

Solasonina e flavonóides isolados de *Solanum crinitum* Lam

Solasonin and flavonoids isolated from *Solanum crinitum* Lam

Marli T. F. Cornelius^{1*}, Cassia C. F. Alves¹, Tania M. S. da Silva¹, Kelly Z. Alves¹, Mário G. de Carvalho², Raimundo Braz-Filho² & Maria de F. Agra³

RESUMO – O fracionamento cromatográfico dos extratos dos tricomas das partes aéreas e dos frutos de *Solanum crinitum* forneceu os flavonóides tirilosídeo, astragalina e kanferol. O fracionamento em coluna de sephadex da fração de alcalóides obtida do extrato etanólico dos frutos verdes da planta conduziu ao isolamento da solasonina. As estruturas foram determinadas através da análise dos dados espectrométricos de IV e RMN ¹H e ¹³C das substâncias naturais e derivados.

PALAVRAS-CHAVE – *Solanum crinitum* Lam, Solanaceae, solasonina, flavonóides.

SUMMARY – The chromatographic fractionation of the extracts from aerea parts and unripe fruit of *Solanum crinitum* trichomes yielded the flavonoids tiriloside, astragalina and kaempferol. The fractionation of alkaloids fraction from the fruit's etanolic extract on sephadex column yielded the alkaloid solasonine. The structures were defined by IR and ¹H and ¹³C NMR spectral analysis of the natural compounds and its derivatives.

KEYWORDS – *Solanum crinitum* Lam, Solanaceae, solasonin, flavonoids.

INTRODUÇÃO

Solanum crinitum Lam. (Solanaceae) ocorre como arbusto a arvoreta e tem distribuição na América do Sul, desde o sul do Brasil até a Colômbia (Fig. 1). Espécies de *Solanum* são geralmente vistosas, revelando maior capacidade de desenvolvimento que as demais espécies do meio.

Geralmente são encontradas em regiões de baixada e alagados. São citadas com freqüência na literatura por produzirem frutos ricos em alcalóides glicosilados que, se ingeridos, podem causar náuseas, vômito, dores abdominais, aborto e etc¹. São conhecidas, inclusive, por produzirem efeito alelopático associado à presença dos alcalóides glicosilados espirosolanos como a solamargina e a solasonina que suprimem o crescimento de sementes de outras espécies^{2,3,4}.

Além dos alcalóides, os flavonóides constituem um dos grupos de substâncias mais freqüentes em espécies do gênero *Solanum*. Os dados químicos baseados nos padrões flavonóides contribuem para uma compreensão sistemática dos táxons nos níveis mais baixos de classificação na família⁵ e, neste

sentido relatamos um perfil químico de *Solanum* com base na ocorrência de flavonóide⁶. A avaliação da atividade citotóxica frente a células de carcinoma de Ehrlich e da leucemia humana K562 de substâncias isoladas dos tricomas e das partes aéreas de *S. crinitum* permitiu verificar que a presença de açúcares nas estruturas dos alcalóides são importantes nestas atividades⁷.

Este é o primeiro relato de estudo fitoquímico de *Solanum crinitum* descrevendo o isolamento e identificação de constituintes presentes nos tricomas da parte aérea e dos frutos verdes desta planta. Foram identificados três flavonóides, tilirosídeo **1**, astragalina **2**, kanferol **3** e o alcalóide solasonina **4**.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material botânico

Os tricomas e os frutos verdes de *Solanum crinitum* foram coletados em maio de 2001 no Km 50 da antiga rodovia Rio-São Paulo, RJ, Brasil. A exsiccata da espécie (Sarmento S/N JPB-28000) encontra-se depositado no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB), Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, Brasil.

Extração e isolamento

Os tricomas das partes aéreas de *S. Crinitum* (9,7g) foram retirados do caule e folhas friccionando com vidro, subseqüentemente extraídos com CHCl₃ em banho de ultra-som. O solvente foi removido através de destilação em evaporador rotativo sob vácuo. O resíduo foi tratado com MeOH fornecendo o sólido (A) e uma fase líquida (B). A fase líquida B foi cromatografada em coluna de sephadex LH-20, usando MeOH como eluente. As frações 7, 8 e 9 revelaram-se puras através de cromatografia em camada delgada analítica de sílica que foram identificados, respectivamente, como o tilirosídeo **1** (10,3mg) e astragalina **2** (10,0mg).



FIG. 1 - *Solanum crinitum* Lam., aspectos gerais da planta.

Recebido em 20/11/2003

¹Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, UFRJ, Seropédica - RJ, Brasil

²Setor de Química de Produtos Naturais, LCQUI-CCT, UENF, Campos - RJ, Brasil

³Centro de Ciências da Saúde, LTF, UFPB, João Pessoa - PB, Brasil

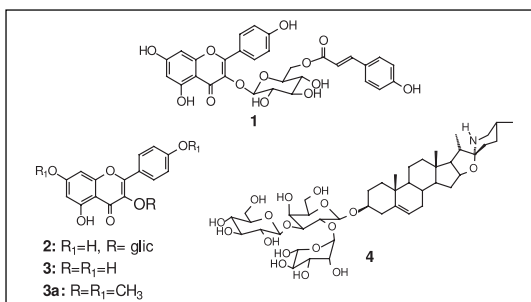


FIG. 2 - Estruturas dos constituintes isolados de *Solanum crinitum*.

Os extratos clorofórmico e metanólico dos frutos verdes foram cromatografado em coluna de sephadex LH-20 usando metanol como eluente. Da coluna do extrato CHCl₃ foram recolhidas 20 frações e as frações 17/20 forneceram um material pastoso correspondente ao flavonóide **1** (10,5mg). Recolheram-se 50 frações da coluna do extrato MeOH e as frações 3/13 forneceram um material amarelo pastoso que foi identificado como kanferol (**3**, 73,7mg). Foi preparado o derivado **3a** (21,5mg) através de metilação com diazometano.

O extrato EtOH-H₂O-AcOH (90:8:2) dos frutos verdes (2,6Kg) foram obtidos através de maceração até exaustão e os solventes foram retirados através de destilação sob vácuo. O resíduo obtido foi dissolvido em H₂O-AcOH (9:1), filtrado em celite, alcalinizado com NH₄OH, pH 9-10 e forneceu um precipitado (96,4g) que foi removida através de filtração. O teste com Drargendorff confirmou a presença de alcalóides no precipitado obtido. Este material contendo os alcalóides glicosilados foi fracionado em coluna de sephadex LH 20 usando como eluente metanol. Foram recolhidas 20 frações e a fração 1, após cristalização em acetona, forneceu o alcalóide solasonina (**4**, 250,0mg, pf 301 °C).

Procedimentos gerais

Os pontos de fusão não foram corrigidos. Os espectros no IV foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer FT 1600/1605 usando discos de KBr ou filmes de NaCl. Os espectros de RMN foram registrados nos aparelhos Bruker (200 MHz para ¹H e 50,3 MHz para ¹³C) e Jeol JNM-GX-400 (400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C). Foram usadas soluções em Acetona, Clorofórmio ou metanol deuterao contendo TMS como referência interna e colocadas em tubos de 5mm. Utilizou-se sílica gel (Merck and Aldrich com granulações adequadas para cromatografia em coluna e camada fina. As frações coletadas foram analisadas através cromatografia em camada fina e reveladas através de visualização em lâmpada UV (254 E 366nm) reveladas com AlCl₃-EtOH (1%), Drargendorff e vapores de iodo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento cromatográfico dos extratos dos tricomas das partes aéreas, folhas e caule, *Solanum crinitum* forneceu os flavonóides tilirosídeo (**1**), astragalina (**2**) e tricomas dos frutos verdes tilirosídeo e o Kanferol (**3**). O procedimento de extração para alcalóides e filtração em sephadex do extrato etanólico dos frutos verdes forneceu o alcalóide glicosilado conhecido como solasonina (**4**).

Os espectros obtidos no IV dos flavonóides apresentaram bandas típicas de grupos hidroxílicos (ν_{OH} 3450cm⁻¹), de sistemas aromáticos ($\nu_{C=C}$ 1600, 1500, 1450cm⁻¹) e de grupo éter (ν_{C-O} 1230cm⁻¹).

O espectro de RMN ¹H do tilirosídeo **1** apresentou sinais compatíveis com um flavonóide. O anel A representado pelos sinais em δ_H 6,14 (d, 1,5 Hz) e δ 6,36 (d, 1,5 Hz) e um singlete em δ 12,57 referentes a H-6, H-8 e OH-5, respectivamente; o anel B contendo o sistema AA'BB' apresentado pelos dubletos em δ_H 6,85 (8,8 Hz, H-3',5') e δ 8,00 (8,8Hz, 2',6') e uma unidade cinamoila identificada pelos sinais em δ_H 6,79 (d, 8,4 Hz, H-3''',5'''), 7,37 (d, 8,4 Hz, H-2''',6''') e dois dubletos em δ_H 6,12 (16,1 Hz; H-8''') e 7,35 (16,1 Hz; H-7'''). O dubleto em δ_H 5,44 (7,4 Hz, H-1'') e os sinais de CH identificados nos espectros de RMN ¹³C (BBD e DEPT) permitiram identificar uma unidade de carboidrato sustentando a unidade cinamoila no CH₂-6'', δ_{CH_2} 63,43 compatível com esta substituição. A localização da glicose no C-3 do flavonóide foi baseada na ausência do sinal do H-3(s) e pelos valores de δ_C (133,5) e do δ_{CH} (101,50). A análise adicional dos espectros de RMN ¹³C (BBD e DEPT) e comparação com valores da literatura⁸ permitiu definir a estrutura de **1** como 3-(6-coumaroil- β -D-glicopiranosil), 4',5,7-triidroxiflavona. Este é o primeiro registro deste flavonóide no gênero *Solanum*.

A substância **2** foi identificada como astragalina através da análise dos espectros obtido no IV (dados acima) e dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C cujos dados foram semelhantes aos do tilirosídeo não considerando os sinais da unidade cinamoila. Estes dados foram comparados com os valores da literatura^{9,10} e definindo para **2** a estrutura 3-glicopiranosil-5,7,4'-triidroxiflavona. Este flavonóide foi isolada anteriormente das espécies de *Solanum*: *Solanum chimperiarum*¹¹, *S. dobium*¹², *S. dulcamara*¹³, *S. elaeagnifolium*¹⁴, *S. incanum*¹⁵, *S. interius*¹⁶, *S. lanciniatum*¹⁷, *S. pinnatisectum*¹⁸, *S. peseudocapsium*¹⁹, *S. pubescens*²⁰ e *S. santolalae*²¹.

Os dados espectrométricos de IV e RMN de ³ foram semelhantes aos das agliconas descritas acima. O espectro de RMN ¹H apresentou sinais em δ_H 6,2(d, 2,0Hz), 6,4 (d, 2,0 Hz), 6,90(d, 9,0 Hz, 2H), 8,0 (d, 9,0Hz, 2H) e 12,5(s, 1H). Tratamento de **3** com diazometano forneceu **3a** cuja análise dos espectros de NOE, obtidos com irradiação nos grupos metoxílicos (δ_{OCH_3} : 3,84, 3,85 e 3,88) e subtração de espectro, permitiu confirmar a posição dos grupos metoxílicos. Esta análise confirmou a localização das metoxilas nos C-3,4' e 7 e confirmando o grupo em ponte com a carbonila, sendo. A comparação dos dados de RMN com valores da literatura^{9,10} confirmou a proposta do kanferol para **3**. Estas informações e a comparação dos dados de RMN ¹³C de **3** com **1** e **2** serviram para confirmar as estruturas propostas. O Kanferol já foi isolado de outras espécies de *Solanum*⁶.

O espectro no IV de **4** apresentou bandas em ν (cm⁻¹) 3409 (banda larga), 2939, 1644, 1454, 1378, 1253 e 1069 que estão de acordo com um esqueleto esteroidal contendo dupla ligação e unidades de carboidratos. Considerando que os esqueletos esteroidais são frequentes em *Solanum* e que os espectros de RMN de ¹H apresentou sinais de quatro grupos metílicos δ_H 0,82 (d, 6Hz), 0,87 (s), 1,06 (s), 1,09(d, 6Hz), de hidrogênio olefínico δ_H 5,33 (d, 4,0Hz) e sinais de carboidratos incluindo o

dubleto em 1,7 da metila da raminose. Os espectros de RMN ¹³C (BBD e DEPT) de **4** apresentaram sinais que confirmaram o sistema espirosolânico cuja comparação com valores da literatura²² conduziu à confirmação da estrutura da solasonina já registrada na literatura.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPERJ, CAPES, e CNPq pelas bolsas e apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Bruneton, J. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants. Lavoisier Pul. Paris, 2nd ed. p. 875-880.
2. Fukuhara, K.; Kubo, I. Isolation of steroidal glycoalkaloids from *Solanum incanum* by two countercurrent chromatographic methods. *Phytochemistry*, 30(2):685. 1991.
3. Ye, W.C.; Wang, H.; Zhao, S.X.; Che, C.T. Steroidal glycoside and glycoalkaloid from *Solanum lyratum*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 29(4):421-423. 2001.
4. Alves, C. C. F.; Alves, J. M.; Silva, T. M. S. da; Carvalho, M. G. de; Neto, J. J. Atividade Alelopática de Alcalóides Glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. *Revista Floresta e Ambiente*, 9, 2003, in press.
5. Steinharter, T. P.; Cooper-Driver, G. A.; Anderson, G. J. The phylogenetic relationship of *Solanum* flavonols. *Biochem. Syst. Ecol.* 14(3):299-305. 1986.
6. Silva, T. M. S.; Carvalho, M. G.; Baz-Filho, R.; Agra, M. F. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae). *Química Nova*. 26(4):517-522. 2003.
7. Esteves-Souza, A.; Silva, T. M. S.; Alves, C. C. F.; Carvalho, M. G.; Baz-Filho, R.; Echevarria, A. Cytotoxic Activities Against Ehrlich Carcinoma and Human K562 Leukaemia of Alkaloids and Flavonoid from Two *Solanum* Species. *J. Braz. Chem. Soc.* 13(6):838-842. 2002.
8. Markham, K. R. Flavones, Flavonols and their Glycosides. In: *Methods in Plant Biochemistry* (Harbone, J. B. and Mabry, T. J., eds.). Vol. I, 197-235. Academic Press. 1989.
9. Markham, K.R. & Gaiger, H. ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide. In: *The Flavonoids Advances in Research Since 1986* (Harborne, J. B. ed.), 441-473, Chapman & Hall, London, 1994.
10. Agrawal, P.K. & Bansal, M. C. Flavonoid glycosides. In: *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, *Studies in Organic Chemistry*-39, 362-364, Ed. Elsevier, Amsterdam, 1989.
11. Angenot, L. Spectrophotometric and chromatographic study of flavone and coumarin derivatives of *Solanum schimperianum*. *Plant. Med. Phytother.* 3(4):234-254. 1969. CAN 73:11373 AN 1970:411373.
12. Affi, M. S.; Hassan, M. A.; El-Sharkawy, S. H. Antimicrobial flavonoids from *Solanum dohium* Fres. *Bull. Fac. Pharm. (Cairo Univ.)* 37(2):119-124. 1999. CAN 132:163461 AN 1999:809054.
13. Walkowiak, A.; Taniocznik, B.; Kowalewski, Z. Flavonoid compounds of *Solanum dulcamara* L. *Herba Pol.* 36(4):133-137. 1990. CAN 116:231873 AN 1992:231873.
14. Chiale, C. A.; Cabrera, J. L.; Julián, H. R. Kaempferol 3-(6"-cis-cinnamoyl glucoside) from *Solanum elaeagnifolium*. *Phytochemistry*. 30(3):1042-1043. 1991.
15. Lin, Y. L.; Wang, W. Y.; Kuo, Y. H.; Chen, C. F. *J. Chin. Chem. Soc.* 47:1:247. 2000.
16. Schilling, E. E. Foliar flavonoids of North American *Solanum* section *Solanum*. *Biochem. Syst. Ecol.* 12(1):53-55. 1984.
17. Shabana, M. M. & El-Alfy, T. S. Investigation of the constituents of *Solanum laciniatum* Ait. *Flowers. Egypt. J. Pharm. Sci.* 19(1-4):337-347. 1981. CAN 95:3392 AN 1981:403392.
18. Wietschel, G. & Reznik, H. The flavonoid patterns of tuber-bearing *Solanum* species. II. The flavonoids glycosides of the species from series I-XVI. *Z. Pflanzenphysiol.* 97(1):79-88. 1980. CAN 92:143309 AN 1980:143309.
19. Biard, J. F.; Verbist, J. F.; Monnet, R. *Solanum pseudocapsicum*. II. Flavonoid glycosides. *Plant. Med. Phytother.* 8(1):63-71. 1974. CAN 81:60858 AN 1974:460858.
20. Kumari, G. N. K.; Rao, L. J. M.; Rao, N. S. P. Flavonol 3-O-methyl ethers from *Solanum pubescens*. *J. Nat. Prod.* 48(1):149-150. 1985.
21. Harborne, J. B. *Plant polyphenols*. 6. Flavonol glycosides of wild and cultivated potatoes. *Biochem. J.* 84(1):100-108. 1962.
22. Shashi, B. M.; Niranjana, P. S.; Amar, N. G.; Ryoji, K.; Osamu, T. Steroidal alkaloids from *Solanum khasianum*: Application of ¹³C NMR Spectroscopy to their Structural Elucidation. *Phytochemistry*, 19:2017-2020. 1980.

Endereço para correspondência

Marli Terezinha Frana Cornelius
Departamento de Química, ICE-UFRRJ, Rodovia 465, Km 07
Seropédica - RJ 23851-970
E-mail: marlicor@ufrrj.br