oxigenados (SENA et al., 2019).

Os alcaloides são essencialmente semelhantes nitrogenados das saponinas esteroides, mas que podem existir com o átomo de nitrogênio nas posições α ou β , conforme representados nas estruturas da solasodina e da tomatidina observadas na figura 2 abaixo. Esses compostos são alcaloides estereoidais comumente isolados de espécies de *Solanum*.

Figura 2 – Estruturas da solasodina e da tomatidina



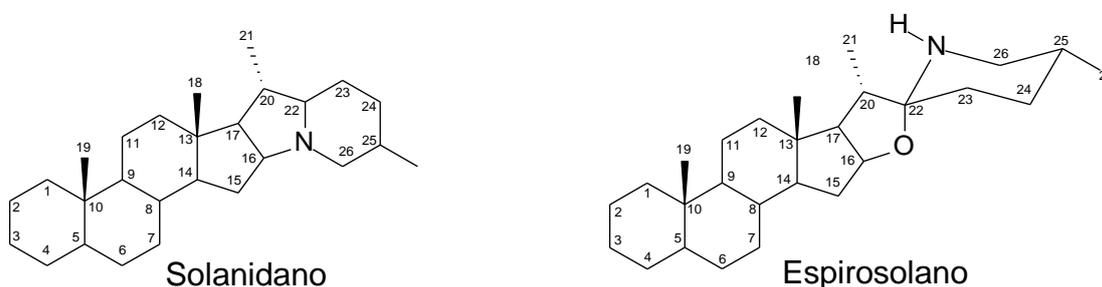
3.2 Classificação dos alcalóides estereoidais

A classificação dos alcaloides estereoidais dá-se de acordo com a natureza do hidrocarboneto esteroidal que melhor retrata a estrutura geral do composto e sua configuração em três grupos principais denominados: os aminopregnanos que possuem 21 átomos de carbono produzidos pela degradação da cadeia lateral do colesterol contendo esqueleto pregnano. Temos os 20-piperidilpregnanos que são compostos que conservam a estrutura de 27 carbonos do colesterol e apresentam um anel piperidina e os alcaloides com esqueletos anômalos que são aqueles onde a estrutura do cicloperidrofenantreno foi modificado (CHIESA et al., 2004).

Dentre o grupo dos 20-piperidilpregnanos, o mesmo se classifica em quatro subgrupos: espirosolanos, solanidanos, solanocapsinas e 20-piperidilpregnanos simples.

Os esqueletos dos espirosolanos são caracterizados pela presença de dois anéis heterocíclicos unidos através de um carbono espiro, já o dos solanidanos caracteriza-se pela sua cadeia lateral ciclizada formando dois anéis fundidos com o nitrogênio como cabeça de ponte (VAZ, 2008, p. 14). Enfatizando a grande ocorrência podemos observar na figura 3 as estruturas dos esqueletos básicos dos solanidanos e dos espirosolanos.

Figura 3 - Estruturas dos esqueletos básicos dos solanidanos e dos espirosolanos

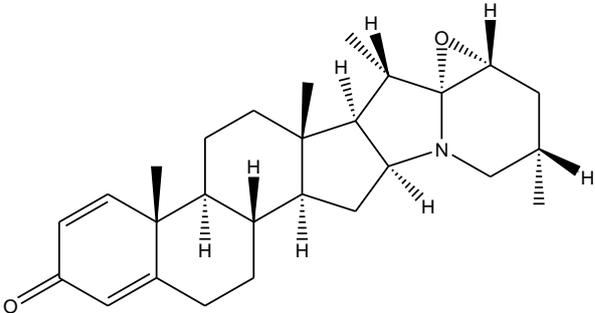
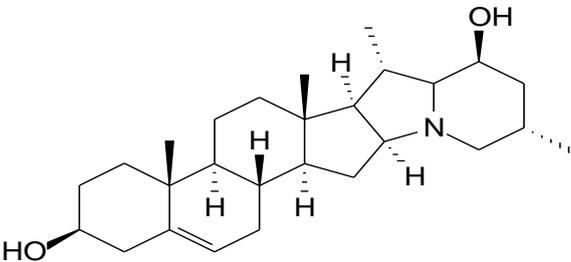
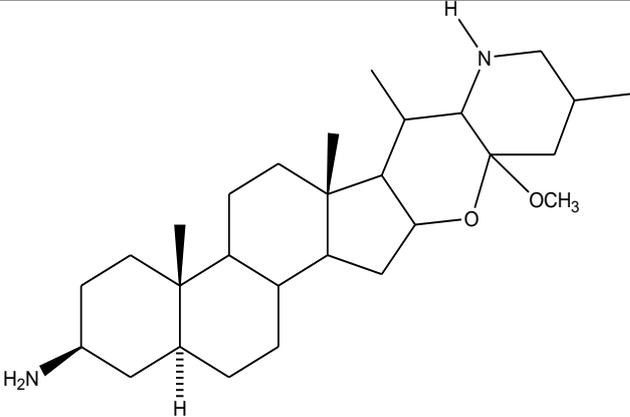


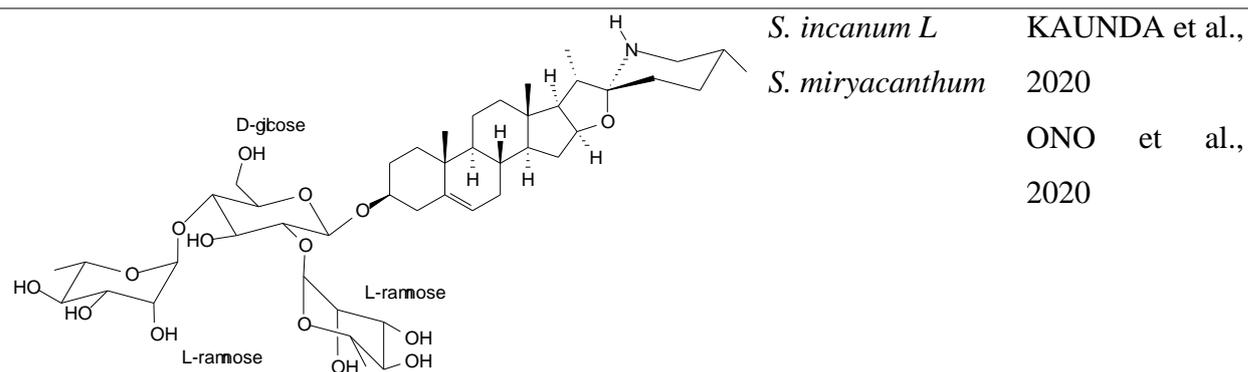
3.3 Ocorrência de alcalóides esteroidais no gênero *Solanum*

A ocorrência de alcalóides esteroidais no gênero *Solanum* é bastante perceptível quando revisados os dados presentes na literatura, observa-se um grande número desses constituintes químicos isolados e, geralmente, apresentam algum tipo de atividade biológica, o que leva a importância de estudos com plantas deste gênero.

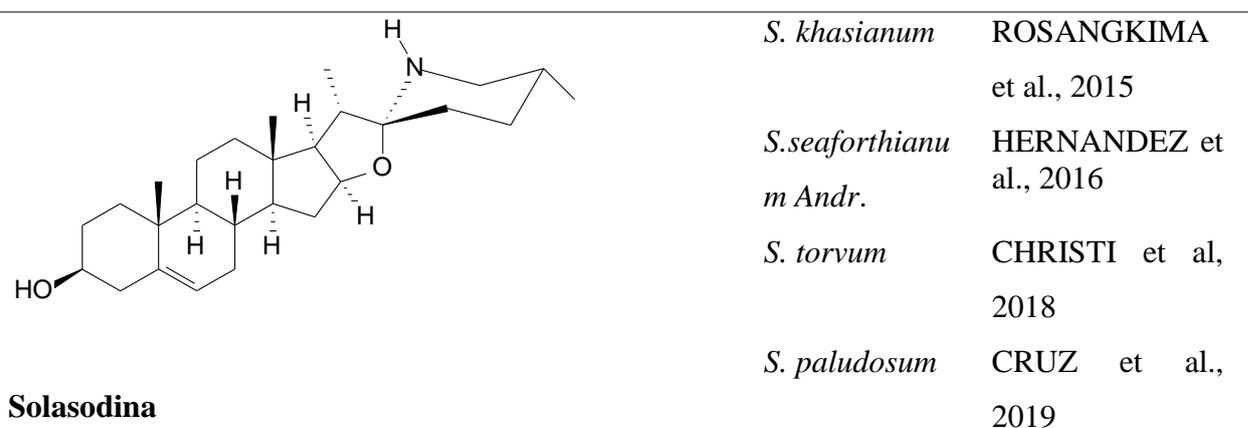
Os alcalóides esteroidais encontrados no gênero *Solanum* podem ocorrer na forma livre ou glicosilados, os quais são conhecidos como glicoalcalóides (compostos que possuem açúcares ligados em sua estrutura). A maioria das agliconas encontradas são pertencentes a classe dos espirosolanos e dos solanidanos. Na tabela 1 podemos visualizar algumas estruturas de alcalóides esteroidais de esqueleto solanidano como a leptinidina, O-23-metil solanocapsina e a solamargina, assim como também podemos observar a solasodina, solasonina, solasodieno e a soladulcidina pertencentes aos alcalóides esteroidais de esqueleto espirosolano, onde todos foram isolados por meio de estudos com plantas do gênero *Solanum*.

Tabela 1 – Estruturas de alguns alcaloides esteroidais encontrados no gênero *Solanum*

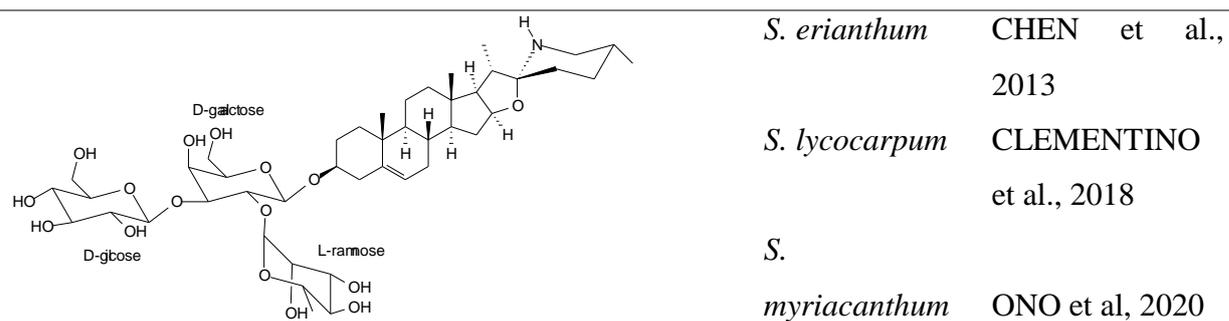
Estrutura	Espécie	Referência
 <p data-bbox="225 712 754 748">22α,23α-epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona</p>	<p data-bbox="962 331 1182 367"><i>S. campaniforme</i></p>	<p data-bbox="1219 331 1437 416">TORRES et al, 2013</p>
 <p data-bbox="225 1144 387 1180">Leptinidina</p>	<p data-bbox="962 779 1158 815"><i>S. americanum</i></p>	<p data-bbox="1219 779 1433 815">CORRÊA, 2015</p>
 <p data-bbox="225 1637 584 1673">O-23-Metil Solanocapsina</p>	<p data-bbox="962 1205 1174 1240"><i>S.seaforthianum</i></p> <p data-bbox="962 1256 1034 1292"><i>Andr.</i></p>	<p data-bbox="1219 1205 1422 1290">HERNANDEZ et al., 2016</p>



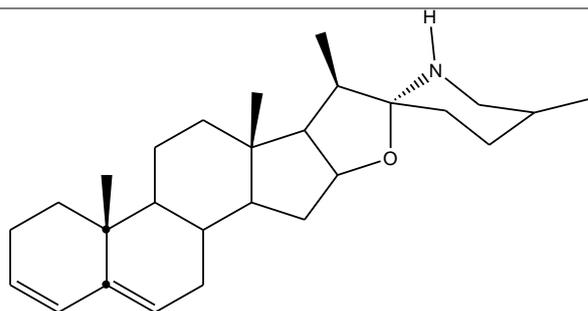
Solamargina



Solasodina

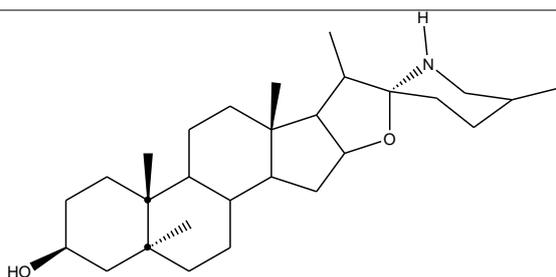


Solasonina



S. Jamaicense HERNANDEZ et
Mill al., 2018

Solasodieno



S. Jamaicense HERNANDEZ et
Mill al., 2018

Soladulcidina

Fonte: Elaboração própria (2020)

4 METODOLOGIA

O material vegetal usado neste trabalho foi coletado durante o estágio de floração no município de Guaramiranga-CE em outubro de 2007 e uma exsicata da planta (# 41038) encontra-se depositado no Herbário Prisco Bezerra (EAC) do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. A obtenção do extrato n-butanólico foi descrito por Torres (2011) e mostra que as folhas secas (3,14 kg) de *S. campaniforme* foram maceradas com EtOH (3 6 L) à temperatura ambiente por 24 h, que após concentrado sob pressão reduzida, forneceu o extrato bruto (347,8 g). Na sequência, o extrato etanólico bruto foi dissolvido em uma mistura de MeOH – H₂O (7: 3, 300 mL) e particionado sucessivamente com hexano, CH₂Cl₂, EtOAc e n-BuOH (5 200 mL, cada), para fornecer os extratos: hexano (72,6 g), CH₂Cl₂ (109,9 g), EtOAc (59,5 g) e n-BuOH (88,9 g), respectivamente.

4.1 Partição líquido-líquido do extrato

Uma alíquota do extrato n-butanólico (40,0 g) obtido das folhas de *Solanum campaniforme* foi solubilizado em uma mistura de MeOH/H₂O 30%. Em seguida foi submetida a partição líquido-líquido, utilizando-se como solvente de extração o Acetato de etila (5 x 50 mL), que após evaporação do solvente, através de rotaevaporador, resultou na fração acetato de etila (5,08 g).

4.2 Fracionamento da fração acetato de etila de *S. campaniforme*

A fração acetato de etila (5,08 g) foi misturada a 10,55 g de sílica em gel e submetida à cromatografia em coluna com 54,33 g de sílica em gel. Os solventes utilizados como eluente foram hexano, acetato de etila e metanol, nessa sequência e com aumento gradativo de polaridade. O processo de eluição resultou em 25 frações, de aproximadamente 25 mL cada, onde essas frações foram reunidas de tal modo a obter 7 novas subfrações. Esse procedimento foi possível por meio de cromatografia de camada delgada (Tabela 2), e utilizando como reveladores: reagente de Dragendorff, vanilina e/ou iodo. A subfração **10-16** foi escolhida para ser submetida à cromatografia em coluna por apresentar alcaloides mediante seu teste positivo frente ao reagente de Dragendorff.

Tabela 2 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico do extrato

Eluente	Volume (mL)	Frações coletadas	Frações reunidas	Massa (g)
Hexano/AcOEt 80%	100	1-4	1-2	0,04
AcOEt 100%	100	5-8	3-7	0,48
AcOEt/ MeOH 20%	100	9-12	8-9	0,04
AcOEt/ MeOH 40%	100	13-16	10-16	3,48
AcOEt/ MeOH 60%	100	17-20	17-19	0,27
AcOEt/ MeOH 80%	100	21-24	20-22	0,29
MeOH 100%	50	25	23-25	0,17
Total				4,77
Rendimento (%)				93,89

Fonte: Elaboração própria (2020)

4.3 Fracionamento da subfração 10-16

A fração **10-16** (3,48 g), a qual apresentou teste positivo frente ao reagente de Dragendorff, foi misturada a 9,44 g de sílica e recromatografada sob 49,54 g de sílica em coluna. Os solventes utilizados como eluente foram hexano, acetato de etila e metanol, aumentando gradativamente a polaridade. As frações obtidas (69 frações com aproximadamente 10 mL cada) foram reunidas em 8 subfrações após análise por cromatografia em camada delgada, usando como reveladores: reagente de Dragendorff para detecção da presença de alcaloides e vanilina para detectar a presença de demais compostos (Tabela 3). A subfração **43-69** foi escolhida para purificação mediante ao teste positivo em relação ao reagente de Dragendorff indicando a presença de possíveis alcaloides.

Tabela 3 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da subfração 10-16

Eluente	Volume (mL)	Frações coletadas	Frações reunidas	Massa (g)
Hexano/AcOEt 90%	100	1-10	1-9	0,03
AcOEt 100%	100	11-21	10-16	0,04
AcOEt/ MeOH 10%	100	22-32	17-27	0,12
AcOEt/ MeOH 20%	100	33-42	28-30	0,02
AcOEt/ MeOH 30%	100	43-51	31-35	0,11
AcOEt/ MeOH 40%	100	52-58	36-42	0,26
AcOEt/ MeOH 60%	100	59-68	43-69	2,14
MeOH 100%	50	69		
Total				2,78
Rendimento (%)				79,88

Fonte: Elaboração própria (2020)

A subfração **43-69** (2,14 g) foi escolhida mediante apresentarem semelhança na análise por cromatografia em camada delgada, no qual foram dissolvidas em metanol e submetidas a cromatografia em coluna, onde os solventes utilizados como eluente foram

diclorometano e metanol, aumentando gradativamente sua polaridade, no qual resultou em 80 frações, com aproximadamente 10 mL cada. As frações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada, utilizando como revelador o reagente de Dragendorff, onde reuniu-se as frações e a subfração **49-60** (367,0 mg) forneceu uma mistura contendo os compostos denominados **Sc-01** e **Sc-02**. A subfração **63-68** (450,0 mg) foi recromatografada, usando o mesmo sistema de eluente citado acima, e forneceu a subfração **31-45** (150,0 mg), que mostrou-se isolada e a mesma foi denominada **Sc-03**.

4.4 Análise da subfração 49-60 por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (CL-EM)

As amostras das subfrações (5 mg) foram diluídas em 5 mL metanol, filtradas com membrana de 0,22 micrometros e analisadas por HPLC preparativa (sistema de autopurificação Waters, Milford, MA, EUA) com coletor de frações, detectores de UV 2489 e ACQUITY QDa, equipado com uma fonte de ionização por *electrospray* (IES) pertencente ao Laboratório de Bioprospecção do Instituto Nacional do Semiárido (INSA); com coluna: XBridge Prep C18 (5 µm and 10 × 100 mm). As análises foram realizadas utilizando um gradiente linear de 90% (A) a 0% (A), de 0 a 30 minutos, a 40 °C, com fluxo de 1 mL min⁻¹, e como fase móvel água ultra pura acidificada a 0,3% com ácido acético (A) e Metanol grau HPLC (B). Os espectros de massas foram obtidos em uma faixa de razão massa/carga (m/z) de 100 a 1000 Daltons.

4.5 Avaliação da atividade anti-inflamatória do extrato de *S. campaniforme*

O extrato de *S. campaniforme* foi submetido a testes para avaliação da atividade anti-inflamatória frente a Edema de orelha induzido por óleo de *Croton* e por 13-acetato-12-miristato de forbol (PMA) em camundongos, no Laboratório de Etnofarmacologia Aplicada, do Departamento de Antibiótico, da Universidade Federal de Pernambuco, sob a coordenação do Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Isolamento dos constituintes Químicos

O extrato das folhas de *Solanum campaniforme* foi submetido a fracionamento cromatográfico resultando na semipurificação de três compostos **Sc-01** e **Sc-02** (367,0 mg) e **Sc-03** (150,0 mg), as quais foram previamente isoladas de *S. Campaniforme*, como pode ser observados na análise comparativa por cromatografia de camada delgada com os padrões (Sc-5 e Sc-7) isolados por Torres (2011), (Figura 4).

Figura 4 – Placa de CCD das substâncias semipurificadas.



Fonte: Elaboração própria (2020)

A fração **31-45** foi identificada somente pela análise comparativa com padrão por CCD. As análises por *CL-EM* da subfração **49-60** mostraram a mistura de duas substâncias contidas na amostra como mostra a figura 6. Os espectros de massas exibiram o íon correspondente a molécula protonada $[M + H]^+$ em m/z 406,05 (figura 6) compatível com a fórmula molecular $C_{27}H_{35}NO_2$ correspondente a **Sc-01**, a qual apresenta IDH onze, mostrando que a mesma possui uma insaturação a mais que **Sc-02**, onde podemos confirmar no espectro de massa (figura 7) que exibe o íon correspondente a molécula protonada $[M + H]^+$ em m/z 408,32 referente à fórmula molecular $C_{27}H_{37}NO_2$.

Figura 5: Cromatogramas da análise por CL-EM (SC 01 e 02)

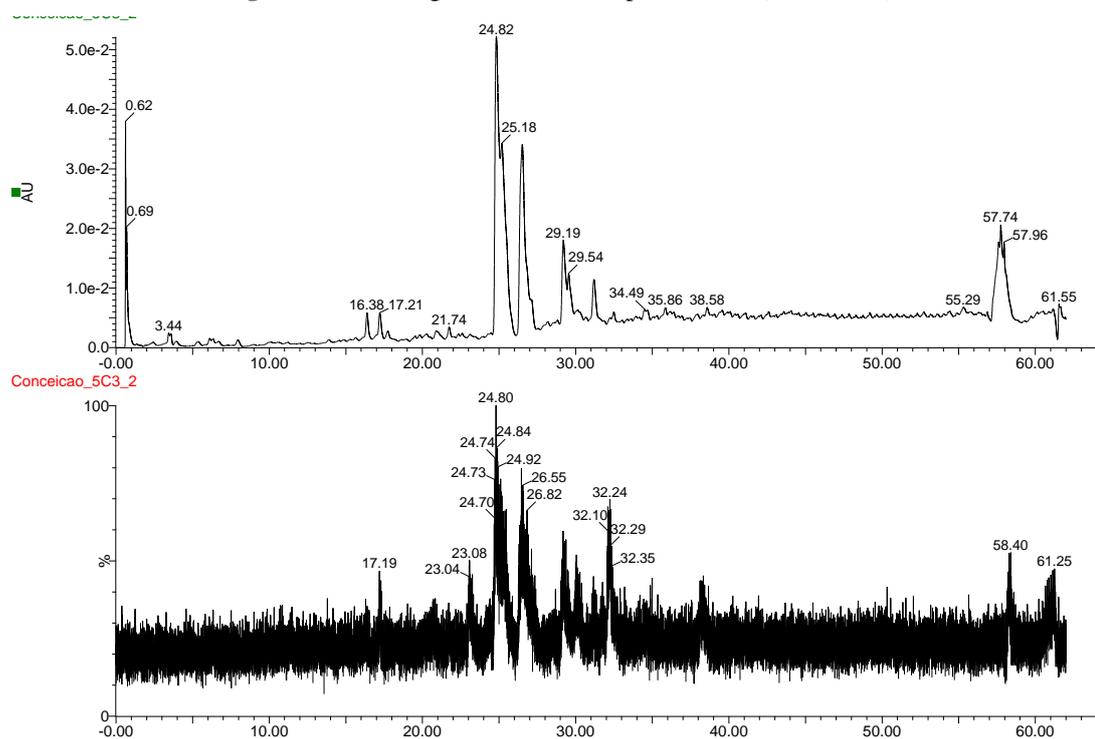


Figura 6: Espectro de massas de SC-01

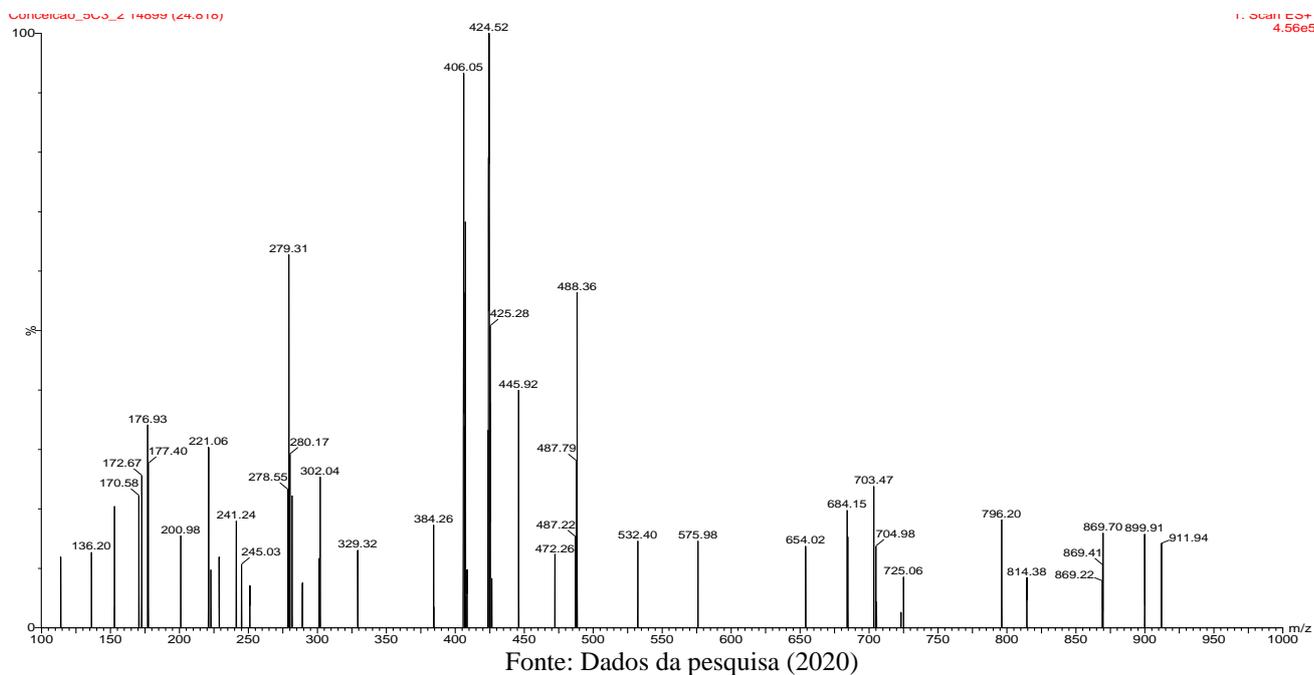
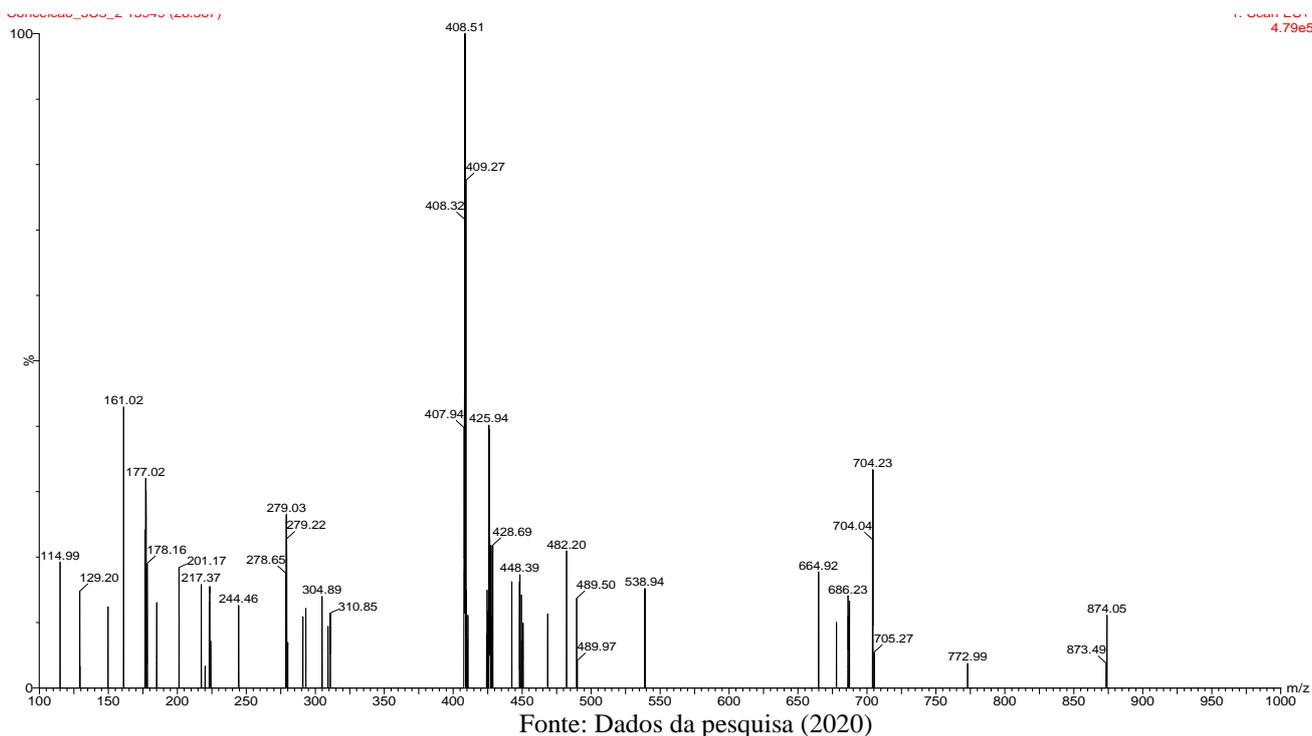
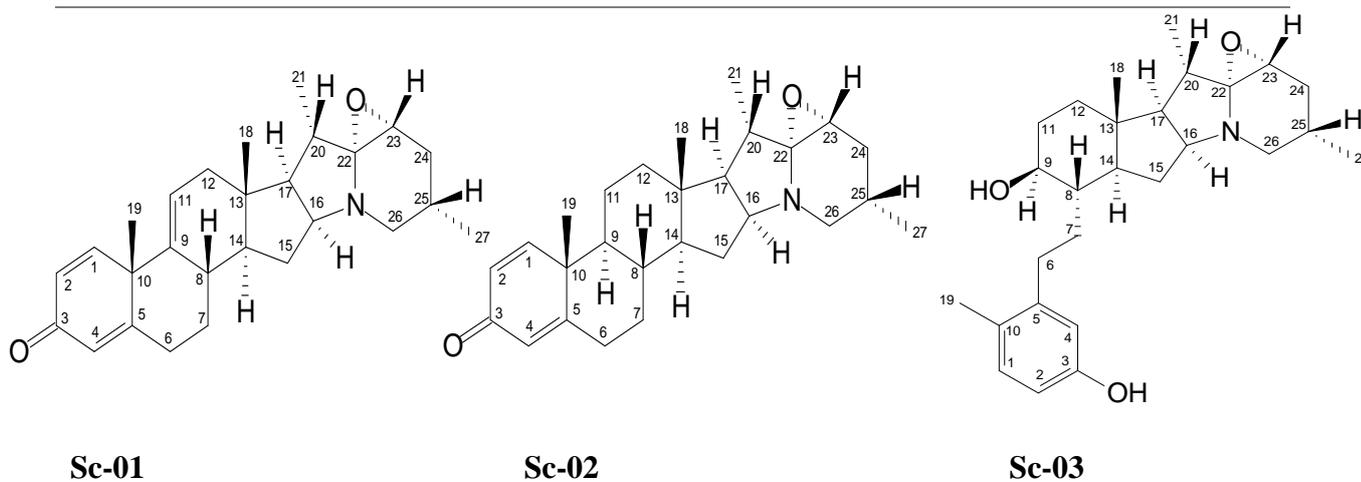


Figura 7: Espectro de massas de SC-02



As estruturas destas substâncias foram identificadas com base nos dados das análises por *CL-EM* em comparação com os dados previamente descritos na literatura (TORRES *et al.*, 2011), como sendo 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-ona codificada como **Sc-01**, 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona denominada **Sc-02**, e 3,9 β -dihidroxi-22 α ,23 α -epoxi-9,10-secosolanida-1,3,5(10)-trieno denominada **Sc-03** (Figura 8).

Figura 8 – Estruturas dos alcaloides esteroidais isolados

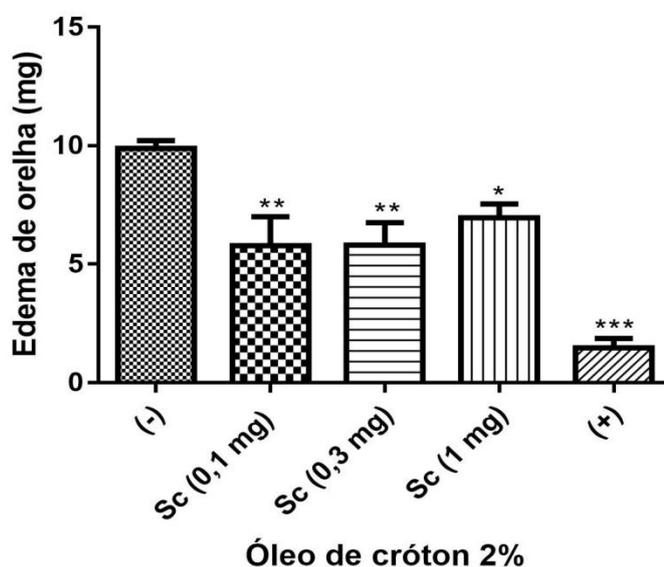


A análise comparativa entre as duas estruturas da **SC-01** e **SC-02** percebeu-se uma diferença nos carbonos C9 e C11 das estruturas, evidenciando que a diferença entre as duas é a presença de uma ligação dupla trissubstituída adicional na **SC-01**, o que dificultou a purificação dessas substâncias por cromatografia clássica.

5.2 Avaliação da atividade anti-inflamatória

O extrato de *S. campaniforme*, exibiu atividade anti-inflamatória uma vez que reduziu o edema (Figura 9) e esse resultado corrobora com o estudo de Okokon et al., (2016) realizado com o extrato bruto das folhas de *Solanum anomalum* que mostrou a atividade anti-inflamatória através de diferentes modelos de inflamação (carragenina, albumina de ovo e edema de orelha induzido por xileno) em camundongos. Esses resultados confirmam o uso de plantas do gênero *Solanum* na medicina tradicional para o tratamento de doenças inflamatórias e isso é indicativo que as substâncias isoladas podem apresentar potencial anti-inflamatório, porém não foram testadas neste estudo.

Figura 9 – Atividade anti-inflamatória do extrato de *S. campaniforme*



A orelha esquerda recebeu somente acetona e funcionou como controle negativo. O extrato Sc (0,1; 0,3 e 1 mg/orelha) ou os fármacos-padrão (0,1 mg/orelha de dexametasona) foram diluídos no mesmo volume de acetona e aplicados em seguida na orelha direita do grupo tratado e no controle positivo, respectivamente.

6 CONCLUSÃO

No estudo químico do extrato das folhas de *S. Campaniforme* foram identificados, por meio de comparação com os dados de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas já descritos na literatura. Foram obtidos três alcalóides esteroidais de esqueleto solanidano, previamente isolados da referida espécie, cujas estruturas foram estabelecidas como: 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4,9-trien-3-ona (**Sc-01**), 22 α ,23 α -epoxi-solanida-1,4-dien-3-ona (**Sc-02**) e 3,9 β -dihidroxi-22 α ,23 α -epoxi-9,10-secosolanida-1,3,5(10)-trieno (**Sc-03**).

O extrato de *S. Campaniforme* foi submetido a avaliação da atividade anti-inflamatória frente a Edema de orelha induzido por óleo de *Croton* e por 13-acetato-12-miristato de forbol (PMA) e mostrou efeitos interessantes, tendo em vista que houve uma redução significativa do edema em camundongos. Esses resultados confirmam o uso de plantas do gênero *Solanum* no tratamento de doenças inflamatórias e indicam que as substâncias isoladas podem apresentar potencial anti-inflamatório.

REFERÊNCIAS

- CHEN, Y. et al. Anti-Inflammatory Components from the Root of *Solanum erianthum*. **International Journal of molecular sciences**. v. 14, n. 6, 2013.
- CHIESA, F. A. F.; MOYNA, P. Alcaloides esteroidales. In SIMÕES, C. M. (Org). **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2004.
- CHRISTI, I. et al. Phytochemicals detection, antioxidant and antimicrobial activity study on berries of *solanum torvum*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 11, n. 11, 2018.
- CLEMENTINO, L. C. et al. In vitro actives of glycoalkaloids from the *Solanum lycocarpum* against *Leishmania infantum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 28, n. 6, 2018.
- CORRÊA, J. A. M. **Estudo químico de extrato de plantas da família Solanaceae com atividade a fungos fitopatogênicos**. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, 2015.
- CRUZ, I.L.S. et al. Alcaloide esteroidal, substância de *Solanum paludosum*, com atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde**, v. 10, n. 1, 2019.
- HERNANDEZ, A. E. F. et al. Estudio de los compuestos esteroidales de las hojas y frutos de *Solanum sisymbriifolium* Lam (Joá, Juá, Jurubeba), Solanaceae. **Revista Cubana de Química**. v. 24, n. 3, 2019
- HERNANDEZ, A. E. F. et al. Aislamiento e identificación de compuestos esteroidales de los frutos del *Solanum jamaicense* Mill. **Revista Cubana de Química**. v. 30, n. 2, 2018.
- HERNANDEZ, A. E. F. et al. O-23 Metil solanocapsina, un nuevo alcaloide esteroidal del *Solanum seaforthianum* Andr. **Revista Cubana de Química**. v. 28, n. 3, 2016.
- KAUNDA, J. S. ; ZHANG, Y. Chemical constituents from the fruits of *Solanum incanum* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, 90, 104031, 2020.
- KAUNDA, J. S. ; ZHANG, Y. The Genus *Solanum*: An Ethnopharmacological, Phytochemical and Biological Properties Review. **Natural Products and Bioprospecting**. v. 9, n. 2, 2019.
- LOC, N. H.; KIET, H. V. Micropropagation of *Solanum hainanense* Hance. **Annals of Biological Research**, 2, 394-398, 2011.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008. 544p.
- OKOKON, J. E.; DAVIES, K. O.; AMAZU, L. U.; UMOH, E. E. Anti-inflammatory activity of leaf extract of *Solanum anomalum*. **Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs)**, v. 7, n. 4, 2016.

ONO, M. et al. A new steroidal glycoside from the fruits of *Solanum myriacanthum*. **Natural Product Research**, 2020.

PINTO, F. C. L.; UCHOA, D. E. A.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L.; BRAZ-FILHO, R. Glicoalcaloides antifúngicos, flavonóides e outros constituintes químicos de *Solanum asperum*. **Química Nova**, v. 34, n. 2, 2011.

RAMOS, C. C. et al. Análise Quimissistemática dos Alcaloides Esteroidais do Gênero *Solanum*. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 5, 2019.

ROSANGKIMA, G.; JAGETIA, G. C. Anticancer activity of *Solanum khasianum* fruit extracts against Dalton's lymphoma tumor cells in vitro and in vivo. **Journal of Pharma Research**, v. 4, n. 3, 2015.

SENA, A. E. C. Et al. Análise experimental de *Humirianthera* ampla: testando positividade para alcaloides. **Scientia Naturalis**, v. 1, n. 1, 2019.

STEHMANN, J. R.; MENTZ, L. A.; AGRA, M. F.; VIGNOLI-SILVA, M.; GIACOMIN, L. L. **Lista de espécies da flora do Brasil: Solanaceae**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

TORRES, M. C. M.; JORGE, R. J. B.; XIMENES, R. M.; ALVES, N. T. Q.; SANTOS, J. V.A.; MARINHO, A. D.; MONTEIRO, H. S. A. ; TOYAMA, M. H.; BRAZ-FILHO, R. ;SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. Solanidane and iminosolanidane alkaloids from *Solanum campaniforme*. **Phytochemistry**, 96, 2013.

TORRES, Maria da Conceição de Menezes. **Solanum campaniforme: constituintes químicos, estudo de fragmentação e desreplicação por espectrometria de massas com ionização por electrospray (IES-EM/EM)**. 2011. Tese (Doutorado em Química Orgânica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

TORRES, M. C. M.; PINTO, F. C. L.; BRAZ-FILHO, R.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L.; JORGE, R. J. B.; XIMENES, R. M.; MONTEIRO, H. S. A.; EVANGELISTA, J. S. A. M.; DIZ-FILHO, E. B. S. ; TOYAMA, M. H. Antiopidic Solanidane Steroidal Alkaloids from *Solanum campaniforme*. **Journal of Natural Products**, 74, 2168-2173, 2011.

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