

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ**

CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Estudo fitoquímico, atividades antioxidante e  
anticolinesterásica da espécie *Solanum  
paniculatum* L.**

**JOÃO PAULO RODRIGUES DA SILVA**

**ORIENTADOR: PROF. DRA. VALDILÉIA TEIXEIRA UCHÔA**

**CO-ORIENTADOR: PROF. DR. FRANCISCO ARTHUR E SILVA FILHO**

Teresina – PI  
2022

# **UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ**

CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

## **Estudo fitoquímico, atividades antioxidante e anticolinesterásica da espécie *Solanum paniculatum* L.**

**JOÃO PAULO RODRIGUES DA SILVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química – Área de concentração: Síntese Orgânica e Bioprospecção Fitoquímica  
Orientadora: Profa. Dra. Valdiléia Teixeira Uchôa

Teresina – PI

2022

# Estudo fitoquímico, atividades antioxidante e anticolinesterásica da espécie *Solanum paniculatum* L.

JOÃO PAULO RODRIGUES DA SILVA

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química – Área de concentração: Síntese orgânica e bioprospecção fitoquímica.

Aprovado em 17 de janeiro de 2022.

Membros da Banca:



---

Prof. Dra. Valdiléia Teixeira Uchôa  
(Presidente da Banca – UESPI)



---

Prof. Dr. Wellington dos Santos Alves  
(Membro Titular – UESPI)



---

Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho  
(Membro Titular – IFPI)

---

Prof. Dra. Francielle Aline Martins  
(Membro Suplente – UESPI)

Teresina – PI

2022

*Dedicatória*

*A minha família, em especial as minhas duas tias  
pelo apoio incondicional por toda essa jornada*

## **AGRADECIMENTOS**

---

- A Deus, pelo dom da vida, proteção diária e por me dar coragem para enfrentar esta jornada;
- A minha família, por todo apoio e incentivo, carinho, amor e suporte;
- Aos meus orientadores Profa. Dra. Valdiléia Teixeira Uchôa e Prof. Dr. Francisco Arthur e Silva Filho, pela orientação, compreensão, ensinamento e amizade;
- Aos professores que compõem o programa de pós-graduação em química da UESPI pelos ensinamentos e incentivos;
- Aos amigos que fiz no mestrado, em especial ao meu grupo de amigos do mestrado (Ana Gabriele, Ana Karina, Kerlane, Neto, Maciel, Gabriel) e Ronaldo (UFPI) pelo apoio e amizade tornando a jornada menos árdua;
- A todas as pessoas que conheci e com quem aprendi tanto durante esses dois anos;
- Um agradecimento especial a todos que fazem parte do Grupo de Produtos naturais;
- A UESPI, PPGQ-UESPI e ao GERATEC, pela oportunidade de realizar uma pós graduação a nível de mestrado e pelo espaço concedido;
- Ao IFPI, pelo incentivo e liberação para cursar o PPGQ;
- As parcerias com a UFPI, UFDPAr, UFC e IFAL.

*Epígrafe*

*“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo.  
Todos nós sabemos alguma coisa. Todos nós  
ignoramos alguma coisa. Por isso  
aprendemos sempre.”*

*(Paulo Freire)*

## Resumo

SILVA, J.P.R **Estudo fitoquímico, atividades antioxidante e anticolinesterásica da espécie *Solanum paniculatum* L.** 2022. 78 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual do Piauí. Teresina.

A espécie *Solanum paniculatum* L é popularmente conhecida no Brasil como jurubeba, tendo diversas aplicações na medicina popular, no tratamento de algumas doenças como resfriados, problemas renais, hepáticos e até o diabetes. O objetivo deste trabalho foi promover a produção dos extratos etanólicos e hexânicos das cascas do caule e das folhas da *S. paniculatum*, realizar os estudos fitoquímicos e atividades antioxidante e anticolinesterásica. A análise química dos extratos foi realizada através de técnicas de prospecção fitoquímica, identificando de maneira qualitativa as seguintes classes de metabólitos: alcaloides, saponinas, flavonoides, triterpenos, taninos, cumarinas, esteroides e antraquinonas. Através da cromatografia em camada delgada (CCD) pode-se observar o EHFS como promissor, logo fez-se uma cromatografia filtrante até chegar na fração FSP-1, analisada pelas técnicas de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e infravermelho, resultando no isolamento do Espinasterol, um importante esteroide vegetal. Na análise por CG-EM pode-se determinar a presença de compostos fenólicos, esteroides, terpenoides e hidrocarbonetos. A análise com a CLAE determinou a presença de catequina, epicatequina, ácido clorogênico, ácido salicílico e seringaldeído. A atividade antioxidante (DPPH e ABTS) apresentou excelentes resultados para o EEFS para ambos os radicais correspondendo a  $18,36 \pm 0,71$ (ABTS) e  $33,46 \pm 2,64$  (DPPH), e moderada atividade para EECS  $26,07 \pm 1,24$  (ABTS) e  $51,88 \pm 3,12$  (DPPH), estes resultados podem estar relacionados a presença de muitos compostos fenólicos nos extratos. O teste de inibição da enzima acetilcolinesterase apresentou atividade forte para EECS e EHFS com percentuais de inibição de 71,49% e 70,05% respectivamente e moderada para EEFS e EHCS com 34,84% e 32,50% respectivamente, este estudo revelou o amplo potencial desta planta como um possível fitoterápico e contribuir cientificamente para um melhor entendimento sobre sua composição e atividade.

**Palavras-chave:** Prospecção fitoquímica, atividade antioxidante, acetilcolinesterase.

## Abstract

SILVA, J.P.R **Phytochemical study, antioxidant and anticholinesterase activities of the species *Solanum paniculatum* L.** 2022. 78 p. Dissertation (Master in Chemistry) – State University of Piauí. Teresina.

The species *Solanum paniculatum* L is popularly known in Brazil as jurubeba, having several applications in folk medicine, in the treatment of some such as colds, kidney problems, liver problems and even diabetes. The objective of this work was to promote the production of ethanolic and hexane extracts from the stem and leaf barks of *S. paniculatum*, to carry out phytochemical studies and antioxidant and anticholinesterase activities. The chemical analysis of the extracts was performed using phytochemical prospection techniques, qualitatively identifying the following classes of metabolites: alkaloids, saponins, flavonoids, triterpenes, tannins, coumarins, steroids and anthraquinones. Through thin layer chromatography (TLC) EHFS can be seen as promising, then filtering chromatography was performed until reaching the FSP-1 fraction, analyzed by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  and infrared NMR techniques, received in the isolation of Spinasterol, an important plant steroid. In the analysis by GC-MS, the presence of phenolic compounds, steroids, terpenoids and hydrocarbons can be determined. An HPLC analysis determined the presence of catechin, Epicatechin, Chlorogenic Acid, Salicylic Acid and Seringaldehyde. The antioxidant activity (DPPH and ABTS) presented excellent results for the EEFS for both radicals corresponding to  $18.36 \pm 0.71$  (ABTS) and  $33.46 \pm 2.64$  (DPPH), and moderate for EECS activity  $26.07 \pm 1.24$  (ABTS) and  $51.88 \pm 3.12$  (DPPH), these results may be related to the presence of many phenolic compounds in the extracts. The acetylcholinesterase enzyme inhibition test showed strong activity for EECS and EHFS with inhibition percentages of 71.49% and 70.05% respectively and moderate for EEFS and EHCS with 34.84% and 32.50% respectively, this study revealed the wide potential of this plant as a possible herbal medicine and scientifically contribute to a better understanding of its composition and activity.

**Keywords:** Phytochemical prospection, antioxidant activity, acetylcholinesterase



## LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 2.1</b> Algumas estruturas de substâncias já encontradas na <i>S. paniculatum</i> .....	23
<b>Figura 2.2</b> Mecanismo de ação da Acetilcolinesterase. 1- A ACh é sintetizada a partir da colina e acetilcoenzima A, catalisada pela ChAT. 2 - Na fenda sináptica pode se ligar a receptores colinérgicos e é rapidamente metabolizada pela enzima AChE, gerando colina e acetato. 3 - Colina é transportada de volta para o neurônio pré-sináptico e utilizada para sintetizar mais Ach.....	25
<b>Figura 3.1</b> Fotografia da <i>Solanum paniculatum</i> , em Carreiras no município de Caxingó, PI.....	27
<b>Figura 3.2</b> Fotografia da Flor da <i>Solanum paniculatum</i> , em Carreiras no município de Caxingó, PI.....	28
<b>Figura 3.3</b> Imagem da Preparação dos extratos brutos.....	29
<b>Figura 3.4</b> Fotografia da retirada dos solventes por evaporação rotativa dos extratos.....	29
<b>Figura 3.5</b> Fotografia dos extratos brutos prontos.....	30
<b>Figura 3.6</b> Identificação química de antraquinonas, tubos de ensaio com EHFS, EEFS e EECS, respectivamente (Reação Borntäger Direta) .....	34
<b>Figura 3.7</b> Identificação química de antraquinonas, tubos de ensaio com EEFS e EECS respectivamente (Reação Borntäger Indireta). .....	35
<b>Figura 3.8</b> Identificação química de cumarinas à esquerda EEFS, EECS e à direita EHFS.....	36
<b>Figura 4.1</b> estrutura do Espinasterol.....	46

**Figura 4.2** Apresentação do cromatograma do extrato etanólico das cascas da *S. paniculatum* (em cor de rosa) e padrões cromatográficos (em preto) em 290 nm.....58

**Figura 4.3** Apresentação do cromatograma do extrato etanólico das cascas da *S. paniculatum* com os compostos identificados. Em 290 nm.....59

**Figura 4.4** Apresentação do cromatograma do extrato etanólico das folhas da *S. paniculatum* (em cor de rosa) e padrões cromatográficos (em preto) em 290 nm.....60

**Figura 4.5** Apresentação do cromatograma do extrato etanólico das folhas da *S. paniculatum*. em 290 nm e padrões cromatográficos.....60

## LISTA DE TABELAS

---

- Tabela 4.1** Identificação preliminar dos metabólitos secundários nos extratos etanólicos e hexânicos das folhas e cascas da *S. paniculatum*. Presença (+); Ausência (-) .....44
- Tabela 4.2** Deslocamento químico RMN <sup>13</sup>C de FSP-1 com padrão de hidrogenação.....46
- Tabela 4.3** Análise comparativa dos deslocamentos químicos  $\delta$  (ppm) de RMN <sup>13</sup>C de FSP-1 (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) com o Espinasterol Zhang et al. (2005)<sup>58</sup> (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) .....47
- Tabela 4.4** Análise química CG/MS doo EECS, e as respectivas porcentagens (%) de contribuição relativa de cada composto. (N) Número do composto; (TR) Tempo de Retenção; (FM) Fórmula Molecular e (MM) Massa Molar.....49
- Tabela 4.5** Análise química CG/MS doo EEFS, e as respectivas porcentagens (%) de contribuição relativa de cada composto. (N) Número do composto; (TR) Tempo de Retenção; (FM) Fórmula Molecular e (MM) Massa Molar.....50
- Tabela 4.6** Análise química CG/MS doo EHCS, e as respectivas porcentagens (%) de contribuição relativa de cada composto. (N) Número do composto; (TR) Tempo de Retenção; (FM) Fórmula Molecular e (MM) Massa Molar.....52
- Tabela 4.7** Análise química CG/MS doo EHFS, e as respectivas porcentagens (%) de contribuição relativa de cada composto. (N) Número do composto; (TR) Tempo de Retenção; (FM) Fórmula Molecular e (MM) Massa Molar.....53
- Tabela 4.8** Compostos identificados na CG-EM dos extratos etanólico e hexânico das folhas e cascas da *S. paniculatum* com suas respectivas atividades biológicas. ....56
- Tabela 4.9** Atividade antioxidante dos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e folhas da *S. paniculatum*., frente ao radical DPPH e ABTS.....61
- Tabela 4.10** Inibição e classificação da intensidade de inibição dos extratos da casca do caule e das folhas de *Solanum paniculatum* L na concentração de 1mg/mL.....63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

**ABTS**-Radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

**ACh**- Acetilcolina

**AChE**- Acetilcolinesterase

**ARE**- Elemento Resposta Antioxidante

**BIOTEC**- Centro de Pesquisas em Biodiversidade e Biotecnologia

**CCD**- Cromatografia Em Camada Delgada

**CENAUREMN-UFC**- Centro Nordestino De Aplicação e uso da Ressonância Magnética Nuclear Da Universidade Federal Do Ceará

**CG-EM**- Cromatografia Gasosa Acoplada A Espectrômetro De Massa

**CI<sub>50</sub>**- Concentração inibitória

**CLAE**- Cromatografia Líquida De Alta Eficiência

**DA**- Doença De Alzheimer

**DPPH**- Radical 2,2-difenil1-picril-hidrazil.

**EECS**- Extrato Etanólico Das Cascas da *S. paniculatum*

**EEFS**-Extrato Etanólico Das Folhas da *S. paniculatum*

**EHCS**- Extrato Hexânico Das Cascas da *S. paniculatum*

**EHFS**- Extrato Hexânico Das Folhas da *S. paniculatum*

**FSP-1**-Fração *Solanum paniculatum*

**GERATEC**- Núcleo Interinstitucional de Estudo e Geração de Novas Tecnologias

**IAA**-Índice de atividade antioxidante

**IFAL**- Instituto Federal de Ciência e tecnologia de Alagoas

**LABIMOB**- Laboratório De Bioprospecção E Biotecnologia

**NPBio**- Núcleo De Prospeção E Biotecnologia

**ODC**- Ornitina Descarboxilase

**OMS**- Organização Mundial Da Saúde

**RMN**- Ressonância Magnética Nuclear

**SisGen**-Sistema Nacional De Gestão Do Patrimônio Genético E Do Conhecimento Tradicional Associado

**SNC**-Sistema Nervoso Central

**SNP**- Sistema Nervoso Periférico

**tr**- tempo de retenção

**UESPI**- Universidade Estadual do Piauí

**UFC**- Universidade Federal do Ceará

**UFDP**-Universidade federal do Delta do Parnaíba

**UFPI**- Universidade Federal do Piauí

**UV-Vis**- Ultravioleta-Visível

## SUMÁRIO

---

<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.2 Objetivos .....	18
1.2.1 Gerais .....	18
1.2.3 Específicos .....	18
<b>CAPÍTULO 2 – REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>27</b>
2.1 Plantas medicinais .....	19
2.2 Gênero <i>Solanum</i> .....	20
2.2.1 Espécie <i>Solanum paniculatum</i> L. ....	20
2.2.2 Levantamento de estudos fitoquímicos preliminares.....	21
2.3 Atividade antioxidante .....	24
2.4 Atividade anticolinesterásica .....	25
<b>CAPÍTULO 3 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL</b> .....	<b>27</b>
3.1 Coleta da amostra vegetal.....	27
3.2 Preparação dos extratos .....	28
3.3 Triagem fitoquímica por prospecção preliminar dos estratos hexânicos e tanólicos da <i>S. paniculatum</i> .....	30
3.3.1 Taninos.....	30
3.3.2 Teste de flavanoides .....	32
3.3.3 Teste para alguns flavonóides (antocianinais, antocianidinas, flavanonas, flavonóis, xotonas, chalconas, auronas e flavocóis) .....	32
3.3.4 Teste para esteróides e triterpenóides .....	32
3.3.5 Saponinas .....	32
3.3.6 Alcaloides .....	33
3.3.7 Antraquinonas .....	33
3.3.8 Cumarinas .....	35
3.4 Cromatografia em camada delgada (CCD) e Isolamento dos Constituintes Fixos .....	36
3.5 Métodos espectrométricos .....	37
3.5.1 Espectroscopia de absorção de luz na região do infravermelho (IV).....	37

3.5.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio ( <b>RMN <sup>1</sup>H</b> ) e de carbono-13 ( <b>RMN <sup>13</sup>C</b> ).....	37
3.6 Análise CG-EM dos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e folhas da <i>S. paniculatum</i> .....	38
3.7 Análise por CLAE dos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e folhas da <i>S. paniculatum</i> .....	39
3.8 Análises das atividades antioxidantes através das técnicas do DPPH e ABTS ..	39
3.9 Análises da inibição da enzima acetilcolinesterase pelos extratos.....	41
3.10 Estatística.....	42
<b>CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
4.1 Preparação dos extratos .....	43
4.2 Triagem fitoquímica de acordo com a metodologia de Matos (2009) dos extratos hexônicos e etanólicos das folhas e cascas da <i>S. paniculatum</i> .....	43
4.3 Cromatografia em camada delgada (CCD) e Isolamento de Constituinte Fixos .	45
4.4 Análise por Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrometro de massa (CG-EM).....	48
4.5 Cromatografia Liquida de Alta Eficiência - CLAE Dos extratos etanólicos e hexânicos das cascas das folhas da <i>S. paniculatum</i> .....	58
4.6 Atividade antioxidante .....	61
4.7 Atividade anticolinesterastica .....	62
<b>CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO A*.....</b>	<b>76</b>

# Capítulo 1

## INTRODUÇÃO

---

Atualmente, as plantas medicinais são utilizadas por grande parte da população mundial, como um recurso alternativo para o tratamento de diversas enfermidades. Estas plantas produzem substâncias bioativas que são responsáveis por suas atividades terapêuticas sendo utilizadas pela sociedade em geral e comunidades tradicionais <sup>1,2</sup>. O ministério da Saúde criou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos levando em conta a necessidade do reconhecimento da medicina tradicional como parte integrante dos sistemas de saúde, apresentando assim os fitomedicamentos como um nicho promissor no mercado, ocasionando o fortalecimento da capacidade tecnológica desta categoria, que no Brasil devido à imensa biodiversidade apresenta-se com uma enorme potencial <sup>3,4</sup>.

Dentre inúmeras plantas utilizadas no território brasileiro, a espécie *Solanum paniculatum* L. que é conhecida popularmente como jurubeba, jurubeba verdadeira, jubeba, juripeba, jurupeba, dentre outros, sendo uma planta nativa da América do Sul, apresenta porte arbustivo atingindo em média 4 m de altura a espécie é encontrada praticamente em todas as regiões do país em especial a nordeste e centro-oeste onde se encontram em maior abundância <sup>5,6</sup>.

A espécie se destaca também por ser promissora como planta medicinal, apresentando grande utilização no meio popular, sendo consumida através de chás, garrafadas, conservas e suas frutas são usadas como alimento <sup>6-7</sup>. Estudos preliminares da composição química dos extratos aquosos de talos, folhas e raízes da *S. paniculatum* revelaram a presença de carboidratos, saponinas, glicosídeos cardiotônicos, antraquinonas, flavonoides e taninos. Constituintes voláteis das folhas da *S. paniculatum*, utilizando CG-EM, revelaram a presença majoritária de vários componentes, sendo em sua maior parte o benzaldeído, seguido pelo cianeto de benzila e isoforona em estudo das cascas e folhas da planta <sup>8</sup>.

Os extratos da jurubeba, são utilizados como fitoterápicos no tratamento de resfriados, problemas renais, diabetes, problemas hepáticos, digestão, gastrite



crônica, anemias, entre outras. O chá de suas folhas é utilizado para curar a ressaca, após o uso exacerbado de álcool e a infusão de suas flores é indicada para bronquite e tosse <sup>8,9,10</sup>. Essas atividades podem estar atreladas a presença de compostos que tem eficiência em captura de radicais ou seja podem apresentar atividade antioxidante.

A verificação da atividade antioxidante corresponde a capacidade de que algumas substâncias tem para retardarem reações de degradação oxidativa, ou seja, reduzem a velocidade da oxidação através de um ou mais mecanismos, como inibição de radicais livres <sup>11</sup>. Algumas técnicas que proporcionam a verificação através de ensaios espectrométricos, através de extratos ou compostos isolados de plantas, estudos demonstram que há uma relação direta entre uma alimentação rica em antioxidantes com a diminuição do risco de doenças cardíacas ou neurodegenerativas como a Doença de Alzheimer (DA)<sup>12</sup>.

A acetilcolina (ACh), constitui um neurotransmissor essencial para uma função cognitiva normal, a enzima acetilcolinesterase (AChE) é responsável pela diminuição da eficiência dos processos que envolvem a ACh, ocasionando problemas colinérgicos como a (DA) sendo uma doença neurodegenerativa multifatorial, atingindo primordialmente a população mais idosa. Algumas plantas medicinais são referenciadas como inibidores da AChE podendo aumentar a atividade colinérgica, aliviando os sintomas cognitivos <sup>13</sup>, ocasionando uma melhora dos sintomas cognitivos e comportamentais e quando tratados com inibidores da AChE, esses, aumentam os níveis de ACh <sup>14</sup>.

Portanto, a presente pesquisa visa traçar o perfil fitoquímico dos extratos etanólicos e hexânicos das folhas e cascas da *S. paniculatum*, através da prospecção fitoquímica preliminar, cromatografia em camada delgada (CCD) e algumas técnicas espectrométricas de identificação (Infravermelho e RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, além de cromatografia gasosa (CG-EM) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), analisando as atividades antioxidante e atividade anticolinesterásica dos extratos.

## 1.1 Objetivos

### 1.1.2 GERAL

Analisar o perfil fitoquímico dos extratos etanólicos e hexânicos das folhas e cascas da *S. paniculatum*, e suas atividades biológicas *in vitro*.

### 1.1.3 ESPECÍFICOS

- Coletar a jurubeba e produzir a sua exsicata.
- Obter extratos brutos das cascas e folhas.
- Verificar por prospecção fitoquímica preliminar, cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia filtrante a presença de metabolitos secundários;
- Detectar através da cromatografia gasosa (CG-EM) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) a presença de metabolitos secundários.
- Avaliar as atividades antioxidantes, anticolinesterásica dos extratos etanólicos e hexânicos das folhas e cascas da *S. paniculatum*.

# Capítulo 2

## REFERENCIAL TEÓRICO

---

### 2.1 Plantas medicinais

O uso de plantas para fins medicinais, corresponde a uma prática antiga e de grande relevância para o tratamento das mais diversas doenças, uma vez que os conhecimentos conquistados com o passar do tempo, resultaram em um conjunto de informações, saberes e práticas que são reconhecidos como parte fundamental da medicina tradicional pela Organização Mundial de Saúde (OMS) <sup>15</sup>

Nesse sentido, a OMS considera como medicinal toda espécie vegetal que possua substâncias bioativas, ou seja, apresenta propriedades e usos terapêuticos <sup>16</sup> Em levantamentos feitos pela OMS, constatou-se que cerca de 80% da população mundial tem utilizado plantas consideradas medicinais com o objetivo de tratar ou prevenir enfermidades <sup>17</sup>

As plantas são fontes de valiosas substâncias com potencial atividade terapêutica, as classificadas como medicinais, têm demonstrado com o passar dos anos a sua importância e representam um relevante e promissor caminho para descoberta de novos compostos com atividade farmacológica <sup>18,19</sup>. Mesmo com os avanços da medicina atual, somente o valor aproximado de 30% dos fármacos avaliados como agentes terapêuticos, são derivados ou originários de produtos naturais <sup>20</sup>

De acordo com Silva et al. (2014) <sup>21</sup>, o uso de plantas na produção de medicamentos é de fundamental importância, principalmente devido as suas bioatividades, abundância na natureza, fácil acesso e de baixo custo, podendo ser, também, cultivadas nos mais diversos lugares, como na própria casa ou comunidade. De acordo com Atanazov et al. (2015) <sup>19</sup> aumentou o interesse e frequência em pesquisas científicas, pelos estudos farmacológicos de compostos de origem botânica nos últimos 30 anos.

Diversos medicamentos foram e estão sendo desenvolvidos a partir de estudos realizados com plantas com potências medicinais, dentre eles podemos destacar de acordo com Cragg e Newman (2013) <sup>22</sup>: a quelina, presente em *Ammi visnaga* e usado no tratamento de psoríase, a reserpina, isolado a partir de *Rauwolfia serpentina* e utilizado como anti-hipertensivo; irinotecano (CPT-11) derivado de *Camptotheca acuminata* e usado no tratamento do câncer; e vitiligo; *galegine*, isolado de *Galega officinalis L* dentre inúmeros outros.

Diante disso, percebe-se a importância da pesquisa e desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos no Brasil, os quais podem ajudar na cura de patologias, sendo uma possível alternativa as drogas sintéticas e possivelmente com menos efeitos colaterais, ou minimizando as consequências das mesmas, por meio de baixos custos <sup>23</sup>. Logo, faz-se necessário o incentivo a entidades que produzem pesquisas, levando assim ao desenvolvimento e melhorias das mais diversas áreas da ciência e conseqüentemente da saúde <sup>24</sup>.

## **2.2 Gênero *Solanum***

O gênero *Solanum L.* corresponde ao maior e mais complexo gênero da família *Solanaceae*, apresentando atualmente 1.230 espécies nos quais se encontram a presença de diversos compostos fitoquímicos como os metabólitos secundários: alcaloides, Terpenos, flavonoides, saponinas, Taninos dentre outros. Dentre Várias espécies do gênero, algumas espécies são bastante utilizadas no dia a dia e tem importante interesse econômico como o tomate (*Solanum lycopersicum*), batata (*Solanum tuberosum*), berinjela (*Solanum melongena*) e espécies com propriedades medicinais dentre as quais se destaca *Solanum paniculatum* <sup>25,26</sup>.

### **2.2.1 Espécie *Solanum paniculatum L.***

A *Solanum paniculatum L.*, popularmente chamada de jurubeba, é encontrada na maior parte da América, no bioma do Cerrado <sup>27</sup>. O gênero *Solanum* tem uma grande variedade de espécies, as quais geralmente são aplicadas e confundidas constantemente com a *S. paniculatum*, que são encontradas em forma de arbusto de até 3 metros de altura, contém espinhos curtos, as folhas são polimorfas, inteiras com lobos, verde-escuras na parte superior e verde-claras na posterior. Possui

flores, sendo o da espécie estudada de coloração lilás, as quais apresentam cinco pétalas unidas, tem cinco anteras amarelas, bem vistosas e comprida. Os frutos são esverdeados, com formato redondo e com sementes lenticulares<sup>28</sup> e frequentemente são bem atrativas.

Ela pode ser encontrada em áreas úmidas e molhadas, como em baixadas, e geram frutos com alcaloides glicosilados, que variam de tamanho<sup>27</sup>. As plantas da família Solanaceae constitui o porte herbáceo, arbustivo ou arbóreo<sup>29</sup>.

### **2.2.2 Levantamento de Estudos Fitoquímicos Preliminares através da metodologia de Matos 2009**

Estudos preliminares da composição química dos extratos aquosos de talos, folhas e raízes de *S. paniculatum* revelou a presença de carboidratos, saponinas, glicosídeos cardiotônicos, antraquinonas, flavonoides e taninos, no entanto não foi apresentado relatos de isolamento de metabólitos essenciais para essa espécie. O estudo dos constituintes voláteis das folhas de *S. paniculatum*, utilizando CG-EM, revelou a presença de vários componentes, sendo em sua maior parte o benzaldeído, seguido pelo cianeto de benzila e isoforona<sup>28</sup>, o que corrobora com Godinho et al (2015)<sup>8</sup> em estudo das cascas e folhas da planta.

De acordo com Coutinho (2009)<sup>28</sup>, na verificação da parte hexânica do extrato metanólico através de Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa (CG/EM), obteve-se os achados de ácidos graxos, esteroides, jasmololona, nootkatone, sapogeninas esteroídicas tigogenona e diosgenona e o sesquiterpeno 9,10-diidrocapsenona.

Terço e Lima (2016)<sup>29</sup>, em análises das classes de metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas da *Solanum paniculatum*, viram a presença efetiva de alcaloides com uso de reagentes Wagner e de Dragendorff; glicosídeos cardiotônicos pelos reagentes de Keller-Killiani, Lieberman, Baljet, Raymond–Marthoud pela fluorescência; taninos condensados, saponinas; triterpenos e esteroides obtidos pelo reagente Liebermann- Buchard, esses componentes de

grande importância para estudos fitoquímicos. Nos frutos foram vistas a presença de alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, cumarinas, taninos, saponinas e triterpenos, todas essas substâncias são essenciais na criação de novos fármacos e fortalecem a ideia de que essa planta tem princípios substanciais terapêuticos.

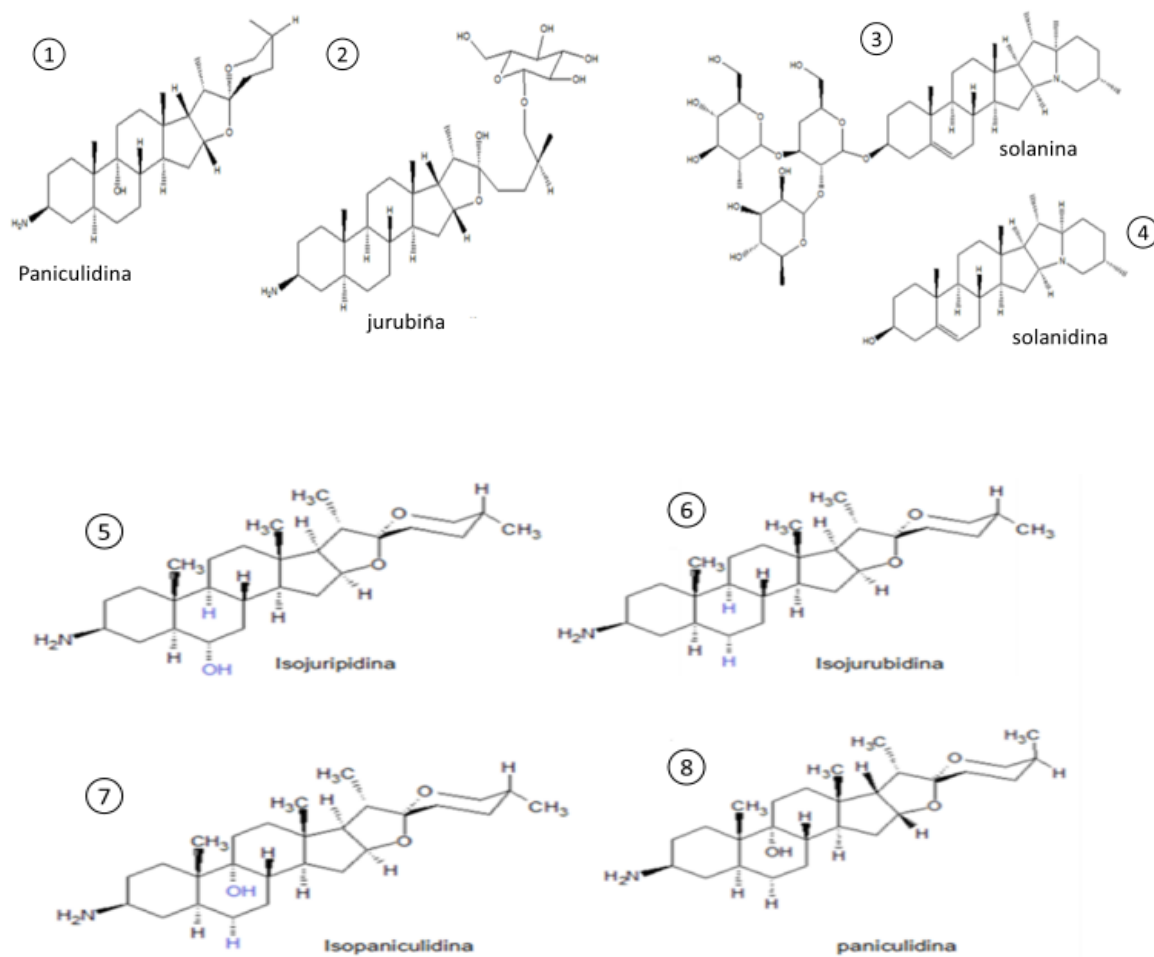
Foram identificadas após obtenção de extratos hidroalcoólicos das cascas e folhas da planta, a presença de flavonoides em teste com cloreto férrico e hidróxido de sódio, taninos em reativo de cloreto férrico, acetato de chumbo neutro e acetato de cobre, antraquinonas em reação com hidróxido de sódio, além de resinas e saponinas espumílica<sup>30</sup>. Se evidencia a presença de álcool dicetônico, ésteres alifáticos, hidrocarbonetos e outros compostos terpenoídicos através da fração volátil dos frutos de *S. paniculatum*, expressando uma maior quantidade de substâncias essenciais do que nas folhas<sup>28</sup>.

Lôbo et al., (2010)<sup>31</sup> por meio dos extratos etanólicos das raízes de *Solanum paniculatum* analisaram a atividade antibacteriana do composto, e concluiu que o extrato apresenta ação contra *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus*, isso pode ser associado à sua quantidade elevada de alcalóides e taninos na composição. Ainda, Tenório et al (2016)<sup>32</sup>, relatam a presença de atividade antidiarreica, através de experimentos do extrato de raízes.

Segundo Endringer et al., (2009)<sup>33</sup>, ao analisarem as folhas da *S. paniculatum* e sua atividade Quimiopreventiva, observaram que a fração de diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) da planta tem atividade inibidora de NF-kB e ainda a atividade de Indução de Elemento de Resposta Antioxidante (ERA) para extrato de fração de EtOAc (Acetato de etila). Notaram a inibição de ciclo-oxigenase-1 (COX-1). O extrato de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> da planta apresenta-se com atividade moderada no teste de Inibição de Ornitina Descarboxilase (ODC), e isso evidencia que a *Solanum paniculatum* é um elemento quimioprevente propício do câncer, sendo assim esse estudo revelou a necessidade de realização de mais pesquisas dos compostos da planta, a fim de descobrir a eficácia contra patologias que até então não tem cura.

Diversos alcaloides esteroidais e saponinas já foram isolados de *S. paniculatum*, como, jurubina (2) e solanina (3), solanidina (4); bem como algumas saponinas: isojuripidina (5), isojurubidina (6), isopaniculidina (7) e paniculidina (1)<sup>34</sup>.

Treze espécies de *Solanum* foram testadas quanto à sua bioatividade em relação à *Artemia salina* e apenas quatro delas apresentaram-se inativas, uma das quais foi *Solanum paniculatum*<sup>35</sup>.



**Figura 2.1** Algumas estruturas de substâncias já encontradas na *S. paniculatum*

## 2.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante corresponde a capacidade de uma molécula em doar elétrons, reduzindo em determinadas biomoléculas influenciando nas mais diversas funções dos organismos vivos <sup>36</sup>. Logo a absorção de substâncias antioxidantes exógenas, por exemplo, através da dieta, é necessária para a manutenção do balanço oxidativo e da saúde do organismo humano <sup>37</sup>.

Os efeitos antioxidantes presentes em alimentos têm sido comprovados por diversas pesquisas; em particular, para as especiarias, como alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e sálvia (*Salvia officinalis*) <sup>38</sup>. Os flavonoides são substâncias naturais com estruturas fenólicas variáveis. Mais de 4000 flavonoides já foram identificados, sendo que os mais numerosos consistem nos flavonóis, flavonas, antocianidinas e isoflavonas. Uma das suas características mais marcantes é a capacidade de atuar como antioxidantes, sequestradores de radicais livres <sup>39</sup>.

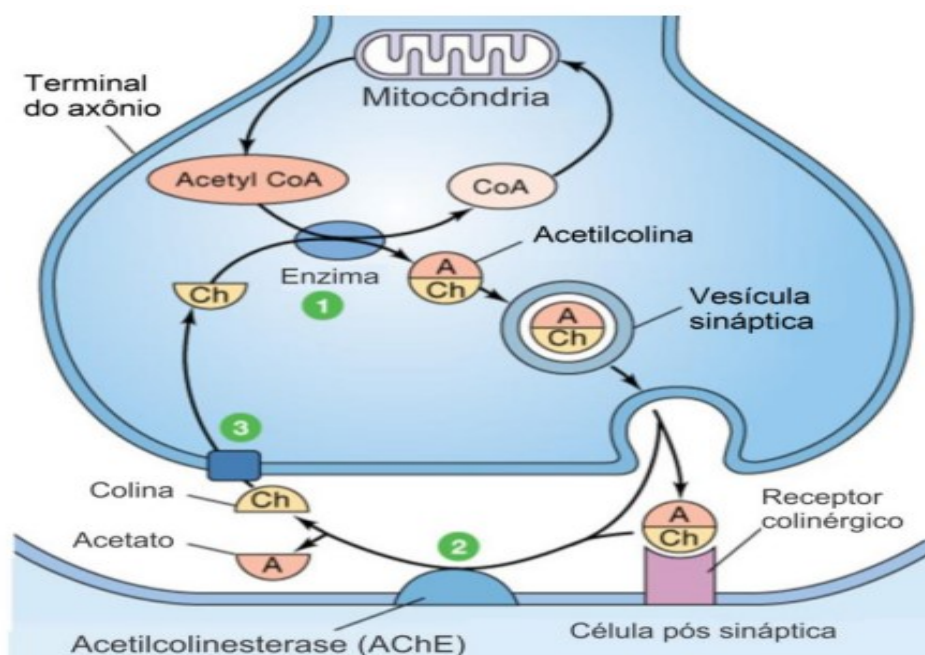
A capacidade antioxidante dos flavonoides é atribuída ao poder redutor do grupo fenólico, o qual reduz os radicais livres e produz o radical fenoxila, por sua vez, é estabilizado por ressonância. Esta capacidade é influenciada pelo número de hidroxilas presentes, pelas suas posições e pelas posições de glicosilação destas moléculas <sup>39</sup>. Os compostos fenólicos são os antioxidantes mais abundantes na dieta humana, podendo atingir 1g de consumo diário <sup>37</sup>. Dentre os compostos fenólicos, uma das classes mais importantes é a dos ácidos hidroxicinâmicos, sendo que o seu principal representante é o ácido caféico, o qual ocorre esterificado ao ácido quínico, sendo conhecido, nesta forma, como ácido clorogênico <sup>39</sup>.

A vegetação do nordeste brasileiro apresenta diversos exemplares da família Solanaceae, rica em metabólitos secundários ativos. O gênero *Solanum* apresenta uma variedade grande de saponinas esteroidais e glicoalcalóides, os quais atuam promovendo a resistência natural destas plantas contra as pragas <sup>40</sup>. Segundo Al-Fatimi e colaboradores <sup>41</sup>, os extratos de *Solanum nigrum* L. apresentaram uma das maiores capacidades antioxidantes entre 10 espécies vegetais, testadas pelo método do sequestro do radical livre estável 2,2-difenil1-picril-hidrazil (DPPH).



## 2.4 Atividade anticolinesterásica

Os neurônios colinérgicos estão relacionados com importantes funções como o alerta, o controle motor, o aprendizado e a memória, e todas essas ações exercidas pela ACh estão prejudicadas quando há deficiências na secreção desse neurotransmissor <sup>42</sup>. A síntese da ACh é processada no neurônio a partir da acetilcoenzima A e da colina, catalisada pela colina acetiltransferase (ChAT). A transmissão sináptica ocorre quando a ACh é liberada das vesículas na fenda e se liga a receptores nicotínicos e muscarínicos. Em seguida, a ACh disponível é hidrolizada pela AChE produzindo colina e acetato (Figura 2.2) que serão reaproveitados para a síntese de ACh <sup>43</sup>.



**Figura 2.2** Mecanismo de ação da Acetilcolinesterase. 1- A ACh é sintetizada a partir da colina e acetilcoenzima A, catalisada pela ChAT. 2 - Na fenda sináptica pode se ligar a receptores colinérgicos e é rapidamente metabolizada pela enzima AChE, gerando colina e acetato. 3 - Colina é transportada de volta para o neurônio pré-sináptico e utilizada para sintetizar mais ACh. VINUTHA, B. et al<sup>43</sup>

A AChE é uma enzima cuja ação é crucial na propagação do impulso nervoso, sendo responsável pela inativação do neurotransmissor acetilcolina <sup>44</sup>. Evidências demonstram que doenças neurodegenerativas como o Alzheimer se relacionam com

a degeneração do sistema colinérgico, devido principalmente a diminuição dos níveis plasmáticos de acetilcolina <sup>42</sup>. A ACh desempenha o papel de mediador químico de sinapses do SNC e periférico (SNP) envolvido em aspectos ligados ao comportamento, atenção, aprendizado e memória <sup>45</sup>. Quando o impulso nervoso chega ao axônio terminal, a ACh sofre exocitose, sendo liberada na região sináptica, onde é atraída e interage com os receptores colinérgicos do próximo neurônio <sup>46,47</sup>.

A AChE é uma enzima pertencente à família das colinesterases e é alvo para o desenvolvimento de novas drogas, dado o papel importante que desenvolve no funcionamento das sinapses colinérgicas presentes no SNC e SNP <sup>46,48</sup>. No SNP, a AChE é responsável pelo controle nos impulsos nervosos, dos batimentos cardíacos, pela contração de músculos lisos, dilatação de vasos sanguíneos e no SNC modula o controle motor, a memória e cognição <sup>49</sup>. Os inibidores da AChE impedem a enzima colinesterase de degradar a ACh, aumentando tanto o nível quanto a duração da ação do neurotransmissor e podem ser divididos em dois grupos: irreversíveis e reversíveis <sup>50</sup>.

A inibição da AChE tem sido amplamente estudada como biomarcador de neurotoxicidade, visto que, inibidores reversíveis possuem aplicações terapêuticas, enquanto os irreversíveis estão associados a efeitos tóxicos no organismo <sup>50</sup>.

A interação da ACh com os receptores leva a continuidade da transmissão dos impulsos nervosos, porém o excesso de transmissão nervosa pode levar a problemas de funcionamento do corpo <sup>46</sup>. Com a inibição da enzima AChE, o neurotransmissor ACh não pode ser hidrolisado resultando em uma quantidade anormal que leva a possíveis efeitos tóxicos no organismo <sup>51</sup>. A AChE tem uma atividade catalítica muito alta, isso porque cada molécula da enzima é capaz de degradar aproximadamente 25.000 moléculas do neurotransmissor ACh por segundo em colina e ácido acético <sup>52</sup>. A atividade normal da AChE no cérebro é imprescindível para o bom funcionamento do órgão, visto que as alterações na sua atividade geralmente estão acompanhadas de sinais de toxicidade neurocomportamental <sup>47</sup>.

# Capítulo 3

## METODOLOGIA EXPERIMENTAL

---

### 3.1 Coleta da amostra vegetal

O material vegetal coletado constitui-se das folhas, flores, frutos, caules e raízes da espécie *S. paniculatum* coletados em Carreiras, no município de Caxingó, no Estado do Piauí, localizada a latitude 03°25'03" sul e a longitude 41°53'46" oeste, a coleta foi realizada no mês de outubro de 2018 figuras 3.1 e 3.2. Após o ato da coleta foi preparada uma exsicata da amostra vegetal, posteriormente a amostra foi identificada pela botânica Profa. Dra. Ivanilza Moreira de Andrade. A exsicata foi depositada no Herbário Delta do Parnaíba (HDELTA), na Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr), em Parnaíba - Piauí, sob o tombo de número 004638. O projeto para realização desse trabalho foi cadastrado na plataforma SisGen (Sistema Nacional de Gestão de Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado) com o número: ABF52A6.



**Figura 3.1** Fotografia da *Solanum paniculatum*, em Carreiras no município de Caxingó, PI.



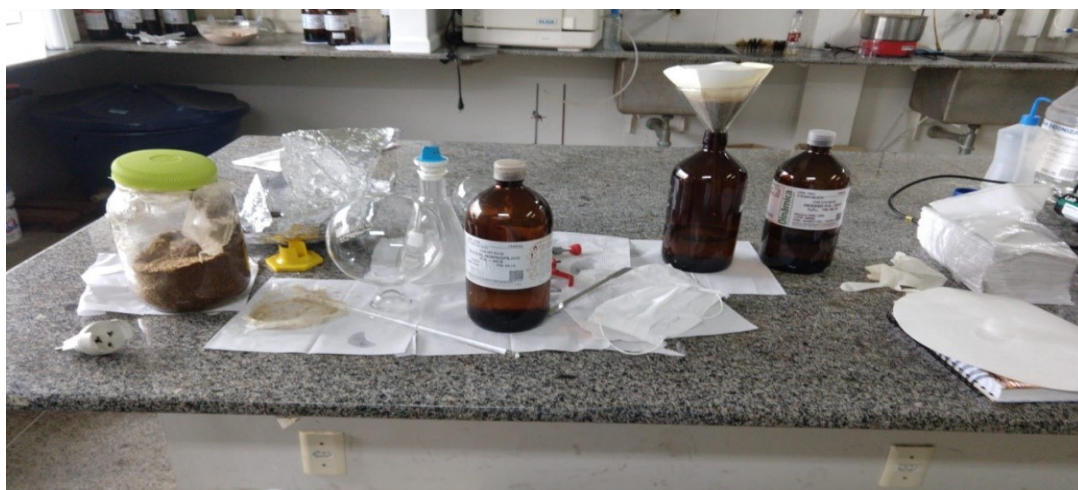
**Figura 3.2** Fotografia da Flor da *Solanum paniculatum*, em Carreiras no município de Caxingó, PI.

### **3.2 Preparação dos extratos**

O material vegetal foi separado em folhas (0,950 kg), caules e cascas (1Kg) ambas as partes foram secas, após esse processo e moídas em um triturador industrial modelo JBM 30 de 2L de capacidade e separadas para preparo dos extratos etanólicos e hexânicos. Os procedimentos de produção dos extratos foram realizados no Laboratório de Bioprospecção de Moléculas Bioativas (LABIMOB) da Universidade Estadual do Piauí (Parnaíba-PI) e Núcleo de Pesquisa Biotecnologia e Biodiversidade (NPBio) da Universidade Estadual do Piauí (Teresina-PI).

Para a produção dos extratos etanólicos das folhas da *S. paniculatum* (EEFS) e extrato hexânico das folhas (EHFS), foram utilizados 200g das folhas pulverizadas, das quais 100g foram adicionadas a 1000 mL de etanol absoluto e os outros 100g a 1000 mL de hexano P.A. Foram extraídas três vezes consecutivas em um extrator de aço inoxidável à temperatura ambiente pelo método de maceração. Para a produção dos extratos etanólicos das cascas da *S. paniculatum* (EECS) e extrato hexânico das cascas (EHCS) foram utilizados 400g das cascas pulverizadas e adicionadas a 1000 mL de etanol absoluto e 1000 mL de hexano P.A, sendo 100 g para EECS e 300 para EHCS.





**Figura 3.3** Imagem da Preparação dos extratos brutos

Após 07 dias, os extratos foram encaminhados para o Núcleo Interinstitucional de Estudo e Geração de Novas Tecnologias (GERATEC- UESPI), onde foram submetidos à evaporação do solvente em evaporador rotativo FISATOM 80L, modelo 550, série 0946331, 230v, 60Hz, 1200w, até a obtenção dos quatro extratos.



**Figura 3.4** Fotografia da retirada dos solventes por evaporação rotativa dos extratos



**Figura 3.5** Fotografia dos extratos brutos prontos

### **3.3 Triagem fitoquímica por prospecção preliminar dos extratos hexânicos e etanólicos da *S. paniculatum***

A triagem e prospecção fitoquímica foi realizada obedecendo ao protocolo descrito por Matos (2009) <sup>53</sup>, onde foram testadas a presença das seguintes classes de metabólitos secundários: saponinas, antraquinonas, cumarinas, flavonoides, alcaloides, terpenos, esteroides e taninos. Os resultados obtidos baseiam-se nas reações de precipitação, aparecimento de espuma e mudança de coloração, o que se caracteriza como propriedades dos constituintes químicos que compõem a planta, ou seja, uma análise qualitativa.

#### **3.3.1 Taninos**

Em um tubo de ensaio contendo 2 mL do extrato, adicionou-se três gotas de solução alcoólica de  $\text{FeCl}_3$  a 5% (5 g de Ácido Férrio em 100 mL de água) agitou-se a fortemente e observando se houve qualquer variação de cor, onde foi realizado um teste em branco ( $\text{H}_2\text{O} + \text{FeCl}_3$ ) para comparação dos resultados. Resultado esperado: A coloração variável entre o azul e o vermelho indica a presença de fenóis, quando for negativo o teste branco. Precipitado de tonalidade azul indica a presença de taninos hidrolisáveis, e verde, a presença de taninos condensados.

### **3.3.2 Teste para flavonoides**

Em 2 mL do extrato, adicionou-se alguns centigramas de fita de magnésio e 2 mL de HCl concentrado, feito através do teste de Shinoda, o termino da reação é indicada pelo fim da efervescência. Resultado esperado: Aparecimento da coloração vermelha variável de parda a vermelha indica a presença de flavonoides no extrato.

### **3.3.3 Teste para alguns flavonóides (antocianinas, antiocianidinas, flavononas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas e flavononóis)**

Foi acidulado a pH 3, alcalinizou-se outro a pH 8,5 e o terceiro a pH 11. Observando-se qualquer mudança na coloração do material. Resultado esperado: Aparecimento de cores diversas indica a presença de vários constituintes.

### **3.3.4. Teste para esteróides e triterpenóides**

Foi feito através da reação de Lieberman- Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado). Em 2 mL de solução do extrato, foi adicionado 3 mL de Clorofórmio, com 2 mL de anidrido acético, este foi suavemente agitado e acrescentado de forma cuidadosa 3 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, onde agitou-se repetidamente observando se ocorreu aparecimento de coloração. Resultado Esperado: Coloração azul evanescente seguida de verde permanente é indicativa da presença de esteróides livres. Coloração parda até a vermelha indica a presença de triterpenóides pentacíclicos livres.

### **3.3.5. Saponinas**

Em 2 mL do extrato, adicionou-se 2 mL de clorofórmio e 5 mL de água destilada, filtrando-se logo após para um tubo de ensaio. Posteriormente, a solução foi agitada permanentemente por 3 minutos e observou-se a formação

de espuma. Resultado esperado: espuma persistente e abundante (colarinho) indicará a presença de saponina (heterosídeos saponínicos).

### **3.3.6. Alcaloides**

Em 2 mL de solução do extrato, alcalinizou-se com quinze gotas de hidróxido de sódio a 1% (ou  $\text{NH}_4\text{OH}$  até pH 11), acrescentou-se 2 ml de água e adicionou-se 2 mL de clorofórmio. Foi desprezada a fração aquosa e acrescida na fração clorofórmica quinze gotas de ácido clorídrico a 1%, em seguida foi extraída com 2 mL de água. A fração clorofórmica foi desprezada e os testes foram realizados com a fração aquosa ácida, onde se acrescentou três gotas do reagente de Mayer (Cloreto de mercúrio + Iodeto de potássio) para a verificação da presença de alcalóides. Esperando-se a formação de precipitado floculoso é indicativo da presença de alcalóides.

### **3.3.7 Antraquinonas**

A identificação de antraquinonas, ocorreu através da reação de caracterização, chamada de reação de Borntäger, a qual requer certas circunstâncias para os compostos analisados, como a permanência de hidroxilas nas posições 1 e 8 do núcleo antraquinônico, levando a identificação das antraquinonas glicosídicas do tipo O-glicosídeos e os C-glicosídeos. Na reação Borntäger direta colocou-se os extratos em tubos de ensaios diferentes, nos quais foram adicionados 4 mL de éter etílico, agitados durante 2 minutos, logo após foi adicionado 1mL de solução de hidróxido de amônia ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 10% ao extrato orgânico, a presença das colorações rosa ou avermelhadas nos forneceriam a evidência da presença de antraquinonas nas amostras analisadas como na figura 3.6.





Próprio autor, 2019.

**Figura 3.6.** Identificação química de antraquinonas, tubos de ensaio com EHFS, EEFS e EECS, respectivamente (Reação Borntäger Direta).

Foi realizado a reação de Borntäger indireta com hidrólise para detecção de O-glicosídeos, na qual os extratos foram misturados água destilada (20mL) e aquecidos até a fervura, logo após foram adicionados 5mL de ácido clorídrico (HCl) a 10% sob fervura, após o resfriamento os preparos foram transferidos para um funil de separação e adicionados 5mL de clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) e agitados para melhor extração, logo depois as misturas foram mantidas em repouso até a divisão das fases, foram coletados as fases orgânica de cada amostra para tubos de ensaios, onde foram adicionados 3mL de solução de hidróxido de amônia( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 10%, agitados e deixados em repouso em seguida. O mesmo foi feito com a fase aquosa ácida para identificação de C-glicosídeos. Onde a coloração rósea ou avermelhada indicaria a presença antraquinonas como apresentado na figura 3.7.

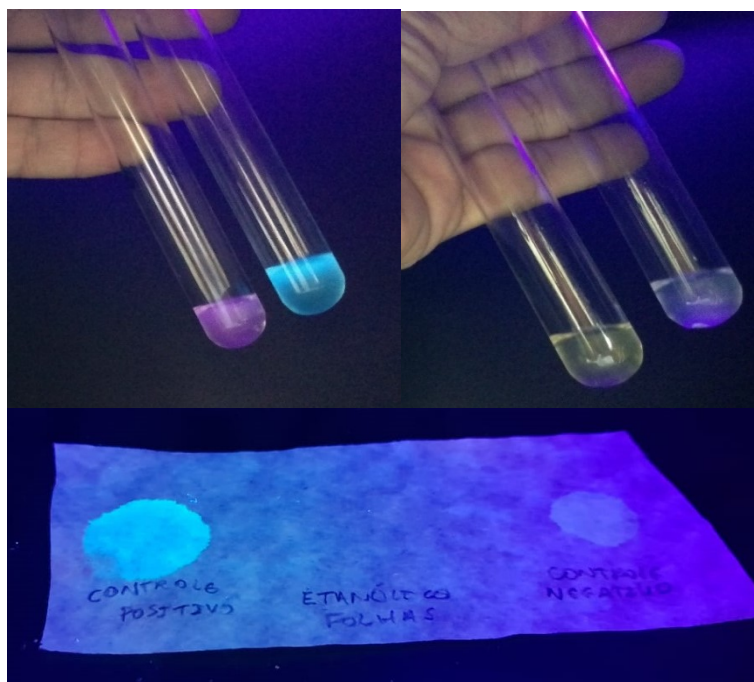


Próprio autor, 2019.

**Figura 3.7.** Identificação química de antraquinonas, tubos de ensaio com EEFS e EECS respectivamente (Reação Bornträger Indireta). Fonte:

### 3.3.8 Cumarinas

Para evidenciar a presença de cumarinas foram realizadas análise indiretas por irradiação de luz U.V. (365 nm), onde cada extrato foi solubilizado em 50mL de éter e posteriormente, para cada extrato, foram colocadas 2 gotas do mesmo extrato, em posições distintas, em papel filtro, o resto da solução foi dividido dois tubos de ensaio. Na sequência do experimento adicionou-se 2 gotas de hidróxido de sódio (NaOH) em cima apenas de uma das posições da amostra anteriormente aplicada no papel de filtro, a mesma solução foi adicionada em um dos tubos de ensaios (tanto o ponto no papel como o tubo de ensaio sem adição de NaOH funcionaram como controle negativo), tanto os papeis de filtro e os tubos de ensaios forma expostos à luz U.V. (365nm), a presença de fluorescência azul-esverdeada indicaria a presença de cumarinas na amostra como apresentado na figura 3.8.



Fonte: Próprio autor, 2019.

**Figura 3.8** Identificação química de cumarinas à esquerda EEFS, EECS e à direita EHFS.

### 3.4 Cromatografia em camada delgada (CCD) e Isolamento dos Constituintes Fixos

Com os extratos das folhas e cascas da *S. paniculatum*, já concentrados e secos, iniciou-se a realização da cromatografia em camada delgada (CCD) com objetivo de comparar os extratos recém preparados quanto a sua composição de metabólitos secundários, na CCD foram utilizados indicadores como vanilina, e sulfato cérico (reveladores) e reagente de dragendorff (indicador das classes de alcaloides e antraquinonas). Após a análise feita pela CCD, o extrato mais promissor (que apresentou melhores resultados em relação a prospecção e CCD), seguiu para o fracionamento em coluna aberta.

O extrato hexânico das folhas (EHFS), foi adsorvido em quantidade apropriada de sílica-gel por meio de atrito mecânico em geral de porcelana e acondicionado sobre sílica-gel em uma coluna aberta eluída com hexano, clorofórmio, acetato de etila e etanol, para obtenção dos respectivos eluatos.

Os metabólitos secundários existentes nos eluatos foram identificados e separados, após sucessivos tratamentos cromatográficos, onde os eluatos foram adsorvidos e empacotados em colunas cromatográficas contendo sílica-gel.

As quantidades de sílica-gel utilizadas variaram para cada fracionamento, conforme a quantidade e o grau de pureza da amostra. Os fracionamentos cromatográficos foram acompanhados através da obtenção de frações, as quais posteriormente foram reunidas conforme semelhança dos constituintes químicos revelados através de cromatografia em camada delgada, referida como CCD.

### **3.5 Métodos Espectrométricos**

#### **3.5.1 Espectroscopia de absorção de luz na região do infravermelho (IV)**

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em Espectrômetro Perkin Elmer®, modelo FT-IR Spectrum 1000 da Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, utilizando pastilhas de KBr para análises das amostras.

#### **3.5.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN $^1\text{H}$ ) e de carbono-13 (RMN $^{13}\text{C}$ )**

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), unidimensional, foram obtidos em espectrômetros Bruker®, modelo Advance DPX-300, pertencente ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC), operando na frequência do hidrogênio a 300,13 MHz e a frequência do carbono a 75,47 MHz e a 125,75 MHz. O solvente utilizado nas dissoluções das amostras para obtenção dos espectros foi o clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), comercializado pela Merck® e Aldrich®.

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de hidrogênio, pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não-deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio 7,27 ppm. Nos espectros de carbono-13, os deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio (77,23), metanol (49,15), acetona (206,68; 29,92) e benzeno (128,39). As multiplicidades dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo), d (duplete), dd (duplo duplete), ddd (duplo duplo duplete), t (triplete), dt (duplete de triplete), td (tripleto de dupletos) e m (multiplete).

A técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), foi utilizada na determinação do padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN  $^{13}\text{C}$ , aplicando ângulo de nutação de  $135^\circ$  (CH e  $\text{CH}_3$  com amplitude em oposição aos  $\text{CH}_2$ ). Os carbonos não-hidrogenados foram caracterizados pela subtração dos sinais do espectro CPD (Composite Pulse Decoupling) e DEPT  $135^\circ$ . A descrição dos carbonos pelo padrão de hidrogenação seguiu a convenção: C (carbono não-hidrogenado), CH (carbono metínico),  $\text{CH}_2$  (carbono metilênico) e  $\text{CH}_3$  (carbono metílico).

### **3.6 Análise através da CG-EM dos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e folhas da *S. paniculatum***

As análises de CG-EM dos extratos etanólicos e hexânicos das folhas e cascas da *S. paniculatum*, foram realizadas no Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais (IFAL), em um cromatógrafo a gás, acoplado a espectrômetro de massas *Shimadzu*, modelo GC/MS-GCMS-QP2010CN Ultra, equipado com injetor *split/splitless* ( $250^\circ\text{C}$ ), coluna cromatográfica capilar do tipo DB-1 (*Agilent Technologies*, Palo Alto, EUA), com fase estacionária composta de 100% dimetilpolissiloxano, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,10  $\mu\text{m}$  de espessura de filme.

A programação de temperatura iniciou a  $50^\circ\text{C}$  onde permaneceu por 5 minutos, sendo elevada em seguida para  $250^\circ\text{C}$  com taxa de crescimento de  $5^\circ\text{C}/\text{min}$ , onde permaneceu por 35 minutos. A temperatura da câmara de ionização e da interface entre CG/EM foram  $200^\circ\text{C}$  e  $250^\circ\text{C}$ , respectivamente.

Gás hélio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1,69 mL/min (100 kPa) e utilizado o modo *splitless*. Para a injeção, foi preparada uma solução de 1mg/L de cada extrato no seu respectivo solvente de extração, ou seja, em etanol e hexano. Posteriormente 1  $\mu$ L dessa solução foi injetado no cromatógrafo. O espectrômetro de massas operou a 70 eV no modo *SCAN (Full Scan)*. A quantificação dos compostos foi realizada por normalização de área.

### **3.7 Análise através da CLAE dos extratos etanólicos das cascas e folhas da *S. paniculatum***

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas no Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais (IFAL) em cromatógrafo analítico, marca Shimadzu modelo LC-20 A. Controlador CBM-20A, detector UV-Vis com arranjo de diodos (DAD), modelo SPD- M20 A, coluna Nuleodur® 100-5 Macherey-Nagel, C18, 5 $\mu$ m (250 x 4,6 mm). Os extratos e os padrões foram filtrados em cartucho de extração em fase sólida reversa chromabond® C18-ec da Macherey-nagel e disco de filtro de 0,45  $\mu$ m. Posteriormente, todas as amostras foram filtradas em membrana filtrante Chromafil® Xtra PTFE- 20/25 de 25 mm e poro de 0,20  $\mu$ m. A eluição foi realizada com MeCN:H<sub>2</sub>O:AcOH (0,2% v/v), em um modo de gradiente de eluição (5  $\rightarrow$  100% em 50 min) e fluxo de 1,0 mL/min, injeção de 20  $\mu$ L das amostras a concentração de 1,0 mg/mL e temperatura do forno da coluna de 40°C.

Os cromatogramas foram monitorados a 290 nm. A identificação de compostos no extrato foi realizada por comparação do tempo de retenção (tR) e espectros de UV com aqueles obtidos injetando os padrões: ácido salicílico, ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cumárico, catequina, epicatequina e seringaldeído preparados sob as mesmas condições.

### **3.8 Análises das atividades antioxidantes através das técnicas do DPPH e ABTS**

A atividade antioxidante *in vitro* dos extratos EECS, EEFS, EHCS e EHFS foram realizadas no Centro de Pesquisas em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC), na Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr), através

do método de sequestrador de radical, utilizando-se o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo - DPPH (Sigma-Aldrich) e o 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) - ABTS (Sigma-Aldrich). Os extratos foram testados nas concentrações de 500; 250; 125; 62,50; 31,25; 15,63; 7,81; 3,91  $\mu\text{g. mL}^{-1}$ . O Trolox foi utilizado com controle positivo nas concentrações de 25; 12,50; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39; 0,20  $\mu\text{g. mL}^{-1}$  e o etanol como branco. Em microplacas de 96 poços alíquotas de 50  $\mu\text{L}$  do extrato em diferentes concentrações foram adicionadas a 150  $\mu\text{L}$  de solução etanólica do radical a ser testado, após a adição dos compostos a serem testados e transcorrido 30 minutos de reação à temperatura ambiente na ausência da luz, a absorbância das amostras foi determinada em um leitor de microplacas (SpectraMax 19, Molecular Devices, LLC, USA), o experimento foi realizado em triplicata. A  $\text{IC}_{50}$  (concentração que fornece 50% de inibição) foi calculada plotando a concentração da amostra em relação ao efeito de eliminação correspondente dose resposta utilizando-se o software GraphPad Prism 6.

Para o ensaio com DPPH utilizou-se a metodologia de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995)<sup>54</sup>, com adaptações. O DPPH foi preparado a 100  $\mu\text{M}$ , conforme Scherer e Godoy (2009)<sup>55</sup> encontra-se dentro da faixa de linearidade para as soluções de DPPH, a absorbância foi aferida utilizando-se o comprimento de onda de 517nm. A atividade antioxidante além de  $\text{IC}_{50}$  também foi expressa como o índice de atividade antioxidante (IAA), calculado da seguinte forma:  $\text{IAA} = \text{Concentração final do DPPH} \cdot (\mu\text{g. mL}^{-1}) / \text{IC}_{50} (\mu\text{g. mL}^{-1})$ , de acordo com Scherer e Godoy (2009)<sup>55</sup>. Assim, o IAA foi calculado considerando a massa do DPPH e a massa do composto testado na reação, resultando em uma constante para cada composto, independente da concentração de DPPH ponto radical e da amostra utilizada. Os autores<sup>54,55</sup> em seu trabalho consideraram que os extratos vegetais testados por eles apresentam atividade antioxidante pobre quando  $\text{IAA} < 0,5$ , atividade antioxidante moderada quando IAA entre 0,5 e 1,0, forte atividade antioxidante quando IAA entre 1,0 e 2,0 e muito forte quando  $\text{IAA} > 2,0$ .

O radical ABTS foi preparado de acordo com Re (1999)<sup>57</sup>, o ABTS foi dissolvido em água a uma concentração de 7 mM. O cátion radical ABTS ( $\text{ABTS}^{+\cdot}$ ) foi produzido por reação da solução estoque de ABTS com potássio

2,45 mM persulfato (concentração final) e permitindo a mistura permanecer no escuro em temperatura ambiente por 12-16 h antes de usar. Como o ABTS e o persulfato de potássio reagem estequiometricamente a uma proporção de 1:0,5, este resultará na oxidação incompleta do ABTS, a absorbância foi determinada em 734 nm, em placas de 96 poços como anteriormente descrito.

### 3.9 Análises da inibição da enzima acetilcolinesterase pelos extratos

Os testes de inibição para a enzima AChE frente aos extratos EECS, EEFS, EHCS e EHFS, foram realizados em leitor de microplaca usando o teste de Elman e colaboradores (1961)<sup>56</sup> modificado por Rhee e colaboradores (2001)<sup>57</sup>.

Inicialmente, 1 mg do extrato foi solubilizada em 100 µL de etanol sendo adicionado 900 µL de Buffer A (Tris/HCl 50 mM, pH 8). Concentrações de 1 mg/mL (solução mãe), 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 mg/mL foram preparadas em solução tampão 50 mM Tris-HCl, pH 8, e 10% de metanol) foram misturados com 25 µL de ATCl (Iodeto de acetilcolina 15mM), 125 µL de DTNB, 50 µL de Buffer B (Tampão) e 25 µL da enzima AChE (0,22 U/mL) em todos os poços da placa que contem a amostra.

Um branco (todos os compostos com exceção do extrato) também foi preparado. Todas as amostras foram analisadas em triplicata. A reação foi monitorada por 5 min em 405 nm. O medicamento rivastigmina (Exelon®) foi usado como padrão positivo e como controle negativo foi utilizado o Tampão (0,1% de metanol em 50 mMol/L Tris-HCl, pH 8, 10%). A porcentagem de inibição da substância isolada e da rivastigmina foram calculados em Excel de acordo com a equação 1. Os valores da concentração inibitória média (CI<sub>50</sub>) foram obtidos por intermédio de plotagem Log-Probit.

$$I(\%) = 1 - \frac{\text{velocidadedareaçãodaamostra}}{\text{velocidadedareaçãodobranco}} \times 100$$

(Equação1)

Onde: I (%) atividade anticolinesterásica.



### **3.10 Estatística**

A análise foi realizada pela técnica estatística Anova two-way foi utilizada para o teste de DPPH e ABTS, onde realizou-se análises de múltiplas comparações feitas por teste de Tukey usando o programa software GraphPad Prism 6. As diferenças significativas foram feitas com  $p < 0.05$ .

# Capítulo 4

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

### 4.1 Preparação dos extratos

Os extratos foram obtidos a temperatura média de 40 °C para os extratos hexânicos e 60°C para os extratos etanólicos, foram obtidas para os EHFS de massa 21,119g (~21,1%) e EEFS de massa 48,394g (~48,4%), EECS de massa 18,328g (~17,92%) e EHCS de massa 4,85g (~1,6).

### 4.2 Triagem fitoquímica de acordo com a metodologia de Matos (2009) dos extratos hexânicos e etanólicos das folhas e cascas da *S. paniculatum*.

Os metabólitos secundários são responsáveis pelas propriedades medicinais das plantas, as técnicas de extração facilitam o isolamento dessas classes de substâncias<sup>6</sup>, para uma melhor compreensão deste estudo, utilizou-se o ensaio fitoquímico segundo a metodologia de Matos (2009)<sup>53</sup>, buscando avaliar de maneira qualitativa a composição dos extratos produzidos buscando assim identificar os diferentes tipos de metabólitos secundários presentes nos extratos da *S. paniculatum*.

Na análise fitoquímica dos extratos de *S. paniculatum* revelaram a possível presença das saponinas, esteroides, flavonoides, alcaloides, triterpenos, cumarinas, antraquinonas e taninos condensados. Em análise preliminar realizada com os 4 extratos pode-se identificar os seguintes grupos de metabólitos, demonstrados na Tabela 4.1.

**Tabela 4.1.** Identificação preliminar dos metabólitos secundários nos extratos etanólicos e hexânicos das folhas e cascas da *S. paniculatum*. Presença (+); Ausência (-)

<b>Grupos de Metabólitos</b>	<b>EECS</b>	<b>EEFS</b>	<b>EHFS</b>	<b>EHCS</b>
<b>Taninos condensados</b>	+	+	+	-
<b>Esteroides</b>	+	+	+	-
<b>Triterpenos</b>	+	+	+	-
<b>Flavonoides</b>	+	+	+	-
<b>Saponinas</b>	+	+	-	+
<b>Alcaloides</b>	+	+	-	-
<b>Antraquinonas</b>	+	+	-	-
<b>Cumarinas</b>	-	+	-	-

De acordo com a análise do EEFS e EECS, identificou-se a presença de todas as classes de metabólitos testadas, o que está de acordo com o trabalho de Terço e Lima (2016) <sup>6</sup> em relação as mesmas classes testadas, onde através de análises do extrato etanólico das folhas da *S. paniculatum*, observaram a presença efetiva de alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, taninos condensados, saponinas, triterpenos e esteroides, compostos orgânicos de grande importância para estudos fitoquímicos.

No estudo de Godinho et al. (2015) <sup>8</sup>, foram identificados nos extratos hidroalcoólicos das cascas e folhas da *S. paniculatum*, a presença de flavonoides, taninos, saponinas o que corrobora com os resultados dessa pesquisa. Através da metodologia utilizada para análise dos extratos obtidos detectou-se a presença de praticamente todos os metabólitos secundários analisados para os extratos EEFS, EHFS E EHFS, o que corrobora com a literatura, com exceção do EHCS que apresentou somente a classe das saponinas, vale lembrar que EHCS não foi utilizado em nenhuma pesquisa anterior.

### 4.3 Cromatografia em camada delgada (CCD) e Isolamento dos Constituintes Fixos

Após análise em CCD o extrato hexânico das folhas de *S. paniculatum* (EHFS) apresentou-se mais promissora devido as demais placas se mostrarem muito escuras por conta da marcante presença de compostos graxos, então foi realizada uma cromatografia filtrante de 2,00g de EHFS que produziu quatro frações: uma hexânica com 580 mg (EHFS-H); clorofórmica com 825 mg (EHFS-C); acetato de etila com 311 mg (EHFS-Ac) e metanólica com 254 mg (EHFS-M). Devido ao maior rendimento obtido em massa, a fração EHFS-C foi analisada. Após sucessivas cromatografias da fração EHFS-C (825 mg) obteve-se a fração denominada de FSP-1(12,3 mg) que se apresentou como cristais amorfo e solúvel em clorofórmio e com ponto de fusão 150,2 – 151,7 °C.

O espectro na região do infravermelho de FSP-1(anexo 1) mostrou uma banda intensa em  $3448\text{ cm}^{-1}$  correspondente à deformação axial da ligação O-H característica de álcool, além de bandas em  $2945\text{ cm}^{-1}$  correspondente a C-H e  $1459$  e  $1380\text{ cm}^{-1}$  relacionadas a deformações da ligação C-H de carbonos alifáticos. Também foi observada uma banda em  $1654\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação axial de ligação C=C, e outra banda em  $1065\text{ cm}^{-1}$  representado uma deformação axial de ligação C-O.

Através da análise de espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de FSP-1 (anexo 2) verificou-se a presença de 29 linhas espectrais. Comparando-se os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ - DEPT  $135^\circ$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de FSP-1 (anexo 3), pôde-se deduzir a presença de onze absorções correspondentes a carbonos metínicos, nove absorções de carbonos metilênicos e seis absorções de carbonos metílicos. Por diferença de espectros, constatou-se a ausência de três absorções relativas aos carbonos não-hidrogenados, como apresentados na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2** Deslocamento químico RMN  $^{13}\text{C}$  de FSP-1 com padrão de hidrogenação

<b>C</b>	<b>CH</b>	<b>CH<sub>2</sub></b>	<b>CH<sub>3</sub></b>	<b>TOTAL</b>
139,7	138,3	39,6	12,4	
43,5	129,6	38,2	13,2	
34,4	117,6	29,8	21,5	
	71,2	37,3	21,2	
	56,1	31,7	19,2	
	55,3	29,6	12,2	
	51,4	25,5		
	49,6	23,2		
	41,0	21,7		
	40,4			
	32,0			
<b>C<sub>3</sub></b>	<b>C<sub>11</sub>H<sub>11</sub></b>	<b>C<sub>9</sub>H<sub>18</sub></b>	<b>C<sub>6</sub>H<sub>18</sub></b>	<b>C<sub>29</sub>H<sub>47</sub></b>
<b>CH-O</b>				<b>C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O</b>

Utilizando-se da teoria do deslocamento químico pôde-se inferir para de FSP-1, a presença de um carbono oxigenado em  $\delta$  71,4 (C-3) e quatro carbonos olefínicos em  $\delta$  139,7 (C-8); 138,3 (C-22); 129,6 (C-23) e 117,6 (C-7).

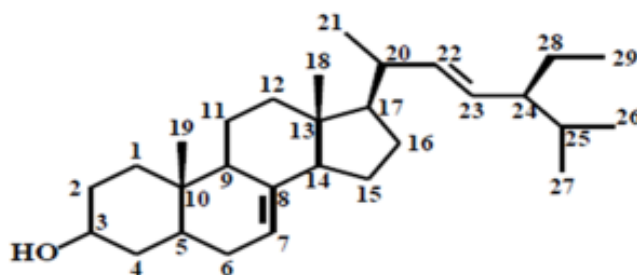
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de FSP-1 (anexo 4) mostrou um sinal em  $\delta$  3,60 (m, 1H-3) atribuída a hidrogênio de carbono carbinólico. Foram observadas também sinais em região de desproteção em  $\delta$  5,15 (dd,  $J = 8,7$ ; 14,7 Hz; 1H-7), 5,05 (dd,  $J = 8,4$  Hz; 14,3 Hz; 1H-22) e 5,00 (dd,  $J = 8,1$  Hz; 13,9 Hz; 1H-23) referentes a hidrogênios de carbonos olefínicos, e dois sinais em  $\delta$  0,55 (s, 3H-18) e 0,80 (s, 3H-19) característicos de grupamentos metilas ligadas a carbonos não-hidrogenados.

De acordo com os dados apresentados nestes espectros, pôde-se sugerir para FSP-1 a fórmula molecular  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ , corroborada pelo espectro de massas (E.M.) que apresentou razão  $m/z$  igual 412 da (anexo 5) tendo, portanto, seis lacunas de insaturação. Como duas insaturações estão relacionadas a duas duplas ligações, as outras quatro restantes devem ser atribuídas a uma estrutura tetracíclica.

A presença de carbonos olefínicos, dois grupamentos metila ligados a carbonos não-hidrogenados, nove carbonos metilênicos e um carbono metínico

carbinólico, possibilitaram deduzir que FSP-1 trata-se de um esteróide contendo um esqueleto do tipo estigmastano.

A comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de FSP-1 (anexo 2), com os dados descritos na literatura <sup>58</sup> para esteroides da série estigmastano (Tabela 4.3), confirmou a identidade deste composto como sendo o esteroide estigmast-7,22-dien-3-ol, conhecido também como Espinasterol representado pela figura 4.1.



**Figura 4.1** estrutura do Espinasterol

**Tabela 4.3** Análise comparativa dos deslocamentos químicos  $\delta$  (ppm) de RMN  $^{13}\text{C}$  de FSP-1 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) com o Espinasterol Zhang et al. (2005) <sup>58</sup> (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

C	FSP-1	Espinasterol
1	38,2	38,1
2	29,8	29,8
3	71,2	71,4
4	37,3	38,1
5	40,4	40,4
6	31,7	31,6
7	117,6	117,8
8	139,7	139,6
9	49,6	49,8
10	34,4	34,3
11	21,7	21,7
12	39,6	39,6
13	43,5	43,6
14	55,3	56,1
15	23,2	23,1
16	28,6	28,9
17	56,1	56,3
18	12,4	12,4
19	13,2	13,4
20	41,0	40,6

<b>21</b>	21,5	21,7
<b>22</b>	138,3	138,2
<b>23</b>	129,6	129,6
<b>24</b>	51,4	51,6
<b>25</b>	32,0	32,0
<b>26</b>	21,2	21,5
<b>27</b>	19,2	19,1
<b>28</b>	25,5	25,5
<b>29</b>	12,2	12,4

O espinasterol é um esteroide bastante citado na literatura por apresentar diversas atividades biológicas: antiulcerogênica <sup>59,60</sup>, antidepressivo <sup>61</sup>, anti-inflamatório <sup>62,63</sup>, antígenotóxico, antitumoral e antiproliferativo, descritos por Villaseñor et al. (1996) <sup>64</sup>, Ntie-kang e Yong (2014) <sup>65</sup>. Segundo Uchida K et al. (1983) <sup>66</sup>, o espinasterol foi responsável pela diminuição da absorção do colesterol em níveis plasmático e hepático em camundongos.

Sua atividade anticâncer é bastante estudada para diversas linhagens de células, como câncer do colo retal <sup>67</sup>, câncer de mama como observado em estudos de Jeon et al. (2005) <sup>68</sup>, este composto possui atividade antiproliferativa contra as linhagens celulares de câncer cervical, indicando que o espinasterol pode ser responsável pela atividade antiproliferativa encontrada no extrato metanólico de *Stegnosperma halimifolium* em estudos de Meneses et al. (2017) <sup>69</sup>.

#### **4.4 Análise dos extratos hexânicos e etanólicos por Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa (CG-EM)**

A cromatografia gasosa é uma das ferramentas mais úteis para separação e análise de compostos orgânicos que podem ser vaporizados sem sofrer decomposição, a cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (CG-EM), é uma técnica que torna possível a análise de várias substâncias em uma mesma amostra<sup>70</sup>.

A análise por CG-EM realizada no EECS, revelou a presença de 46 compostos, dentre eles se destacam a presença das funções químicas: hidrocarbonetos, ácido graxo, éster, aldeídos, acetatos e ácidos carboxílicos, já o extrato EEFS apresentou 28 compostos dentre eles se destacam as funções químicas: hidrocarbonetos, éster benzoato, cetonas e acetato.

A análise realizada no EHCS, revelou a presença de 49 compostos dentre eles se destacam a presença das funções: hidrocarbonetos, fitoesteróides, haloalcanos, ácido carboxílico, éter e amida. A análise do EHFS, revelou a presença de 49 compostos químicos dentre eles se destacaram a presença das funções químicas: hidrocarboneto, cetonas e éster. Alguns compostos apresentaram percentuais de áreas mais significativas e outros menos.

No caso do extrato EECS, os compostos: linoleato de etila, palmitato de metila, estearato de etila (31), tridec-2-inil 2,2-dicloroacetato, apareceram com um maior percentual relativo de área, sendo de 17,25%; 11,94%; 9,61%, 7,79% e 7,50% respectivamente. Em menor quantidade estão os compostos: [(E)-but-2-enil] 2-metilbutanoato com 0,11%, (2,4-dimetil-7-fenilmetoxi-2,3-di-hidrofuro [2,3-b] cromen-9 a- il) acetato com 0,12% e o 2-nitrobutan-1-ol com 0,14%, como apresentado na Tabela 4.4.

**Tabela 4.4** Análise química CG/MS doo EECS, e as respectivas porcentagens (%) de contribuição relativa de cada composto. (N) Número do composto; (TR) Tempo de Retenção; (FM) Fórmula Molecular e (MM) Massa Molar.

Nº	TR (Min)	Compostos	FM	MM	(%)
1	3.025	Acetamida	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO	59	1.50
2	6.427	Salicilato de metila	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	152	2.01
5	11.905	Acetato de 4-Terc-butilciclohexila	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198	0.99
6	13.062	3,7-dimetil-Nonano	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	156	1.86
7	13.167	Acetato de verdil	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	192	0.71
9	17.628	Ftalato de dietila	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	222	17.25
10	17.970	2,2-dimetil- Butano	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	86	0.86
11	19.380	Éter dioctilo	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	0.72
12	20.842	(2,4-dimetil-7-fenilmetoxi-2,3-di-hidrofuro [2,3-b] cromen-9 a- il) acetato	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	366	0.12
13	22.126	1,2-Dibenzoil-3-metildiaziridina	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sup>2</sup>	266	0.32
15	23.040	16-Heptadecenal	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O	252	1.40
16	23.125	2-heptanona	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	114	0.44
17	23.864	Propionato de citronelil	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	212	0.44
18	24.289	[(E)-but-2-enil] 2-metilbutanoato	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	156	0.11
19	24.807	Éster metílico de Ácido hexadecanóico	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	3.71
20	25.192	Oxalato de 1- O- butil-2- O- ciclobutil	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	200	0.23
21	25.291	1,3-dioxolano, 2- (2,3-dimetil-1-ciclopenten-3-il) -2,4,5-trimetil-	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	210	3.46
22	26.131	Palmitato de metila	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284	9.61
23	26.709	2-nitrobutan-1-ol	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	119	0.14
24	27.067	2,2-Diisopropil-1,3-dioxolano	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	158	0.77
25	27.800	(Z) -3-Metilciclooct-1-eno	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub>	124	1.30



26	27.950	Éster metílico de ácido cis-7-hexadecenóico	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	268	2.74
28	29.020	Linoleato de etila	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	308	11.94
29	29.135	tridec-2-Inil 2,2-dicloroacetato	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	306	7.50
30	29.277	Carbonato de ciclohexilmetil 2,2-dimetilpropil	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	228	0.44
31	29.723	Estearato de etila	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	312	7.79
32	33.072	2-metilpentanoato de metila	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	130	0.79
34	35.168	2- O- (4-cianofenil) 1- O -nonil benzeno-1,2-dicarboxilato	C <sub>24</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>4</sub>	393	0.38
35	36.172	2,2-dimetil-3-hexanona	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	128	0.83
37	39.016	1-iodo- Nonano	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> I	254	0.75
38	40.380	2,6,10,15-tetrametilHeptadecano	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	2.27
39	40.639	2,2-dimetilpropil 2,2,3,3,4,4,4-heptafluorobutanoato	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> F <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	284	0.82
40	41.101	(5-metil-2-propan-2-ilciclohexil) 2-metilpropano-2-sulfinato	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub> S	260	0.47
41	41.558	1-bromo-2-metilPropano	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> Br	136	0.84
42	41.827	Acetato de 22,23-dibromostigmasterol	C <sub>31</sub> H <sub>50</sub> Br <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	612	1.50
43	42.982	2-metiloctacosano	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	4.50
44	44.223	5-metil-5-propilnonano	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	0.46
45	44.652	undec-1-in-4-ol	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O	168	0.41
46	45.467	2-etilhexil 4-metilpentil sulfito	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub> S	278	2.38

No EEFS os compostos que apresentaram percentuais de áreas mais significativas foram: ftalato de dietila (58), 2-metilpropil 3 - [(4-butoxibenzoil) amino] benzoato (59), salicilato de metila (48), 3,7-dimetilnonano (61), sendo de 36,67%, 13,71%, 6,54% e 4,80% respectivamente. Em menor quantidade estão os compostos: butil 2-oxoacetato (64) com 0,21%, (3,5-diacetiloxi-2-metilideno-6-fenilmetoxioxan-4-il) acetato (68) com 0,26% e o etil *N*-formilcarbamiditoato (70) com 0,25%, como apresentado no Tabela 4.5.

**Tabela 4.5** Análise química CG/MS doo EEFS, e as respectivas porcentagens (%) de contribuição relativa de cada composto. (N) Número do composto; (TR) Tempo de Retenção; (FM) Fórmula Molecular e (MM) Massa Molar.

Nº	TR (Min)	Composto	FM	MM	(%)
48	6.408	Salicilato de metila	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	152	6.54
49	7.077	2,2-dimetil-3-hexanona	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	128	1.42
50	9.425	Acetato de 3-piridila	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	137	0.33
51	10.262	3-hexanona	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	100	2.45
52	10.925	Oxalato de 2- O- butil-1- O- propil	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	188	0.63
53	11.894	Acetato de 4-terc-butilciclohexila	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198	3.13
54	13.057	2,2-dimetilButano	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	86	6.01
55	13.183	Acetato de 5-norbornen-2-il	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	152	2.36

56	15.601	2,3,6-trimetil-Heptano	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub>	142	1.84
57	17.112	2- O- heptil 1- O -pentil benzeno-1,2-dicarboxilato	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	334	0.33
58	17.626	Ftalato de dietila	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	222	36.67
59	17.764	2-metilpropil 3 - [(4-butoxibenzoil) amino] benzoato	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> N O <sub>4</sub>	369	13.71
60	17.900	-2,3-dimetil 4 <i>um</i> , 8 <i>um</i> difenil-2,3,6,7-tetra-hidro- [1,4] dioxino [2,3-b] [1,4] dioxina	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	326	1.54
61	17.959	3,7-dimetilnonano	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	156	4.80
62	18.748	(E) - <i>N</i> -fenilmetoxipentan-1-imina	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> N O	191	0.69
63	19.378	Butirato de alilo	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	128	2.08
64	19.442	Glioxilato de butila	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	130	0.21
65	20.650	(2,4-dimetil-7-fenilmetoxi-2,3-di-hidrofuro [2,3-b] cromen-9 <i>a</i> - il) acetato	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	336	0.37
66	22.149	Acetato de sódio	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> Na O <sub>2</sub>	82	1.07
67	22.294	2-metilpropil pentil sulfito	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub> S	208	1.29
68	22.695	(3,5-diacetiloxi-2-metilideno-6-fenilmetoxioxan-4-il) acetato	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	378	0.26
69	23.032	Oxalato de 1- O- heptil -2- O -prop-2-enil	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	228	0.59
70	23.475	Etil <i>N</i> - formilcarbamoato	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO S <sub>2</sub>	149	0.25
71	24.841	Ácido tetradecanóico, 12-metil-, metil éster, (S) -	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256	3.56
72	26.192	2-O- butil 1-O- propil oxalato	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	188	1.72
73	28.021	Anidrido propiônico	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	130	0.37
74	28.55	Ácido 2-metilheptanoico	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	144	1.32

No EHCS os compostos que apresentaram percentuais de áreas mais significativas foram: Heneicosano (108), Tetratetracontano (121), beta-sitosterol (116), estigmasterol (112), sendo de 17,87%; 12,74%; 9,49% e 6,33% respectivamente. Em menor quantidade estão os compostos: (17 *R*) -17-hidroxi-10,13-dimetil-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopenta[*a*] fenantren-3-ona (117) com 0,01%, (4 *Z*, 8 *Z*, 13 *Z*) -1,5,9-trimetil-12-propan-2-ilciclotetradeca-4,8,13-trieno-1,3-diol (122) com 0,05% e o 1-etoxioctano (77) com 0,07%, como apresentado no Tabela 4.6.

**Tabela 4.6** Análise química CG/MS doo EHCS, e as respectivas percentagens (%) de contribuição relativa de cada composto. (N) Número do composto; (TR) *Tempo de Retenção*; (FM) *Fórmula Molecular* e (MM) *Massa Molar*.

Nº	TR (Min)	Composto	FM	MM	(%)
75	3.036	3-Heptafluorobutiroxipentadecano	C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> F <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	424	0.38
76	3.092	P-cimeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	0.23
77	3.167	1-etoxioctano	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O	158	0.07
78	3.393	2-isopropilideno-5-metilhex-4-enal	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	0.20
79	3.559	Undecano	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	156	0.96
80	3.652	3-metil-2,4-diazabicyclo [3.2.0] heptano-1,5-dicarbonitrila	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub>	162	0.48
81	3.778	1,2,4,5-tetrametilbenzeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	0.38
83	4.558	4-metilindano	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	132	0.26
84	4.706	5-etil-m-xileno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	0.30
85	5.570	Naftaleno	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	128	0.16
86	7.065	Tridecano	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	0.16
87	23.067	Acetato de fitila	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	338	0.24
88	34.458	1-Undecanol	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O	172	0.24
90	36.188	2-Bromododecano	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> Br	248	0.12
95	40.423	2-metiloctacosano	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	8.20
96	40.669	Clorofornato de colesterol	C <sub>28</sub> H <sub>45</sub> ClO <sub>2</sub>	448	2.39
97	40.863	3-beta-Acetoxystigmasta-4,6,22-trieno	C <sub>31</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	452	1.34
98	41.133	Colesta-2,4-dieno	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub>	368	6.38
99	41.358	terc- butil 4- [4- [acetil (metil) amino] but-2-inil] piperazina-1-carboxilato	C <sub>16</sub> H <sub>27</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	309	0.25
101	41.606	Cholesta-4,6-dien-3-ol, (3.beta.)	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O	384	2.66
103	41.873	Estigmasta-5-eno-3-il éster de ácido oleico	C <sub>47</sub> H <sub>82</sub> O <sub>2</sub>	678	3.81
104	42.085	4- (iodometil) -4,5-dimetil-7, um -prop-1-en-2-il-2,3,3 um, 5,6,7-hexa-hidro-1 H -indeno	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> I	332	0.81
105	42.342	Acetato de 14-metilcolesta-2,8-dien-6-ilo	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	440	0.14
106	42.392	1- O- butil 3- O -hexan-3-il propanodioato	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	244	0.02
108	43.079	Heneicosano	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	17.83
109	43.253	Ácido p-diidroartemisinoximetilbenzoico	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>7</sub>	418	1.21
110	43.579	Ergost-5-en-3-ol, (3beta, 24R)	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O	400	8.11
111	43.733	2,2,2-trifluoroetil undecanoato	C <sub>13</sub> H <sub>23</sub> F <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	268	0.16

112	44.010	Estigmasterol	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412	6.33
114	44.415	4,4,6 a , 6 b , 8 a , 11,11,14 b -octametil-2,4 a , 5,6,7,8,9,10,12,12 a , 14,14 a- dodecaidro -1 H - picen-3-ona	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O	424	0.61
115	44.517	beta-Santalol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.10
116	44.704	beta-Sitosterol	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414	9.49
117	44.875	(17 R) -17-hidroxi-10,13-dimetil-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopenta [a] fenantren-3-ona	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	288	0.01
118	44.995	Pentacosano	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	352	1.84
119	45.058	Cholest-4-en-3-ona	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O	384	1.24
121	45.509	Tetratetracontano	C <sub>44</sub> H <sub>90</sub>	618	12.74
122	45.825	(4 Z, 8 Z, 13 Z) -1,5,9-trimetil-12-propan-2-ilciclotetradeca-4,8,13-trieno-1,3-diol	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	306	0.05
123	46.290	Beta-Sitostenona	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412	0.60

No EHFS os compostos que apresentaram percentuais de áreas mais significativas foram: Heneicosano (170), Bis (2-etilhexil) ftalato (160), 6,10,14-Trimetilpentadecan-2-ona (154), 2-metiloctacosano (172), sendo de 27,33%, 5,88%, 9,49% e 1,79% respectivamente. Em menor quantidade estão os compostos: etil (1 R, 2 R) -2-formilciclopropano-1-carboxilato (149), com 0,17%, Tridecano (134) com 0,18% e 4-metoxi-3-hepteno (144) com 0,20%, como apresentado na Tabela 4.7.

**Tabela 4.7:** Análise química CG/MS doo EHFS, e as respectivas porcentagens (%) de contribuição relativa de cada composto. (N) Número do composto; (TR) Tempo de Retenção; (FM) Fórmula Molecular e (MM) Massa Molar.

Nº	TR (Min)	Composto	FM	MM	(%)
124	3.407	(2,7,7-trimetil-6-biciclo [3.1.1] hept-2-enil) acetato	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	194	0.43
125	3.569	Undecano	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	156	1.24
126	3.675	1,2,3,5-tetrametilbenzeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	0.22
127	3.787	1,2,4,5-tetrametilbenzeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	0.35
128	4.087	2,3-Epoxi-2-metilpentano	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	100	0.48
129	4.252	2-metil-1-fenilpropeno	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	132	0.59
130	4.433	(5-fluoro-2-nitrofenil) 4-metilbenzoato	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> FNO	275	0.20
131	4.568	4-metilindano	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	132	0.15

<b>132</b>	4.711	2-etil-p-xileno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	0.29
<b>133</b>	5.586	Azuleno	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	128	0.22
<b>134</b>	7.082	Tridecano	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	0.18
<b>135</b>	9.670	5-metil-2-heptanona	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	128	0.34
<b>136</b>	10.086	2,2-Dimetilpentan-1-ol	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> O	116	0.18
<b>137</b>	10.501	4,4,5,5-Tetrametil-2- (4,4,5,5-tetrametil-1,3-dioxolan-2-il) -1,3-dioxolano	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	258	0.38
<b>140</b>	12.883	Acetato de 3-ciclohexen-1-il	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	140	0.24
<b>141</b>	13.199	2,4-dimetil-3-heptanol	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O	144	0.32
<b>142</b>	13.438	1- (trimetilsilil) -1-propino	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> Si	112	0.38
<b>143</b>	13.610	metil 2-metoxi-3-metilbut-2-enoato	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	144	0.48
<b>144</b>	14.000	4-metoxi-3-hepteno	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	128	0.20
<b>145</b>	14.066	2,2,3,4-Tetrametilhex-5-en-3-ol	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	156	0.31
<b>146</b>	14.225	1 - [(2-metil-5-nitro-1 H -imidazol-4-il) sulfanil] -3-piperidin-1-ilpropan-2-ol	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	300	0.28
<b>147</b>	14.359	Ácido 2-tiofenacético, éster octil	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> S	254	0.43
<b>148</b>	14.428	5-etil-3-hidroxi-4-metil-2 (5H) -furanona, (+)	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	142	0.31
<b>149</b>	15.417	etil (1 R, 2 R) -2-formilciclopropano-1-carboxilato	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	142	0.17
<b>150</b>	15.535	Diidroactinidiolida	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	180	0.46
<b>151</b>	17.105	(1-Metilnonil) ciclohexano	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224	0.18
<b>152</b>	17.645	Ftalato de dietila	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	222	0.80
<b>153</b>	23.054	Pentadecanal	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O	226	0.31
<b>154</b>	23.156	6,10,14-Trimetilpentadecan-2-ona	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	268	2.39
<b>155</b>	31.040	tributil 2-acetiloxipropano-1,2,3-tricarboxilato	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>8</sub>	402	0.47
<b>156</b>	31.477	3,7-dimetilnonano	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	156	0.20
<b>157</b>	32.090	4,8,12,16-Tetrametilheptadecan-4-olida	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	324	1.00
<b>158</b>	33.104	2-Etilhexil 4-metilpentil sulfito	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub> S	278	0.32
<b>160</b>	35.194	Bis (2-etilhexil) ftalato	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	390	5.88
<b>165</b>	39.708	17-Pentatriaconteno	C <sub>35</sub> H <sub>70</sub>	490	1.71
<b>166</b>	39.884	3,8-dimetil Undecano	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	0.31
<b>169</b>	42.511	2-metiloctacosano	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	1.09
<b>170</b>	43.048	Heneicosano	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	27.3
<b>172</b>	44.997	2-metiloctacosano	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	1.79

De acordo com a análise pode-se observar que alguns compostos eram esperados em mais de um extrato, como o 2-metiloctacosano que aparece no EECS e EHCS, assim como 3,7-dimetilnonano pode ser encontrado no EHFS e EEFS e o composto Heneicosano que aparece tanto no EHFS quanto no EHCS. Os demais

aparecem de maneira exclusiva em cada extrato. A maiorias dos compostos ainda não foram citados em outras referências, possivelmente estes compostos são relatados pela primeira vez nesta planta. No EECS observou-se que o ftalato de etila (9), está presente como possível contaminante das amostras, pois de acordo com a literatura corresponde há um derivado sintético de recipientes plásticos.

O linoleato de etila, é um ácido graxo que corresponde a um éster derivado do ácido linoleico apresentando função em plantas como metabólito vegetal secundário, tendo atividade anti-inflamatória, sendo encontrado em outras espécies da família como *Solanum argenteum*, *Solanum caavurana* e *Solanum australe* <sup>71</sup>. O palmitato de metila, é uma substância da classe dos ácidos graxos derivados do ácido palmítico, que possui função de crescimento em diversas espécies da família Solanácea, assim como encontrado também nas raízes de *Neolitsea daibuensis* apresentando atividade anti-inflamatória <sup>72</sup>. Estereato de etila, éster derivado de ácido graxo formado por tendo função de metabólito, de acordo com pesquisas de Altaf et al. (2013)<sup>73</sup> apresenta uma atividade anti-inflamatória, sendo determinadas também por Almeida (2011) <sup>74</sup>.

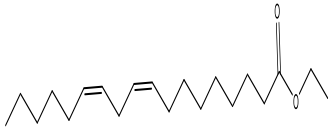
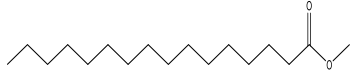
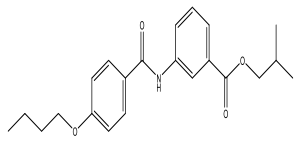
No EEFS foram identificados o 2-metilpropil-3-[(4-butoxibenzoil) amino] benzoato, destaca-se este éster, por ser com um metabólito secundário que apresenta atividade antifúngica <sup>75,76</sup>. O salicilato de metila, corresponde há um éster benzoato, que apresenta atividades farmacológicas como anti-inflamatórias e analgésica de acordo com Silva (2003)<sup>71</sup>, sendo amplamente utilizada em medicamentos comumente encontrados em drogarias como sprays e na forma de gel para dores e distensões musculares. Os demais compostos são hidrocarbonetos como 3,7-dimetilnonano, corrobora com o estudo feito por Al-Fatimi et al. (2007)<sup>76</sup>, onde o estudo dos constituintes voláteis das folhas de *S. paniculatum*, utilizando GC-EM, revelou a presença de vários componentes, sendo em sua maior parte o benzaldeído, seguido pelo cianeto de benzila e isoforona, o que corroboram Godinho et al. (2015) <sup>8</sup> em estudo das cascas e folhas da planta.

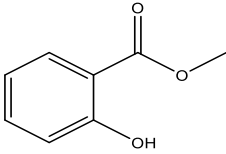

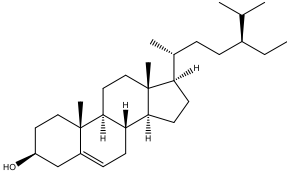
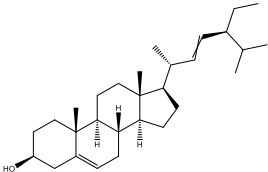
O EHCS apresentou uma grande quantidade de compostos derivados de esteroides e hidrocarbonetos como o heneicosano, um alcano de cadeia linear amplamente citado em diversas famílias de plantas incluindo a Solanacea, atuando como feromônio. Identificou-se o beta-sitosterol, um membro da classe dos

fitoesteróis, também conhecido como estigmast-5-eno substituído por um grupo beta-hidroxi na posição 3, tendo um papel como possível inibidor de esteroil metiltransferase, uma droga anticolesterêmica e antioxidante, apresentando boa atividade anti-inflamatória <sup>77</sup>. Observou-se também o estigmasterol, que é um hormônio vegetal utilizado na prevenção de certos tipos de doenças como câncer, apresenta atividade anti-inflamatória e possui uma potente atividade antioxidante <sup>78</sup>.

O tetratetracontano, um alcano de cadeia longa que consiste em uma cadeia não ramificada, assim como os demais compostos no EHFS apresentou de maneira majoritária compostos derivados de hidrocarbonetos como o heneicosano, já citado no EHCS e o 2-metiloctacosano. Dentre as várias substâncias observadas nos extratos, algumas se destacam quanto a atividades biológicas como se pode observar na tabela 4.8.

**Tabela 4.8** Compostos identificados na CG-EM dos extratos etanólico e hexânico das folhas e cascas da *S. paniculatum* com suas respectivas atividades biológicas.

Extrato	Compostos	Fórmula estrutural	Grupo fitoquímico	Atividades encontradas na literatura
EECS	Linoleato de etila		Éster	Apresenta propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias <sup>79</sup>
EECS	Palmitato de metila		Éster	Metabólito vegetal em algumas apresentando também função de crescimento em diversas espécies apresentando atividade anti-inflamatória <sup>72</sup>
EEFS	Ácido benzóico, 3-(4-butoxibenzoilamino)-, éster isobutílico		Éster	Apresenta atividade antifúngica <sup>76</sup>

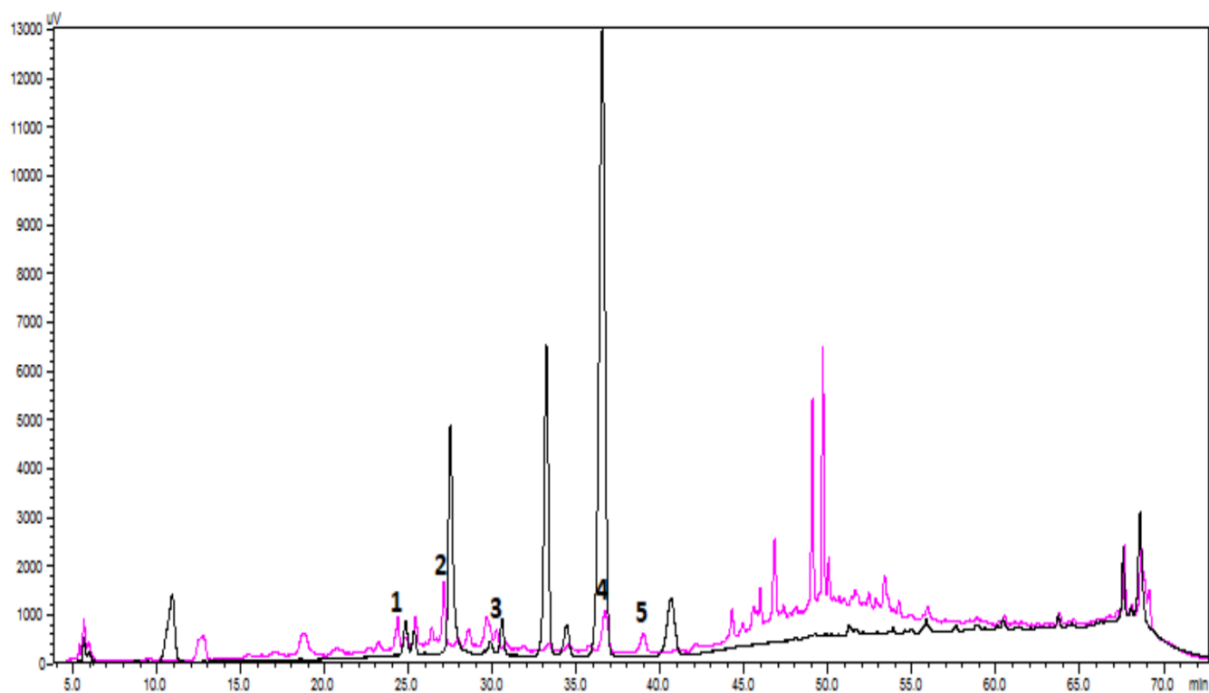
EEFS	Salicilato de metila		Éster fenólico	Apresenta atividades farmacológicas como anti-inflamatórias e analgésica, sendo amplamente utilizada em medicamentos <sup>80</sup>
EHCS/EHFS	Heneicosano		Hidrocarboneto	Serve como um potente agente larvicida para o controle de mosquitos <i>Culex quinquefasciatus</i> <sup>81</sup>
EHCS	Beta-Sitosterol		Esteróide	Tem papel como um inibidor de esteroil metiltransferase, uma droga anticolesterêmica e atividade antioxidante e inibe a absorção do colesterol <sup>77</sup> .
EHCS	Estigmasterol		Esteróide	Utilizado na composição de medicamentos para a prevenção de certos tipos de doenças como câncer, apresentando também reconhecida atividade anti-inflamatória e possui uma potente atividade antioxidante <sup>78</sup>

Fonte: Autor (2021)

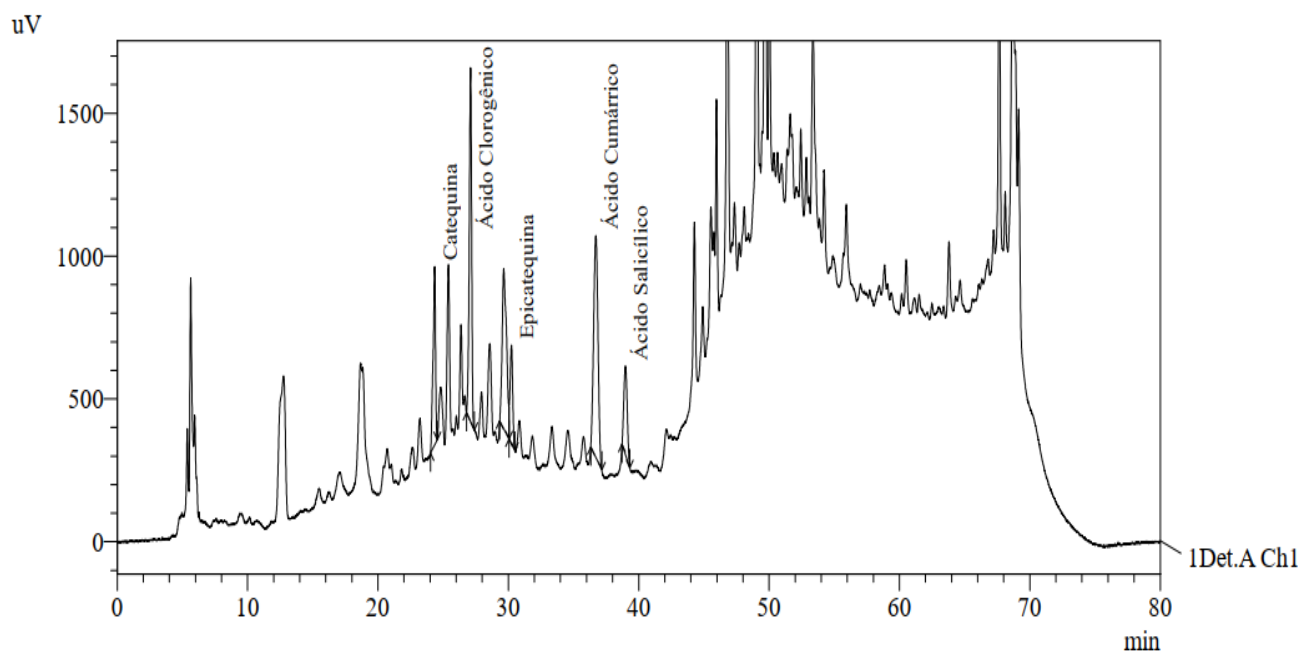
#### 4.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE dos extratos etanólicos e hexânicos das cascas e folhas da *S. paniculatum*.

O método desenvolvido para identificação por CLAE forneceu uma análise rápida do EECS, apresentado um cromatograma com diversos picos, sendo possível identificar a presença dos compostos fenólicos com massa obtida por 1 grama de extrato de: Catequina (8,73 mg) com tempo de retenção ( $T_R$ ) de 24,34 min a Epicatequina (6,74 mg) com  $T_R$  de 30,23 min o Ácido Clorogênico (5,91 mg) com  $T_R$  de 27,09 min o Ácido Salicílico (5,66 mg) com  $T_R$  38,98 min e o Ácido Cumárico (4,69 mg) com  $T_R$  36,7 min, como apresentado na Figura 4.2 que corresponde ao cromatograma dos extratos com os padrões e a figura 4.3 onde se destacam os compostos identificados.



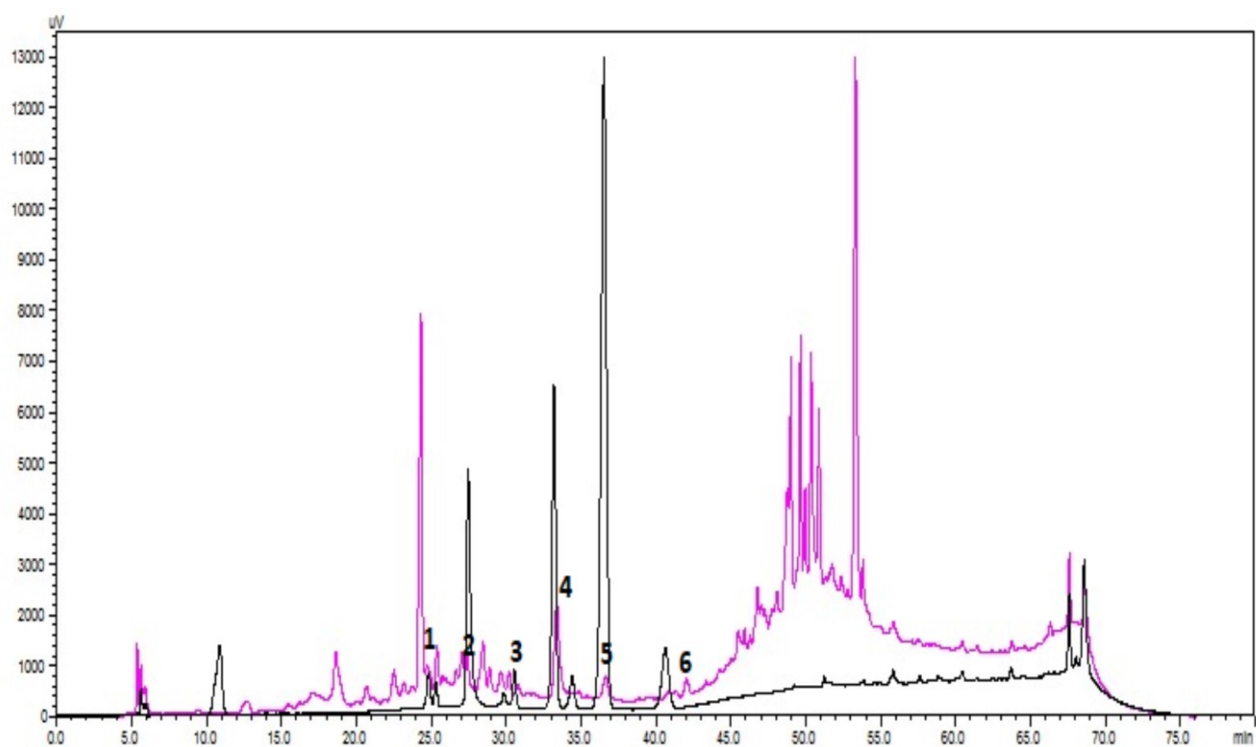


**Figura 4.2:** Apresentação do cromatograma do extrato etanólico das cascas da *S. paniculatum* (em cor de rosa) e padrões cromatográficos (em preto) em 290 nm

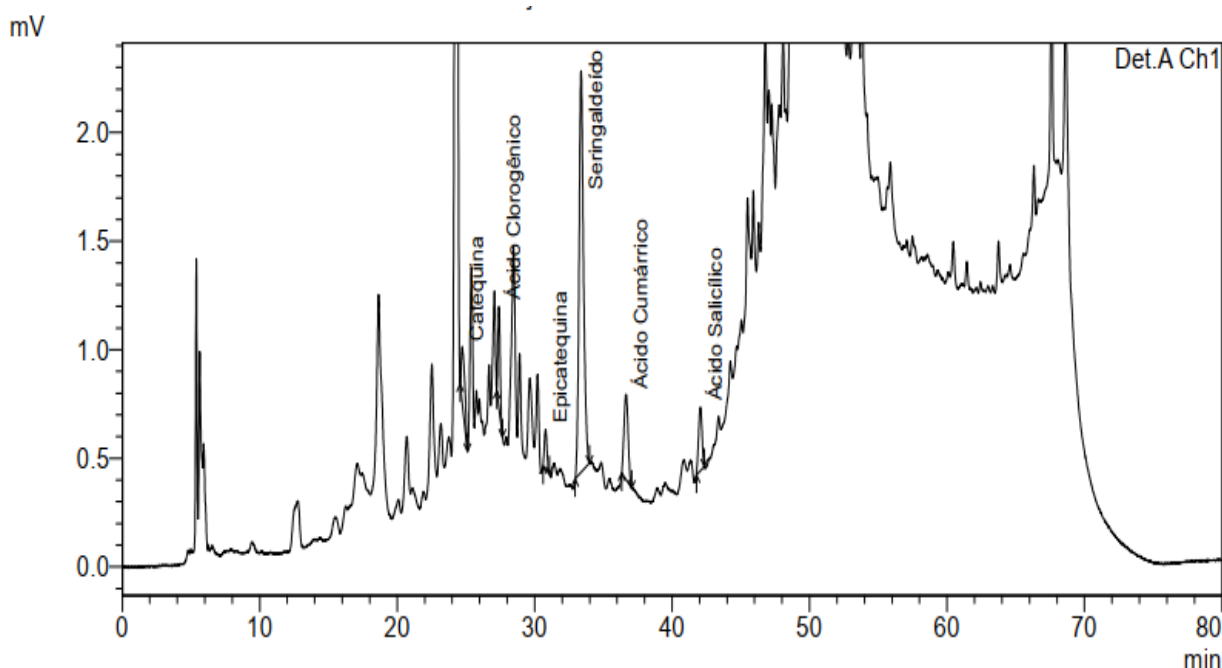


**Figura 4.3:** Apresentação do cromatograma do extrato etanólico das cascas da *S. paniculatum* com os compostos identificados. Em 290 nm

No EEFS obteve-se a identificação apresentado um cromatograma com diversos picos, sendo possível identificar a presença dos compostos fenólicos com massa obtida por grama de extrato de: Catequina (7,27 mg) com  $T_R$  de 24,7min, Epicatequina (6,23 mg) com  $T_R$  de 30,7 min, Seringaldeído (6,12 mg) com  $T_R$  de 33,37 min, Ácido Salicílico (5,55 mg) com  $T_R$  de 42 min, Ácido Clorogênico (5,31 mg) com  $T_R$  de 27,3 min, e o Ácido Cumárico (4,51 mg) com  $T_R$  de 36,6 min como apresentado na Figura 4.4 que corresponde ao cromatograma dos extratos com os padrões e a figura 4.5 onde se destacam os compostos identificados.



**Figura 4.4:** Apresentação do cromatograma do extrato etanólico das folhas da *S. paniculatum* (em cor de rosa) e padrões cromatográficos (em preto) em 290 nm.



**Figura 4.5:** Apresentação do cromatograma do extrato etanólico das folhas da *S. paniculatum*. em 290 nm e padrões cromatográficos

Os dois extratos apresentam em comum a presença de alguns compostos fenólicos: o ácido clorogênico que apresenta atividade antibacteriana e sobretudo antioxidante<sup>82,83</sup>; o ácido cumárico, os flavonoides epicatequina e catequina que apresentam uma forte atividade anti-inflamatória e analgésica estando relacionada às vias de sinalização de células<sup>84</sup>. O ácido salicílico que apresenta diversas funções como antibacteriana e principalmente como anti-inflamatórias, de acordo com LE NPK et al. (2021)<sup>85</sup>, os extratos da casca do salgueiro (*Salix* córtex) rica em ácido salicílico, apresentaram boa atividade anti-inflamatória, Já o siringaldeído apresenta atividade antioxidante relatada por Kuo et al., (2013)<sup>86</sup>, que através de estudos *in vitro*, pode constatar que esse metabólito pode aumentar o consumo de glicose em ratos diabéticos.

#### 4.6 Atividade antioxidante

A capacidade de captura de radicais do gênero *Solanum* é bastante estudada, de acordo com Ribeiro et al (2007)<sup>87</sup>, as melhores atividades são encontradas para os extratos etanólicos das folhas, o que corrobora com Coutinho (2009)<sup>88</sup>, que em seus estudos observou que quatro espécies da família Solaneaceae, *S. granulosoleprosum*, *S. torvum*, *S. paniculatum* e *S. mauritianum*., dentre elas a *S.*

*paniculatum* apresentou valores CE50 próximos ao do padrão *Ginkgo biloba* (7,30µg/mL), sendo atribuída essa forte atividade a presença de flavonoides e compostos fenólicos.

Nessa pesquisa, utilizou-se as técnicas de captura de radicais DPPH<sup>\*</sup> e ABTS<sup>\*\*</sup> para avaliar as atividades dos extratos etanólicos e hexânicos das cascas e folhas da *S. paniculatum*. A atividade antioxidante dos extratos pode ser analisada na Tabela 4.9.

**Tabela 4.9** Atividade antioxidante dos extratos hexânicos e etanólicos das cascas e folhas da *S. paniculatum*., frente ao radical DPPH e ABTS.

Amostras	ABTS (µg. mL <sup>-1</sup> )	DPPH (µg. mL <sup>-1</sup> )	IAA
EEFS	18,36 ± 0,71 aB	33,46 ± 2,64 aA	1,18
EECS	26,07 ± 1,24 bB	51,88 ± 3,12 bA	0,76
EHFS	7151,00 ± 801,86c	-	-
EHCS	1288,50 ± 65,76d	-	-
TROLOX	0,85 ± 0,01 eA	4,42 ± 0,10 cA	-

Letras minúsculas indicam diferença estatística entre diferentes amostras de mesmo radical e letras maiúsculas diferença estatística entre os diferentes radicais testados das mesmas amostras pelo teste de Tukey (p<0,05). Valores expressos em média ± desvio padrão. Os extratos e o padrão trolox apresentaram diferença estatística entre si p<0,0001.

Para teste de atividade antioxidante todas as amostras apresentaram diferença estatística entre si, independente do radical utilizado, com exceção do EHFS o qual não apresentou atividade antioxidante nas concentrações testadas para o DPPH, enquanto que o EHCS apresentou atividade apenas na maior concentração testada correspondendo a 500 µg. mL<sup>-1</sup>. A melhor atividade antioxidante para ambos os radicais ABTS e DPPH foi verificada para o EEFS, correspondendo a 18,36 ± 0,71 e 33,46 ± 2,64 µg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Estes resultados corroboram com o estudo de Ruby et al. (2013)<sup>78</sup>, que obtiveram melhores resultados com extratos das folhas, logo atribui-se os bons resultados dos extratos da *S. paniculatum* a presença de flavonoides e compostos fenólicos, como catequina, epicatequina, ácido salicílico e ácido clorogênico detectados através da CLAE, assim como o salicilato de metila, identificado pelo CG-EM.

Segundo Boller et al (2010) <sup>89</sup>, o espinasterol é descrito como composto que apresenta boa atividade farmacológica antioxidante e anti-inflamatória isolado do extrato EHFS. O EEFS e EECS os quais apresentaram atividade antioxidante para os dois radicais apresentaram valores estatisticamente diferentes entre as técnicas utilizadas. Silva (2016) <sup>71</sup> encontrou resultados semelhantes em relação a extratos das folhas e raízes, onde nos dois métodos citados os resultados também foram diferentes o que reforça, a avaliação de diferentes metodologias para atividade antioxidante necessária, reforçando que ambas as técnicas apresentam vantagens e limitações. De acordo com o IAA, o EECS apresentou moderada atividade, enquanto que o EEFS apresentou forte atividade antioxidante.

#### 4.7 Atividade anticolinesterásica

A avaliação *in vitro* do efeito inibitório de extratos brutos e frações de plantas medicinais sobre a atividade da enzima acetilcolinesterase é amplamente utilizada e aceita na farmacoterapia de primeira linha para o alívio sintomático de doenças cognitivas como a doença de Alzheimer (DA), através da promoção de um aumento nas taxas de acetilcolina nas sinapses do cérebro, reduzindo os déficits cognitivos e de memória de pessoas afetadas com o DA <sup>90</sup>.

Há relatos de muitas espécies da família Solanácea com fortes atividades anticolinesterásica Choudhary et al. (2004) <sup>91</sup>. De acordo com Roddick (1989) <sup>92</sup>, os efeitos inibitórios dos glicoalcalóides esteróides  $\alpha$ -solanina e  $\alpha$ -chaconina eram responsáveis pela ação anticolinesterásica em humanos. O estudo de Nino et al (2006) <sup>93</sup>, mostrou que dentre as 27 espécies vegetais avaliadas usando a inibição de AChE *in vitro*, foi exibida principalmente por espécies pertencentes à família Solanaceae. A *Solanum leucocarpum* D. apresentou melhor IC 50% (204.59 mg/mL) pelo método de Ellman et al. (1961) <sup>56</sup> conforme descrito por Salles et al. (2003) <sup>94</sup>, corroborando com o presente trabalho. Os valores obtidos mostraram que as amostras EECS e EHFS, possuem uma relevante inibição frente a enzima acetilcolinesterase com 71,49% e 70,05%, respectivamente.

Vinutha, B. et al., (2007). <sup>95</sup>, em seu estudo de inibição da AChE com extratos de plantas medicinais, propuseram a classificação do potencial inibitório das amostras: inibidores fortes (> 50% de inibição), inibidores moderados (30-50% de inibição) e inibidores fracos (< 30% de inibição). Dessa forma as amostras EECS e

EHFS com valores percentuais acima de 50%, classificaram-se como fortes inibidores da AChE.

O teste quantitativo permitiu calcular a quantidade mínima de extratos capaz de inibir a atividade da enzima AChE por 50%, chamada a concentração inibitória média (IC 50%), que foi 0,44 mg mL<sup>-1</sup> para o extrato etanólico da casca e 0,64 mg mL<sup>-1</sup> para o extrato hexânico das folhas de *S. paniculatum.*, conforme a Tabela 4.10 Estes resultados são promissores, embora quando se compara a rivastigmina (IC 50 % = 1.87x10<sup>-3</sup> mg mL<sup>-1</sup>), utilizada como um controle positivo para a inibição da acetilcolinesterase, observamos um valor mais elevado. A rivastigmina é um fármaco inibidor de AChE amplamente utilizado no tratamento de pessoas com DA<sup>96,97</sup>, essa atividade pode ser observada na tabela 4.10

**Tabela 4.10.** Inibição e classificação da intensidade de inibição dos extratos da casca do caule e das folhas de *Solanum paniculatum* L na concentração de 1mg/mL.

<b>Amostras</b>	<b>Percentual de inibição (%)</b>	<b>Intensidade da inibição</b>	<b>Concentração inibitória (CI<sub>50</sub>) mg/mL</b>
<b>EECS</b>	71,49 ± 18,30	Forte	0,44
<b>EEFS</b>	34,84 ± 17,38	Moderado	-
<b>EHCS</b>	35,50 ± 22,13	Moderado	-
<b>EHFS</b>	70,05 ± 4,50	Forte	0,64

extrato etanólico das cascas (EECS) extrato etanólicos das folhas (EEFS) extrato hexânico das cascas (EHCS) extrato hexânico das folhas (EHFS)

De acordo com estudos de Adebisi OE et al. (2018)<sup>98</sup> constatou-se que o beta-sitosterol e estigmasterol melhoraram a função cognitiva e coordenação motora de camundongos submetidos a estresse oxidativo induzido por vanádio, esses compostos fazem parte da composição dos extratos em estudo nesse trabalho, assim como o espinasterol encontrado no EHFS relatado como uma substância com atividade antioxidante e com potencial composto biotivo para inibição da AChE, podendo ter ligação direta com os bons resultados determinados no teste de inibição.

As atividades inibitórias da AChE dos extratos etanólicos e hexânicos das cascas e folhas da *S.paniculatum.* nunca foram relatados antes, essas podem ser atribuídas a a presença de alcalóides isso se correlaciona com a afirmação de Roddick (1989)

<sup>92</sup>, uma vez que sua atividade inibitória da AChE pode ser decorrente da presença de glicoalcalóides esteroidais, que são característicos da família Solanaceae.

# Capítulo 5

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

A análise fitoquímica preliminar evidencia a presença de saponinas, antraquinonas, cumarinas, flavonoides e terpenos, compostos que segundo a literatura, apresentam potencial para uso terapêutico. O estudo fitoquímico do extrato hexânico das folhas de *S. paniculatum* resultou no isolamento e identificação do espinasterol, um esteroide bastante citado, apresentando grande potencial em estudos com células cancerígenas, e com potencial atividade antioxidante, sendo relatado pela primeira o seu isolamento na *S. paniculatum* através deste trabalho.

Os resultados dos ensaios de atividade antioxidante apresentaram relação direta a inibição da enzima somente no EECS, onde a maior capacidade de captura de radicais foi observada para o EEFS, provavelmente devido a presença de compostos fenólicos como ácido clorogênico, epicatequina e ácido cumárico, compostos com atividades antioxidante bastante conhecidas, assim como a presença de terpenos e esteroides, estes identificados pela CLAE e CG-EM.

A atividade de inibição da enzima AchE da *S.paniculatum*. é relada pela primeira vez através deste presente trabalho onde, apresentou melhores resultados para os EHFS e EECS, este estudo abre caminho para pesquisas mais aprofundadas sobre a planta.



# REFERÊNCIAS

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. FAGUNDES, N. C. A; OLIVEIRA, G. L; SOUZA, B. G. Etnobotânica de plantas medicinais utilizadas no distrito de Vista Alegre, Claro dos Poções – Minas Gerais. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, e-ISSN: 2446-4775, v. 11, n.1, p.1-118, 2017.
2. SILVA, M.D.P.; MARINI, F.S.; MELO, R.S., Levantamento de plantas medicinais cultivadas no município de Solânea, agreste paraibano: reconhecimento e valorização do saber tradicional. **Rev. Bras.PI.Med.**, Campinas, v.17, n.4, supl. II, p.881-890, 2015.
3. SILVA, M. P. DÁ; BARROS, R. F. M. DE; NETO, J. M.M Farmacopeia natural de comunidades rurais no Estado do Piauí, Nordeste do Brasil. **Desenvolvi. Meio Ambiente**, v. 33, p. 193-207, abr, 2015B
4. BRASIL. Farmacopeia Brasileira, volume 2. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília**: Anvisa, 546p., 1v/il, 2016.
5. STEHMANN, J.R.; MENTZ, L.A.; AGRA, M. F; SILVA, M.V.; GIACOMIN, L.; RODRIGUES, I.M.C. Solanaceae in Lista de espécies da Flora do Brasil. **Jardim botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB225>. Acesso em 17 Mar, 2021.
6. TERÇO, J. W. S.; LIMA, R. A. Identificação Das Classes De Metabólitos Secundários No Extrato Etanólico Dos Frutos E Folhas De Solanum Paniculatum L. South American. **Journal of Basic Education, Technical and Technological**, ISSN: 2446-2821. v.3. n.2, p.92-99, 2016.
7. GUIMARÃES, L. L; VENTURA, A. L; CAPELLARI, L. R.; SOUZA, V. V. DE; TOMA, WALBER. Análise fitoquímica de plantas medicinais indicadas popularmente na forma de garrafadas para o tratamento da úlcera gástrica. **Unisanta Health Science**. v.1, n.1, p 88 – 97, 2017.
8. GODINHO, C. S.; SILVA, C. M. DÁ; MENDES, C. S. O; FERREIRA, P. R. B., OLIVEIRA, D. A. DE. Estudo Fitoquímico De Espécies Arbóreas Do Cerrado. **Revista Multitexto**, v. 3, n. 01, 2015.
9. GUARANÁ, E.L.S.; RIET-CORREA, F.; MENDONÇA, C.L.; MEDEIROS, R.M.T.; COSTA, N.A.; AFONSO, J.A.B. Intoxicação por Solanum paniculatum (Solanaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 59-64, 2011.
10. LÔBO, K.M.S.; ATHAYDE, A.C.R.; SILVA, A.M.A.; RODRIGUES, F.F.G.; LÔBO, I.S.; BEZERRA, D.A.C.; COSTA, J.G.M. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de Solanum paniculatum Lam. e Operculina hamiltonii (G.

Don) D. F. Austin & Staples, do semiárido paraibano. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.2, p.227-233, 2010.

11. SOUSA, H. G., UCHÔA, V. T., CAVALCANTI, S. M. G., DE ALMEIDA, P. M., CHAVES, M. H., LIMA NETO, J. D. S., & DE SOUSA, E. A. Phytochemical screening, phenolic and flavonoid contents, antioxidant and cytogenotoxicity activities of *Combretum leprosum* Mart. (*Combretaceae*). **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, 84(10), 399-417, 2021.

12. ALBARRACIN SL, STAB B, ET AL., Effects of natural antioxidants in neurodegenerative disease. **Nutr Neurosci**.1-9, 2013.

13. EUN, C. S, LIM, J. S, LEE, J., LEE, S. P, YANG, S. A. The protective effect of fermented *Curcuma longa* L. on memory dysfunction in oxidative stress-induced C6 gliomal cells, proinflammatory-activated BV2 microglial cells, and scopolamine-induced amnesia model in mice. **BMC Complement Altern Med**, v. 17, n. 1, p. 1–12, 2017.

14. ZAHRA, Bahaeddin, Traditional Medicine Clinical Trial Research Center University. S, Asal, Yans, Neuroscience Research Center SBU of MS, et al. Dietary supplementation with *Allium hirtifolium* and/or *Astragalus hamosus* improved memory and reduced neuroinflammation in the rat model of Alzheimer's disease. *Appl Physiol Nutr Metab*.2–14,. <https://mc06.manuscriptcentral.com/apnm-pub> 2017.

15. CORADIN, L.; SIMINSHI, A.; REIS, A. (Eds.) *Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial: plantas para o futuro região sul*. Brasília: MMA,. 934p. (**Biodiversidade, 40**) 2011.

16. BADKE, M.R. Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais e o cuidado de enfermagem. 2008. 96f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, **Programa de Pós-Graduação em Enfermagem**. Santa Maria, 2008.

17. VEIGA-JÚNIOR, V.F.; PINTO, A.C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v.28, p. 519-528, 2005.

18. LIMA, G.R.M.; MONTENEGRO, C.A.; ALMEIDA, C.L.F.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; FILHO, J.M.B.; BATISTA, L.M. Database survey of anti-inflammatory plants in South American: a review. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 12, p. 2692-2749, 2011.

19. ATANAZOV, A.G.; WALTENBERGER, B.; PFERSCHY-WENZIG, E.M.; LINDER, T.; WAWROSCH, C.; UHRIN, P.; TEMML, V.; WANG, L.; SCHWAIGER, S.; HEISS, E.H.; ROLLINGER, J.M.; SCHUSTER, D.; BREUSS, J.M.; BOCHKOV, V.; MIHOVILOVIC, M.D.; KOPP, B.; BAUER, R.; DIRSCH, V.M.; STUPPNER, H. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. **Biotechnology Advances**. v. 33, p. 1582-1614, 2015.

20. CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America a personal view. **Journal Ethnopharmacology**. v. 100, p. 131-134, 2005
21. SILVA, A. O.; ALVES, A. D.; ALMEIDA, D. A. T.; BALOGUN, O. S.; OLIVEIRA, R. G.; AGUIAR, A. A.; SOARES, I. M.; MARSON-ASCÊNCIO, P. G.; ASCÊNCIO, S. D.; MARTINS, D. T. O. Evaluation of anti-inflammatory and mechanism of action of extract of *Macrosiphonia ongiflora* (Desf.) Müll.Arg. **Journal of Ethnopharmacology**, v.154, p.319–329. 2014.
22. CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1830, p. 3670-3695, 2013.
23. SIXEL, P. J; PECINALLI, N.K. características farmacológicas gerais das plantas medicinais. **infarma**, v.16.13-14,2005.
24. OLIVEIRA, GISLAINE ALVES DE. A ação espasmolítica do óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. e de seus constituintes majoritários envolve o bloqueio do influxo de cálcio em íleo de cobaia. 2014. 114 f. **Dissertação** (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
25. SOUZA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-Jr, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.
26. THE PLANT LIST (2013), Versão 1.1. Publicado na Internet; <http://www.theplantlist.org/> (acessado em 25/01/2020)
27. VIEIRA, P. M. Estudo do Potencial Mutagênico e Antimutagênico da *Solanum Paniculatum* L. Pelo Teste Do Micronúcleo Em Camundongos. 2008. 69f. **Dissertação** de mestrado, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás, 2008.
28. COUTINHO, E. M. de O. *Estudo Fitoquímico E De Atividade Biológica De Espécies De Solanum (Solanaceae)*. 2009. 147f. Dissertação ao Programa De Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas- Universidade Federal do Rio de Janeiro Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, 2009.
29. TERÇO, J. W. S.; LIMA, R. A. Identificação Das Classes De Metabólitos Secundários No Extrato Etanólico Dos Frutos E Folhas De *Solanum Paniculatum* L. South American. **Journal of Basic Education, Technical and Technological**, ISSN: 2446-2821. v.3. n.2, p.92-99, 2016.
30. GODINHO, C. S.; SILVA, C. M. da; MENDES, C. S. O; FERREIRA, P. R. B., OLIVEIRA, D. A. de. Estudo Fitoquímico De Espécies Arbóreas Do Cerrado. **Revista Multitexto**, v. 3, n. 01, 2015

31. LÔBO, K.M.S.; ATHAYDE, A.C.R.; SILVA, A.M.A.; RODRIGUES, F.F.G.; LÔBO, I.S.; BEZERRA, D.A.C.; COSTA, J.G.M. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semiárido paraibano. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.2, p.227-233, 2010.
32. TENÓRIO, Jonh Aldson Bezerra. Caracterização química, toxicológica e atividades farmacológicas do extrato das raízes de *Solanum paniculatum* L. tese de doutorado. UFPE, departamento de química, Recife, 2015
33. ENDRINGER, D. C.; VALADARES, Y. M.; CAMPANA, P. R. V.; CAMPOS, J. J.; GUIMARÃES, K. G.; PEZZUTO, J. M.; BRAGA, F. C. Evaluation of Brazilian Plants on Cancer Chemoprevention Targets In Vitro. **Phytotherapy Research**. Res. 23, 000–000. Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/ptr.3050, 2009.
34. MESIA-VELA, S. et al. *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba): Potent inhibitor of gastric acid secretion in mice. **Phytomedicine**, n. 9, p. 508-514, 2002.
35. SILVA, M.D.P.; MARINI, F.S.; MELO, R.S. Levantamento de plantas medicinais cultivadas no município de Solânea, agreste paraibano: reconhecimento e valorização do saber tradicional. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.4, supl. II, p.881-890, 2015a.
36. SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev. Nutr. Campinas*, v. 15, n. 1, p. 71-81, jan./abr. 2002.
37. CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H.G. de; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Quim. Nova*, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.
38. MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Cienc. Tecnol. Aliment.** v. 26, n. 3, p. 639-644, jul./set. 2006
39. WILMSEN, P. K.; SPADA, D. S.; SALVADOR, M. Antioxidant activity of the flavonoid Hesperidin in chemical and biological systems. *J. Agric. Food Chem.* v. 53, n. 12, p. 4754-4761, 2005.
40. OLIVEIRA, R. C. M. et al. Extratos metanólico e acetato de etila de *Solanum megalonyx* Sendtn. (Solanaceae) apresentam atividade espasmolítica em íleo isolado de cobaia: um estudo comparativo. *Rev. Bras. Farmacogn.* v. 16, n. 2, p.146-151, 2006.
41. AL-FATIMI, M. et al. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. *J. Ethnopharmacol.* v. 111, p. 657-666, 2007

42. VINUTHA, B. et al. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 359-63, 2007.
43. CAVALCANTE, CIBELLE DE MELO BASTOS. Inalação de crack aumenta a susceptibilidade a crises epilépticas via redução da atividade da acetilcolinesterase – UFAL. (Dissertação de mestrado) 2018.
44. MOTA, W.M.; BARROS, M.L.; CUNHA, P.E.L; SANTANA, M.V.A.; STEVAM, C.S.; LEOPOLDO, P.T.G; FERNANDES, R.P.M. Avaliação da inibição da acetilcolinesterase por extratos de plantas medicinais. **Rev. Bras. Pl. Med**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 624-628, 2012.
45. VENTURA, ANA L. M. et al. Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Archives Of Clinical Psychiatry**, v. 37, n. 2, p.66-72, 2010
46. PETRONILHO, ELAINE DA CONCEIÇÃO; PINTO, ANGELO C.; VILLAR, JOSÉ DANIEL FIGUEROA. Acetilcolinesterase: alzheimer e guerra química. **Revista Militar de Ciência e Tecnologia**, v. 28, n. 1, p.03-14, 2011
47. BABADI, VAHID YOUSEFI et al. The Toxic Effect of Manganese on the Acetylcholinesterase Activity in Rat Brains. **Journal Of Toxicology**, v. 2014, p.1-4, 2014.
48. ARAÚJO, CLEÔNIA ROBERTA M.; SANTOS, VICTÓRIA L. A.; GONSALVES, ARLAN A. Acetylcholinesterase - AChE: A Pharmacological Interesting Enzyme. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p.1818-1834, 2016.
49. CHIERRITO, TALITA PEREZ CANTUARIA. Síntese de potencial inibidor de acetilcolinesterase para tratamento da Doença de Alzheimer - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. (Tese de doutorado) 2016.
50. COLOVIC, MIRJANA B. et al. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. **Current Neuropharmacology**, v. 11, n. 3, p.315-335, 2013.
51. SOARES, Vanessa de Matas. Efeitos da exposição aguda a nicotina sobre a atividade da acetilcolinesterase em cérebro do Peixe-Zebra (Danio rerio) - Curso de Biociências, Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre,. (Dissertação de mestrado) 2009
52. COSTA, M. et al. N-Acetyl Cysteine Decreases Mice Brain Acetyl Cholinesterase Activity: An *In Vitro* Kinetic Study. **Enzyme Engineering**, v. 5, n. 1, p.5-11, 2016.
53. MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza: **Edições UFC**, 2009.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., & BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, 28(1), 25-30, 1995.

54. SCHERER, R., & GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food chemistry**, 112(3), 654-658, 2009.

55. GL ELLMAN, DK COURTNEY, V.Jr. Andres, RM Featherstone, **Biochem. Pharmacol.** 7 88-95, 1961.

56. RHEE, I.K. ET AL. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *Journal of Chromatography*, v. 915, p. 217-223, 2001.

57. ZHANG, L. J., X. D. YANG, L. Z. XU, Z. M. ZOU, AND S. L. YANG.). A new sterol glycoside from *Securidaca inappendiculata*. **J. Asian Nat. Prod. Res.** 7:649–53.doi:10.1080/1028602032000169569, 2005.

58. BRAGA FC, VALADARES YM, COSTA MA, LOMBARDI JA, OLIVEIRA ABD. Estudo fitoquímico de *Erythraea centaurium*, *Jacaranda caroba*, *Remijia ferruginea* e *Solanum paniculatum* visando identificar marcadores químicos para o fitoterápico Ierobina®. **Rev bras farmacogn.**13(supl.2):28-31, 2016.

59. KLEIN LC JR, GANDOLFI RB, SANTIN JR, LEMOS M, CECHINEL FILHO V, DE ANDRADE SF. Antiulcerogenic activity of extract, fractions, and some compounds obtained from *Polygala cyparissias* St. Hillaire & Moquin (Polygalaceae). **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.** Feb;381(2):121-6. doi: 10.1007/s00210-009-0485-x. Epub 2010 Jan 8. PMID: 20054524.2010.

60. SOCAŁA K, WLAŹ P (2016). Evaluation of the antidepressant- and anxiolytic-like activity of  $\alpha$ -spinasterol, a plant derivative with TRPV1 antagonistic effects, in mice. **Behav Brain Res.** Apr 15;303:19-25. doi: 10.1016/j.bbr.2016.01.048. Epub 2016 Jan 22. PMID: 26808607.2016.

61. JEONG GS, LI B, LEE DS, KIM KH, LEE IK, LEE KR, KIM YC. Cytoprotective and anti-inflammatory effects of spinasterol via the induction of heme oxygenase-1 in murine hippocampal and microglial cell lines. **Int Immunopharmacol.** 2010 Dec;10(12):1587-94. doi: 10.1016/j.intimp.2010.09.013. Epub 2010 Oct 8. PMID: 20933625.2010.

62. BORGES FR, SILVA MD, CÓRDOVA MM, SCHAMBACH TR, PIZZOLATTI MG, SANTOS AR. Anti-inflammatory action of hydroalcoholic extract, dichloromethane fraction and steroid  $\alpha$ -spinasterol from *Polygala sabulosa* in LPS-induced peritonitis in mice. **J Ethnopharmacol.** 2014;151(1):144-50. doi: 10.1016/j.jep.2013.10.009. Epub 2013 Oct 23. PMID: 24161429.2013.

63. Villaseñor I, M, Domingo A, P. Anticarcinogenicity potential of spinasterol isolated from squash flowers. **Teratog Carcinog Mutagen.** 2000;20(3):99-105. doi: 10.1002/(sici)1520-6866(2000)20:3<99:aid-tcm1>3.0.co;2-7. PMID: 10820420.2000.

64. NTIE-KANG F, NJUME LE, MALANGE YI, GÜNTHER S, SIPPL W, YONG JN The Chemistry and Biological Activities of Natural Products from Northern African Plant Families: From Taccaceae to Zygophyllaceae. **Nat Prod Bioprospect**. 2016 Apr;6(2):63-96. doi: 10.1007/s13659-016-0091-9. Epub 2016 Mar 1. PMID: 26931529; PMCID: PMC4805656.2016.
65. UCHIDA K, MIZUNO H, HIROTA K, TAKEDA K, TAKEUCHI N, ISHIKAWA Y. Effects of spinasterol and sitosterol on plasma and liver cholesterol levels and biliary and fecal sterol and bile acid excretions in mice. **Jpn J Pharmacol**. 1983 Feb;33(1):103-12. doi: 10.1254/jjp.33.103. PMID: 6876509.1983.
66. RAVIKUMAR Y, S, MAHADEVAN K, M, MANJUNATHA H, SATYANARAYANA N, D. Antiproliferative, apoptotic and antimutagenic activity of isolated compounds from *Polyalthia cerasoides* seeds. **Phytomedicine**. 2010 Jun;17(7):513-8. doi: 10.1016/j.phymed.2009.09.005. Epub 2009 Oct 29. PMID: 19879119.2009.
67. JEON G, C. PARK M, S. YOON D, Y. SHIN C, H. SIN H, S, UM S, J. Antitumor activity of spinasterol isolated from *Pueraria* roots. **Exp Mol Med**. 2005 Apr 30;37(2):111-20. doi: 10.1038/emmm.2005.15. PMID: 15886524.2015.
68. MENESES-SAGRERO SE, NAVARRO-NAVARRO M, RUIZ-BUSTOS E, DEL-TORO-SÁNCHEZ CL, JIMÉNEZ-ESTRADA M, ROBLES-ZEPEDA RE. Antiproliferative activity of spinasterol isolated of *Stegnosperma halimifolium* (Benth, 1844). **Saudi Pharm J**. 2017 Dec;25(8):1137-1143. doi: 10.1016/j.jsps.2017.07.001. Epub 2017 Jul 11. PMID: 30166901; PMCID: PMC6111116.2017.
69. PENTEADO, J. C. P.; MAGALHÃES, D.; MASINI, J. C. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. **Revista Química Nova** 2008, 31(8), 2190. [CrossRef]2008.
70. SILVA, S. M. T.; CARVALHO, G. M.; BRAZ-FILHO, R.; AGRA, F. M. Ocorrência de Flavonas, Flavonoides e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae). **Química Nova**, 26(4): 517-522, 2003.
71. SU-LING WONG, HSUN-SHUO CHANG, GUEI-JANE WANG, MICHAEL Y. CHIANG, HUNG-YI HUANG, CHU-HUANG CHEN, SHIOW-CHWEN TSAI, CHU-HUNG LIN E IH-SHENG CHEN Secondary Metabolites from the Roots of *Neolitsea daibuensis* and **Their Anti-inflammatory Activity** **Journal of Natural Products** 2011 74 (12), 2489-2496 DOI: 10.1021 / np100874f.2011.
72. ALTAF R, ASMAWI MZ, DEWA A, SADIKUN A, UMAR MI. Fitoquímica e propriedades medicinais de *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. extratos. Avaliações de farmacognosia. Janeiro de 2013; 7 (13): 73-80. DOI: 10.4103 / 0973-7847.112853. PMID: 23922460; PMCID: PMC3731883.2013.
73. ALMEIDA, M. F. O.; MELO, A. C. R.; PINHEIRO, M. L. B.; ANDRADE SILVA, J.R. A.; SOUZA, A. D. L Constituintes químicos e atividade leishmanicida de *Gustavia elliptica* (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 34, n.7, p. 1182-1187, 2011.

74. AMBORABÉ, B.E; FLEURAT-LESSARD P; CHOLLET, J. F.; ROBLIN, G Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypalata*: structure– activity relationship. **Plant Physiol. Biochem** v.40, p.1051-1060, 2002.
75. AL-FATIMI, M., WURSTER, M.; SCHRÖDER, G.; LINDEQUIST, U Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. **Journal of Ethnopharmacology** 111: 657 – 666, 2007.
76. PARK HY, TOUME K., ARAI MA, ET AL.  $\beta$ -Sitosterol e flavonóides isolados de *Bauhinia malabarica* encontrados durante a triagem para atividade inibitória da sinalização Wnt. **Journal of Natural Medicines**. Janeiro de 2014; 68 (1): 242-245. DOI: 10.1007 / s11418-013-0762-3. PMID: 23516045.2014.
77. RUBY, K.M.; DWIVEDI, J.; CHAUHAN, R. Secondary metabolites found um *Bergenina* species: a compendious review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.5, p. 9-16, 2013.
78. JELENKO, C. III, MD; WHEELER, MLBS; ANDERSON, AP; CALLAWAY, BDBS; MCKINLEY, JCRN, BSN) Estudos em queimaduras, *Annals of Surgery*: novembro de 1975 - Volume 182 - Edição 5 - p 562-566 **Journal of Natural Products**, 2011.
79. ADAMS, R.P Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, **Allured Pub. Co.**, Carol Stream, Illinois, USA, 1995.
80. SIQUEIRA, M. P.; CANDIDO, F. S.; AMARAL, T. M.; MOREIRA, D. L Larvicidal activity from extract, fractions and pure compounds of the Piperaceae species from Rio de Janeiro State. **Boletim Informativo Geum**, v.5, n.2, p. 35-43, 2014.
81. SIMÕES, C. M. O., E. P. SCHENKEL, G. GOSMANN, J. C. P. MELLO, L. A. MENTZ & P. R. PETROVICK *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ªed., **Ed. UFRGS/Ed. UFSC**, Porto Alegre/Florianópolis, 2010.
82. PARK, C.; MOON, D.; RYU, C.; CHOI, B.T.; LEE, W.H.; KIM, G. CHOI, Y.H  $\beta$ -Sitosterol sensitizes MDA-MB-231 cells to TRAIL-induced apoptosis. **Acta Pharmacology Sinica**, v.3, p. 341-348, 2008.
83. KOMAKECH, R.; KIM, Y.; MATSABISA, G. M.; KANG, Y. Anti-inflammatory and analgesic potential of *Tamarindus indica* Linn. (Fabaceae): a narrative review. **Integrative Medicine Research**, 2019, v.8, p. 181-186 doi: <https://doi.org/10.1016/j.imr.2019.07.002> 2213-4220
84. LE, NPK; HERZ, C.; GOMES, JVD; FÖRSTER, N.; ANTONIADOU, K.; MITTERMEIER-KLEßINGER, VK; MEWIS, I.; DAWID, C.; ULRICHS, C.; LAMY, E Comparative Anti-Inflammatory Effects of *Salix* Cortex Extracts and Acetylsalicylic Acid in SARS-CoV-2 Peptide and LPS-Activated Human In Vitro Systems. **Int. J. Mol. Sci.** 2021, 22, 6766. <https://doi.org/10.3390/ijms22136766>



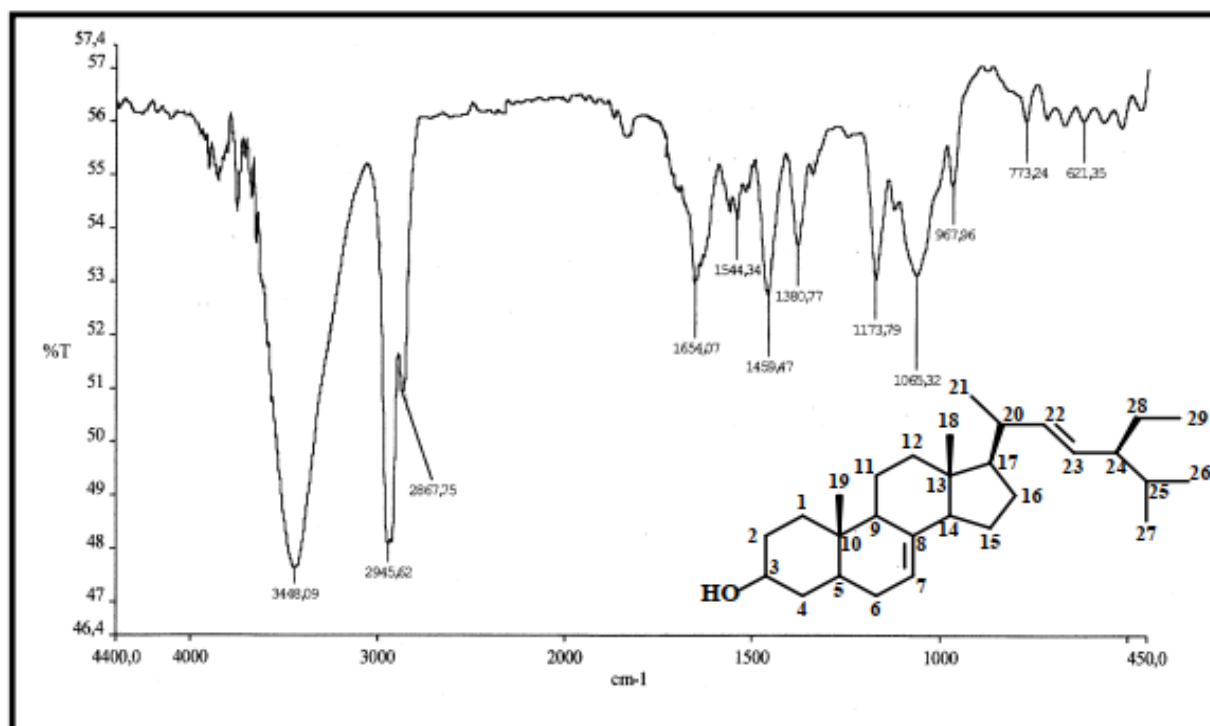
85. KUO, S., CHUNG, H., HUANG, C., & CHENG, J. Diminuição da hiperglicemia por siringaldeído em ratos diabéticos. **Hormone and Metabolic Research**, 46 (01), 8–13. doi: 10.1055 / s-0033-1351274, 2013.
86. RIBEIRO, S.R.; FORTES, C.C.; OLIVEIRA, S.C.C.; CASTRO, C.F.S. Avaliação da atividade antioxidante de *Solanum paniculatum* (Solanaceae). **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v. 11, n3, p. 179-183, 2007.
87. COUTINHO, E.M.O. Estudo fitoquímico e de atividade biológica de espécies de *Solanum* (Solanaceae). 147f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Rio de Janeiro – **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**, Rio de Janeiro, 2009.
88. BOOLER S, SOLDI C, MARQUES MC, SANTOS EP, CABRINI DA, PIZZOLATTI MG, ZAMPRONIO AR, OTULI MF. -inflammatory effect of crude extract and isoleted compounds from *Baccharis ilinita* DC in acute skin inflammation. **J Ethnopharmacol**; 130: 262-6, 2010.
89. FEITOSA, CHISTIANE MENDES; SOUSA JUNIOR, RONALDO DOS SANTOS; SILVA, VALÉRIA LIMA; RAI, MAHENDRA KUMAR. Tratamento da doença de alzheimer e novos avanços terapêuticos. In: Acompanhamento Farmacoterapêutico e suas implicações na terapia da Doença de Alzheimer. Ponta Grossa, PR: **Atena**, 2020. DOI 10.22533/at.ed.3682006023
90. CHOUDHARY MI, YOUSUF S, NAWAS SA, AHMED S, ATTA-UR-RAHMAN Cholinesterase inhibiting withanolides from *Withania somnifera* **Chem Pharm Bull** 52: 1358-1361, 2004.
91. RODDICK JG. The acetylcholinesterase inhibitory activity of steroidal glycoalkaloids and their aglycones. **Phytochemistry** 28: 2631-2634, 1989
92. NINO, JAIME; A HERNÁNDEZ, JIMMY; M CORREA, YANED; M MOSQUERA, OSCAR. In vitro inhibition of acetylcholinesterase by crude plant extracts from Colombian flora. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, ed. 7, p. 783-785, 2006.
93. SALLES MT, VIANA FV, VAN DE MEENT M, RHEE IK, VERPOORTE R 2003. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from plants to treat Alzheimer disease. **Química Nova** 26: 1-7.
94. VINUTHA, B. ET AL. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 109, p. 359-63, 2007.
95. CAVALCANTE, C, DE MELO B. Inalação de crack aumenta a susceptibilidade a crises epilépticas via redução da atividade da acetilcolinesterase – UFAL. 2018. Agra MF, Baracho GS, Nurit K, Basílio IJLD, Coelho VPM. Medicinal and poisonous diversity of the flora of "Cariri Paraibano", Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. 2007;111(2):383-95, 2007.

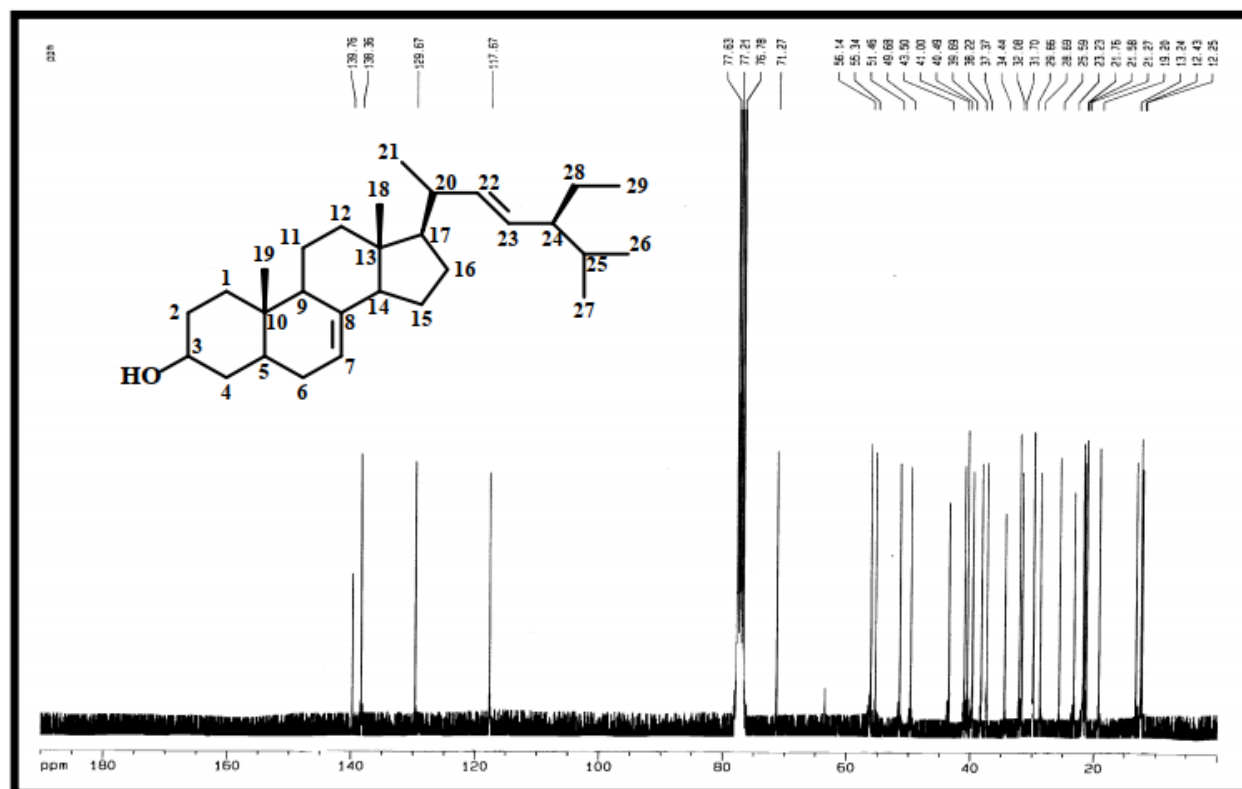
- <sup>96</sup>. Barbosa Filho J, M. Medeiros K, C, Diniz M, F. Batista L, M. Athayde-Filho P, F. Silva M, S. Da Cunha E, V. Almeida Jr, Quintans-Júnior J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Rev Bras Farmacogn**; 16: 258-285.2006.
- <sup>97</sup>. ADEBIYI OE, OLOPADE JO, OLAYEMI FO. Sodium metavanadate induced cognitive decline, behavioral impairments, oxidative stress and down regulation of myelin basic protein in mice hippocampus: Ameliorative roles of  $\beta$ -spinasterol, and stigmasterol. *Brain Behav*. 2018 Jul;8(7):e01014. doi: 10.1002/brb3.1014. **Epub** 2018 Jun 1. PMID: 29856129; PMCID: PMC6043703. 2018.

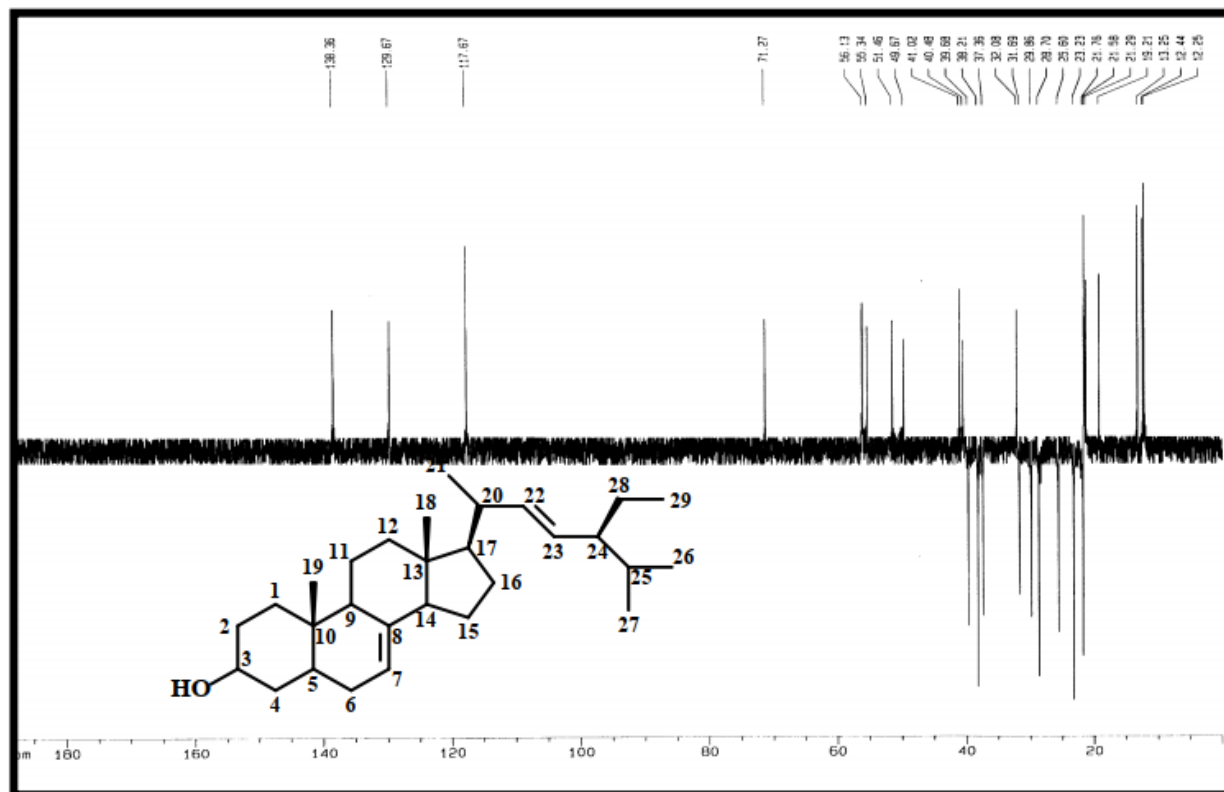
# Anexo A

## ESPECTROS DE RMN E INFRAVERMELHO

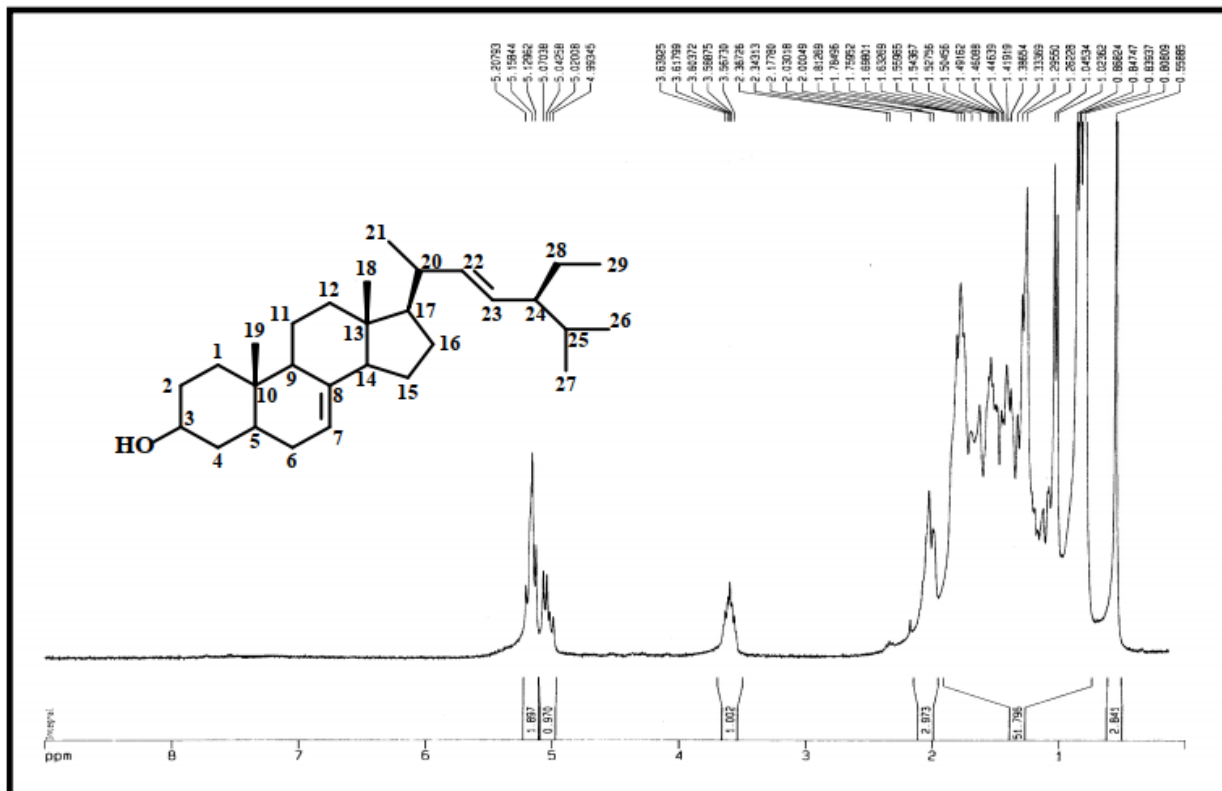
**Anexo 1** -Espectro de absorção na região do I.V. de FSP-1 com pastilhas de KBr.



**Anexo 2** -Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -CPD (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de FSP-1.

**Anexo 3-Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de FSP-1**

**Anexo 4**-Espectro de RMN <sup>1</sup>H (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de FSP-1.



**A5**-Espectro de massa de FSP-1 (impacto eletrônico a 70 eV)

