

Calisteginas, alcalóides polihidroxilados inibidores de glicosidasas presentes em *Solanum crinitum***Calistegines, polyhydroxylated alkaloids that inhibit glycosidases present in *Solanum crinitum***

DOI:10.34117/bjdv6n8-079

Recebimento dos originais:08/07/2020

Aceitação para publicação: 10/08/2020

Luís Fernando Lira Souto

Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Química de Produtos Naturais do Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais Walter Mors, UFRJ

Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia

Endereço: Câmpus Porto Velho Calama Av. Calama, 4985 - Flodoaldo Pontes Pinto, Porto Velho - RO, 76820-441, Porto Velho – RO, Brasil

E-mail: luis.lira@ifro.edu.br

Antonio Jorge Ribeiro da Silva

Doutorado em Química pela Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituição: Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais Walter Mors da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Endereço: Avenida Carlos Chagas Filho, 373 Edifício do Centro de Ciências da Saúde, Bloco H Ilha do Fundao, 21941-902, Rio de Janeiro – RJ, Brasil

E-mail: ajorge@ippn.ufrj.br

RESUMO

Calisteginas são um grupo de alcalóides polihidroxilados que apresentam atividade de inibição de glicosidasas e têm ampla ocorrência em plantas do gênero *Solanum* (Solanaceae). Nesse sentido, o presente trabalho tem como objetivo determinar a concentração de calisteginas em frutos de *S. crinitum* e avaliar a atividade de inibição enzimática *in vitro* do extrato hidroalcoólico desses frutos. O IC50 foi calculado por regressão logística de quatro parâmetros. As análises qualitativas foram realizadas por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-EM). Cromatografia em fase gasosa com detector de ionização em chama (GC-FID) foi utilizada na análise quantitativa. O extrato dos frutos de *S. crinitum* apresentou atividade inibitória da α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae*. A análise dos frutos indicou a presença das calisteginas A₃, B₁ e B₂. Os resultados evidenciam que calisteginas tem contribuição na atividade antidiabética e hipoglicemiante atribuída aos frutos de *S. crinitum*.

Palavras-chaves: calisteginas, análise fitoquímica; inibidores de glicosidasas; alcalóides.**ABSTRACT**

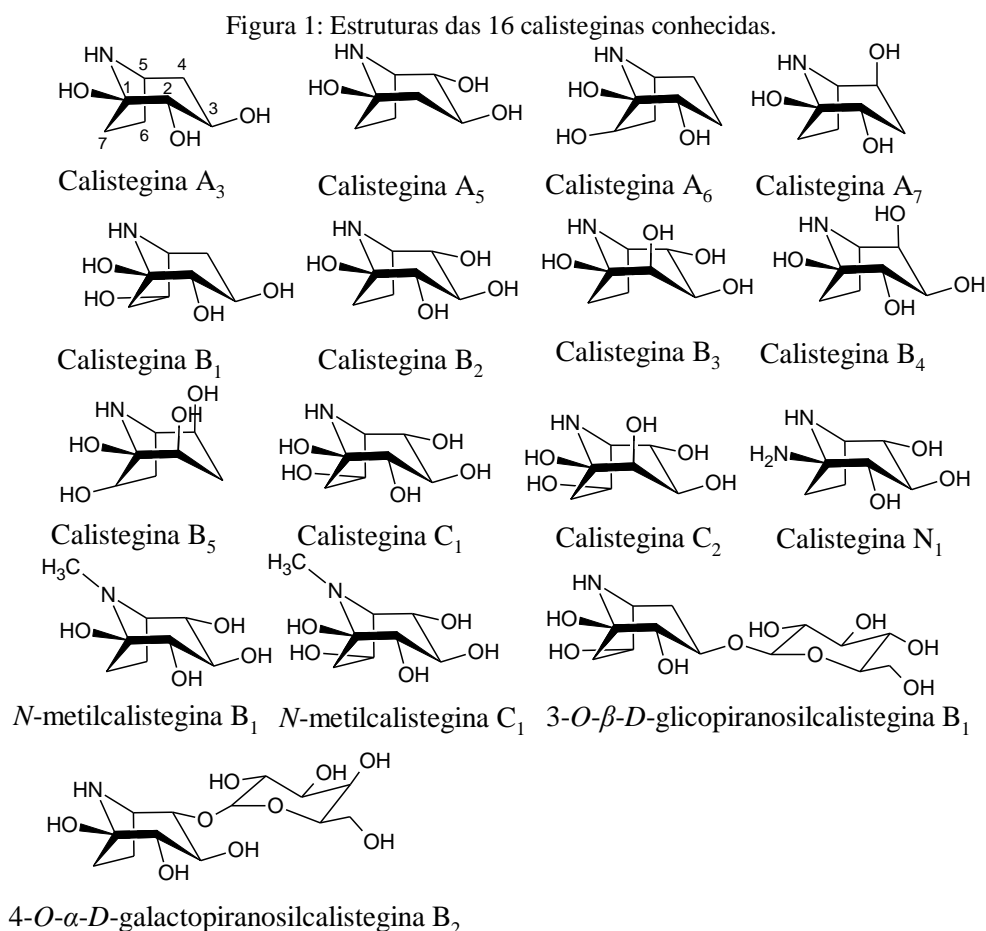
Calystegines are polyhydroxylated alkaloids displaying glycosidase inhibiting activity. These alkaloids are found in several species of the genus *Solanum* (Solanaceae). The present study aims to identify and quantitate calystegines in *S. crinitum* fruits. *S. crinitum* fruits are reported to be used as antidiabetic in traditional medicine. Qualitative analyzes were performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The analysis indicated the presence of calystegines A₃, B₁ and B₂ in fruits. Gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID) was used in

quantitative analysis. The fruits extract of *S. crinitum* showed inhibitory activity against α -glycosidase from *Saccharomyces cerevisiae*. IC₅₀ was calculated using a four parameter logistic regression model. Our results demonstrate that calystegines may have a contribution to the antidiabetic and hypoglycemic activity attributed to *S. crinitum* fruits.

Keywords: calystegines, phytochemical analysis; glycosidase inhibitors; alkaloids.

1 INTRODUÇÃO

As calisteginas são um grupo de alcaloides polihidroxilados cujo esqueleto principal é um anel *nortropânico*, o 8-azabicyclo [3.2.1] octano, ao qual estão ligados de 3 a 5 grupos OH. Com base no número de grupos OH ligados a essa estrutura, elas receberam a seguinte classificação: as calisteginas do tipo A contêm três grupos OH; as do tipo B quatro e as do tipo C cinco (DUCROT; LALLEMAND, 1990; ASANO *et al.*, 1994). Além dessas, foram identificadas calisteginas N-metiladas (ASANO, *et al.*, 1997a), glicosiladas (GRIFFITHS *et al.*, 1996; ASANO, *et al.*, 2001) e a calistegina N, que tem um grupo amino ligado ao carbono C1 (ASANO, *et al.*, 1996). Até o presente momento dezesseis calisteginas estão identificadas na literatura (Figura 1).



Esses alcaloides apresentam estruturas assemelhadas às de açúcares, o que faz com que interajam com glicosidases por meio de um mecanismo em que mimetizam a distribuição de carga no estado de transição da hidrólise enzimática desses substratos, levando à inibição do metabolismo de carboidratos (VARROT *et al.*, 2003; JOCKOVIĆ *et al.*, 2013). A atividade de inibição de glicosidases faz com que o interesse prático nessa classe de substâncias concentre-se principalmente em duas áreas: apresentam potencial terapêutico e são constituintes de alimentos e rações com possíveis efeitos tóxicos (RICHTER; SONNEWALD; DRÄGER, 2007).

Calisteginas são amplamente distribuídas em Solanaceae e Convolvulaceae. Essas duas famílias compreendem a maioria dos gêneros e espécies de plantas a partir das quais essas substâncias foram identificadas (BEKKOUCHE *et al.* 2001; SCHIMMING *et al.*, 2005). A maioria das calisteginas descritas na literatura foram isoladas de plantas da família Solanaceae. Esses alcaloides têm ocorrência reportada em 12 gêneros de Solanaceae: *Atropa*, *Brunfelsia*, *Datura*, *Duboisia*, *Hyoscyamus*, *Lycium*, *Mandragora*, *Nicandra*, *Physalis*, *Scopolia*, *Solanum* e *Withania* (WATSON *et al.*, 2007; BEKKOUCHE *et al.* 2001). Nessa família, o gênero *Solanum* merece especial atenção, uma vez que muitas de suas espécies apresentam importância econômica, agrícola e alimentar tais como: *S. tuberosum* L. (batata); *S. lycopersicum* L. (tomate); *S. melongena* L. (beringela). O gênero *Solanum* corresponde a quase metade de todas as espécies dessa família, das quais muitas são popularmente utilizadas para fins medicinais. No Brasil, o gênero *Solanum* está representado por 283 espécies aceitas, sendo 138 endêmicas, tendo a Mata Atlântica como um dos biomas de grande diversidade do gênero (ANDRADE *et al.*, 2018).

Estudos farmacológicos tem sido realizados para verificar e validar as aplicações medicinais tradicionais de muitas plantas desse gênero que, apesar do seu grande potencial, tem a química da maioria das espécies desconhecida ou superficialmente estudada (KAUNDA; ZHANG, 2019). *S. crinitum* é um exemplo, da qual apenas alguns flavonóides (tilirosídeo, astragalina e canferol) foram isolados a partir dos tricomas das partes aéreas e dos frutos, além de alcalóides esteroidais glicosilados (solamargina; 20-epi-solamargina e solasonina) obtidos do extrato etanólico dos frutos verdes (CORNELIUS *et al.*, 2004; CORNELIUS *et al.*, 2010).

S. crinitum é conhecida como “joá-bravo”, “lobeirinha do norte” e “jurubeba” (LIMA; dos SANTOS; SMOZINSKI, 2014; DE MENDONCA; LOPES, 2019). A planta é um arbusto de até 3,0 m de altura, com tronco, ramos e folhas aculeadas ovais a elípticas lobadas, medindo até 30 cm de comprimento por 20 cm de largura, frutos tipo baga de até 7,0 cm de diâmetro com tricomas estrelados persistentes, corola com 4,0-7,0 cm de diâmetro pentagonal púrpura, lilás ou cerúlea (DE MENDONCA; LOPES, 2019).

Não há referências sobre o consumo dos frutos em culinária, uma vez que, popularmente, estes são considerados tóxicos. Há citações na literatura sobre atividades citotóxicas e antitumorais desta planta (LIMA; dos SANTOS; SMOZINSKI, 2014; DE MENDONCA; LOPES, 2019). No entanto, os frutos de *S. crinitum* são usados na medicina popular para o tratamento do diabetes (ARAÚJO; COELHO; AGRA, 2010). Estes relatos despertaram o nosso interesse em investigar a ocorrência de calisteginas em frutos da espécie, uma vez que não há relatos sobre a ocorrência desses metabólitos em *S. crinitum* (AGRA *et al*; 2009; LIMA; dos SANTOS; SMOZINSKI, 2014). Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho é determinar a concentração de calisteginas em frutos de *S. crinitum* e verificar a atividade de inibição enzimática *in vitro* do extrato hidroalcolólico desses frutos.

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 MATERIAL VEGETAL

Frutos de *S. crinitum* foram coletados em Porto Velho, Rondônia, região amazônica, Brasil. A espécie foi identificadas pelo botânico Massimo Giuseppe Bovini, pesquisador do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

2.2 PADRÕES E REAGENTES

Os solventes utilizados na extração e nas análises por CG-EM e CG-FID foram todos de elevado grau de pureza. A resina de troca iônica (Dowex AG 50W X8), o meio filtrante (Celite 545), o reagente para derivatização N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA), piridina anidra, α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae*, acarbose, tampão fosfato pH 7 e p-nitrofenil- α -D-glucopiranosídeo (PNPG) foram todos adquiridos da Sigma Aldrich. O perseitol (D-glycero-D-galacto-heptitol) da Santa Cruz Biotechnology e os padrões de calisteginas A₃, B₂ e B₄ da Carbosynth. Os demais reagentes utilizados são de alta pureza.

2.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS ENRIQUECIDOS PARA OS ENSAIOS ENZIMÁTICOS

Os frutos frescos foram triturados e liofilizados, em seguida foi pesado 1 g do material. A extração foi realizada com metanol/água (1:1, v/v, 20 mL) em banho ultrassônico por 30 min. Cada amostra foi filtrada sob pressão reduzida através de meio filtrante (Celite 545), e o filtrado foi reduzido para 3 mL utilizando evaporador rotatório a 60 °C sendo o pH ajustado para 4,0 com HCl 1 M. A solução foi introduzida em uma coluna (50 mm x 12 mm) empacotada com 15 mL de resina de troca iônica de caráter ácido (Dowex AG 50W X8) e lavada três vezes com água ultrapura. Em

seguida o material foi eluído com solução aquosa de NH_4OH 2 M, utilizando vazão de aproximadamente 1 mL/min. O eluente alcalino foi recolhido e o volume reduzido para 2–6 mL, utilizando evaporador rotatório a 60 °C. Em seguida o material foi liofilizado.

2.4 ENSAIOS ENZIMÁTICOS

Os ensaios enzimáticos foram realizados em placas de 96 poços, em triplicata. A cada poço foram adicionados 36 μL da solução tampão de fosfato, 30 mL de solução de amostra com várias concentrações (10, 25, 50, 100 e 150 $\mu\text{g/mL}$ - concentrações finais no poço após a adição de todos os reagentes) e 17 μL de PNPG na concentração de 5 mM. Esta mistura foi incubada a 37 °C por 5 min. Em seguida, foram adicionados 17 μL da solução de α -glicosidase 0,15 U/mL. A mistura foi incubada por 15 min para obter a reação de hidrólise completa. Após 15 min, a reação foi interrompida pela adição de 100 μL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 200 mM. Como controle positivo foi empregado acarbose. As absorvâncias foram medida a 405 nm usando-se uma leitora de microplacas Kasuaki (ELYA *et al.*, 2015).

A inibição foi calculada com base nos parâmetros de ausência e presença do inibidor, dado pela equação 1.

$$\% \text{ de inibição} = \frac{(\text{Parâmetro sem inibidor} - \text{Parâmetro com inibidor})}{\text{Parâmetro sem inibidor}} \times 100 \quad (1)$$

O IC50 foi calculado utilizando um modelo de regressão logística de quatro parâmetros (equação 2), no qual foi empregada a ferramenta Quest Graph™ IC50 (MLA, 2020).

$$Y = \text{Min} + \frac{\text{Max} - \text{Min}}{1 + \left(\frac{X}{\text{IC}_{50}}\right)^{\text{Coeficiente de Hill}}} \quad (2)$$

Nessa equação, a concentração do inibidor é representada por X, IC50 é a concentração de inibidor necessário para inibir 50% da atividade enzimática e o coeficiente de Hill é o fator de inclinação (VOLPE; HAMED; ZHANG, 2014).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como a média \pm desvio padrão de ensaios em triplicata. A análise de variância (ANOVA, fator único) e o teste t pareado foram utilizados para a comparação

da inibição enzimática. Para a execução dos testes estatísticos foi utilizado o *software* GraphPad Prism, versão 8.

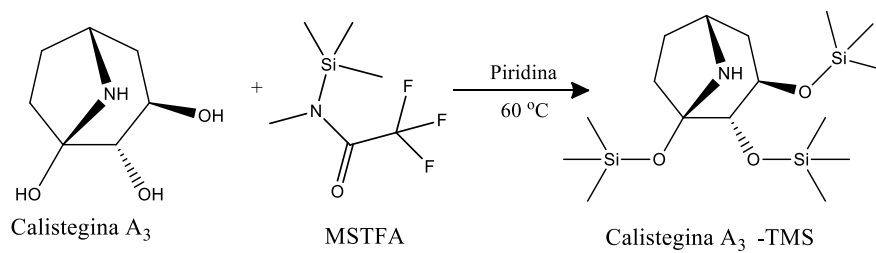
2.6 EXTRAÇÃO DAS CALISTEGINAS

As etapas de extração e derivatização seguiram a metodologia empregada por Friedman, Roitman e Kozukue (2003) com algumas alterações.

O material fresco foi triturado, homogeneizado e em seguida pesado 1 g em triplicata. A extração foi realizada com metanol/água (1:1, v/v, 20 mL) em banho ultrassônico por 30 min. Cada amostra foi filtrada sob pressão reduzida através de meio filtrante (Celite 545), e o filtrado foi reduzido para 3 mL utilizando evaporador rotatório a 60 °C sendo o pH ajustado para 4,0 com HCl 1 M. A solução foi introduzida em uma coluna (50 mm x 12 mm) empacotada com 15 mL de resina de troca iônica de caráter ácido (Dowex AG 50W X8) e lavada três vezes com água ultrapura. Em seguida o material foi eluído com solução aquosa de NH₄OH 2 M, utilizando vazão de aproximadamente 1 mL/min. O eluente alcalino foi recolhido e o volume reduzido para 2–6 mL, utilizando evaporador rotatório a 60 °C. A solução resultante foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, diluída e avolumada com água ultrapura. Alíquotas de 1,0 mL foram transferidas para frascos (vials) de 1,5 mL e liofilizadas.

2.7 DERIVATIZAÇÃO

Calisteginas não são voláteis, nem lipofílicas, assim requerem transformação para uma forma volátil com agentes de sililação suaves antes da análise por CG (BIASTOFF; DRÄGER, 2007). Deste modo, a cada *vial* contendo o extrato alcaloídico foram adicionados 50 µL de piridina anidra, 45 µL N-metil-N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA), a reação segue ilustrada na Figura 2. Como padrão interno 5 µL de uma solução de 2 mg/mL de perseitol (D-glicerol-D-galacto-heptitol) derivatizado com 50 µL de piridina anidra e 50 µL MSTFA previamente aquecidas durante 1 h a 100 °C. Os frascos foram então aquecidos por 30 min a 60 °C em um banho seco para frascos (*vials*) de 1,5 mL.

Figura 2: Equação para a reação de derivatização da calistegina A₃ com MSTFA

3 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

3.1 CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

Nas análises cromatográficas foi utilizada a metodologia empregada por Bourebaba *et al.* (2016) modificada. As amostras derivatizadas foram analisadas em um cromatógrafo CG-EM (GCMS-QP2010 Plus Shimadzu), equipado com uma coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), empregando He como gás de arraste e velocidade linear de 37 cm/seg. O volume injetado foi 1 µL no modo divisão de fluxo (razão 1:20) com temperatura de injeção de 250 °C e programação de temperatura iniciando com 100 °C durante 5 min, seguida por uma taxa de aquecimento de 10 °C/min até 270 °C, temperatura que foi mantida por 5 min. O tempo total de análise foi de 27 min. Os parâmetros de detecção no espectrômetro de massas foram: temperatura da interface 280 °C e da fonte de íons, 200 °C; faixa de massas, m/z 50-600; eletroionização a 70 eV, velocidade de varredura 1428 amu.seg⁻¹; tempo de evento 0,50 seg. As amostras foram analisadas simultaneamente nos modos de aquisição *SCAN* (*full scan mode*) e *SIM* (*selective ion monitoring mode*).

Para a identificação das calisteginas a partir dos cromatogramas obtidos no modo *SIM* foram monitorados os seguintes pares de íons: 129 m/z e 244 m/z para B₁; 217 m/z e 229 para B₂; m/z 217 e 259 para B₃; m/z 217 e 244 para B₄; m/z 217 e 375 para C₁; m/z 244 e 156 m/z para A₃ e A₅; e m/z 390 para N₁ (BOUREBABA *et al.*, 2016). A coleta e o processamento dos dados foram realizados utilizando o *software GCMS Solution* versão 2.5 (Shimadzu).

Os tempos de retenção e espectros de massas de padrões autênticos foram utilizados para confirmar a presença das calisteginas A₃, B₂ e B₄, como éteres de TMS nas amostras. A identificação das demais calisteginas foi realizada a partir da comparação com espectros de massas publicados na literatura (DRÄGER, 1995; GRIFFITHS; SHEPHERD; STEWART, 2008; JOCKOVIĆ, 2014).

3.2 CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA COM DETECÇÃO POR IONIZAÇÃO EM CHAMA (CG-FID)

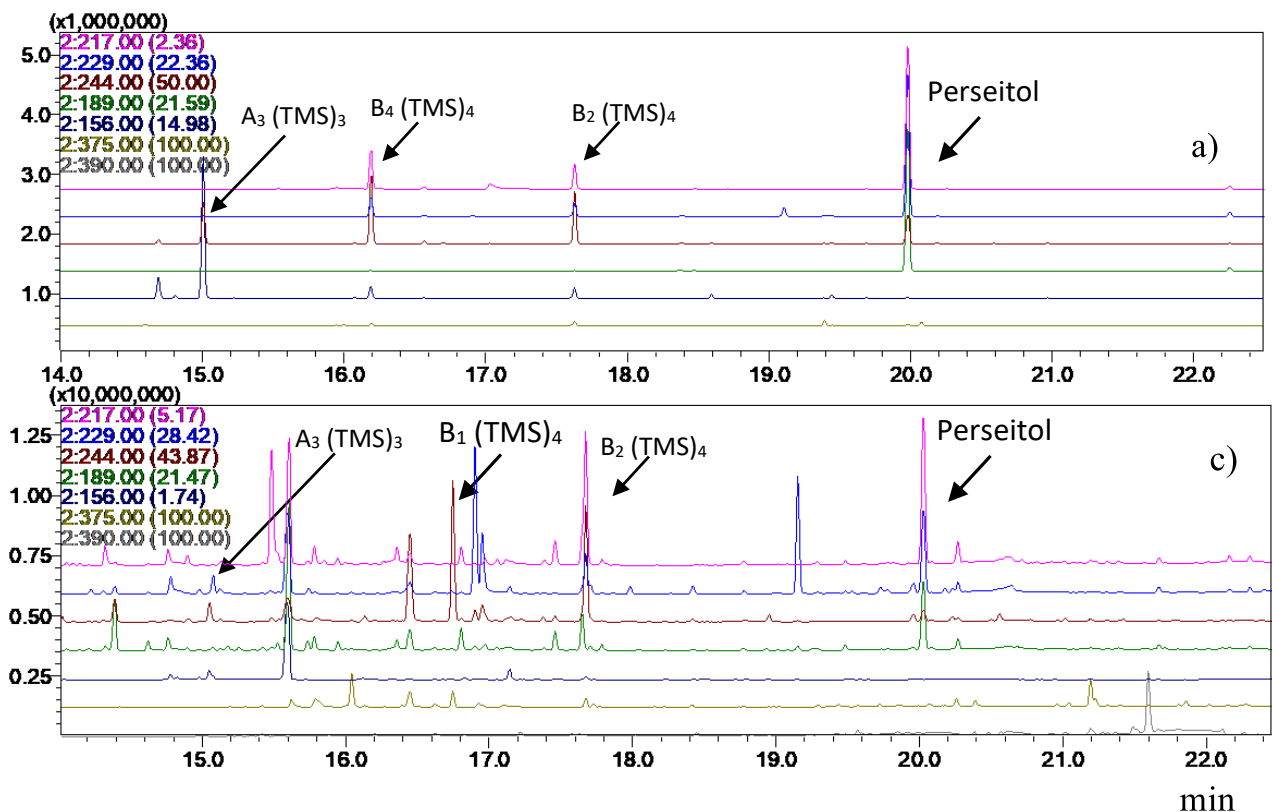
As amostras foram analisadas por cromatografia em fase gasosa com detecção por ionização em chama em um cromatógrafo com detector FID (CG-2010 Plus Shimadzu), equipado com injetor automático (AOC-20) e coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). As condições cromatográficas foram as mesmas empregadas nas análises por CG/EM, com a temperatura do detector em 300 °C, velocidade linear do gás de arraste 30 cm/seg. Curvas de calibração foram construídas a partir de padrões analíticos de calisteginas A₃, B₂ e B₄ (Carbosynth) com uma série de seis (06) soluções de calisteginas trimetilsililadas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OCORRÊNCIA DE CALISTEGINAS NAS AMOSTRAS

Nos frutos de *S. crinitum* calisteginas A₃, B₁ e B₂ foram detectadas, cromatogramas típicos das amostras obtidos por CG-EM nos modos de aquisição *SCAN* e *SIM* simultâneos estão ilustrados na Figura 3.

Figura 3: Cromatograma CG-EM (SIM) de trimetilsilil (TMS) derivados de calisteginas obtidos para:



a) padrões analíticos de calisteginas A₃, B₂ e B₄; b) frutos de *S. crinitum*.

As calisteginas A₃ e B₂ foram identificadas com uso de padrões analíticos por comparação do tempo de retenção relativo ao perseitol e seus espectros de massas. Além do auxílio dos dados adquiridos em modo de aquisição *SIM* via CG-EM. Em relação à detecção da calistegina B₁, é importante destacar que o uso do modo *SIM* aumenta a sensibilidade e seletividade do método (PIZZUTTI et al., 2012), possibilitando a realização de análises qualitativas em conjunto com os espectros de massas obtidos pelo modo *SCAN*. Com esses dados em mãos foi possível identificar a presença dessa calistegina sem a necessidade do uso de padrões analíticos, tendo em vista a substância ser conhecida e ter seu perfil de fragmentação divulgado na literatura (GRIFFITHS; SHEPHERD; STEWART, 2008). Calisteginas A₃, B₁ e B₂ são as mais comuns em espécies de *Solanum*, esses metabólitos secundários estão presentes em batata, tomate e berinjela (NASH et al., 1993; ASANO et al., 1997). Todavia, de maneira geral, as calisteginas B₂, A₃ e B₁, nesta ordem são as mais abundantes, B₂ ocorre em quase todas as plantas conhecidas por produzir calisteginas, possivelmente devido aos quatro grupos hidroxila equatoriais, pode ser a forma mais estável dentro das calisteginas do grupo B (BIASTOFF; DRÄGER, 2007).

As calisteginas A₃ e B₂ foram quantificadas com uso de padrões analíticos por CG-FID, as curvas foram construídas com uma série de seis (06) soluções de calisteginas trimetilsililadas com concentrações variando de 0,01 a 0,2 mg L⁻¹, a linearidade da curva foi demonstrada pelos valores dos coeficientes de correlação superiores a 0,98 nas curvas para os dois analitos (Tabela 1). O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram determinados pelo método baseado em parâmetros da curva analítica, o qual é apontado como o melhor caminho para o cálculo do LD e LQ em cromatografia, por ser estatisticamente mais confiável (RIBANI et al., 2004).

Tabela 1: dados de regressão da curva de calibração em CG-FID.

Parâmetros	A ₃	B ₂
Coeficiente de determinação (r ²)	0,987	0,995
Limite de detecção – LD (mg L ⁻¹)	0,03	0,01
Limite de quantificação – LQ (mg L ⁻¹)	0,06	0,04

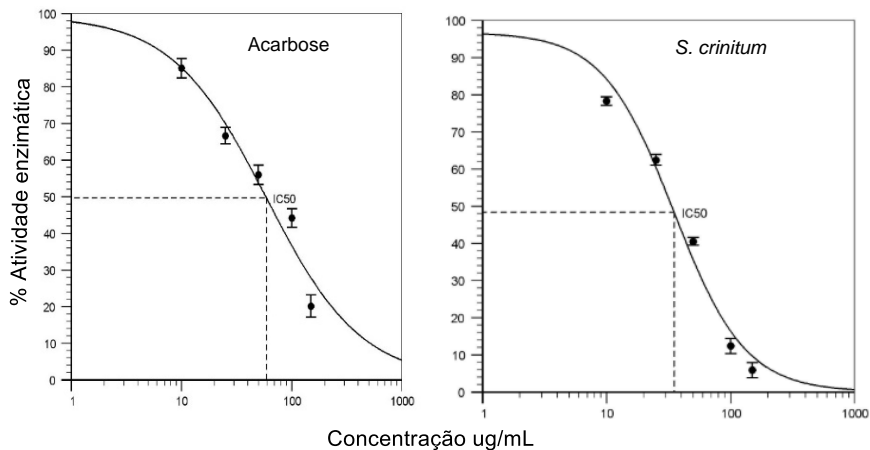
Após a construção das curvas, as amostras de frutos de *S. crinitum* foram analisadas em triplicata. A calistegina A₃ (11,30 ± 0,50 mg/kg) foi encontrada em concentração menor que a de B₂ (15,89 ± 2,42). A presença em maior quantidade da calistegina B₂ é comum em espécies da família

Solanaceae (ASANO, 1997; BIASTOFF; DRÄGER, 2007). As concentrações das calisteginas A₃ e B₂ nos frutos de *S. crinitum* encontram-se dentro de uma ampla faixa determinada em outras espécies de *Solanum*, especialmente às observadas em berinjela (*S. melongena*) (0,6 – 28,1 mg/kg e 0,3 – 124 mg/kg, respectivamente) (ASANO, 1997; MULDER 2016) e jiló (*S. aethiopicum*) (6,03 mg/kg e 8,05 – 23,79mg/kg, respectivamente) (SOUTO; SILVA, 2020). Cabe ressaltar que berinjelas e jilós também são utilizados na medicina popular como agentes antidiabéticos e hipoglicemiantes (SANTOS; NUNES; MARTINS, 2012; DOS SANTOS, 2017).

4.2 ATIVIDADE INIBITÓRIA DOS EXTRATOS

O extrato dos frutos de *S. crinitum* foi testado para inibição de α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae*, apresentando atividade inibitória contra essa enzima (Figura 4).

Figura 4: inibição *in vitro* da atividade de α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae*.



As várias concentrações de extrato afetaram a atividade enzimática de maneira diferente da acarbose ($p < 0,05$). Os resultados são melhor demonstrados pelos valores de IC₅₀ obtidos para ambos (Tabela 1).

Tabela 2: Valores individuais de IC₅₀ (média \pm desvio padrão).

Espécie	IC ₅₀ (ug/mL)
<i>S. crinitum</i>	35,40 \pm 2,67
Acarbose	59,07 \pm 6,41

O IC50 medido para acarbose está em concordância com dados da literatura para a inibição da atividade de α -glicosidases (APOSTOLIDIS; LEE, 2010; RIVERA-CHÁVEZ, *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2017). O extrato dos frutos de *S. crinitum* inibiu α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae* de maneira mais potente que a acarbose, que é um inibidor de glicosidases utilizado como medicamento para tratar o *diabetes mellitus* tipo 2 (ROSAK; MERTES, 2012).

Portanto, a inibição enzimática *in vitro* de α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae* apresentada pelo extrato somada a presença das calisteginas A₃, B₁ e B₂ fornecem evidências da atividade antidiabética e hipoglicemiante dos frutos de *S. crinitum*.

5 CONCLUSÕES

O extrato dos frutos de *S. crinitum* apresentou atividade inibitória contra a α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae* com IC50 menor que acarbose. A análise dos frutos indicou a presença das calisteginas A₃, B₁ e B₂. As concentrações das calisteginas A₃ e B₂ foram determinadas. Os resultados evidenciam que calisteginas podem estar relacionadas à atividade antidiabética e hipoglicêmica atribuída aos frutos de *S. crinitum*.

AGRADECIMENTOS

Ao IFRO, DEPESP – Câmpus Porto Velho Calama, UFRJ/IPPN, CNPq, CAPES e FAPERJ pelo apoio institucional e financeiro.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F. A New Species of *Solanum* subgenus *Leptostemonum* (Solanaceae) from Chapada da Diamantina, Bahia, Brazil. **Novon**, p. 292-295, 1999.
- ANDRADE, L. E. *et al.* Brazilian Flora 2020: innovation and collaboration to meet target 1 of the global strategy for plant conservation (GSPC). 2018.
- APOSTOLIDIS, E.; LEE, C. M. In vitro potential of *Ascophyllum nodosum* phenolic antioxidant-mediated α -glucosidase and α -amylase inhibition. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 3, p. H97-H102, 2010.
- ARAÚJO, N. D.; COELHO, V. P. M.; AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo de folhas de *Solanum crinitum* Lam., *Solanum gomphodes* Dunal e *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., Solanaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 666-674, 2010.
- ASANO, N. *et al.* Calystegin N1, a novel nortropane alkaloid with a bridgehead amino group from *Hyoscyamus niger*: Structure determination and glycosidase inhibitory activities. **Carbohydrate Research**, v. 284, n. 2, p. 169-178, 1996.

ASANO, N. *et al.* N-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities. **Carbohydrate Research**, v.259, n.2, p.243-255, 1994b.

ASANO, N. *et al.* Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworms (*Bombyx mori* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4208-4213, 2001.

ASANO, N. *et al.* Specific α -galactosidase inhibitors, N-methylcalystegines structure/activity relationships of calystegines from *Lycium Chinense*. **European Journal of Biochemistry**, v. 248, n. 2, p. 296-303, 1997a.

ASANO, N. *et al.* The effects of calystegines isolated from edible fruits and vegetables on mammalian liver glycosidases. **Glycobiology**, v.7, n.8, p.1085-1088, out. 1997b.

BEKKOUCHE, K. *et al.* Calystegine distribution in some solanaceous species. **Phytochemistry**, v. 58, n. 3, p. 455-462, 2001.

BIASTOFF, S.; DRÄGER, B. Calystegines. In: CORDELL, G. A. (Org.). **The Alkaloids: Chemistry and Biology**. San Diego: Academic Press, 2007, Cap.2, p.49-52.

BOUREBABA, L. *et al.* Evaluation of antidiabetic effect of total calystegines extracted from *Hyoscyamus albus*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 82, p. 337-344, 2016.

CORNELIUS, M. T. F. *et al.* Other chemical constituents isolated from *Solanum crinitum* Lam.(Solanaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 12, p. 2211-2219, 2010.

CORNELIUS, M. T. F. *et al.* Solasonina e flavonóides isolados de *Solanum crinitum* Lam. **Rev Bras Farm**, v. 85, p. 57-59, 2004.

DE MENDONCA, J. L.; LOPES, J. F. **Coleção de germoplasma de espécies silvestres de Solanum da Embrapa**. Brasília: Embrapa, 2019.

DOS SANTOS, K. A. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas como hipoglicemiantes por usuários do Programa de Fitoterapia da Universidade Federal do Maranhão, Brasil. **Scientia Plena**, v. 13, n. 3, 2017.

DRÄGER, B. Identification and quantification of calystegines, polyhydroxyl nortropane alkaloids. **Phytochemical Analysis**, v. 6, n. 1, p. 31-37, 1995.

DUCROT, P.-H.; LALLEMAND, J. Y. Structure of the Calystegines: New alkaloids of the nortropane family. **Tetrahedron Letters**, v. 31, n. 27, p. 3879-3882, 1990.

ELYA, B. *et al.* Antidiabetic activity and phytochemical screening of extracts from Indonesian plants by inhibition of alpha amylase, alpha glucosidase and dipeptidyl peptidase IV. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 18, n. 6, p. 279, 2015.

FRIEDMAN, M.; ROITMAN, J. N.; KOZUKUE, N. Glycoalkaloid and calystegine contents of eight potato cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2964-2973, 2003.

GRIFFITHS, D. W.; SHEPHERD, T.; STEWART, D. Comparison of the calystegine composition and content of potato sprouts and tubers from *Solanum tuberosum* group Phureja and *Solanum tuberosum* group Tuberosum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 13, p. 5197-5204, jun. 2008.

JOCKOVIĆ, N. **Biological role of calystegines**: isolation from potato sprouts, analysis and dietary perspectives. 2014. 164f. Tese (Doutorado) - Faculty of Sciences I, Martin Luther University Halle-Wittenberg, Halle, 2014.

JOCKOVIĆ, N. *et al.* Inhibition of human intestinal α -glucosidases by calystegines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, n.23, p.5550-5557, maio 2013.

KAUNDA, J. S.; ZHANG, Y.-J. The Genus *Solanum*: An Ethnopharmacological, Phytochemical and Biological Properties Review. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 9, n. 2, p. 77-137, 2019.

LIMA, R. A.; dos SANTOS, M. R. A.; SMOZINSKI, C. V. (Orgs.). **Flora de Rondônia, Brasil: *Solanum* L. (Solanaceae)**. Porto Velho-RO: EDUFRO, 2014.102 p.

MLA. **Quest Graph™ IC50 Calculator**. AAT Bioquest, Inc. 2020. Disponível em: <https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>. Acesso em: 15 maio 2020.

MULDER, P. P. J. *et al.* Occurrence of tropane alkaloids in food. **EFSA Supporting Publications**, v.13, n.12, p.1140E, dez. 2016.

NASH, R. J. *et al.* Calystegines in *Solanum* and *Datura* species and the death's-head hawk-moth (*Acherontia atropus*). **Phytochemistry**, v. 34, n. 5, p. 1281-1283, 1993.

PIZZUTTI, I. R. *et al.* A multi-residue method for pesticides analysis in green coffee beans using gas chromatography–negative chemical ionization mass spectrometry in selective ion monitoring mode. **Journal of Chromatography A**, v. 1251, p. 16-26, 2012.

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RICHTER, U.; SONNEWALD, U.; DRÄGER, B. Calystegines in potatoes with genetically engineered carbohydrate metabolism. **Journal of Experimental Botany**, v.58, n.7, p.1603-1615, 2007.

RIVERA-CHÁVEZ, J. *et al.* Thielavins A, J and K: α -Glucosidase inhibitors from MEXU 27095, an endophytic fungus from *Hintonia latiflora*. **Phytochemistry**, v. 94, p. 198-205, 2013.

ROSAK, C.; MERTES, G. Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: patient considerations. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy**, v. 5, p. 357, 2012.

SANTOS, M. M.; NUNES, M. G. S.; MARTINS, R. D. Uso empírico de plantas medicinais para tratamento de diabetes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 327-334, 2012.

SCHIMMING, T. *et al.* Calystegines as chemotaxonomic markers in the Convolvulaceae. **Phytochemistry**, v. 66, n. 4, p. 469-480, 2005.

SOUTO, L. F. L.; SILVA, A. J. R. Calisteginas, alcalóides polihidroxilados presentes em hortaliças: frutos e tuberosas. **Química Nova**, v. 43, n. 1, p. 37-43, 2020.

VARROT, A. *et al.* Direct observation of the protonation state of an imino sugar glycosidase inhibitor upon binding. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 25, p. 7496-7497, 2003.

VOLPE, D. A.; HAMED, S. S.; ZHANG, L. K. Use of different parameters and equations for calculation of IC 50 values in efflux assays: potential sources of variability in IC50 determination. **The AAPS journal**, v. 16, n. 1, p. 172-180, 2014.

WATSON, A. A. *et al.* **Calystegine alkaloids in the potato and other food plants**. In: Tu, A.T.; Gaffield, W. (Org.). *Natural and Selected Synthetic Toxins*, Washington: American Chemical Society, 2007, p. 129-139.

ZHANG, B.-W. *et al.* Dietary flavonoids and acarbose synergistically inhibit α -glucosidase and lower postprandial blood glucose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 38, p. 8319-8330, 2017.