



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC

Trabalho de Conclusão de Curso | Bacharelado em Química

Tomaz Antonio da Silva

Caracterização química de compostos alcaloídicos de extratos de solanáceas

Santo André DEZEMBRO – 2020





Tomaz Antonio da Silva

Caracterização química de compostos alcaloídicos de extratos de solanáceas

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Bacharelado em Química da UFABC para obtenção do título de Bacharel em Química

Orientador: Prof. Dr. Célio Fernando

Figueiredo Angolini



AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter permitido que eu chegasse até esse momento, e por ter permitido superar as ordálias que surgiram em meu caminho.

Ao professor Célio Angolini, pela didática e pela dedicação que foram de grande auxílio para a conclusão deste trabalho.

Aos professores da UFABC, pela transmissão do conhecimento e pela percepção de que sempre é possível aprender mais.

Às Marias em minha vida (mãe e namorada), pelo amor e compreensão incondicionais a mim dedicados.

Ao Sr. Nicolas Tomaz da Silva e à senhorita Raquel Vitória da Silva pelo apoio que sempre me deram, mesmo sem se darem conta disso.

Aos amigos da UFABC que conheci durante esses anos.

Aos colegas da CRAISA, pelo apoio dado em momentos de dificuldade, bem como pelos momentos de descontração.

RESUMO

A importância das plantas do gênero *Solanum* é devida a sua rica diversidade de tipos, sabores e aromas, que notadamente formam a base da alimentação humana, sendo também utilizadas na medicina popular no tratamento de diversas doenças, devido à presença de compostos bioativos, os quais possuem propriedades terapêuticas. Diversos estudos são realizados em espécies que já possuem atividade biológica comprovada, entretanto, poucas informações são encontradas em plantas de rara incidência, como, por exemplo, as solanáceas *Solanum Lycocarpum* A. St. Hil (fruta do lobo) e *Solanum oocarpum* (juá-açú), ricas em alcaloides que vêem demostrando importantes avanços em estudos de obesidade e contra doenças como artrites, arterocleroses, doenças cardíacas e câncer.

O presente trabalho é parte de um projeto maior já em andamento, cujo objetivo é caracterizar quimicamente as espécies juá-açu e fruta do lobo, e com os alcaloides extraídos destas comprovar a eficácia dos compostos na proteção contra danos oxidativos e secreção defeituosa de insulina induzida por altos níveis de glicose. Os analitos foram extraídos dos frutos por digestão etanólica, segundo metodologia de Cheung *et al* (2015), e analisados pela técnica de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas. Os dados foram tratados usando o software Agilent Mass Hunter Qualitativie Analysis B0.7. A identificação dos compostos foi feita por meio da plataforma GNPS e por interpretação manual dos espectros MS/MS. Foram encontradas 35 substâncias, das quais 11 são kukoaminas, sendo que 6 dessas foram tentativamente identificadas e 5 permanecem sob investigação.

Palavras-chave: solanum, alcaloides, juá-açu, fruta do lobo, análise por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas.

ABSTRACT

The importance of plants of the genus Solanum is due to their rich diversity of types, flavors and aromas, and notably they form the basis of human nutrition, being also used in folk medicine in the treatment of various diseases, due to the presence of bioactive compounds, which have therapeutic properties. Several studies are carried out on species that already have proven biological activity, however, little information is found on plants of rare incidence, such as, for example Solanum Lycocarpum A. St. Hil (fruit- do-lobo) and Solanum oocarpum (juá-açú), rich in alkaloids that have shown important advances in studies of obesity and against diseases such as arthritis, arteroclerosis, heart disease and cancer.

The present work is part of a larger project already underway, whose objective is to chemically characterize the juá-açu and fruta do lobo species, and with the alkaloids extracted from these, prove the effectiveness of the compounds in protecting against oxidative damage and defective insulin secretion induced high levels of glucose. The analytes were extracted from the fruits by ethanolic digestion, according to the methodology of Cheung *et al* (2015), and analyzed by the liquid chromatography technique coupled with mass spectrometry. The data were processed using the Agilent MassHunter Qualitativie Analysis B0.7 software. The compounds were identified using the GNPS platform and by manual interpretation of the MS / MS spectra. 35 substances were found, of which 11 are kukoamines, 6 of which have been tentatively identified and 5 remain under investigation.

Keywords: solanum, alkaloids, juá-açu, wolf fruit, analysis by liquid chromatography coupled with mass spectrometry.

SUMÁRIO

1. Introdução	8
2. Revisão Bibliográfica	10
2.1 Espécies de plantas do gênero Solanum e suas aplicações	10
2.2 Definição de flavonoides	11
2.3 Definição de alcaloides	12
2.4 Descrição da Solanum lypocarpum A. Saint-Hilaire	13
2.5 Descrição da Solanum oocarpum	14
2.6 Definição de kukoaminas	15
3 Técnicas analíticas de separação e caracterização	17
3.1 Espectrometria de massas	17
3.2 Cromatografia líquida	18
3.3 Cromatografia gasosa e líquida acoplada a espectrometria de massas	19
4 Técnicas de bioinformática para identificação	20
5 Justifcativa	21
6 Objetivos	22
6.1 Objetivo geral	22
6.2 Objetivo específico	22
7 Metodologia	23
7.1 Material	23
7.2 Extração	23
7.3 Análise Molecular Network	23
8 Resultados e discussão	25
8.1 Análise estrutural Molecular Network	26
8.2 Análise estrutural MS/MS	28
9 Conclusões	33
10 Considerações finais	34
11Referências	35

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Solanum* é o mais representativo e complexo da família Solanaceae, com ampla distribuição em todas as regiões do Globo. Este gênero está amplamente associado à cultura humana, pois seus espécimes são largamente utilizados na alimentação, bem como ornamentos. Além disso, algumas espécies são utilizadas como plantas medicinais, devido aos seus efeitos terapêuticos. A palavra *Solanum* tem a etimologia de seu nome em *solanem*, que significa consolo, alívio.

As propriedades medicinais das plantas do gênero *Solanum* devem-se a existência de metabólitos secundários, substâncias que permitem a adaptação da planta ao meio em que está inserida, sendo os alcaloides os componentes mais abundantes, dada sua imensa diversidade estrutural. O uso dessas plantas na medicina popular tem despertado o interesse em pesquisas com o objetivo de esclarecer as diversas propriedades dos alcaloides, assim como suas diversas rotas biossintéticas.

As perspectivas e potencialidades na extração e caracterização desses compostos são praticamente ilimitadas, sendo uma das mais promissoras o uso destes na fabricação de extratos de origem natural, o que tende a ter uma maior aceitação do público em comparação com produtos sintetizados. Entretanto, as pesquisas tendem a se concentrar em plantas que já possuam atividades biológicas comprovadas por órgãos de saúde, como a Agênca Nacional de Saúde (ANVISA), enquanto que informações sobre plantas de incidência rara costumam ser escassas. Como exemplo, podem ser citadas as solanáceas *Solanum Lycocarpum* A. St. Hil (fruta do lobo) e *Solanum oocarpum* (juá-açú), cuja composição é parcialmente conhecida, porém, ricas em alcaloides que possuem comprovada atividade antioxidante.

De maneira paradoxal, a escolha de uma planta para fins de pesquisa exige abordagem etnofarmacológica e estudo fitoquímico, o que pode ser usado para validar o interesse em novas pesquisas caso as já existentes contenham apenas investigações parciais. Sendo assim, um dos objetivos deste trabalho é a caracterização química do juáaçu e da fruta do lobo, além de complementar as informações sobre a composição de alcaloides das mesmas.

Dentre as técnicas conhecidas utilizadas para identificação de alcaloides, destacase a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas, técnica poderosa que permite identificar substâncias entre misturas complexas, devido a sua alta sensibilidade.

A identificação dos compostos será feita manualmente a partir dos espectros MS/MS. Como ferramenta auxilar, será utilizada a estratégia computacional rede

molecular (em inglês : Molecular Network – MN), cujos dados são oriundos do maior repositório de dados MS/MS do mundo, o Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS), o que irá permitir comparar produtos análogos, bem como cruzar dados armazenados, possibilitando análises metabolômicas, e identificar compostos que sejam clinicamente importantes

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Espécies de plantas do gênero *Solanum* e suas aplicações

Dividida em 106 gêneros e cerca de 3000 espécies, a família Solanaceae corresponde a um ramo representativo das Angiospermas com ampla distribuição em todas as regiões do Globo (PEREIRA et al. 2016). Na América do Sul é possível constatar sua ampla diversidade de espécies, sendo algumas delas endêmicas, o que pode ser observado desde a região amazônica até o Sul do Brasil (GOMES, LIMA, 2014). O gênero Solanum é o mais representativo e complexo da família Solanaceae, com cerca de 350 espécies identificadas no Brasil, sendo 138 endêmicas, tendo a Mata Atlântica como bioma de grande diversidade (SAMPAIO et al, 2018), e pode ser classificado em três subgêneros, de acordo com uma das nomenclaturas propostas por Nee (1999): Solanum (plantas inermes, anteras oblongas com aberturas por poros apicais e posteriormente por fendas laterais); Bassovia (plantas inermes, anteras atenuadas ou oblongas com aberturas por poros apicais): Leptostemonum (plantas armadas) (SILVA, PROENÇA,2009).

A grande variabilidade genética e versatilidade adaptativa faz com que essas espécies atuem como invasoras, ocupando desde terrenos baldios e lavouras até margem de rodovias (GOMES, LIMA, 2014). Possuem grande importância nutricional e econômica, já que muitas formam a base da alimentação humana, como, por exemplo, a batata (Solanum tuberosum), a beringela (Solanum melongena), o tomate (Solanum lycopersicum) e o jiló (Solanum gilo) (PEREIRA et al, 2016). Além disso, são também utilizadas na medicina popular como, por exemplo, Solanum agrarium Sendetn, como abortivo e inflamações prostáticas; Solanum rhytidoandrum Sendetn no tratamento de doenças hepáticas; e Solanum paniculatum L. como diurética, contra doenças do fígado, anemia e tuberculose (BEZERRA, SANTOS, 2018). Entretanto, cabe ressaltar que algumas espécies possuem atividade tóxica, como Solanum lycocarpum A. Saint-Hilaire, Solanum mammosum L., Solanum nigrum L., e Solanum palinacanthum Dunal, cujos frutos possuem alacaloides indólicos (BARG, 2004), os quais podem causar deterioração neural (CARVALHO et al, 2015).



Fig.1. Exemplos de espécies do gênero Solanum utilizados na alimentação humana (Fonte: Pereira et al, 2016).



Fig.2. Exemplos de espécies do gênero *Solanum* utilizados na medicina popular (Fonte: http://www.plantsoftheworldonline.org)

Tais propriedades devem-se a existência de metabólitos secundários, substâncias que participam de muitos processos fisiológicos mediante estímulos (GOMES, LIMA, 2014), permitindo, dessa forma, a adaptação da planta ao meio em que está inserida, pois podem, por exemplo, atuar como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger as plantas de patógenos, e também podem apresentar atividades antigerminativas ou tóxicas para outras plantas (função alelopática). Os principais representantes são os compostos fenólicos, responsáveis pela dispersão de sementes por meio da atração de animais pelo odor, cor e sabor agradáveis e os alcaloides, responsáveis pelas defesas químicas da planta, já que são tóxicos para os insetos, repelentes para os herbívoros, além de possuírem atividade antimicrobiana (FUMAGALI *et al,* 2008). Vale lembrar que os metabólitos secundários encontrados nas plantas do gênero *Solanum* são os flavonoides (uma classe de composto fenólico) e os alcaloides (PEREIRA *et al,* 2016).

2.2 Definição de flavonoides

Os flavonoides são definidos como substâncias compostas por um núcleo comum de fenilcromanona com substituição em uma ou mais hidroxilas, cuja estrutura química está baseada no núcleo flavinium, o qual consiste de dois anéis aromáticos, onde o

benzeno do primeiro anel é condensado com o sexto carbon, formando um terceiro anel, carregando na posição 2 uma fenila como substituinte. Os flavonoides podem atuar como antioxidantes, dependendo da sua estrutura químca, por meio de substituições envolvendo hidrogenação, hidroxilação, metilação, glicosilação, entre outras (MACHADO et al, 2008).

Fig.3 Esqueleto básico dos flavonoides (Fonte: AUTOR)

2.3 Definição de alcaloides

Os alcaloides são compostos cíclicos de origem biológica cujo átomo de nitrogênio esteja ligado a, no mínimo, dois átomos de carbono, podendo se comportar como uma amina primária, secundária, terciária ou quaternária. As espécies do gênero *Solanum* são ricas fontes desses compostos, os quais atuam nas defesas químicas das plantas, geralmente como bases fracas (JAYAKUMAR, MURUGAN, 2016).

Os alacaloides podem assumir diversas estruturas, e por esse motivo, realizam funções distintas. Como exemplo podem ser citados glicoalcaloides nitrogenados, substâncias que atuam como metabólitos secundários defensivos, graças a sua estrutura, que consiste de uma de uma aglicona, composta por um esqueleto hidrofóbico de colestano com um nitrogênio incorporado ao anel F, e uma cadeia hidrofílica de carboidrato unida na posição 3-OH. Essa estrutura confere aos glicoalcaloides um mecanismo de toxicidade devido às suas propriedades de disruptor de membrana, bem como de inibidor de acetilcolinesterase (MILNER *et al*, 2011).

Unidade aglicona

Unidade glicosídica

Fig4. Estrutura do glicolcaloide α-solanina (Fonte: Milner *et al*, 2011)

Em comum flavonoides e alcaloides possuem atividade antioxidante, o que pode ser explicado por propriedades redox, como doador de hidrogênio e agente redutor. Isso faz com que essas substâncias atuem como agentes preventivos de muitas doenças, como artrites, arterioscleroses, doenças cardíacas e câncer, o que é vantajoso devido a preferência popular pelos produtos de ocorrência natural aos sintetizados (Wu *et al,* 2016). Algumas espécies de *Solanum* que apresentam essas propriedades são utilizadas na medicina popular como anti-inflamatório, antiviral, antimicrobiano, entre outros, e podem ser citados como exemplos *Solanum lycocarpum* A. Saint-Hilaire (ARAÚJO *et al,* 2010) e *Solanum oocarpum* (COSTA, NUNES, 2010).

2.4 Descrição da Solanum lycocarpum A. Saint-Hilaire

Popularmente conhecida como lobeira ou fruta do lobo a *Solanum lycocarpum* St. Hil. cresce e se desenvolve em condições ambientais desfavoráveis, tais como terras ácidas e pobres em nutrientes. É capaz de suportar um clima árido e períodos de seca prolongados, resistindo ainda a ciclos anuais de queimadas. Os frutos dessa planta são grandes, redondos e esverdeados, com massa entre 200 e 900g. Possui polpa amarela, e chega a armazenar entre 300 e 800 sementes. A disponibilidade da fruta ocorre o ano todo, em especial na estação chuvosa. Serve de alimento a animais selvagens, como morcegos, antas, saúvas, cães selvagens, e o lobo guará, que é o principal dispersor das sementes do fruto (MARTINS *et al*, 2006). A polpa do fruto maduro pode ser consumida in *natura* ou ser utilizada para se fazer geleias, e a casca e a polpa nesse estágio apresentam coloração verde amarelada. Esse fruto tem sido utilizado para produção de massas, substituindo o marmelo na preparação da marmelada e afirma-se que, se empregado puro, apresenta vantagens no sabor e no poder alimentício (JUNIOR *et al*,

2003). Seus frutos possuem alcaloides indólicos, além de solanina, solamargina, solasodina e flavonoides. A fruta do lobo ainda é utilizada para obter uma preparação que é empregada pela população no tratamento de diabetes, obesidade e para diminuição dos níveis de colesterol. Também é utilizada como sedativo contra epilepsia e diurético e atuando na atividade antiplasmódica. A infusão de suas raízes é utilizada no combate à hepatite, o xarope dos frutos, no combate a asma e o chá das suas folhas é usado contra a tosse (LIMA, SANTOS, SMOZINSKI, 2014).

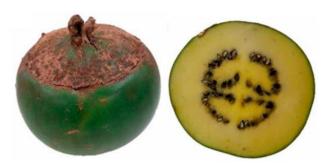


Fig5. Fruta-do-lobo (Solanum lycocarpum St. Hill) (Fonte: Pereira et al,2019)

As saponinas são compostos formados por um triperteno hidrofóbico (ou esqueleto esteroide), e uma cadeia hidrofílica de carboidrato possuem propriedades de sabão. As propriedades anfipáticas propiciadas por essa estrutura permite a interação das saponinas com membranas biológicas, resultando em hidrólise enzimática das cadeias glicosídicas (VERMA et al, 2011). Além disso, possuem atividade citotóxica e hemolítica, com o potencial de inibição de proteases, protegendo a planta do ataque de insetos, bem como a oviposição destes (HUSSAIN et al, 2015).

2.5 Descrição da Solanum oocarpum

Poucas informações são encontradas na literatura a respeito de *Solanum oocarpum*. Também conhecida como juá-bravo ou juá-açu em algumas regiões (COSTA *et al,* 2010), é uma planta de ocorrência rara, utilizada para tratamento de febres e doenças do pulmão (PEREIRA *et al,* 2019), e que possui em sua composição os alcaloides solasonina e kukoaminas A e B, as quais possuem atividade antioxidante (PEREIRA *et al,* 2019).



Fig6. Juá-açu (Solanum oocarpum Sendtn.) (Fonte: Pereira et al,2019)

2.6 Definição de kukoaminas

As kukoaminas são uma classe de poliaminas, compostas por um esqueleto de polimetilenopoliamina (putrescina, espermidina ou espermina), e pelo menos um fragmento de ácido dihidrocafeico. As poliaminas possuem importância no crescimento das plantas, assim como seu desenvolvimento em resposta às várias formas de estresse (HUANG et al, 2017). Encontradas em várias plantas da família Solanaceae, como batata, tomate e tabaco, possuem atividade antioxidante, uma vez que, como um polifenol, possuem propriedades redox, já que atuam como doador de hidrogênio, agente redutor e supressor de oxigênio (Wu et al, 2016).

Fig 7. Estrutura de uma kukoamina

A diversidade estrutural das kukoaminas deve-se à capacidade da polimetilenopoliamina em se ligar a diversas moléculas fenólicas. Por essa razão, é também possível a existência de vários análogos, já que os grupos amino podem se conjugar em diversas posições do esqueleto de poliamida (Li *et al*, 2015).

A atividade antioxidante desses compostos pode ser determinada por meio de várias técnicas, sendo a mais utilizada as que envolvem um radical cromóforo, simulando

as espécies reativas de oxigênio (EROs), como, por exemplo, o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), enquanto os metabólitos secundários podem ser detectados e quantificados por técnicas espectrofotométricas, dado sua alta reprodutibilidade, praticidade e custo, quando comparada a outras técnicas (VIOLANTE *et al*, 2015).

3 TÉCNICAS ANÁLITICAS DE SEPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

3.1 Espectrometria de massas

A espectrometria de massas é uma técnica analítica instrumental utilizada para a análise, em fase gasosa, de átomos ou moléculas de uma amostra que são ionizados e separados de acordo com a razão massa/carga (*m*/z) quando submetidos a condições específicas de um campo elétrico e/ou magnético. Um solvente líquido (fase móvel) é transportado continuamente com o auxílio de uma bomba até a coluna cromatográfica (fase estacionária), através de um sistema de injeção automático. Quando a amostra é inserida neste sistema, as diferentes interações entre as moléculas presentes na amostra e a fase estacionária fazem com que estas tenham tempos de retenção distintos no sistema, o que permite a separação dos compostos que estejam sendo analisados (PAVIA et al, 2010).

O artefato utilizado para a separação é o espectrômetro de massas quadrupolar de transmissão, que é o separador de massas propriamente dito, o qual é acoplado a uma coluna de cromatografia a gás, a qual registra o espectro de cada componente quando este é eluído (HARRIS, 2011). De uma forma geral, o espectrômetro possui cinco componentes:

- a) Unidade de entrada da amostra: responsável por levar a unidade da amostra à pressão mais baixa do espectrômetro;
- b) Fonte de íons: local onde as moléculas são convertidas a íons em fase gasosa,
 os quais são acelerados por um campo eletromagnético;
- c) Analisador de massa: local onde os íons são separados em função de *m/z*;
- d) Detector: local de contagem dos íons;
- e) Sistema de dados: local onde o sinal é processado e registrado como um espectro de massa, um gráfico do número de íons em função de sua razão *m/z* (PAVIA *et al,* 2010).

Uma vez inserida a amostra é aplicada uma diferença de potencial e um potencial elétrico constante de radiofrequência. O campo elétrico resultante deflete os íons e permite que somente aqueles que possuam um determinado valor de razão *m*/z alcancem o detector. As colisões são minimizadas devido a diminuição da pressão do interior do espectrômetro (cerca de 10-9 bar) e íons com diferentes massas são escolhidos para atingir o detector por meio variação do potencial aplicado (HARRIS, 2011).

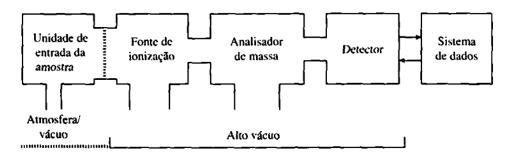


Fig8. Representação esquemática de um espectrômetro (Fonte: Pavia,2010)

3.2 Cromatografia líquida

A cromatografia é um método que permite a separação, identificação e determinação de componentes químicos em misturas complexas. A separação é feita com base nas diferenças de velocidade nas quais são transportadas, através de uma fase fixa estacionária por uma fase móvel líquida ou gasosa. Na fase móvel ocorre o transporte da mistura dos analitos (que podem ser um liquido ou gás) sobre a fase fixa (que é composta por um líquido viscoso quimicamente ligado ao interior do tubo capilar). O processo de passagem do analito pela coluna chama-se eluição, sendo eluente o fluído que entra na coluna e eluato o fluído que sai.

Os solutos eluídos podem ser visualizados graficamente por meio do cromatograma, gráfico que mostra a resposta do detector em função do tempo de retenção. Dentre as informações disponíveis, está a eficiência da separação, que pode ser indicada pela distância entre os picos (quanto mais afastados entre si, maior a eficência de separação), e o alargamento entre os picos (quanto mais estreitos, melhor a separação efetuada).

Dentre as técnicas de cromatografia utilizados, destacam-se a cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida (CL). Na CG o analito gasoso é transportado pela coluna por um gás de arraste, que funciona como fase móvel. Já na CL, são usadas pressões elevadas para forçar a passagem do solvente por meio de colunas fechadas que contém partículas finas, capazes de proporcionar separações com maior eficiência (HARRIS, 2011).

3.3 Cromatografia gasosa e líquida acoplada a espectrometria de massas

A combinação de cromatografia gasosa com espectrometria de massas é relativamente simples, já que as caraterísticas de funcionamento do cromatógrafo a gás são compatíveis com a necessidade do alto vácuo do espectrômetro de massas Essa técnica pode ser utilizada para compostos orgânicos (Chiaradia et al, 2008). voláteis e semivoláteis, polares e lipofílicos. Já para substâncias com polaridade mais alta e volatilidade mais baixa ou elevada instabilidade térmica é recomendada a análise em cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectrômetro de massas (CLAE-EM; em inglês: High performance liquid chromatography, HPLC-MS ou LC-MS) (SILVA, COLLINS, 2011). Nessa técnica utiliza-se como fase móvel um solvente que é impulsionado por uma bomba de alta pressão em direção à coluna, enquanto que a amostra é introduzida na fase móvel por meio de uma válvula e arrastada para a coluna, onde ocorre a separação. Uma das grandes vantagens de se utilizar LC-MS é a sua versatilidade, ou seja, é possível intercambiar diferentes módulos, permitindo uma configuração distinta do equipamento, o que pode ser utilizado para separação e quantificação de amostras complexas (LANÇAS, 2009).

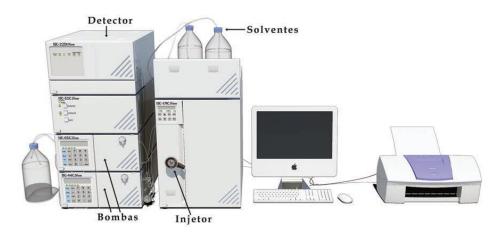


Fig.9. ilustração de um equipamento de cromatografia líquida (Fonte: Lanças,2009).

Utiliza-se técnicas cromatográficas de separação para análise e identificação de substâncias que possuam alta complexidade, como produtos naturais, fluídos biológicos, sedimentos de rios, entre outros.

4 TÉCNICAS DE BIOINFORMÁTICA PARA IDENTIFICAÇÃO

A identificação de todos os compostos que compõem determinado meio não é tarefa simples, o que demanda a importância de se utilizar ferramentas complementares de análise, como a estratégia computacional rede molecular (em inglês: molecular networking – MN), utilizada para auxiliar na visualização e interpretação dos dados contidos no repertório químico detectado por MS (relação *m/z*).

MN corresponde a uma aproximação de tentativa de reconhecimento dos derivados químicos estruturais de uma amostra. Para tanto, são feitas correlações baseadas nos dados MS/MS (espectro de um íon fragmento) dos respectivos compostos, partindo do princípio de que estes, por possuírem similaridade estrutural, exibem padrões de fragmentação similar sob idênticas condições de ionização. Essas correlações são feitas por um algoritmo computacional, que compara os graus de similaridade estrutural entre cada espectro MS/MS que esteja em um banco de dados. O resultado pode ser visualizado em um gráfico que organiza os diversos espectros MS/MS similares que possuam o mesmo íon precursor em vetores e são rearranjados em ordem de intensidade. A partir daí, é possível determinar a similaridade entre cada par de vetores por meio de uma pontuação cosine, que varia entre zero e um. O resultado final é representado graficamente na forma de uma rede, onde os nós representam os espectros MS/MS e as arestas entre os nós representam os graus de similaridade entre eles.

Os dados do MN estão sendo utilizados para desenvolver o maior repositório de dados MS/MS do planeta, o Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS). Com essa plataforma, pode-se comparar análogos, bem como cruzar dados armazenados, possibilitando análises metabolômicas, desde extratos de plantas e culturas microbianas, permitindo, assim, identificar compostos que sejam clinicamente importantes, assim como desenvolver novas terapias (QUINN *et al,* 2016).

5 JUSTIFICATIVA

Várias razões podem ser apontadas para a escassez de informações sobre o juá-açu na literatura, como o baixo crescimento de informações sobre plantas medicinais (cerca de 8% ao ano), e a concentração de pesquisas em espécies que já possuem atividade terapêutica reconhecida pelos órgãos de saúde, como, por exemplo, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (CARNEIRO *et al,* 2014). De maneira paradoxal, a escolha de uma planta para fins de pesquisa exige abordagem etnofarmacológica e estudo fitoquímico, o que pode ser usado para validar o interesse em novas pesquisas caso as já existentes contenham apenas investigações parciais (MACIEL *et al,* 2001). Sendo assim, um dos objetivos deste trabalho é a caracterização química da fruta do lobo e do juá-açu, além de complementar as informações sobre a composição de alcaloides das mesmas.

6 OBJETIVOS

6.1 Objetivo geral

Caracterizar quimicamente frutas da família das Solanáceas.

6.2 Objetivo específico

• Complementar as informações já existentes sobre a composição dos frutos, caracterizando quimicamente a fração alcaloidica do juá-açu e da fruta do lobo;

7 METODOLOGIA

7.1 Material

Frutos maduros de juá-açu foram coletados em Outubro/2017 em Campana do Monte Alegre (S20.555.209; W46.145.379), localizada em São Paulo, Brasil. Exemplares de fruta do lobo foram coletados em Junho/2019 em Carmo do Rio Claro (S20.555.209; W46.145.379), localizada em Minas Gerais, Brasil. Os espécimes foram identificados pela Dra. Ingrid Koch e pelo Dr. Leandro Giacomini, e os comprovantes foram depositados no herbário da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). (UEC 197730 e 197428, respectivamente). Os frutos foram manualmente lavados, a casca cuidadosamente separada da polpa usando uma faca afiada e as sementes foram removidas.

7.2 Extração

Os compostos foram extraídos dos frutos por digestão etanólica, segundo metodologia de Cheung *et al* (2015), que consiste em isolar a kukoamina por meio de uma preparação de um extrato seguido por uma extração em fase sólida por meio do uso de uma resina de poliamida como adsorvente. O extrato foi obtido pela mistura de 100g de polpa de juá-açu previamente preparada a 100 mL de uma solução de metanol:água (50:50 v/v). Após sonicação (1 min) e filtragem, foi adicionada ao sobrenadante 100 mL de ácido acético 0,5% (v/v), e deixado em repouso por 72 horas, e submetido a uma nova filtragem após esse período. Os sobrenadantes foram então combinados e guardados em geladeira até o momento das análises. Também foi preparado um extrato pela mistura de 200g da polpa liofilizada a 500mL de uma solução etanol:água (70:30 v/v), e deixado em repouso por uma noite. Após esse período, o material foi removido por filtragem e misturado a uma solução de ácido acético 12% v/v até que o pH se estabilizasse em 4,0. Após 48 horas de digestão ácida, a mistura foi filtrada novamente, e seus sobrenadantes foram combinados e acondicionados em geladeira até o momento das análises, as quais foram realizadas na UNICAMP.

7.3 Análise Molecular Network

Após a análise em LC-MS, os dados foram convertidos para o formato mzxml e analisados na plataforma online de trabalho GNPS.

(https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=9e5b5f2e74744e0cbb413ce30239fbfb).

Os dados foram filtrados pelo ajuste +/- 17 Da do íon precursor. O espectro foi filtrado pela escolha de íons fragmento +/- 50 Da. A tolerância de massa do íon precursor foi ajustada em 1.0 Da e do íon fragmento MS/MS em 0.5. Uma rede foi então criada contendo edges cujos cosines mínimos estavam ajustados para 0.6 e mais que 6 picos coincidentes. Além disso, edges entre dois nós foram mantidos na rede, desde que cada um dos nós estivesse presente em cada um dos 10 nós mais similares. Finalmente, o tamanho máximo da família molecular foi ajustada para 100 e os valores coincidentes entre a rede a biblioteca foram ajustados para um mínimo de 0.7 e 6 picos coincidentes.

8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A preparação do extrato deve ser feita levando-se em conta o fato de que a kukoamina é um alcaloide solúvel em água e facilmente oxidável, fatores esses que podem comprometer o grau de pureza que se pretende alcançar (Cheung *et al*, 2015), e, portanto, utiliza-se uma mistura aquosa com álcool de no máximo 6 carbonos (por ser mais solúvel em água). O etanol atende esses requisitos, além de ser um solvente polar utilizado em extratos brutos de plantas. Para que fosse possível obter uma maior quantidade de material extraído, optou-se pela digestão ácida, e a utilização do ácido acético é justificada como forma de se manter o pH em torno de 4,0, já que isso mantém a estabilidade da kukoamina, graças ao efeito protetivo contra a oxidação das hidroxilas dos grupos fenólicos devido à formação de ligações de hidrogênio entre as hidroxilas e moléculas do solvente da solução ácida (Li *et al*, 2017). Já a retenção da kukoamina pela poliamida pode ser explicada pela afinidade eletrônica entre a amida e as hidroxilas do grupo fenol, numa interação ácido-base de Lewis (Han *et al*, 2013).

Foram encontradas 35 substâncias, e supõe-se que 11 sejam kukoaminas. A hipótese é levantada considerando-se as massas obtidas, que coincidem com as massas conhecidas reportadas na literatura, bem como as massas dos fragmentos, o que permitiu uma tentativa de identificação de alguns desses compostos, conforme é mostrado na Tabela 1. Os dados em branco correspondem a moléculas cujos fragmentos não correspondem a nenhuma molécula reportada na literatura, e serão investigados manualmente, pois acredita-se serem análogos/isômeros de kukoaminas.

Tab. 1. Dados das massas espectrais e tentativa de identificação

N.	Composto	M/Z	RT(min.)	MS/MS
1	N, N'-dicaffeoylspermidine	470,228	6,22	220,10/383,16/310,21/163,04/397,18
2	N1–caffeoyl, N3-dihydrocaffeoyl spermidine	472,244	5,861	222,11/163,04/165,06/383,16/123,04
3		472,244	6,616	243,06/454,23/373,17/356,15/384,16
4		472,244	2,738	327,089/243,06/281,08/112,11/366,14
5		472,244	4,068	237,098/283,10/112,11
6	N1-N10dihydrocaffeoyl spermidine	474,260	4,857	222,11/123,04/165,06/232,12/236,13
7		527,286	1,147	112,112
8	Dihydrocaffeoyl quinonespermine ismoer	529,302	3,635	220,1/222,11/293,19/291,19/163,04
9	kukoamine B ismoer	531,318	2,496	222,11/293,19/223,12/294,19/123,04
10		693,35	9,91	220,09/222,11/291,17/531,21/529,31
11	N1,N4,N12-tris(dihydrocaffeoyl)spermine	695.365	9,205	222,11/293,19/223,12/123,04/165,06

O gênero *Solanum* é conhecido por possuir alcaloides da família das kukoaminas em sua composição. Como exemplos, podem ser citados a batata (*Solanum tuberosum*), que contém kukoamina A e diversos isômeros de esperminas e espermidinas (Parr *et al*, 2005), o tomate (*Solanum lycopersicum*), que contém kukoamina C, além de tomatidina, hidroxitomatina, entre outros (D'Esposito *et al*, 2017). Vale lembrar que a kukoamina A está presente na maioria das espécies, sendo o triptofano a substância chave na produção de alcaloides nas diversas rotas de substâncias, como triterpenoides, flavonoides, antocianina, etc. (Wu *et al*, 2013). De acordo com a literatura, a hipótese sobre a presença de uma kukoamina pode ser levantada quando são encontrados valores de *m/z* correspondentes aos seus metabólitos constituintes como esperminas, espermidinas, bem como seus derivados, além de grupos fenólicos. Os valores mais comuns para esperminas e espermidinas são *m/z* 310/308; 222/220; 293/291; 165/163 (Xiao *et al*, 2019), enquanto que alguns compostos fenólicos podem ser distinguidos em *m/z* 243, entre outros (Tao *et al*, 2016).

8.1 Análise estrutural Molecular Network

A despeito da precisão do MS, falhas de interpretação podem ser cometidas durante a leitura manual, uma vez que a ocorrência de isômeros deve ser sempre considerada. Isso pode tornar o processo de reconhecimento de substâncias demorado, já que num mesmo espectro são encontrados diversos fragmentos constituintes do íon precursor que pode fazer parte de um ou mais isômeros. Assim, como ferramenta complementar, o MN permite agilizar a visualização e interpretação do que pode ser

detectado no MS. Isso é possível porque o MN permite que se tenha uma visão geral de todos os íons moleculares formados no processo de fragmentação e as relações químicas entre eles, o que permite que sejam agrupados entre si por similaridade espectral em relação ao íon precursor (QUINN *et al,* 2016). No presente estudo, foram obtidos 7 *clusters,* contendo 35 nós (compostos), dos quais um pertence à família das kukoaminas, com 13 nós (Tabela 1). A caracterização foi feita manualmente, já que não foi encontrada nenhuma identificação no banco de dados do GNPS.

Assim, com os dados encontrados na literatura, comparou-se os valores *m/z* com os valores contidos nos nós, onde se percebeu que alguns deles possuíam valores bem próximos aos reportados na literatura. Além disso, foi notado que a diferença de massa expressa nas arestas desses nós correspondem aos valores dos fragmentos encontrados, e, portanto, pode ser inferida a similaridade estrutural entre esses compostos.

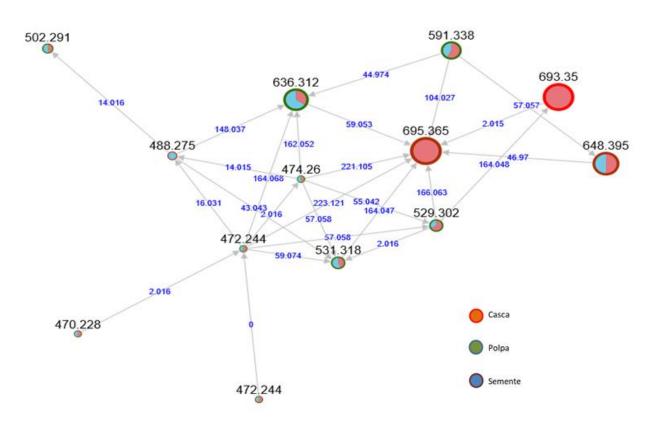


Fig.10 Cluster representativo das kukoaminas do Molecular Network do extrato de juá-açu

A similaridade estrutural entre esses compostos também pode ser confirmada pelo vetor cosine, onde, quanto maior o valor do vetor, maior o número de fragmentos em

comum, e, portanto, maior a similaridade estrutural entre as substâncias analisadas. Dessa forma, com os dados apresentados, é possível afirmar que os nós com os valores próximos aos reportados na literatura correspodem a isômeros de kukoaminas.

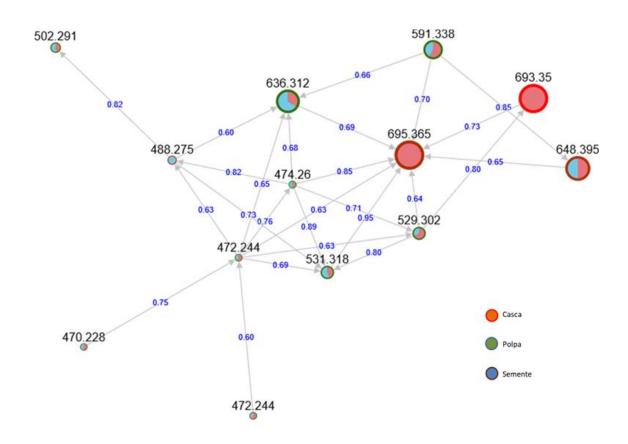


Fig. 11 Cluster representativo das kukoaminas do Molecular Network do extrato de juá-açu (vetor cosine)

8.2 Análise estrutural MS/MS

A análise estrutural MS/MS é feita levando em consideração os fragmentos obtidos. Uma vez que os compostos análogos possuem alguns fragmentos em comum, é possível elucidar suas estruturas, bem como os mecanismos de fragmentação que ocorreram durante o processo de separação no espectrômetro de massas.

A elucidação estrutural é feita de acordo com dados obtidos na literatura, onde fragmentos com estruturas já conhecidas são usados como ponto de partida. Os mecanismos de fragmentação são elucidados com conhecimentos de Química Orgânica, o que permite estabelecer a lógica necessária para o "encaixe" das estruturas

fragmentadas. Em outras palavras, a elucidação estrutural de uma substância se assemelha à montagem de um quebra-cabeças, onde, por tentativa e erro são posicionados os fragmentos, o que pode permitir, por dedução, a estrutura dos fragmentos desconhecidos.

No caso do composto 9 (C₂₈H₄₂N₄O₆ - Kukoamina B), podem ser propostos os seguintes mecanismos de fragmentação:

a) Formação dos fragmentos C16H25N2O3+ e C12H16NO3+

A formação dos dois fragmentos ocorre por clivagem indutiva auxiliada por heteroátomo próximo que possui par de elétrons. Esse heteroátomo está localizado próximo ao sítio de carga do íon fragmento resultante. Nesse mecanismo, o par de elétrons do heteroátomo (N e O, respectivamente) migra entre os orbitais p dos átomos do carbono, e estabiliza a estrutura resultante.

ig 12. Mecanismo de formação do fragmento C₁₆H₂₅N₂O₃+ (m/z 293,3807)

Fig 13. Mecanismo de formação do fragmento C₁₂H₁₆N₂O₃₊ (m/z 222,2597)

b)Formação do fragmento C7H7O2+

A formação desse fragmento é feita por meio do mecanismo de clivagem indutiva simples (ou clivagem α), onde o processo se inicia no sítio de carga, por meio de uma doação do par de elétrons ao hidrogênio α , o qual migra ao carbocátion formado, estabilizando o íon fragmento formado, por meio de rearranjo nas duplas ligações.

Fig 14. Mecanismo de formação do fragmento C7H7O2+ (m/z 123,1287)

Através desse tipo de análise, foi possível confirmar a estrutura das kukoaminas na Tabela 1, assim como a tentativa de identificação baseada na literatura de 6 compostos, enquanto os 5 restantes ainda estão sob investigação. Entretanto, cabe ressaltar que nem todos os compostos poderão ter suas estruturas elucidadas de maneira satisfatória, uma vez que o número de fragmentos detectados é insuficiente para uma abordagem eficaz. É o caso dos compostos nº 5, com apenas três fragmentos e o nº 7 com apenas um fragmento.

De forma geral, as kukoaminas podem ser consideradas reguladores das células em crescimento, diferenciação e morte celular, e isso pode ser atribuído a ação dos seus constituintes, a espermina, a espermidina e a putrescina, as quais são responsáveis pela regulação da função dos ácidos nucleicos, síntese de proteínas e estabilização de membranas. Isso permite, no caso das plantas, que as kukoaminas sejam responsáveis diretas pelo desenvolvimento destas, já que intermedeiam processos como tolerância a

formas de estresse biótico/abiótico, resistência a doenças, defesa contra insetos e microorganismos, bem como crescimento e desenvolvimento das plantas (BASSARD *et al,* 2010). Por essa razão, ensaios biológicos são realizados como forma de demonstrar essas propriedades, cujo caráter terapêutico pode ser usado para tratamento ou prevenção de doenças.

9. CONCLUSÕES

Nesse trabalho, caracterizou-se os compostos do juá açu, utilizado na medicina popular devido sua atividade terapêutica no tratamento de doenças como o diabetes. Até o momento foram encontradas 35 substâncias, das quais 11 são kukoaminas, sendo que 6 dessas foram tentativamente identificadas e 5 permanecem sob investigação. Também foi possível constatar a utilidade e a praticidade de softwares de identificação de compostos, os quais, como ferramentas auxiliares, facilitam o trabalho de identificação de substâncias, já que é possível detectar a presença de isômeros graças às técnicas de agrupamento de compostos por similaridade estrutural.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho é parte de um projeto maior já em andamento, cujo objetivo é caracterizar quimicamente as espécies juá-açu e fruta do lobo, e com os alcaloides extraídos destas comprovar a eficácia dos compostos na proteção contra danos oxidativos e secreção defeituosa de insulina induzida por altos níveis de glicose. Uma vez que o estresse oxidativo está associado a falhas no mecanismo de regulação de glicose, tendo como consequência surgimento de diabetes, a realização de ensaios biológicos que comprovasse a eficácia de alcaloides que atuassem na prevenção de estresse oxidativo e morte celular poderia criar expectativas sobre um tratamento de controle de diabetes baseado em compostos de origem natural. No estudo os compostos foram extraídos e semipurificados, e foi possível comprovar a disrupção da membrana celular por efeito da solamargina e solasonina (extraídos da fruta do lobo), enquanto que essas estruturas eram preservadas quando em contato com a kukoamina (extraída do juá açu), já que suas propriedades anti-oxidativas protegem a mitocôndria das células contra os efeitos de espécies reativas de oxigênio (EROs) causado pelo excesso de glicose. Uma vez que a formação de EROs pode ser prejudicial à regulação dos níveis de insulina, já que afeta o mecanismo dependente da ação da mitocôndria, foi comprovado que a ação da kukoamina na proteção da mitocôndria restaura os níveis de insulina, prevenindo, assim, a formação de diabetes. Portanto, pode ser proposto o uso do extrato de juá açu na prevenção de diabetes, já que ele pode melhorar a funcionalidade da mitocôndria e a secreção de insulina. O artigo que trata desse estudo foi submetido e encontra-se em fase de avaliação. Esse trabalho foi apresentado no congresso virtual LatinXchem em 7/09/2020 sob o título Chemical characterization of Brazilian Sunberry (Solanum oocarpum Sendtn): alkaloid composition.

11. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, N.D.; COELHO, V.P.; AGRA, M.F. Estudo farmacobotânico comparativo de folhas de *Solanum crinitum* Lam., *Solanum gomphodes* Dunal e *Solanum lycocarpum*. Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn. 20(5): Out./Nov. 2010.

BARG, D. G. Plantas Tóxicas. Trabalho (Curso de Fitoterapia no IBEHE /FACIS). 2004. 24p. São Paulo: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"—ESALQ/USP, 2004.

BASSARD, J.E., ULLMANN, P.; BERNIER, F.; REICHHART, D. Phenolamides: Bridging polyamines to the phenolic metabolism. Phytochemistry 71 (2010) 1808–1824.

BEZERRA, J.J.; SANTOS, E.A. Plantas potencialmente medicinais do gênero *Solanum* (Solanaceae): uma revisão. Disponível em https://editorarealize.com.br/revistas/conbracis/trabalhos/TRABALHO_EV108_MD1_SA12_ID1044_20052018151117.pdf. Acesso em 30/03/2020.

CARNEIRO, F.M.; SILVA, M.J.; BORGES, L.L.; ALBERNAZ, L.C.; COSTA, J.P. Tendências dos Estudos com Plantas Medicinais no Brasil. Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais – UEG/Campus de Iporá, v.3, n. 2, p.44-75–jul/dez 2014. CARVALHO, C.; AKISUE, G.; SANTOS, M.R.; CRUZ, R.C.; CORREA, E.F. Screening hipocrático de ratos tratados com extrato hidroetanólico de *Solanum auriculatum* Aiton. Revista Panorâmica On-Line. Barra do Garças–MT, vol. 18, p. 15–25, jan/jul. 2015.

CHIARADIA, M.; COLLINS, C.; JARDIM, I. O Estado da Arte da Cromatografia Associada à Espectrometria de Massas Acoplada à Espectrometria de Massas na Análise de Compostos Tóxicos em Alimentos. Quim. Nova, Vol. 31, No. 3, 623-636, 2008.

COSTA, F.G.; NUNES, F.C.; PERES, V. Mapeamento etnofarmacológico e etnobotânico de espécies de cerrado, na microrregião de Patos de Minas. PERQUIRERE. Patos de Minas: UNIPAM, n. 7, vol. 2, pp. 93-111, dez. 2010.

D'ESPOSITO, D.; FERRIELO, F.; MOLIN, A.; DIRETTO, J.; SACCO, A.; MINIO, A.; BARONE, A.; MONACO, R.; CAVELLA, S.; TARDELLA, L.; GIULIANO, G.; DELLEDONE, M.; FRUSCIANTE, L.; ERCOLANO, M.R. Unraveling the complexity of transcriptomic, metabolomic and quality environmental response of tomato fruit. BMC Plant Biology (2017) 17:66.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R.A.; MACHADO, M.F.; VIDOTI, G.J.; OLIVEIRA, A.J. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn. 18(4): Out./Dez. 2008.

GOMES, A.D.; LIMA, R.A. Identificação de classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos de *Solanum acanthodes* hook e seu potencial fungicida sobre *Candida albicans* in vitro. REGET - V. 18 n. 2 Mai-Ago. 2014, p.736-744.

HAN, J.; QIU, W,; CAO, Z.; HU, J.; GAO,W. Adsorption of ethinylestradiol (EE2) on polyamide 612: Molecular modeling and effects of water chemistry. Water Research, Volume 47, Issue 7, May 2013, Pag. 2273-2284.

HARRIS, D. Explorando a química analítica. Tradução e revisão técnica Júlio Carlos Afonso *et al.* Rio de Janeiro: LTC, 2011.

HUANG, W.; SERRA, O.; DASTMALCHI, K.; JIN, L.; YANG, L.; STARK, R. Comprehensive MS and Solid-State NMR Metabolomic Profiling Reveals Molecular Variations in Native Periderms from Four *Solanum tuberosum* Potato Cultivars. J. Agric. Food Chem. 2017, 65, 2258–2274.

HUSSAIN, M.; DEBNATH, B.; QASIM, M.; BAMISILE, B.; ISLAM, W.; HAMEED, M.; WANG, L.; QIU, D.; Role of Saponins in Plant Defense Against Specialist Herbivores. Molecules 2019,24, 2067.

JAYAKUMAR, K., Murugan, K.: (2016) Solanum Alkaloids and their Pharmaceutical Roles: A Review. J Anal Pharm Res 3(6): 00075.

JUNIOR, E.N.; SANTOS, C.D.; ABREU, C.M.; CORREA,A.D.; SANTOS, J.Z. Análise nutricional da fruta de lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento. Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.4, p.846-851, jul./ago., 2003.

LANÇAS, F. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas:finalmente "compatíveis"? Scientia Chromatographica, v.1, n.2, 2009.

Li, Y.; Di, R.; Hsu, W.; Huang, Y.; Cheung, H.. Quality control of Lycium chinense and Lycium barbarum cortex (Digupi) by HPLC using kukoamines as markers. Chinese Medicine (United Kingdom), 12(1).

LIMA, R.A., Santos, M. R. A., & Smozinski, C. V. (2014). Flora de Rondônia, Brasil: Solanum L. (Solanaceae). Porto Velho-RO: EDUFRO102p.:il.

MACIEL, M.A.; PINTO, A.C.; VEIGA, V.F. Plantas Medicianais: A Necessidade de Estudos Multidisciplinares. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 3, 429-438, 2002.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. Boletim do Centro de Biologia da Reprodução, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MARTINS, K.; CHAVES, L.J.; BUSO, G.S.; KAGEYAMA, P.Y. Mating system and fine-scale spatial genetic structure of *Solanum lycocarpum* St.Hil. (Solanaceae) in the Brazilian Cerrado. Conservation Genetics (2006) 7:957–969.

MILNER, E.M.; BRUNTON, N.P.; JONES, P.W.; O'BRIEN, N.M.; COLLINS, S.G.; MAGUIRE, A.R. Bioactivities of Glycoalkaloids and Their Aglycones

from Solanum Species. J. Agric. Food Chem. 2011, 59, 3454–3484.

NEE, M. Synopsis of *Solanum* in the New World. In: Nee M, Symon DE, Lester RN, Jessop JP (eds), Solanaceae IV. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 285–333.

PAIVA, D. L. *et al.* Introdução á Espectroscopia. 4 ed. norte-americana. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 399-407 p. ISBN 978-85-221-0708-7

PEREIRA, I.S.; RODRIGUES, V.F.; VEGA, M.R. Flavonoides do Gênero *Solanum. Rev. Virtual Quim,* 2016, Vol 8, No. 1, 4-26.

PEREIRA, A.P.; ANGOLINI, C.F.; PAULINO, B.N.; LAURETTI, L.B.; ORLANDO, E.A.; SILVA, J.G.; NERI-NUMA, I.A.; SOUZA, J.D.; PALLONE, J.A.; EBERLIN, M.N.; PASTORE, G.M. A comprehensive characterization of *Solanum lycocarpum* St. Hill and *Solanum oocarpum* Sendtn: Chemical composition and antioxidant properties. Food Research International 124 (2019) 61–69.

PARR, A.J.; MELLON, F.A.; COLQUHOUN, I.J.; DAVIES, H.D. Dihydrocaffeoyl Polyamines (Kukoamine and Allies) in Potato (Solanum tuberosum) Tubers Detected during Metabolite Profiling. J. Agric. Food Chem.2005,53,5461–5466.

PEREIRA, A.P.; ANGOLINI, C.F.; SOUZA, J.C.; OLIVEIRA, H.C.F., PASTORE, G.M. Alkaloids from juá-açu (*Solanum oocarpum* Sendt.) as an effective alternative to controlling ROS production in insulin producting cells. Anais do 13º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2019.

SILVA, C.G.; COLLINS, C.H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. Quim. Nova, Vol. 34, No. 4, 665-676, 2011.

QUINN, R.A.; NOTHIAS, L.F.; VINING, O.; MEEHAN, M.; ESQUENAZI, E.; DORRESTEIN, P.C. Molecular Networking As a Drug Discovery, Drug Metabolism, and Precision Medicine Strategy. Trends Pharmacol Sci. 2017 Feb; 38(2):143-154.

SILVA, S.R.; PROENÇA, C,E. *Solanum L.*(Solanaceae L.) no Distrito Federal : listagem, distribuição e conservação. Heringeriana, Brasília, v.3, n.2, p. 85-91, Dez/2009.

SAMPAIO, V.S.; VIEIRA, I.M.; JÚNIOR, E.A.; LOIOLA, M.I. Flora do Ceará, Brasil: Solanum (Solanaceae). Rodriguésia 70: e02512017. 2019.

SILVA, T.A; PEREIRA, A.P.; PASTORE, G.M.; ANGOLINI, C.F. Chemical characterization of Brazilian Sunberry (*Solanum oocarpum* Sendtn): alkaloid composition. Anais do 1° Congresso Virtual LatinXchem, 2020.

VERMA, P.; KABRA, V.; MUKHOPADHYAY, B. Synthesis of two trisaccharides related to the triterpenoid saponins isolated from *Solanum lycocarpum*. Carbohydrate Research 346 (2011) 2342–2347.

VIOLANTE, I.M.; LIMA NETO, G.A.; KAFFASHI, S.1; LUIZ, W.T.1; FERREIRA, W.R.1; DIAS DA SILVA, Y.S.A.1; PAZIN, G.V.1; Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1069-1077, 2015.

WU, T.; LV., H.; FENGZONG, H.; YI,W. Characterization of Polyphenols from *Lycium ruthenicum* Fruit by UPLC-Q-TOF/MSE and Their Antioxidant Activity in Caco-2 Cells. *J. Agric. Food Chem.* 2016, 64, 11, 2280-2288.

WU, S.; MEYER, R.; WHITAKER, B.; LITT, A.; KENELLY, E. A new liquid chromatography–mass spectrometry-based strategy tointegrate chemistry, morphology, and evolution of eggplant (*Solanum*) species. Wu, S.-B., Meyer, R. S., Whitaker, B. D., Litt, A., & Kennelly, E. J. (2013). A new liquid chromatography–mass spectrometry-based strategy to integrate chemistry, morphology, and evolution of eggplant (Solanum) species. Journal of Chromatography A, 1314, 154–172.