



FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Dissertação do Curso de Mestrado em Química e Processamento de
Recursos Locais

Tema:

Avaliação Fitoquímica e Biológica de Plantas Medicinais usadas no Tratamento
de Infecções Sexualmente Transmissíveis na região sul de Moçambique

Autor: Zito Manuel Chale

Orientador: Prof. Doutor Julião Armando Monjane

Maputo, Junho de 2026



FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Avaliação Fitoquímica e Biológica de Plantas Medicinais usadas no Tratamento
de Infecções Sexualmente Transmissíveis na região sul de Moçambique

Dissertação do Mestrado apresentada no Departamento
de Química na Faculdade de Ciências da Universidade
Eduardo Mondlane para obtenção do Grau de Mestre
em Química e Processamento de Recursos Locais na
especialidade de Produtos Naturais.

Maputo, Junho de 2026

Agradecimentos

À minha profunda gratidão, dirijo-me ao meu orientador, Professor Doutor Julião Armando Monjane, cuja orientação exemplar, disponibilidade incansável e contributos científicos foram determinantes para o desenho, desenvolvimento e concretização deste trabalho. O seu rigor académico, exigência saudável e incentivo permanente foram decisivos para o meu crescimento intelectual e maturidade científica.

Endereço um agradecimento especial à Mestre Amélia Limónio Furvela pela orientação atenta e meticulosa nas actividades laboratoriais e pelo apoio prático em todas as fases da pesquisa. O seu domínio técnico, dedicação e prontidão em apoiar foram indispensáveis para o sucesso deste projecto. Rendo graças a Deus pela bênção da vida, pela força nos momentos de maior desafio e pela oportunidade de concluir esta etapa marcante da minha formação académica.

Estendo os meus sinceros agradecimentos à Dra. Alice e sua equipa da Faculdade de Medicina, pelos valiosos contributos ao longo do mestrado, pela disponibilidade de tempo e pela paciência na orientação clara, objectiva e comprometida com a qualidade deste trabalho. Aos técnicos de Laboratório do Departamento de Química da Faculdade de Ciências da Universidade Eduardo Mondlane, deixo o meu muito obrigado pelo apoio, colaboração e profissionalismo demonstrados no dia-a-dia experimental.

À Universidade Pedagógica de Maputo em especial ao Professor Doutor Alberto Arnaldo Boane pela colaboração científica e ao CIDE pelo acolhimento e pela disponibilização de laboratórios e infraestruturas que tornaram possível a realização das actividades experimentais. O acesso a este ambiente académico foi crucial para a consolidação das competências técnicas e desenvolvimento do presente trabalho científico.

Os meus agradecimentos mais sinceros vão para a Universidade Eduardo Mondlane, em especial ao Centro de Excelência em Agroalimentares e Nutrição, pela concessão da bolsa de investigação que tornou possível a realização do trabalho bem como as publicações científicas para que este conhecimento seja expandido a toda rede de interesse.

À coordenação do curso pela orientação na realização deste mestrado, todos os membros do corpo técnico-administrativo, expresse o meu profundo agradecimento pelo apoio logístico e institucional, directo e indirecto, que viabilizou a elaboração e apresentação desta dissertação.

Aos meus colegas de mestrado, em particular António Mungofa e Bonnke Chaiabande, e a todos os demais colegas, deixo o meu sincero apreço pelos debates científicos frutuozos, pelo companheirismo académico. Manifesto a minha dívida de gratidão aos docentes cujas aulas, orientações e exemplo de excelência académica contribuíram de forma indelével nesta caminhada.

Declaração

Eu, Zito Manuel Chale, estudante do curso de Mestrado em Química e Processamento de Recursos Locais da Universidade Eduardo Mondlane, declaro, sob compromisso de honra, que:

1. Esta dissertação é resultado do meu trabalho intelectual, desenvolvido sob orientação do Supervisor Professor Doutor Julião Armando Monjane e da Mestre Amélia Limónio Furvela.
2. O presente trabalho nunca foi submetido, na totalidade ou em parte, para a obtenção de qualquer grau académico ou título em outra instituição de ensino.
3. Todas as fontes consultadas e citadas neste trabalho, encontram-se devidamente referenciadas, em conformidade com as normas éticas e académicas.
4. A presente dissertação é apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Química e Processamento de Recursos Locais pela Universidade Eduardo Mondlane na especialidade de produtos naturais.

Declaro ainda estar ciente das consequências académicas e legais decorrentes de qualquer forma de má conduta científica.

Zito Manuel Chale



Mestre em Química e Processamento de Recursos Locais

Dedicatória

Dedico este trabalho aos incansáveis guerreiros do conhecimento: pesquisadores, educadores e estudantes que, contra todas as barreiras, mantêm viva a chama da curiosidade científica. Aos que transformam laboratórios improvisados em centros de descoberta, livros usados em verdadeiros tesouros de saber e sonhos individuais em conquistas colectivas, que esta pesquisa seja mais um degrau na escada que construímos juntos, rumo a uma sociedade em que a ciência acessível e a educação de qualidade sejam direitos universais, e não privilégios.

Dedico, de forma muito especial, este trabalho à minha mãe, aos meus filhos, aos meus irmãos e a minha esposa, a Dra. Ilda Otília Macuácuà, a nossa Psicóloga Clínica, título que reflecte tanto a sua profissão como o carinho com que a tratamos. Em muitos momentos, foi o seu conhecimento em psicologia que ajudou a reajustar os períodos de incerteza ao longo deste mestrado, devolvendo equilíbrio, foco e esperança.

*Parece impossível até que tudo
seja feito Mandela (1918-2013).*

Índice de tabelas

<i>Tabela 1 Espécies de Cassia e suas utilidades medicinais</i>	17
<i>Tabela 2 Perfil fitoquímico do género de Senna</i>	22
<i>Tabela 3 Prospeção fitoquímica preliminar da Cassia abbreviata</i>	67
<i>Tabela 4 Prospeção fitoquímica preliminar da Senna petersiana</i>	67
<i>Tabela 5 Prospeção fitoquímica preliminar da C. mopane</i>	68
<i>Tabela 6 comportamento bioquímico das raízes das plantas em estudo</i>	69
<i>Tabela 7 Descrição dos valores de CIM e CC50 na espécie de Colophospermum mopane</i> ...	71
<i>Tabela 8 Descrição dos valores CIM e CC50 na espécie de Senna petersiana</i>	72
<i>Tabela 9 Descrição dos valores de CIM e CC50 na espécie de Cassia abbreviata</i>	74
<i>Tabela 10 Compostos identificados em compostos fenólicos nas espécies na fracção activa</i>	76

Índice de figuras

<i>Figura 1 Imagem visual da planta Cassia abbreviata</i>	18
<i>Figura 2 Imagem visual da planta Colophospermum mopane</i>	20
<i>Figura 3 Imagem visual da planta Senna petersiana</i>	21
<i>Figura 4 Sistematização dos métodos para realização dos testes de sensibilidade aos antibióticos</i>	44
<i>Figura 5 Fórmula estrutural da Ciprofloxacina</i>	47
<i>Figura 6 Fórmula estrutural da Azitromicina</i>	47
<i>Figura 7 Fórmula estrutural de Metronidazol</i>	47
<i>Figura 8 Fórmula estrutural de Cefixime</i>	47
<i>Figura 9 Fórmula estrutural de aciclovir</i>	48
<i>Figura 10 Fórmula estrutural de Penicilina G benzantínica</i>	48
<i>Figura 11 Fórmula estrutural da eritromicina</i>	48
<i>Figura 12 Fórmula estrutural de Clotrimazol</i>	48
<i>Figura 13 Fórmula estrutural de Kanamicina</i>	49
<i>Figura 14 Fórmula estrutural de doxiciclina</i>	49
<i>Figura 15 Fórmula estrutural de Penicilina G Procaina</i>	49
<i>Figura 16 Fórmula estrutural de tetraciclina</i>	49
<i>Figura 17 Fórmula estrutural de Podofilina</i>	50
<i>Figura 18 Perfil geográfico do local de estudo</i>	53
<i>Figura 19 Actividade antioxidante das plantas em estudo</i>	70
<i>Figura 20 Representação cromatográfica dos compostos das espécies em estudo</i>	75
<i>Figura 21 compostos identificados</i>	76

Lista de siglas, símbolos e abreviaturas

ABTS	2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
AMETRAMO	Associação dos Médicos Tradicionais de Moçambique
<i>C. abbreviata</i>	<i>Cassia abbreviata</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. mopane</i>	<i>Colophospermum mopane</i>
CC ₅₀	Concentração Citotóxica para 50% das células
CIM	Concentração Inibitória Mínima
COX-2	Ciclooxigenase-2
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EtOAc	Acetato de etila
FICI	<i>Fractional Inhibitory Concentration Index</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
<i>G. vaginalis</i>	<i>Gardinellas vaginalis</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HVB	Hepatite Viral B
HVC	Hepatite Viral C
LOX	Lipoxigenase
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
NF-κB	<i>Nuclear Factor kappa B</i>
PCR	Reação em Cadeia Polimerase
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PMT	Praticantes da Medicina Tradicional
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. petersiana</i>	<i>Senna petersiana</i>
TSA	Teste de sensibilidade a antimicrobianos

Lista de publicações

Artigos publicados

Potencial fitoquímico e atividade antimicrobiana de *Aloe vera*, *Aloe ferox* e *Cyphostemma barbosae* contra microrganismos associados a infecções sexualmente transmissíveis: foi publicado na Revistaft em 23/10/2025 ISSN: 1678-0817-Volume 29-Edição 151-Págs. 58 e 59 DOI: <https://doi.10.69849/revistaft/cl10202510232058>

Autores: Chale, Zito Manuel (UEM). Boane, Alberto Arnaldo (UPM). Monjane, Julião Armando (CIDE).

Prospecção de constituintes bioativos e determinação da actividade antioxidante de espécies da família Fabaceae utilizadas na Medicina Tradicional Moçambicana: contribuições científicas para o controlo do estresse oxidativo: Submetido e aceite na Revista Brasileira de Práticas Integrativas brasileiras integrativas e Complementares em Saúde (RBPICS-1575) em 30.11.2025.

Autores: Chale, Zito Manuel (UEM). Furvela, Amélia Limónio (UEM). Monjane, Julião Armando (CIDE).

Evaluation of the antimicrobial activity, cytotoxicity and phenolic profile of root extract fractions from *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana* and *Cassia abbreviata*: Submetido e aceite no Tropical Journal of Natural Research (TJNPR-BA814ARN) em 21.12.2025. Revista com APC de 400 USD. Factura Proforma BA814ARN submetida a UEM.

Autores: Chale, Zito Manuel (UEM). Monjane, Julião Armando (CIDE). Furvela, Amélia Limónio (UEM).

Participações em Conferências

Avaliação antimicrobiana dos extractos das raízes de *Cassia abbreviata* e *Senna petersiana* contra *Candida albicans* e *Streptococcus spp* na XIII Conferência Científica da Universidade Eduardo Mondlane, realizada em Maputo, nos dias 16 a 19 de Setembro de 2025. **comunicação oral.**

Potencial fitoquímico e atividade antimicrobiana de *Aloe vera*, *Aloe ferox* e *Cyphostemma barbosa* contra microrganismos associados a infecções sexualmente transmissíveis: II Edição do Simpósio Nacional sobre Etnobotânica (SINAE 2025), realizado sob o lema “Toxicidade, nutrição e controle de qualidade na medicina tradicional, organizado pelo Centro de Investigação e Desenvolvimento em Etnobotânica (CIDE) no dia 13.10.2025 na UEM. **apresentação em Pôster.**

II Congresso Internacional da Universidade Púnguè sobre CIÊNCIA E CONHECIMENTO LOCAL NA ERA DIGITAL, nos dias 29, 30 e 31 de outubro de 2025, intitulada Avaliação antimicrobiana dos extractos de *Colophospermum mopane* contra *Candida albicans* e *Streptococcus spp.* **apresentação oral**

IV Conferência de Jovens Investigadores da CPLP-África, nos dias 25, 26 e 27 de Março de 2026, no Centro Conferências Moçambique-China, com o estudo intitulado *Avaliação Fitoquímica e Biológica de Plantas Medicinais usadas no Tratamento de Infecções Sexualmente Transmissíveis na região sul de Moçambique.* **apresentação oral**

Workshops/Seminários

Training Systematic Review and Meta-Analysis. 24-28 de Março de 2025, organizado pela Universidade Eduardo Mondlane pelo Centro de Excelência em Agroalimentares e Nutrição;

Inovação Sustentável para desenvolvimento de fitoterápico tópico: uma formulação nanoestruturada com bioativos da Caatinga e atividade antimicrobiana. Academia de ciências Farmacêuticas do Brasil-USP

Tecnologia e biodiversidade: cianobactérias como fonte de compostos bioativos. Academia de ciências Farmacêuticas do Brasil-USP

Curso de Atualização Introdução à Análise de Dados para pesquisa no SUS (1ª Oferta) com carga horária total de 50 hora(s), obtendo desempenho de 80%, no período de 02/12/2025 a 05/01/2026. Rio de Janeiro / RJ, 05/01/2026: Fundação Oswaldo Cruz;

Curso de Desenvolvimento Utilização dos testes rápidos no diagnóstico da infecção pelo HIV, da Sífilis e das Hepatites B e C-2ª Edição (2ª Oferta) com carga horária total de 20 hora(s), obtendo desempenho de 100%, no período de 02/12/2025 a 06/12/2025. Rio de Janeiro / RJ, 06/12/2025: Fundação Oswaldo Cruz;

XXII Simpósio de Biossegurança e Segurança Química e Biológica em Instituições de Ensino e Pesquisa no período de 27/11/2025 a 27/11/2025, com carga horária de 8 horas- Universidade São Paulo;

II Workshop Internacional de Cibersegurança: Interfaces de Inteligência Artificial, realizado em 29 de novembro de 2025, com uma carga horária total de 9 horas- Faculdade IBPTECH;

4º Congresso Internacional “Inovação e Tecnologia no Ensino de Línguas”, organizado pelo grupo de investigação, ensino de Línguas Online, do Laboratório de Educação a Distância e eLearning e do Departamento de Humanidades da Universidade Aberta. nos dias 5 e 6 de novembro de 2025 e que teve uma duração total de 17 horas;

Cursos complementares na pela Universidade de São Paulo

Bases técnicas e científicas para desenvolvimento, controle de qualidade e registo de fitoterápicos: Março-Setembro de 2026;

Fundamentos de Espectrometria de Massas e Análise de Dados de LC-MS: Março-Setembro de 2026;

Processamento de dados e estatística em *metabolômica untargeted* por LC-MS: Março-Setembro de 2026;

Resumo

Moçambique enfrenta desafios crescentes na saúde pública devido à propagação de Infecções Sexualmente Transmissíveis (ITS's). *Avaliação Fitoquímica e Biológica de Plantas Medicinais usadas no Tratamento de Infecções Sexualmente Transmissíveis na região sul de Moçambique*, foi o tema do estudo onde teve como objectivo investigar o perfil fitoquímico, a capacidade antioxidante, actividade antimicrobiana e a citotoxicidade dos extractos das raízes de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana*, plantas da família *Fabaceae* tradicionalmente usadas na abordagem clínica de ITS's na Província de Gaza. Foram recolhidas raízes com orientação e indicação dos praticantes da medicina tradicional (PMT), catalogadas em cartolinas de modo a preservar os seus princípios activos e identificadas botanicamente no herbário da Universidade Eduardo Mondlane, fragmentadas, secas à temperatura ambiente e pulverizadas. Os extractos foram obtidos por *Soxhlet* com uma mistura hidroalcoólica (1:1 v/v) água destilada e etanol a 96% (150 ml: 48%), seguidos de partição sequencial em n-hexano, diclorometano (DCM), acetato de etila (EtOAc) e água, para obtenção de fracções de polaridade crescente. A triagem fitoquímica qualitativa revelou a presença de taninos, flavonóides, triterpenóides e esteróides predominantes nas fracções aquosas e EtOAc em todas as amostras vegetais, ao passo que saponinas apareceram em *Senna petersiana* e *Colophospermum mopane* e os alcalóides estiveram ausentes nas três espécies. A quantificação dos compostos fenólicos nas fracções EtOAc por HPLC indicou concentrações elevadas de ácido gálico (13,8-15,2 mg/g), catequina (11,9-12,5 mg/g), quercetina (7,6-8,4 mg/g) e ácido elágico (5,9-6,7 mg/g), correlacionando positivamente com a actividade antioxidante das mesmas fracções, conforme determinado pelo teste de DPPH (67-84% de inibição), sugerindo robustez na neutralização de radicais livres e relevância para o controlo do estresse oxidativo associado a ITS's. Os testes antimicrobianos *in vitro* foram realizados por microdiluição em caldo, envolvendo *Candida albicans*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus do grupo D*, *Lactobacillus spp.* e *Gardnerella vaginalis*. As fracções de EtOAc foram as mais activas, com valores de CIM entre 56-72 µg/ml nas três espécies, onde *S. petersiana* revelou CIM de 57-60 µg/ml para *E. coli* e *C. albicans*, e 52 µg/ml para *S. agalactiae*; as fracções de DCM apresentaram CIM intermediárias (302-422 µg/ml), enquanto n-hexano e água foram menos eficazes. O perfil de selectividade foi favorável, com ausência de inibição em *Lactobacillus spp.* Os ensaios de citotoxicidade (MTT) revelaram CC₅₀ entre 350-420 µg/ml para EtOAc, indicando baixa toxicidade e margem de segurança adequada. Ensaios de combinação entre DCM e EtOAc mostraram sinergismo (FICI≤0,5), reduzindo CIM em 30-55% contra *C. albicans* e *S. agalactiae*, sugerindo benefício. Em síntese, a integração dos dados fitoquímicos, antioxidantes, antimicrobianos e citotóxicos reforça *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* como fontes promissoras de compostos bioactivos e o estudo recomendando integra investigação adicional para validação das espécies.

Palavras-chave: Perfil fitoquímico; Compostos fenólicos; Actividade antioxidante; Actividade antimicrobiana; Citotoxicidade; *Fabaceae*; Infecções sexualmente transmissíveis; Bioprospecção.

Abstract

Mozambique faces growing public health challenges due to the spread of sexually transmitted infections (STI's). *Evaluation of the phytochemical profile, antioxidant activity and antimicrobial activity of root extracts of Cassia abbreviata, Colophospermum mopane and Senna petersiana used against microorganisms associated with sexually transmitted infections in Mozambican traditional medicine* was the theme of this study, which aimed to investigate the phytochemical profile, antioxidant capacity, antimicrobial activity and cytotoxicity of root extracts of *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* and *Senna petersiana*, *Fabaceae* species traditionally used in the management clinical of STI's in communities of Massingir district, Gaza Province. Roots were collected under the guidance and indication of traditional medicine practitioners, catalogued on cardboard sheets to preserve their active principles, botanically identified at the herbarium of Eduardo Mondlane University, fragmented, dried and pulverized. Extracts were obtained by *Soxhlet* using a hydroalcoholic mixture (1:1 v/v) of distilled water and 96% (150 mL: 48%), followed by sequential partition with n-hexane, dichloromethane (DCM), ethyl acetate (EtOAc) and water to obtain fractions of increasing polarity. Qualitative phytochemical screening revealed the presence of tannins, flavonoids, triterpenoids and steroids predominantly in the aqueous and EtOAc fractions of all plant samples, whereas saponins were detected in *Senna petersiana* and *Colophospermum mopane*, and alkaloids were absent in all three species. Quantification of phenolic compounds in the EtOAc fractions by HPLC indicated high concentrations of gallic acid (13.8-15.2 mg/g), catechin (11.9-12.5 mg/g), quercetin (7.6-8.4 mg/g) and ellagic acid (5.9-6.7 mg/g), which correlated positively with the antioxidant activity of these fractions, as determined by the DPPH assay (67-84% inhibition), suggesting strong radical-scavenging capacity and relevance for controlling oxidative stress associated with STI's. Antimicrobial assays in vitro were performed by broth microdilution against *Candida albicans*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, group D *Streptococcus*, *Lactobacillus spp.* and *Gardnerella vaginalis*. EtOAc fractions were the most active, with MIC values between 56-72 µg/ml across the three species; *Senna petersiana*, for example, showed MICs of 57-60 µg/ml for *E. coli* and *C. albicans* and 52 µg/mL for *S. agalactiae*. DCM fractions presented intermediate MICs (302-422 µg/ml), whereas n-hexane and aqueous fractions were less effective. The selectivity profile was favorable, with no inhibition of *Lactobacillus spp.* Cytotoxicity assays (MTT) showed CC₅₀ values between 350-420 µg/mL for EtOAc fractions, indicating low toxicity and an adequate safety margin. Combination assays between DCM and EtOAc demonstrated synergism (FICI ≤ 0.5), reducing MICs by 30-55% against *C. albicans* and *S. agalactiae*, suggesting a beneficial combinatory effect. In summary, the integration of phytochemical, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic data reinforces *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane*, and *Senna petersiana* as promising sources of bioactive compounds, and the study recommends further investigation to validate these species.

Keywords: Phytochemical profile; Phenolic compounds; Antioxidant activity; Antimicrobial activity; Cytotoxicity; *Fabaceae*; Sexually transmitted infections; Bioprospecting.

Índice

Agradecimentos	i
Declaração.....	iii
Dedicatória.....	iv
Índice de tabelas.....	v
Índice de figuras.....	v
Lista de siglas, símbolos e abreviaturas	vi
Participações em Conferências	vii
Workshops/Seminários	viii
Cursos complementares na	ix
Abstract.....	xi
1. Introdução.....	1
1.1. Contextualização das infecções sexualmente transmissíveis e plantas medicinais ...	1
1.2. Problematização e questão central de partida	3
1.3. Justificativa e relevância da pesquisa	4
1.4. Objectivos da pesquisa.....	6
1.4.1. Objectivo geral.....	6
1.4.2. Objectivos específicos	6
1.5. Hipóteses da pesquisa	7
1.6. Perguntas de pesquisa	9
2. Revisão de literatura	11
2.1. Plantas medicinais e fitoterapia	11
2.1.1. Uso histórico das plantas medicinais	11
2.1.2. Relevância da medicina tradicional para Moçambique e África Austral	12
2.2. Raízes como fontes de metabólitos de interesse farmacológico	14
2.3. Família <i>Fabaceae</i> : subfamília <i>caesalpinioideae</i>	16
2.3.1. Características botânicas dos géneros em estudo.....	17
2.3.2. Importância farmacológica e fitoquímica da <i>Fabaceae</i>	22
2.3.3. Lacunas científicas na investigação da família <i>Fabaceae</i>	23
2.4. Segurança, toxicologia e padronização dos extractos vegetais.....	25
2.4.1. Integração etnobotânica, ecológica, conservação das plantas medicinais	25
2.5. Compostos bioativos de interesse antimicrobiano	26
2.5.1. Classes químicas de metabólitos secundários.....	27
2.6. Mecanismos de acção antimicrobiana dos compostos bioactivos	29

2.7.	Relação dos extractos com resistência antimicrobiana	30
2.8.	Métodos de extracção e partição dos extractos brutos	31
2.8.1.	Extracção por maceração	31
2.8.2.	Extracção <i>Soxhlet</i>	32
2.8.3.	Capacidade dos solventes e partição dos extractos brutos vegetais	32
2.8.4.	Importância da padronização dos extractos	33
2.9.	Métodos de caracterização dos extractos vegetais	34
2.9.1.	Ensaio físico-químicos	34
2.9.2.	Cromatografia	34
2.9.3.	Espectroscopia	35
2.10.	Actividade antioxidante	35
2.10.1.	Métodos de avaliação do poder antioxidante	35
2.11.	Toxicidade e citotoxicidade	36
2.11.1.	Citotoxicidade e segurança no uso de fitoterápicos	37
2.12.	Ensaio <i>in vitro</i> e viabilidade celular	39
2.13.	Epidemiologia das infecções sexualmente transmissíveis	40
2.14.	Microorganismos implicados em infecções sexualmente transmissíveis	40
2.14.1.	<i>Candida albicans</i> : características, patogenicidade, resistência antifúngica	40
2.14.2.	<i>Streptococcus agalactiae</i> : características e patogenicidade	41
2.14.3.	<i>Streptococcus do grupo D</i> : características e patogenicidade	41
2.14.4.	<i>Lactobacillus spp.</i> : papel na microbiota vaginal	42
2.14.5.	<i>Gardnerella vaginalis</i> : características e patogénese na vaginose bacteriana ..	42
2.14.6.	<i>Escherichia coli</i> : patogenicidade	43
2.15.	Testes biológicos de actividade antimicrobiana	44
2.16.	Meios de cultura mais utilizados	45
2.17.	Procedimentos de cultivo laboratorial de microorganismos	45
2.18.	Ensaio e determinação de CIM	46
2.19.	Tratamento das ITS'S em Moçambique segundo algoritmo do MISAU	46
2.20.	Tratamento das enfermidades com recurso a extractos vegetais	50
3.	Metodologia	52
3.1.	Descrição do local de estudo: <i>distrito de Massingir</i>	52
3.1.1.	Localização, Superfície e População	52
3.1.2.	Clima, hidrografia, Relevos, Solos e Recursos Naturais	52

3.1.3.	Infraestruturas, economia e serviços.....	52
3.1.4.	História, cultura e sociedade civil.....	53
3.2.	Classificação da pesquisa.....	53
3.3.	Amostragem e amostra	54
3.4.	Delineamento experimental e unidade de análise.....	54
3.5.	Trabalho de Campo e Laboratorial	55
3.6.	Procedimentos das actividades laboratoriais	57
3.6.1.	Extracção por Soxhlet e partição por solventes dos extratos vegetais.....	57
3.6.2.	Prospecção fitoquímicas dos extractos vegetais	58
3.6.3.	Atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais	61
3.6.4.	Actividade biológica: antimicrobiana quantitativa e concentração citotóxica	62
4.	Apresentação dos resultados.....	66
4.1.	Parte das plantas, nome vernacular, finalidade e formas de preparação no contexto dos praticantes da medicina tradicional	66
4.2.	Composição fitoquímica dos extractos vegetais das amostras estudadas	66
4.2.1.	Perfil fitoquímico nas fracções de extractos da raiz de <i>Cassia abbreviata</i>	66
4.2.2.	Perfil fitoquímico nas fracções de extractos da raiz de <i>Senna petersiana</i>	67
4.2.3.	Perfil fitoquímico nas fracções de extractos da raiz de <i>C. mopane</i>	68
4.2.4.	Comportamento das raízes de <i>S. petersiana</i> , <i>C. mopane</i> e <i>C. abbreviata</i> ao ambiente ecológico e afinidade com solventes.....	68
4.3.	Quantificação da actividade antioxidante por método de sequestro de radical	69
4.4.	Actividade antimicrobiana e Citotoxicidade.....	70
4.4.1.	<i>Colophospermum mopane</i>	70
4.4.2.	<i>Senna petersiana</i>	72
4.4.3.	<i>Cassia abbreviata</i>	73
4.5.	Perfis cromatográficos dos extractos vegetais das plantas em estudo	74
5.	Análise e discussão dos resultados	77
5.1.	Dinâmica de solubilidade e distribuição das classes químicas nas raízes	77
5.1.1.	<i>Cassia abbreviata</i>	77
5.1.2.	<i>Senna petersiana</i>	79
5.1.3.	<i>Colophospermum mopane</i>	81
5.2.	Factores de estresse ambiental na biossíntese de compostos.....	82
5.3.	Correlação entre a polaridade dos solventes e o potencial antioxidante.....	85
5.4.	Avaliação da actividade antimicrobiana e citotoxicidade.....	87

5.5.	Caracterização de compostos fenólicos por LC-MS.....	89
5.6.	Relação entre CIM e citotoxicidade.....	91
5.7.	Sinergismo e implicações para uso combinado de fracções	92
5.8.	Inserção dos resultados no contexto etnofarmacológico	93
5.9.	Segurança e toxicologia preliminar	94
5.10.	Implicações para aplicações terapêuticas e formulações	94
6.	Conclusão	96
7.	Limitação e recomendações.....	98
7.1.	Limitações do estudo	98
7.2.	Recomendações.....	98
	Referências bibliográficas.....	100
	Anexo	112

1. Introdução

Esta parte introdutória tem como finalidade enquadrar o estudo no contexto científico e social em que se insere. Inicialmente, discute-se o papel da medicina alternativa em Moçambique, abordando *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* como espécies de relevância etnomedicinal, em seguida apresenta-se o panorama das infecções sexualmente transmissíveis, com destaque para o aumento da resistência antimicrobiana e para as limitações no acesso a terapias convencionais em comunidades rurais.

Neste capítulo são ainda delineados o problema de pesquisa, a questão de partida, os objectivos bem como as hipóteses que norteiam o trabalho. Também está explicita a justificativa e relevância científica e prática do estudo, evidenciando a necessidade de avaliar extractos das espécies, de forma a validar o seu uso tradicional e contribuir para a prospecção de novas alternativas terapêuticas de origem natural.

1.1. Contextualização das infecções sexualmente transmissíveis e plantas medicinais

As infecções sexualmente transmissíveis (ITS's) são um desafio global de saúde. Elas se agrupam em curáveis (Clamídia, Gonorreia, Tricomoníase vaginal, Sífilis) e incuráveis (HIV/SIDA, HVC, HVB), entre outras. As ITS's têm uma taxa de morbilidade muito elevada e mortalidade rara, quando mal tratadas ou não tratadas desencadeiam em complicações como abortos espontâneos, infertilidade, cegueira em recém-nascidos, prematuridade, gravidez ectópica (Maema *et al.*, 2020).

Segundo a OMS, aproximadamente 499 milhões de casos de ITS's curáveis ocorrem anualmente em população sexualmente activa e que 25% destes ocorrem na África subsaariana (Neves, 2017).

Dentre os factores que contribuem para taxas de prevalência acima mencionadas podemos distinguir comportamentos sexuais não seguros aliados ao fraco conhecimento sobre as formas de prevenção, também as crenças locais, características sociodemográficas e económicas precárias, bem como a fraca cobertura da rede e serviços sanitários.

Os serviços sanitários em Moçambique aliados ao diagnóstico e tratamento das ITS's não abrangem a cobertura nacional, fazendo com que o País se configurem na África subsaariana com elevado índice de prevalência das ITS's (Ferreira *et al.*, 2019).

Entre os microrganismos que podem causar ITS's podemos destacar os agentes causadores com bactérias e fungos, estes últimos indirectos como grupo de microrganismos, que quando o pH vaginal da mulher fica alterado são precursoras de infecções e outras bactérias comensais (Jacomini & Murayama, 2023).

A importância do rastreio e tratamento precoce da espécie estreptocócica e outras patogénicas já tinha sido descrita e evidenciada em 1970, devido as implicações que estas possuem na saúde humana e neonatal. O tratamento de infecções estreptocócicas envolve o uso de betalactâmicos e outros grupos de antibióticos que facilmente tornam se resistente (Soares, 2022; Rosa, 2023).

As resistências de antibióticos têm consequências clínicas, epidemiológicas e económicas preocupantes, desafiando os investigadores na área de fitoterapia a procura de soluções eficazes e seguras para responder à dinâmica das estirpes resistentes.

Como descreveu-se anteriormente o uso inadvertido de antimicrobianos e falta de realização de testes de sensibilidade aos antimicrobianos, são tidos como factores externos que contribuem para a resistência antimicrobiana, para além dos mecanismos bioquímicos dos microrganismos, resultando na diminuição da eficácia das estratégias no tratamento das ITS's. Para responder à resistência antimicrobiana, os investigadores na área de plantas medicinais são parte de solução e Moçambique sendo um compêndio da biodiversidade várias espécies vegetais são fonte para síntese de antimicrobianos.

A OMS incentiva a fitoterapia, mas adverte estudos de comprovação científica no tratamento das doenças. Das principais plantas usadas em Moçambique para o tratamento das ITS's destacam-se as raízes de *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana*, como foi evidenciado no estudo etnobotânico sobre a importância medicinal dessas espécies (Silva, 2021).

A fitoterapia tem sido utilizada a séculos pela humanidade, porém existe uma fragilidade do estudo aprofundado das raízes de espécies *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana* para tratamento das ITS's em Moçambique. A semelhança dos antibióticos convencionais os fitoterápicos devem ser conhecidos a sua toxicologia e seus efeitos quando usados em forma isolada ou combinada como o caso de raízes de *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana*, por isso devem ser realizados estudos que culmine com avaliação clínica para o uso seguro desses fitoterápicos.

1.2. Problematização e questão central de partida

O uso indiscriminado e/ou irracional de antibióticos aumenta o risco de resistências a várias espécies, tornando-os ineficazes para responder às aspirações humanas em saúde (Assis, 2015).

Esta problemática tem sido agravada pela automedicação, pela prescrição inadequada e pela falta de controle sobre a qualidade e procedência dos produtos naturais disponíveis no mercado, ansiando estudos rigorosos para validar eficácia e segurança desses compostos, para estas respostas com estudos vegetais (Chapaval *et al.*, 2018).

Além disso, a diversidade fitoquímica presente em diferentes espécies vegetais, tem demonstrado acção significativa contra microrganismos patogénicos, inclusive espécies multirresistentes, o que abre espaço para novas possibilidades para o desenvolvimento de fármacos de origem natural, considerado um processo ecologicamente sustentável.

Estudo realizado sobre levantamento etnobotânico na Zâmbia revelou o uso da *C. abbreviata* e *S. petersiana* para o tratamento da *Neisseria gonorrhoeae* principal patógeno para a gonorreia, também para infecções oportunistas por HIV/SIDA e outras infecções sexualmente transmissíveis (Chinsebu *et al.*, 2019).

Este conhecimento tradicional, aliado à investigação científica como vias enzimáticas e uso da Biotecnologia, fortalece o potencial das espécies como candidatas promissoras na formulação de terapias antimicrobianas inovadoras, culturalmente acessíveis e ecologicamente sustentáveis, sobretudo em regiões onde o acesso a medicamentos convencionais e medicina é limitado.

As partes vegetais tradicionalmente utilizadas em diversas culturas com potencial antimicrobiano revelam-se promissoras. No entanto, apesar do uso popular de espécies como *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana* para o tratamento de infeções, incluindo as sexualmente transmissíveis, há escassez de estudos científicos que comprovem, de forma sistemática, a sua segurança no uso de forma isolada ou combinada em sistemas biológicos no combate contra microorganismos clinicamente valoráveis para o quadro patológico em estudo.

Diante do aumento da resistência antimicrobiana e de escassez de estudos sistemáticos sobre espécies vegetais amplamente utilizadas na medicina tradicional no distrito de Massingir,

torna-se essencial investigar de forma científica a eficácia, a segurança e o potencial terapêutico de *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana*. Essas plantas, culturalmente relevantes e ecologicamente sustentáveis, podem constituir alternativas inovadoras no tratamento de infecções de interesse clínico, enquanto contribuem para a valorização do conhecimento tradicional aliado à investigação moderna.

No entanto, a escassez de informações sobre a composição fitoquímica, citotoxicidade, toxicologia e eficácia antimicrobiana, tanto isolada quanto em associação (considerando que a utilização ocorre muitas vezes por coadministração), ainda constitui uma limitação significativa no contexto moçambicano.

O uso acentuado dessas espécies no distrito de Massingir, sem evidências científicas robustas, compromete seu reconhecimento científico, a aplicação terapêutica segura e a padronização necessária para prescrição médica e este estudo ao responder à questão de partida: “*ate que ponto os extractos das raízes das plantas Cassia abbreviata, Colophospermum mopane e Senna petersiana usados contra microorganismos associados a infecções sexualmente transmissíveis no sul de Moçambique são biologicamente seguros?*”, irá contribuir para validação etnomedicinal, uso eficaz, seguro e responder a um problema de resistência antimicrobiana que tem se acentuado e emergindo para um problema de saúde pública.

1.3. Justificativa e relevância da pesquisa

A procura por soluções terapêuticas representa uma estratégia promissora para fornecer alternativas eficazes e potencialmente mais seguras no tratamento de diversas patologias ou doenças sejam de origem conhecida ou idiopáticas.

A exploração de estudos fitoterápicos, possibilita a identificação e o isolamento de componentes bioativos que contribuem para a síntese de novas opções terapêuticas, terapêuticos, baseados em compostos naturais com acção contra diferentes microrganismos de interesse clínico (Kabuka *et al.*, 2022).

Porém, o estudo biológico dos extractos vegetais torna-se essencial na identificação de possíveis efeitos adversos e a definição de margens seguras de administração (Dias *et al.*, 2017). Apesar das populações rurais considerarem as plantas medicinais como seguras, sustentadas pela crença de que “*o natural não provoca efeitos adversos*”, é fundamental

comprovar cientificamente sua inocuidade, eficácia e segurança (Silva *et al.*, 2021; Sultão, 2022).

Este estudo, portanto, justifica-se pela relevância em segurar no avanço científico e sustentável no tratamento das infecções, ao oferecer dados relevantes sobre a actividade antimicrobiana, antioxidante, a composição química e a citotoxicidade vegetal das espécies em estudo. Os resultados terão impacto directo no desenvolvimento de alternativas no tratamento, manipulação segura e, consequentemente, na melhoria dos cuidados de saúde sexual e reprodutiva.

Embora análises preliminares por cromatografia gasosa e espectrometria de massa já tenham revelado a presença de compostos com atividade antimicrobiana e flavonoides nessas espécies, ainda persiste uma lacuna significativa de informações sobre sua composição fitoquímica detalhada, toxicidade e mecanismos de ação (Yang *et al.*, 2021). Tal escassez reforça a necessidade de investigações sistemáticas que validem o uso dessas plantas.

A OMS alerta que, caso medidas eficazes não sejam adoptadas, as bactérias resistentes poderão ser responsáveis por cerca de 10 milhões de mortes anuais em todo o mundo (Soares, 2022). Essa previsão evidencia a urgência em desenvolver soluções terapêuticas inovadoras capazes de responder à crescente ameaça da resistência antimicrobiana.

Assim, este estudo tem como principal anseio validar cientificamente o uso tradicional das espécies vegetais, amplamente difundidas entre a população em contexto de acesso restrito e limitado de serviços de saúde. Adicionalmente, o estudo pretende ampliar o conhecimento fitoquímico das espécies ainda pouco exploradas, incluindo a análise de preparações combinadas, tal como ocorre na prática comunitária. Com isso, pretende-se preencher lacunas na literatura científica e oferecer subsídios para futuras pesquisas na área.

Por conseguinte, os resultados obtidos poderão não apenas fortalecer a valorização do conhecimento tradicional aliado à investigação científica, mas também subsidiar políticas públicas voltadas à saúde colectiva e estimular o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos de origem natural, alinhados a princípios de sustentabilidade e acessibilidade.

A pesquisa apresenta importância científica, ao validar e aprofundar o conhecimento sobre espécies vegetais com potencial antimicrobiano; social, por valorizar práticas tradicionais e oferecer alternativas terapêuticas a comunidades com acesso limitado à medicina

convencional e prática, por subsidiar políticas públicas em saúde colectiva e estimular o desenvolvimento de novos fármacos de origem natural, seguros, acessíveis e ecologicamente sustentáveis.

A valorização da biodiversidade vegetal emerge como uma resposta inovadora ao desafio global da resistência dos antibióticos. Motiva este estudo a necessidade de identificar, validar e proteger o potencial fitofarmacológico, privilegiando o uso tradicional aliado à evidência científica. Contribuir para o desenvolvimento sustentável e para a autonomia sanitária em comunidades de acesso restrito. Esta abordagem reforça a relevância social e científica do estudo, legitimando práticas locais e promovendo soluções acessíveis no âmbito da saúde pública.

1.4.Objectivos da pesquisa

Para este estudo sendo parte crucial e de limitante de toda investigação científica, foi estabelecido o seguinte:

1.4.1. Objectivo geral

- Avaliar o perfil fitoquímico e a actividade biológica das plantas medicinais usadas no tratamento de infecções sexualmente transmissíveis na região sul de Moçambique;

1.4.2. Objectivos específicos

- Analisar a composição fitoquímica preliminar dos extractos das raízes das plantas *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* usadas no tratamento de infecções sexualmente transmissíveis;
- Quantificar a actividade antioxidante das fracções de raízes das espécies vegetais *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* e relacionar com actividade biológica atribuída a estas plantas.
- Determinar a actividade antimicrobiana dos extractos das raízes das plantas em estudo contra microorganismos associados a infecções sexualmente transmissíveis
- Avaliar a citotoxicidade das espécies vegetais em fracções activas em modelos celulares,

Para sustentar os objectivos importa salientar que, a análise da composição fitoquímica preliminar dos extractos constitui o primeiro passo fundamental para identificar as principais

classes de metabólitos secundários com potencial actividade biológica, conferindo base científica ao uso tradicional dessas espécies e orientando futuras etapas de isolamento de compostos activos (Neves *et al.*, 2017).

Em seguida, a quantificação da actividade antioxidante dos extractos permite avaliar a capacidade das fracções em neutralizar radicais livres relacionados ao estresse oxidativo e à fisiopatologia de diversas doenças infecciosas, além de apoiar o desenvolvimento de ingredientes bioactivos com aplicação terapêutica (Silva, 2021).

A determinação da actividade antimicrobiana dos extractos torna-se, assim, essencial para comprovar a eficácia empírica atribuída pelas comunidades ao uso dessas plantas no tratamento de infecções sexualmente transmissíveis, gerando dados robustos que podem subsidiar a prospecção de novos agentes terapêuticos num cenário de crescente resistência microbiana (Ostrosky *et al.*, 2008; Maema *et al.*, 2020).

Por fim, a citotoxicidade permite estimar a margem de segurança dos extractos, equilibrando riscos e benefícios associados ao seu uso e fornecendo elementos críticos para a indicação segura dessas espécies em contextos clínicos ou comunitários (Senigalia *et al.*, 2020).

Este estudo não se constitui como um ponto final, mas como uma etapa dentro de um processo contínuo de construção do conhecimento sobre o potencial bioquímico de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana*. Permanecem por explorar, por exemplo, estudo *in vivo*, elucidação detalhada de mecanismos de acção, avaliação de outras partes das plantas, variações sazonais, interações com fármacos convencionais e desenvolvimento de formulações estáveis.

Assim, o trabalho deve ser entendido como um contributo relevante e necessário, porém ainda parcial, dentro de um campo vasto, dinâmico e em permanente aprofundamento, no qual novas pesquisas serão fundamentais para consolidar e expandir o uso seguro e eficaz desses recursos vegetais bem como o desenvolvimento de fitoterápicos no contexto nacional.

1.5. Hipóteses da pesquisa

As hipóteses são proposições científicas formuladas para orientar a pesquisa, permitindo que fenômenos sejam explicados e testados empiricamente (Pereira *et al.*, 2018). Devem ser claras, específicas e mensuráveis, possibilitando sua confirmação ou refutação com base em evidências.

Estão directamente ligadas aos objectivos do estudo, funcionando como pontes entre teoria e prática, e são fundamentais para garantir rigor científico, orientar a produção e fortalecer resultados. Por ser experimental e laboratorial, foi formulada as seguintes hipóteses:

H1: Os extractos das raízes de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* apresentam princípios activos, em níveis compatíveis com potencial actividade biológica relevante.

H2: As fracções obtidas a partir dos extractos das raízes das três espécies vegetais exibem actividade antioxidante mensurável contribuindo para neutralização de espécies reactivas de oxigénio envolvidas em processos infecciosos.

H3: Os extractos e fracções das raízes das plantas em estudo inibem o crescimento de *Candida albicans*, *Streptococcus agalactiae* e outros microrganismos, em concentrações compatíveis com a perspectiva de desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos de origem vegetal.

H4: As fracções vegetais com maior actividade antimicrobiana e antioxidante apresentam baixa citotoxicidade nas concentrações testadas em modelos celulares, sugerindo uma margem de segurança adequada para o seu futuro uso farmacológico.

As hipóteses formuladas neste estudo fundamentam-se em pressupostos químicos, biológicos e etnofarmacológicos relacionados às raízes de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana*.

A literatura sobre plantas medicinais indica que classes de compostos (marcadores ou princípios activos) estão frequentemente associadas a propriedades farmacológicas de interesse, incluindo efeitos antimicrobianos, antioxidantes e moduladores de processos inflamatórios, o que justifica a sua investigação sistemática e a sua correlação com a actividade biológica.

No âmbito da actividade antioxidante, a hipótese apoia-se no conhecimento consolidado de que compostos fenólicos actuam como doadores de eletrões e sequestradores de radicais livres, desempenhando um papel protector frente ao *stress* oxidativo e às lesões celulares associadas a processos inflamatórios e infecciosos. Dessa forma, a avaliação simultânea permite estabelecer uma base mecanística no uso destas espécies.

No que se refere à actividade antimicrobiana, recorre sob ponto de evidências etnobotânicas atribuídas a estas espécies, sugerindo a presença de metabólitos com capacidade de interferir em alvos estruturais ou funcionais dos microrganismos. A demonstração experimental desta actividade contribui para validar o conhecimento empírico acumulado e para identificar extractos ou fracções com potencial para originar protótipos de novos produtos farmacêuticos.

A integração dos resultados de actividade biológica com os ensaios de citotoxicidade é essencial na selecção de candidatos com perfil benefício-risco favorável, dado que a eficácia terapêutica deve ser acompanhada de níveis de toxicidade aceitáveis. Assim, a confirmação desta hipótese fornece um argumento adicional para o avanço destas fracções em estudos subsequentes, incluindo ensaios *in vivo* e desenvolvimento de formulações fitoterápicas.

1.6.Perguntas de pesquisa

De acordo com Lukosevicius (2018), uma pergunta de pesquisa consiste em uma interrogação clara, específica e focada, que serve como guia central para todo o processo investigativo. Ela delimita o problema a ser estudado, orienta a escolha da metodológica, recolha, análise dos dados e a interpretação dos resultados.

A Formulação adequada de perguntas de pesquisa é, portanto, essencial para garantir coerência, rigor e capacidade na procriação de evidências cientificamente válidas (Pereira *et al.*, 2018). No presente estudo, foram levantadas as seguintes questões de pesquisa:

P1: Quais são os compostos bioactivos existentes nos extractos das raízes das plantas *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana*, e de que modo estes compostos justificam o uso tradicional dessas espécies no tratamento de infecções sexualmente transmissíveis?

P2: Qual é o potencial antioxidante dos extractos das raízes das plantas *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana* e como essa actividade varia entre as espécies?

P3: Em que medida os extracto das raízes das plantas *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana* apresentam actividade antimicrobiana sobre microrganismos, e será que existe diferença de eficácia entre o uso isolado de cada espécie e a coadministração dos seus extractos?

P4: Será que os extractos vegetais apresentam baixa citotoxicidade em modelos celulares para uma margem de segurança adequada no seu potencial farmacológico?

A definição destas perguntas de pesquisa constitui o alicerce orientador, permite estabelecer uma ligação lógica entre os objectivos propostos, as hipóteses formuladas e os procedimentos metodológicos.

Ao abordar de forma integrada os aspectos fitoquímicos, antioxidantes, antimicrobianos e de segurança biológica das espécies *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana*, pretende-se gerar um corpo de evidências científicas capaz de validar ou esclarecer o uso tradicional das plantas no contexto moçambicano. Assim, este enquadramento investigativo não só orienta a execução das etapas seguintes da pesquisa, como também fornece a base para a interpretação crítica dos resultados obtidos.

2. Revisão de literatura

A revisão bibliográfica constitui uma etapa fundamental em trabalhos acadêmicos, pois permite situar a investigação no contexto científico, compreender os avanços já realizados e identificar lacunas de conhecimento que justificam o desenvolvimento de estudo mais aprofundados dependendo do tipo de lacuna, seja método, contexto entre outras.

Neste marco são abordadas características botânicas e uso etnomedicinal das partes vegetais da *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana*, seguidos da apresentação dos métodos de preparações e discute-se as técnicas analíticas empregadas para a identificação e padronização de compostos e comportamento químico e biológico das plantas com destaque para sua segurança. A revisão destaca ainda os principais avanços, lacunas e oportunidades no campo de estudo, oferecendo subsídios teóricos para a consolidação da presente investigação. Serão abordados conceitos de ITS's, microorganismos associados, tratamentos convencionais a luz da diretriz moçambicana.

2.1.Plantas medicinais e fitoterapia

2.1.1. Uso histórico das plantas medicinais

A OMS criou o programa de Medicina alternativa nos anos 70 em reconhecimento do uso massivo de plantas pela população em países subdesenvolvidos, onde 80% depende das preparações medicinais para responder os seus desafios à saúde (Silva, 2021). Para Sun e Shahrajabian (2023), várias partes de plantas medicinais, são fontes de compostos bioactivos (substâncias de origem vegetal que apresentam actividade farmacológica).

Esses compostos estão relacionados a marcadores, responsáveis pela produção de substâncias com função terapêutica (metabolismo secundário), enquanto o metabolismo primário se liga a funções essenciais da planta (Auricchio *et al.*, 2007). Os metabólitos secundários surgem da interação das plantas com o ambiente e podem ser classificados em substâncias altamente activas e selectivas, frequentemente utilizadas isoladamente em moldes semelhantes aos fármacos sintéticos (Senigalia *et al.*, 2020).

Nesse contexto, torna-se urgente busca por novas substâncias de origem natural. Os compostos bioactivos das plantas apresentam potencial inovador, oferecendo alternativas sustentáveis frente aos desafios actuais de saúde pública (Neves *et al.*, 2017).

As partes vegetais são a verdadeira solução na síntese de novos fármacos com isolamento dos seus compostos bioativos. Dessa forma, as plantas medicinais representam uma fonte essencial de bioativos para a aplicação farmacológica diante da crescente resistência antimicrobiana. O reconhecimento da OMS reforça seu papel estratégico na saúde global, enquanto o estudo químico e biológico permite compreender a base funcional das estruturas vegetais.

2.1.2. Relevância da medicina tradicional para Moçambique e África Austral

A medicina tradicional desempenha um papel central nos sistemas de saúde de Moçambique e da África Austral, sendo frequentemente a primeira forma de cuidado acessível e culturalmente legitimada pela população rural e periurbana (Bashige *et al.*, 2020; Neves, 2017).

Em contextos de baixa renda e sociedades economicamente desprovidas de suprir aos anseios de saúde, aliado a barreiras geográficas e fragilidades estruturais dos serviços de saúde convencional, o recurso a curandeiros, parteiras tradicionais e terapeutas de base comunitária (Praticantes da medicina tradicional) funcionam como estratégia prática de resolução de problemas imediatos de saúde (Ferreira *et al.*, 2019).

Estas práticas integram saberes locais, crenças espirituais e conhecimento empírico acumulado ao longo de gerações, conferindo-lhes elevada aceitação social. Estudos etnobotânicos em diferentes regiões africanas documentam um uso extensivo de plantas medicinais para tratar infecções respiratórias, gastrointestinais, parasitárias, doenças de pele, perturbações ginecológicas e doenças sexualmente transmissíveis (Neves, 2017).

Este padrão é semelhante ao observado em comunidades moçambicanas, onde a fitoterapia é amplamente utilizada para sintomas como febre, dor abdominal, diarreia, lesões cutâneas e corrimentos genitais, muitas vezes em paralelo ou antes do recurso a unidades sanitárias formais. A diversidade florística regional contribui para a existência de um vasto repertório de espécies com potencial farmacológico ainda pouco explorado em Moçambique.

Na África Austral, inquéritos realizados em comunidades rurais da África do Sul, Zimbabwe e Malawi mostram que uma proporção significativa da população recorre de forma regular a plantas medicinais para tratar malária, infecções bacterianas comuns e doenças crónicas, incluindo diabetes e hipertensão (Ferreira *et al.*, 2019; Bashige *et al.*, 2020).

Estes estudos salientam sobre a confiança depositada nos terapeutas tradicionais decorre não só da proximidade geográfica, mas também da dimensão relacional e espiritual do cuidado, frequentemente ausente na biomedicina.

A OMS tem sublinhado a necessidade de integrar a medicina tradicional nos sistemas nacionais de saúde, desde que acompanhada por estratégias de validação científica, padronização de preparações e monitoria de segurança. No contexto moçambicano e da África Austral, esta integração é particularmente relevante face à elevada carga de doenças infecciosas, incluindo HIV/SIDA e outras ITS's, para as quais muitas comunidades continuam a procurar praticantes da medicina tradicional como primeiro ponto de contacto.

Do ponto de vista de saúde pública, a medicina tradicional pode contribuir tanto positivamente, oferecendo opções terapêuticas culturalmente adequadas, como negativamente, quando práticas inseguras atrasam o acesso a diagnóstico e tratamento adequados.

A literatura destaca a necessidade de estabelecer ponte entre PMT e serviços de saúde, com vista à referenciação oportuna de casos graves e à promoção de mensagens consistentes de prevenção de enfermidades (Ferreira *et al.*, 2019). Em vários países da região têm sido implementados programas de formação básica de terapeutas tradicionais em temas com reconhecimento de sinais de gravidade e encaminhamento para unidades sanitária e Moçambique implementa essas práticas. Estas iniciativas demonstraram potencial para melhorar o diagnóstico precoce de infeções sexualmente transmissíveis, sífilis congénita e complicações obstétricas, bem como para reduzir práticas de risco.

Pesquisas conduzidas em comunidades africanas indicam que plantas utilizadas tradicionalmente para tratar infeções, febres prolongadas e corrimentos genitais apresentam, em muitos casos, actividades antibacterianas, antifúngicas e antiparasitárias *in vitro*, apoiando empiricamente parte do conhecimento local (Bashige *et al.*, 2020; Neves *et al.*, 2017).

Autores enfatizam que a variabilidade na identificação botânica, na forma de preparação e na dose dificulta a extrapolação directa destes resultados para recomendações clínicas seguras. Em síntese, a medicina tradicional em Moçambique e na África Austral representa um pilar estruturante dos cuidados de saúde primários, articulando saber local, biodiversidade e respostas pragmáticas às limitações do sistema formal.

A literatura aponta para a necessidade de estratégias integradas que reconheçam o valor deste património, promovendo simultaneamente investigação clínica avançada, regulação de segurança e diálogo intersectorial entre PMT, profissionais de saúde e decisores políticos para uso sustentável.

2.2.Raízes como fontes de metabólitos de interesse farmacológico

As raízes constituem importantes órgãos de reserva e de defesa química nas plantas, acumulando frequentemente concentrações elevadas de metabólitos secundários com relevância farmacológica (Aguiar *et al.*, 2021).

Em diversas espécies medicinais, compostos como alcalóides, saponinas, cumarinas, xantonas e ácidos gordos de cadeia longa são isolados preferencialmente de raízes e rizomas, refletindo a sua função ecológica na interação com microrganismos do solo e herbívoros subterrâneos (Silva, 2015).

Estudos fitoquímicos realizados com espécies da família *Polygalaceae*, por exemplo, demonstraram que raízes de *Polygala spp.* são ricas em saponinas triterpénicas, xantonas e lignanas, associadas a actividades biológica e foram isolados, a partir de fracções de raízes e partes aéreas, compostos como β -espinasterol, ácido palmítico e palmitato de metila (Silva, 2015; Neves *et al.*, 2017).

Raízes de inúmeras espécies usadas na medicina tradicional africana são empregues para tratar infecções bacterianas e fúngicas, distúrbios gastrointestinais, dor crónica e doenças inflamatórias.

Ensaio *in vitro* com extractos metanólicos e hidroalcoólicos de raízes de diferentes géneros revelam frequentemente actividade sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Bacillus spp.*, além de fungos oportunistas associados a infecções cutâneas e mucosas (Fabris, 2018; Alfaia & Almeida, 2016).

A profundidade do estudo das raízes e a sua exposição contínua a microrganismos do solo favorecem a selecção de perfis químicos específicos, por vezes distintos dos observados em folhas e cascas. Assim, em várias espécies de *Fabaceae* de interesse etnofarmacológico, as raízes apresentam proporções diferentes de antraquinonas, flavonóides e triterpenos, o que se reflete em padrões diferenciados de actividade antimicrobiana e citotóxica, mesmo quando comparadas à mesma espécie colhida noutra parte da planta (Neves *et al.*, 2017; Erasto & Majinda, 2012).

A extracção de metabólitos de raízes geralmente recorre a solventes de polaridade variável, permitindo o fraccionamento de misturas complexas em classes químicas mais homogêneas (Silva, 2015). Desta forma torna-se evidente a diferenciação de solventes para melhorar agregação das classes químicas nas amostras vegetais e aprimorar o rendimento da extracção.

Abordagens combinando fraccionamento, cromatografia, e RMN, têm sido utilizadas com sucesso para elucidar estruturas de ácidos gordos, esteróis e saponinas isoladas de raízes de espécies nativas sul-americanas e africanas (Bandeira *et al.*, 2002).

Vários trabalhos relatam fracções das raízes contêm compostos com actividade antioxidante significativa, muitas vezes associada à presença de fenóis e xantonas com múltiplos grupos hidroxilo. Esta capacidade antioxidante é relevante não apenas para a protecção da própria planta, mas também para potenciais aplicações em doenças humanas mediadas por *stress* oxidativo, incluindo processos inflamatórios crónicos e patologias neurodegenerativas. As raízes também se destacam como fontes de metabólitos com actividade citotóxica selectiva, o que abre perspectivas para a descoberta de novos percussores farmacológicos.

Ensaio de triagem com extractos das raízes de diversas espécies têm evidenciado inibição de proliferação de linhagens celulares tumorais, embora a identificação dos princípios activos responsáveis nem sempre esteja concluída, exigindo estudos adicionais de fracionamento e caracterização estrutural (Silva, 2015; Alfaia & Almeida, 2016).

Na perspectiva ecotoxicológica e de segurança, estudos com raízes e outras partes subterrâneas evidenciam toxicidade relevante em bioensaios, o que alerta para a necessidade de avaliar cuidadosamente doses, vias de administração e potenciais efeitos adversos (Dias *et al.*, 2017; Fabris, 2018).

A utilização tradicional de decocções concentradas de raízes em determinadas comunidades pode implicar margens terapêuticas diferenciadas, sobretudo quando combinada com outras plantas com particularidades bioactivas (Casanova & Costa, 2017; Dias *et al.*, 2017).

A valorização de raízes como fontes de metabólitos de interesse farmacológico deve ser acompanhada por estratégias de conservação e manejo sustentável, dado que a colheita destrutiva pode comprometer rapidamente populações naturais de espécies (Bezerra, 2009).

Autores que trabalham com recursos genéticos vegetais têm defendido a necessidade de combinar estudos fitoquímicos com inventários populacionais, programas de cultivo e avaliação do risco de erosão genética associado à exploração comercial.

Urge sustentar que as raízes representam reservatórios estratégicos de metabólitos secundários estruturalmente diversos e biologicamente activos, com aplicações potenciais como antimicrobianos, anti-inflamatórios, antioxidantes e citotóxicos. Contexto da medicina tradicional em Moçambique e na África Austral, a investigação sistemática destas partes subterrâneas, aliando estudos etnobotânicos, fitoquímicos e farmacológicos, é fundamental para transformar conhecimento empírico em evidência científica robusta, orientando usos mais seguros e eficazes.

Para maximizar benefícios, urge avançar em fracionamentos guiados por bioatividade, ensaios clínicos e protocolos de cultivo sustentável, mitigando riscos tóxicos e erosão de recursos genéticos, rumo a uma prospecção responsável e integrada aos sistemas de saúde regionais.

2.3.Família *Fabaceae*: subfamília *caesalpinioideae*

A família *Fabaceae* (*Leguminosae*) destaca-se entre as mais importantes do reino vegetal, tanto pela riqueza de espécies como pela relevância ecológica, económica e farmacológica. É uma família de distribuição praticamente cosmopolita, presente em diversos biomas tropicais e subtropicais, e compreende 19325 espécies, 727 géneros, tradicionalmente em subfamílias *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae* (Neves *et al.*, 2017).

Essa diversidade reflecte-se numa grande variedade de hábitos de crescimento (árvores, arbustos e herbáceas), formas de folhas e adaptações a ambientes secos e húmidos, o que favorece a sua ampla utilização em madeira, alimentação, recuperação de solos e, de forma particular, na medicina tradicional (Alfaia & Almeida, 2016).

Do ponto de vista fitoquímico, numerosas espécies de *Fabaceae* têm revelado potencial promissor e muitos dos quais já são explorados como protótipos ou fontes directas de fármacos de interesse clínico (Yang *et al.*, 2021).

No âmbito desta pesquisa, destacam-se três espécies de *Fabaceae* com importância medicinal: *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana*. Estas espécies ocorrem predominantemente em zonas de savana e matas secas, em solos geralmente bem drenados, adaptando-se a condições de estresse hídrico e elevadas temperaturas, características presentes em várias regiões de Moçambique (Nyambo *et al.*, 2023).

Para além da sua função ecológica, estas plantas assumem papel central nas práticas etnomedicinais locais, sendo amplamente utilizadas por praticantes da medicina tradicional e comunidades rurais no tratamento de infecções urogenitais e outras patologias. A distribuição geográfica destas espécies, aliada ao fácil acesso e ao enraizamento no conhecimento tradicional, justifica o seu interesse para estudos fitofarmacológicos.

2.3.1. Características botânicas dos géneros em estudo

2.3.1.1. *Cassia abbreviata*

O género *Cassia* compreende mais de 600 espécies entre arbustos, árvores e ervas, distribuídas predominantemente em regiões tropicais e subtropicais, clima característico de Moçambique. Diversas espécies deste género assumem grande relevância etnobotânica e farmacológica, empregues tradicionalmente para perturbações gastrointestinais, doenças infecciosas, inflamações, alterações metabólicas, dermatológicas, entre outras condições.

As propriedades terapêuticas atribuídas às espécies medicinais de maior interesse estão sistematizadas na Tabela 1 abaixo, que apresenta de forma resumida as principais aplicações medicinais evidenciadas, permitindo visualizar o amplo deste género.

Tabela 1 Espécies de *Cassia* e suas utilidades medicinais

Espécie de <i>Cassia</i>	usos medicinais
<i>Cassia abbreviata</i> e <i>Cassia fistula</i>	ITS's, malária, infecções bacterianas, doenças gastrointestinais. Actua como laxante, reumatismos, tuberculose, cálculos renais.
<i>Cassia tora</i> e <i>Cassia absus</i>	Doenças de pele, caspa, constipação, tosse, hepatite, febre, hemorroides. Tumores, asma, constipações.
<i>Cassia angustifolia</i> e <i>Cassia occidentalis</i>	Agentes laxantes, analgésicos e antifúngicos para tratar micose e pele. Anemia, doenças no fígado, coceiras, malária, dores de barriga, gripe, febres, distúrbios hepáticos e do estômago, diurético e tuberculose.
<i>Cassia alata</i> , <i>Cassia auriculata</i> e <i>Cassia reticulata</i>	Laxante, febrífuga, micose, herpes, doenças do fígado, problemas gastrointestinais Atividade antioxidante Problemas de pele e menstruais, antitérmico, diurético, picada de cobra.
<i>Cassia sieberiana</i> e <i>Cassia sophera</i>	Úlcera, diarreia, gonorreia, hemorroides, hanseníase, disenteria. Artrite, asma, câncer, diabetes.

Fonte: (Silva, 2021)

Cassia abbreviata (Figura 1), é uma árvore ramificada de médio a grande porte, quase 6-7 m de altura e típica de savanas e bosques abertos em regiões tropicais. É amplamente distribuída no sudoeste, leste e sul de África, onde integra a flora medicinal de diversos grupos étnicos e

é frequentemente cultivada pelas populações para uso tradicional (Silva, 2021). As partes mais utilizadas incluem cascas do caule, raiz, folhas, e sementes, preparadas sobretudo sob a forma de decocções, macerações e pós.



Figura 1 Imagem visual da planta Cassia abbreviata

Fonte: Imagem captada pelo autor

O uso medicinal descrito na literatura abrange o tratamento de dores de cabeça, diarreia, constipação, doenças de pele, malária, pneumonia e infeções de transmissão sexual, como sífilis e gonorreia, sendo estes efeitos atribuídos principalmente à presença de compostos fenólicos (flavonóides do tipo flavanóis como catequina e epicatequina, cuja unidade aglicona apresenta fórmula $C_{15}H_{14}O_6$, e de antraquinonas, derivados aromáticos tricarbonílicos estruturalmente relacionados à antraquinona de fórmula $C_{14}H_8O_2$ (Erasto & Majinda, 2012; Yang *et al.*, 2021).

Escassez de estudos fitofarmacológicos sistemáticos em *C. abbreviata*, as investigações disponíveis com extractos brutos das sementes indicam a presença de compostos com potencial actividade antimicrobiana e antioxidante, compatível com o elevado teor de polifenóis e antraquinonas referido para o género. Para as raízes, estudos semelhantes demonstraram actividade biológica sobre bactérias e fungos sugerindo um amplo espectro de acção antimicrobiana (Yang *et al.*, 2021).

Em Botswana e na África do Sul, a decocção da casca e raiz de *C. abbreviata* é tradicionalmente utilizada no tratamento de disenteria, diarreia, dor abdominal intensa e dor de dente, enquanto na Tanzânia as cascas da raiz são empregues para candidíase oral e vaginal, particularmente em pacientes com HIV/SIDA (Erasto & Majinda, 2012).

Nestes contextos, a preparação usual envolve a fervura da casca seca em água, seguida de administração oral ou de uso tópico, refletindo um conhecimento empírico transmitido entre praticantes da medicina tradicional e comunidades locais. Do ponto de vista fitoquímico, estudos com o extracto de *C. abbreviata* revelam que flavonoides, antraquinonas e triterpenóides constituem os principais grupos de metabólitos secundários responsáveis pelas propriedades medicinais atribuídas à espécie.

A análise detalhada por espectroscopia de ressonância magnética nuclear permitiu o isolamento e a elucidação estrutural de dímeros de flavanóis hidroxilados, designados Cassinidina A e Cassinidina B, cujas unidades básicas de flavanol seguem o motivo estrutural C₆-C₃-C₆ típico dos flavonóides (Erasto & Majinda, 2012). Estes oligómeros polifenólicos, pela elevada densidade de grupos hidroxilo fenólicos, são fortes candidatos a explicar a capacidade antioxidante observada e, em parte, os efeitos antimicrobianos associados à espécie.

2.3.1.2. *Colophospermum mopane*

O género *Colophospermum* é representado principalmente por *Colophospermum mopane* (figura 2), uma leguminosa típica de savanas secas do sul de África, Angola, Namíbia, Botswana, Zâmbia, Zimbabwe, Malawi, Moçambique, onde integra bosques dominantes de grande importância ecológica e para os meios de vida locais (Neves *et al.*, 2017).

Em analogia ao que se observa para outros recursos lenhosos utilizados na medicina tradicional africana, diferentes partes de *C. mopane*, como cascas, folhas e raízes, são utilizadas empiricamente no tratamento de infecções bacterianas, inflamações, perturbações gastrointestinais e queixas relacionadas com saúde sexual e reprodutiva, inserindo-se num contexto mais amplo de uso de plantas medicinais descrito em comunidades da África Austral e Central (Bashige *et al.*, 2020; Neves, 2017; Ferreira *et al.*, 2019).

Esta espécie na base do seu uso tradicional merece investigação dirigida (Silva, 2015). Frequentemente associado a vales fluviais quentes e secos com 300-1000 m de altitude e 400-700 mm de precipitação anual. Além da relevância ecológica como fonte de forragem para fauna silvestre e gado, a árvore fornece madeira dura usada em construções rurais, estacaria e lenha, bem como goma resinosa e a casca rica em taninos empregue em curtumes e fabrico de cordas (Aguiar *et al.*, 2021).

No contexto etnomedicinal, diferentes partes de *mopane* (*Chanatsi* na região sul de Moçambique) são utilizadas para tratar uma ampla gama de infecções em comunidades rurais. Decocções da casca são tradicionalmente administradas no tratamento infecções sexualmente transmissíveis com evidências científicas contra *Treponema pallidum*, aplicadas topicamente em inflamações oculares e utilizadas para aliviar distúrbios gastrointestinais, enquanto folhas são usadas sobre feridas e problemas de pele para promover cicatrização (Chinsembu *et al.*, 2019).

Estudos fitoquímicos indicam que *C. mopane* possui um “pool” de metabólitos secundários como flavonóides, saponinas, triterpenos e estudo de citotoxicidade significativa contra linhagens de cancro da mama humano, o que reforça o potencial farmacológico da espécie (Chapaval *et al.*, 2018).

Ensaio *in vitro* demonstraram inibição de estirpes patogénicas, incluindo *Pseudomonas spp.* e outras bactérias oportunistas. Estes dados, embora ainda incipientes, sustentam o interesse em aprofundar o estudo fitoquímico e farmacológico de *C. mopane* como espécie chave da flora medicinal da África Austral. Abaixo estão representadas as folhas de *C. mopane*.



Figura 2 Imagem visual da planta *Colophospermum mopane*

Fonte: Imagem captada pelo autor

Investigação aprofundada desta espécie contribui para a valorização da biodiversidade local em contextos de saúde pública e biotecnologia vegetal, respeitando os saberes tradicionais para desenvolvimento de produtos sustentáveis.

2.3.1.3. *Senna petersiana*

O género *Senna*, ocorre na vegetação sob forma de árvores e arbustos, compreendendo 300 espécies, com distribuição geográfica comumente encontradas em Moçambique, Gana e Madagáscar, África do Sul, Zimbabwe, bem como na Austrália e em diferentes regiões dos continentes americano e asiático (Neves *et al.*, 2017).

Historicamente, o género *Senna* foi incluído em *Cassia*, porém, com o avanço dos estudos taxonómicos e filogenéticos, ambos passaram a ser reconhecidos como géneros distintos, refletindo diferenças morfológicas e químicas relevantes.

Do ponto de vista etnofarmacológico, são atribuídas a *Senna* diversas aplicações medicinais, destacando-se o uso como antifúngicos e antibacterianos e antivirais (Yang *et al.*, 2021).

Entre os géneros de *Fabaceae* com maior relevância farmacêutica, *Senna* se destaca como importante fonte de princípios bioativos, apresentando actividades antioxidante, anti tumoral, antiviral, antibacteriana, antifúngica e anti-inflamatória descritas em diferentes estudos. A composição fitoquímica do género é marcada, sobretudo, pela presença de antraquinonas e seus derivados, cremonas, alcalóides, esteróides, saponinas e diversos flavonóides, sustentando o amplo espectro de acção (Neves *et al.*, 2017).

A espécie *S. petersiana* (Figura 3), estudos realizados na África do Sul demonstraram que as fracções hexânica, diclorometano e aquosa obtidas das folhas apresentaram capacidade de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*, corroborando potencial antimicrobiano atribuído à esta espécie (Yang *et al.*, 2021).



Figura 3 Imagem visual da planta *Senna petersiana*

Fonte: Imagem captada pelo autor

Para além de *S. petersiana*, existem diversos outros estudos que descrevem as propriedades fitofarmacológicas de diferentes espécies do género *Senna*, os quais se encontram sintetizados na Tabela 2.

Tabela 2 Perfil fitoquímico do género de Senna

Espécie vegetal	Parte usada	Actividade antimicrobiana	Perfil fitoquímico
<i>Senna alata</i>	folhas e flores	<i>E. coli</i> , <i>C. albicans</i>	Antraquinonas, Flavonóides, glicosídeos
<i>Senna auriculata</i>	folhas e flores	<i>E. coli</i>	Diterpenos glicosilados, Flavonóides
<i>Senna italica</i>	folha e raiz	<i>G. vaginalis</i> , <i>E. coli</i>	Flavonóides, Terpenóides, alcalóides.
<i>Senna macranthera</i>	Folhas	<i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i>	Flavonóides
<i>Senna reticulata</i>	folhas e cascas	<i>S. aureus</i>	Flavonóides, Esteróides
<i>Senna petersiana</i>	Sementes e folhas	<i>S. aureus</i> ; <i>E. Coli</i> ; <i>C. albicans</i>	Flavonóides

Fonte: (Neves *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2021)

Género *Senna* demonstra um perfil fitoquímico consistente rico em flavonóides, antraquinonas, terpenóides e glicosídeos predominantemente em folhas, flores e raízes, conferindo ampla actividade antimicrobiana conforme sintetizado na tabela acima. Esses dados reforçam o potencial etnofarmacológico do género para infecções comuns, justificando prospecções integradas que correlacionem composição química com eficácia clínica e segurança em contextos tradicionais africanos.

2.3.2. Importância farmacológica e fitoquímica da *Fabaceae*

A família *Fabaceae* destaca-se não apenas pela sua expressiva diversidade botânica, mas também pela elevada relevância farmacológica, constituindo uma das principais fontes de metabólitos secundários bioactivos utilizados ou modelos na síntese de fármacos (Alfaia & Almeida, 2016).

Diversas espécies desta família têm demonstrado actividades antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antiparasitária, antidiabética e citotóxica, frequentemente associadas à flavonóides, taninos, ácidos fenólicos, terpenóides como mono, sesqui e triterpenos, saponinas, alcalóides e antraquinonas (Lian *et al.*, 2024; Kayode *et al.*, 2025).

Estudos com extractos de plantas medicinais demonstram que teores elevados de fenóis totais, flavonóides associar-se-á forte DPPH, elevado poder redutor (FRAP) e, em muitos casos, actividade antimicrobiana (Bashige *et al.*, 2020).

Taninos condensados e hidrolisáveis também têm sido implicados na inibição do crescimento microbiano por interação com proteínas de superfície, enzimas e estruturas de parede celular, podendo contribuir para o controlo de microorganismos envolvidos em infecções urogenitais e sexualmente transmissíveis.

Outras classes químicas de grande interesse farmacológico em *Fabaceae* são as saponinas e os triterpenos, que apresentam propriedades membranolíticas e capacidade de modular respostas inflamatórias e imunológicas, além de exibirem efeitos antiparasitários e antifúngicos (Quirino *et al.*, 2019).

No contexto específico deste estudo, a importância farmacológica de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* relaciona-se directamente na etnomedicina de transmissão sexual, e com a plausibilidade fitoquímica de conterem compostos com actividade antimicrobiana e antioxidante relevante.

Trabalhos em plantas medicinais africanas, incluindo espécies de *Fabaceae*, mostram que extractos hidroalcoólicos de partes aéreas, cascas ou raízes podem apresentar simultaneamente elevada capacidade antioxidante e bacteriana e, em alguns casos, potencial antidiabético (Aguiar *et al.*, 2021).

Estudos reforçam sobre extractos das três espécies possam reunir perfis fitoquímicos complexos, nos quais a combinação de diferentes classes de metabólitos secundários contribui, de forma sinérgica ou complementar, para a actividade antimicrobiana, a actividade antioxidante e a avaliação de citotoxicidade fornecerão elementos essenciais para estimar o seu potencial de aplicação terapêutica segura.

2.3.3. Lacunas científicas na investigação da família *Fabaceae*

a) Diversidade pouco explorada

Apesar da família *Fabaceae* ser uma das mais diversas e amplamente utilizadas em sistemas médicos tradicionais em contextos africanos, apenas uma fracção das espécies foi submetida a estudos fitoquímicos e farmacológicos sistemáticos, com identificação de metabólitos

secundários e avaliação de bioatividades em modelos padronizados (Rosa *et al.*, 2021; Chinsebu *et al.*, 2019).

A literatura em bioprospecção demonstra forte concentração em alguns géneros “clássicos”, como *Acácia/Senegalia*, *Peltophorum*, *Cassia/Senna*, enquanto numerosas espécies arbóreas e arbustivas de ecossistemas secos permanecem sem caracterização química detalhada nem ensaios dirigidos a alvos clínicos prioritários (Ahmad *et al.*, 2016; Amoussa *et al.*, 2020).

Essa assimetria é particularmente evidente em espécies lenhosas de savanas africanas, usadas intensamente para o tratamento de infeções, inflamação, malária, tuberculose e distúrbios metabólicos, mas ainda pouco representadas em bancos de dados de metabólitos e em pipelines de descoberta de fármacos (Chinsebu *et al.*, 2019).

b) Da triagem dos extractos ao nível molecular

A maior parte dos estudos com *Fabaceae* permanece limitada a ensaios *in vitro* com extractos brutos ou fracções pouco definidas, avaliando actividades antioxidante, antimicrobiana ou anti-inflamatória sem prosseguir, de forma sistemática para outros ensaios sobre metabólitos activos (Silva, 2019; Cragg & Newman, 2013).

Mesmo quando compostos são isolados como o flavonóides (astragalina) e triterpenos (lupânicos) em *Acacia polyphylla* ainda são raros os trabalhos que correlacionam quantitativamente teor tecidual, perfil metabolómico e potência biológica em modelos celulares ou *in vitro/in vivo* relevantes (Silva, 2023; Cesarino, 2019).

Além disso, são escassas abordagens metabolómicas comparativas e estratégias de desreplicação específicas para *Fabaceae*, em contraste com o que já se observa em outras famílias, o que retarda identificação de marcadores químicos e favorece a redescoberta de metabólitos ou novas classes químicas (Cesarino, 2019; Silva, 2019). Os estudos fitoquímicos em *Fabaceae* revelam uma lacuna crítica entre triagens *in vitro* e a ausência de avanços sistemáticos em isolamento estrutural, correlações quantitativas com perfis metabolómicos e validações em modelos mais complexos bem como a desreplicação específica

c) Limitações em modelos farmacológicos e translacionais

O panorama experimental para *Fabaceae* é dominado por bioensaios simplificados como *in vitro*, como métodos de sequestro de radicais (DPPH), ensaios redox (FRAP) e testes

antimicrobianos por difusão em ágar ou microdiluição, com poucas transições para modelos *in vivo*, estudos mecanísticos e investigação farmacocinética (Silva, 2019). Estudos relativamente avançados, como aqueles que avaliam a inibição de PGE₂ por fracções e flavonóides de *A. polyphylla* em sangue humano, ainda deixam lacunas na conexão entre alvos moleculares (COX-2, LOX, NF-κB), modulação de mediadores inflamatórios e desfechos clínicos simulados (Silva, 2023).

Adicionalmente, o potencial sinergismo ou antagonismo entre compostos de uma mesma espécie, ou entre espécies combinadas em formulações tradicionais, é pouco investigado, estudos de *checkerboard* e cálculo de FICI, como os aplicados à combinação de extractos vegetais e própolis, ainda são raros e muitas vezes apontam ausência de interação sem uma análise mecanística aprofundada (Bona *et al.*, 2014; Silva 2021).

A subexploração de interações sinérgicas entre metabólitos e formulações tradicionais reforça a necessidade de estudos combinatórios avançados e modulações variadas para desvendar potenciais terapêuticos holísticos e otimizados.

2.4.Segurança, toxicologia e padronização dos extractos vegetais

Embora existam dados de toxicidade aguda ou subcrônica para algumas espécies de *Fabaceae*, a maioria dos estudos não inclui avaliação sistemática de segurança, como genotoxicidade, toxicidade de órgão-alvo ou interações fármaco-planta, o que contrasta com o uso prolongado destes extractos em fitoterápicos tradicionais (Nghonjuyi *et al.*, 2016).

Além disso, investigações sobre variação sazonal, ontogenética e geográfica na composição de fenólicos, flavonóides e terpenóides em *Fabaceae* ainda são pontuais, dificultando a definição de especificações de qualidade, marcadores químicos de doseamento e protocolos de cultivo/colheita que garantam reprodutibilidade farmacológica. Essas lacunas comprometem a translação de extractos de *Fabaceae* para fitomedicamentos padronizados com eficácia e segurança baseadas em evidências pré-clínicas robustas.

2.4.1. Integração etnobotânica, ecológica, conservação das plantas medicinais

Levantamentos etnobotânicos em contextos de elevada carga de doenças e/ou em infecções oportunistas associadas ao HIV/SIDA em Lusaka, mostram que *Fabaceae* é uma das famílias mais frequentemente (Chinsebu *et al.*, 2019).

Contudo, esses dados de uso tradicional raramente são integrados a informações ecológicas (distribuição geográfica, estado de conservação, impacto da extração de raízes e cascas) e a estratégias de conservação, apesar do risco de sobre-exploração de espécies multiuso muito demandadas em contextos urbanos e rurais (Magwede *et al.*, 2018; Catarino *et al.*, 2019).

Persiste, portanto, necessidades mais sistêmicas que articulem bioprospecção em *Fabaceae* com conservação da biodiversidade, gestão sustentável dos recursos lenhosos e salvaguarda do conhecimento tradicional associado às comunidades que mantêm esse uso.

2.5.Compostos bioativos de interesse antimicrobiano

A análise fitoquímica visa conhecer e avaliar os constituintes químicos presentes nas espécies vegetais, permitindo-nos compreender melhor o potencial terapêutico e os possíveis riscos associados ao seu uso. Sob ponto de vista técnico, as espécies vegetais passam por um processo químico sistemático de triagem, na identificação e quantificação de seus marcadores farmacologicamente biológicos (Silva *et al.*, 2017).

Esse mapeamento químico inicial é essencial não apenas para explicar os efeitos farmacológicos observados empiricamente, mas também para direcionar os contornos fitoterápicos, porque conhecer perfil químico de uma planta é o primeiro passo para garantir a padronização de extratos, controlar a qualidade e evitar variações indesejáveis caso os resultados sejam comprovados para ensaios clínicos e uso farmacológico.

Existem vários factores que, de certa forma, contribuem para a qualidade e a quantidade dos compostos químicos nas espécies vegetais e todos eles impactando na actividade da espécie. Entre esses factores, destacam-se o clima, o solo, a altitude, o estado da planta, métodos de secagem e armazenamento pós-colheita (Bezerra, 2009).

A técnica de extração utilizada é um factor crítico, solventes e condições podem favorecer a em concentrações variadas. Por isso, ao realizar a análise fitoquímica das espécies vegetais, é sempre importante ter em mente todos esses aspectos, buscando padronização e rigor científico. Só assim conseguimos garantir que os resultados obtidos tenham o índice de confiança aceitável e úteis para a formulação de produtos fitoterápicos de qualidade.

Para que se possa fazer o uso seguro e eficaz de um extracto vegetal, é necessário seguir uma sequência definida de etapas fundamentada em métodos cientificamente validados, desde a

identificação botânica, extracção dos seus constituintes fitoquímicos, técnicas apropriadas de modo a preservar a integridade dos compostos bioactivos.

A sua validação advém métodos qualitativos e quantitativos, para isolar e caracterizar os compostos bioactivos por técnicas avançadas, como cromatografia e espectroscopia. Por fim os extractos ou compostos isolados passam por testes de actividade antimicrobiana, actividades farmacológicas a avaliação toxicológica a fim de identificar riscos e limites de segurança dos fitoterápicos (Rozatto, 2012).

Após esse processo surge a avaliação clínica, muito mais do que um simples teste de eficácia, visto que ela fornece informações detalhadas sobre *farmacocinética* (como o corpo absorve, distribui, metaboliza e excreta o composto bioativo), *biodisponibilidade* (a fracção realmente activa no organismo), *segurança* (incluindo a identificação de efeitos adversos potenciais) e *interacções medicamentosas* com outros fármacos ou alimentos (Bandeira *et al.*, 2002); (Bezerra, 2009; Bashige *et al.*, 2020).

Essas informações são fundamentais para orientar a prescrição segura, estabelecer doses adequadas e prevenir reacções adversas e efeitos colaterais. Em última análise, a avaliação clínica transforma o conhecimento tradicional e empírico sobre plantas medicinais em intervenções terapêuticas baseadas em evidências, fortalecendo a confiança da sociedade e da comunidade médica no uso de fitoterápicos.

2.5.1. Classes químicas de metabólitos secundários

a) Alcalóides

Constituem classes de compostos nitrogenados, geralmente de carácter básico, cuja estrutura inclui um ou mais átomos de nitrogénio inseridos em anéis heterocíclicos derivados de aminoácidos precursores. São responsáveis, em muitas espécies, pelo sabor amargo característico e actuam como importantes moléculas de defesa contra herbívoros e microrganismos, além de apresentarem actividades farmacológicas marcantes, como efeitos analgésicos, antitumorais, antiparasitários, cardiovasculares e sobre o sistema nervoso central (Silva, 2015).

b) Flavonóides

São polifenóis distribuídos, caracterizados pelo esqueleto C₆-C₃-C₆. Pode ocorrer na forma livre e desempenham funções ecológicas como pigmentos, agentes de defesa e reguladores de crescimento, além de mostrarem diversos efeitos biológicos (Dias *et al.*, 2017).

c) Taninos

Taninos correspondem a polifenóis de alta massa molar, tradicionalmente classificados em taninos hidrolisáveis e taninos condensados, constituídos por oligômeros ou polímeros de unidades de *flavan-3-ol*. A sua alta capacidade de formar complexos estáveis com proteínas, polissacáridos, metais justifica propriedades como adstringência, efeito anti nutricional em certas doses e, ao mesmo tempo, actividades antioxidante, antimicrobiana e antidiarreica amplamente descritas para espécies medicinais ricas nesses compostos (Dias *et al.*, 2017).

d) Saponinas

As saponinas são glicosídeos que apresentam uma aglicona (sapogenina) de natureza esteroidal ou triterpenoídica ligada a um ou mais açúcares, conferindo carácter anfílico e propriedade espumante. A organização estrutural está associada à interação com membranas biológicas, justificando efeitos hemolíticos em algumas concentrações, bem como actividades imunomoduladora, antifúngica, anti-inflamatória, hipocolesterolémica (Silva, 2015).

e) Antraquinonas

Antraquinonas são derivados policíclicos aromáticos baseados no núcleo antracénico substituído por dois grupos carbonilo, podendo ocorrer na forma livre ou como glicosídeos em várias famílias, incluindo *Fabaceae*, em géneros como *Cassia* e *Senna*. Estas substâncias apresentam propriedades farmacológicas relevantes, destacando-se os efeitos laxante, antimicrobiano, citotóxico e, em alguns casos, fotossensibilizante, o que explica o seu uso tradicional e o interesse em aplicações terapêuticas controladas (Lobo *et al.*, 2024).

f) Outros metabólitos bioactivos

Para além das classes anteriores, diversas plantas medicinais contêm outras com relevância farmacológica como terpenos e esteróides (por exemplo, β -espinasterol), ácidos gordos e seus ésteres, cumarinas, xantonas e lignanas. Esses compostos apresentam actividades anti-inflamatória, analgésica, hipocolesterolémica, antioxidante, antiviral, neuroprotetora e anti

tumoral, contribuindo de forma sinérgica para o perfil farmacológico dos extractos vegetais e motivando o avanço da etnobotânica (Silva, 2015).

2.6.Mecanismos de acção antimicrobiana dos compostos bioactivos

Os metabólitos secundários presentes em *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* exercem acção antimicrobiana por múltiplos mecanismos que, muitas vezes, actuam de forma simultânea sobre diferentes alvos celulares (Arruda *et al.*, 2010). A compreensão destes mecanismos é fundamental para relacionar a composição química das espécies ao seu uso tradicional. Compostos fenólicos podem formar *complexos estáveis levando a desnaturação enzimática* e à perda de integridade de estruturas superficiais microbianas (Bona *et al.*, 2019).

Esta interação acima descrita resulta em *aumento da permeabilidade da membrana*, fuga de constituintes intracelulares e, em concentrações mais elevadas, *lise celular*. Em paralelo, fenóis podem *quelar iões metálicos essenciais*, alterar o balanço redox e interferir com sistemas enzimáticos dependentes de metais, contribuindo para o efeito antimicrobiano observado (Lobo *et al.*, 2024).

Estudos fitoquímicos mostram que estes compostos (marcadores químicos) podem interagir com a bicamada lipídica, alterando a fluidez e a permeabilidade da membrana, inibição enzimática, interferir com sistemas de transporte de electrões e produção de energia. Além disso, o carácter antioxidante de flavonóides permite modular o *stress oxidativo*, podendo tanto proteger tecidos do hospedeiro como, em determinadas condições, potenciar danos oxidativos em microrganismos.

Saponinas de origem esteroideal ou triterpenoídica, também identificadas em leguminosas, exercem acção sobre microrganismos principalmente através da interação com esteróis da membrana, formando complexos que levam à desorganização da bicamada e à formação de poros (Arruda *et al.*, 2010). Esta acção detergente provoca aumento marcado da permeabilidade, libertação de iões e metabólitos essenciais e, em muitos casos, morte celular.

A capacidade das saponinas de potenciar a entrada de outros compostos bioactivos explica, em parte, efeitos sinérgicos observados quando combinadas com outros metabólitos vegetais ou com antimicrobianos convencionais (Dalmagro *et al.*, 2022). Para além do conhecido efeito laxante mediado pela irritação da mucosa intestinal e aumento da motilidade do cólon, vários derivados antraquinónicos exibem actividade antibacteriana e antifúngica, associada à

capacidade de interagir com DNA, interferir com isomerases e promover a actividade antioxidante (Erasto & Majinda, 2012; Neves *et al.*, 2017).

Esteróides e triterpenos participam da acção antimicrobiana por interações com a membrana plasmática e modulação de vias de sinalização celular em patógenos (Bandeira *et al.*, 2002; Silva, 2015). Em conjunto, estes vários mecanismos tornam os extractos das espécies em estudo agentes antimicrobianos complexos, capazes de actuar sobre múltiplos alvos.

2.7.Relação dos extractos com resistência antimicrobiana

O aumento da resistência antimicrobiana tem sido desafiante, motivando procura de novas fontes de moléculas activas e de moduladores capazes de responderem os desafios globais de saúde. Nesta perspectiva, extractos e metabólitos de plantas medicinais, como os obtidos de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana*, podem contribuir tanto com novas entidades químicas antimicrobianas como com compostos capazes de potenciar a actividade de antibióticos existentes (Casanova & Costa, 2017; Aguiar *et al.*, 2021).

Uma característica relevante dos metabólitos de origem vegetal é a capacidade de actuar sobre múltiplos alvos celulares, em contraste com muitos antibióticos clássicos que possuem mecanismos de acção mais específicos. Este multialvo pode dificultar o aparecimento de mutações únicas que confirmem resistência completa, além de permitir que compostos activos interfiram com mecanismos de resistência estabelecidos (Arruda *et al.*, 2010).

Estudos com extractos vegetais relatam que polifenóis e saponinas podem afectar a integridade e a fluidez da membrana de bactérias e fungos, modificando o acesso de antibióticos na membrana e parece celular (Ferreira *et al.*, 2019)

Ao aumentar a permeabilidade da membrana celular, estes compostos podem reduzir a concentração mínima inibitória de antibióticos administrados em associação, produzindo um efeito sinérgico, fenómeno também descrito para combinações de extratos de plantas como *Eugenia uniflora* com outros agentes antimicrobianos. Outro ponto de conexão entre plantas medicinais e resistência antimicrobiana é a capacidade de metabólitos de interferir com a formação e manutenção de biofilmes, estruturas que conferem elevada tolerância a antimicrobianos (Casanova & Costa, 2017).

Neste contexto, o estudo aprofundado dos mecanismos de acção dos metabólitos presentes em *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* não se limita à validação do uso tradicional, mas oferece perspectivas para o desenvolvimento de estratégias combinadas de tratamento (Neves *et al.*, 2017).

Extractos padronizadas das espécies podem vir a ser explorados como adjuvantes terapêuticos, associados a antibióticos convencionais, com o objectivo de melhorar a resposta clínica, reduzir doses necessárias e retardar a emergência de resistência antimicrobiana.

2.8. Métodos de extracção e partição dos extractos brutos

A escolha adequada do método de extração e fracionamento é determinante para a obtenção de extractos brutos com composição química reprodutível e actividade biológica consistente, especialmente quando o objectivo é o desenvolvimento de formulações farmacêuticas, cosméticas ou alimentícias a partir de produtos naturais (Aguiar *et al.*, 2021).

Estudos evidenciam que a combinação entre o tipo de solvente, a técnica de extracção e etapas subsequentes de fracionamento impacta directamente o rendimento em compostos, a expressão de actividades antioxidante e antimicrobiana, bem como os perfis de toxicidade em ensaios.

Nessa perspectiva, a maceração, decocção, *Soxhlet* entre outros aliados ao fraccionamento com solventes de polaridades distintas continuam a ser amplamente utilizados em estudos de bioprospecção e padronização de extractos vegetais e alimentos funcionais gerando resultados de maior impacto. A integração de técnicas clássicas emerge como abordagem prioritária para elevar a bioprospecção vegetal a padrões industriais viáveis e sustentáveis.

2.8.1. Extracção por maceração

A maceração é um método sólido-líquido baseado no equilíbrio de difusão entre o material vegetal finamente pulverizado e o solvente extractor, mantidos em contato por determinado período que varia de 2-10 dias, com ou sem agitação e geralmente à temperatura ambiente ou moderada (Assis, 2015). A maceração apresenta simplicidade operacional, baixo custo, possibilidade de utilização de solventes considerados “verdes”, como misturas hidroalcoólicas e maior preservação de compostos termolábeis, uma vez que o processo pode ser conduzido sem aquecimento intenso.

Contudo, limitações importantes incluem tempos de extracção mais prolongados, menor eficiência para matrizes muito lignificadas ou com baixa permeabilidade ao solvente, além de menor selectividade, o que exige etapas subsequentes de purificação e fracionamento para concentrar classes específicas de metabólitos.

2.8.2. Extracção Soxhlet

A extracção, constitui um método clássico que associa aquecimento e refluxo contínuo do solvente, permitindo a passagem repetida do solvente quente e limpo sobre a matriz vegetal, até à exaustão da fracção solúvel (Chapaval et al., 2018). É a técnica considerada eficiente para a extração de constituintes pouco polares. Esse mecanismo confere alta eficiência de extracção, uma vez que o solvente saturado é sistematicamente substituído por solvente fresco por meio dos ciclos de sifonagem entre concentração e difusão (aumento e favorecimento) dos solutos para a fase líquida (Silva, 2021).

Apesar da reconhecida eficiência, o emprego de *Soxhlet* implica exposição prolongada do material vegetal a temperaturas mais elevadas, o que pode promover a degradação de compostos termolábeis, como certas antocianinas, glicosídeos, flavanóis e polissacarídeos sulfatados, além de demandar maior consumo de solventes e energia. Dessa forma, o método é mais indicado para matrizes secas e relativamente estáveis ao calor, em especial quando o foco são fracções lipofílicas que servirão como ponto de partida para fracionamentos cromatográficos ou formulações contendo óleos e ceras, ao passo que, para compostos mais sensíveis, a maceração a frio ou técnicas assistidas (ultrassom, micro-ondas) tendem a ser mais favorável.

2.8.3. Capacidade dos solventes e partição dos extractos brutos vegetais

A selectividade de um processo extractivo está intimamente relacionada à polaridade do solvente usado, que determina quais classes de metabólitos serão preferencialmente solubilizadas. Solventes de baixa polaridade como n-hexano extraem predominantemente lipídios, ceras e terpenos apolares, enquanto solventes intermediários, como acetato de etila, tendem a concentrar flavonóides menos polares e outros fenólicos de média polaridade, deixando polissacarídeos e sais na fase aquosa (Matotoka *et al.*, 2023).

Além da etapa de extracção, a escolha do solvente de diluição dos extractos é crítica em ensaios antimicrobianos, pois solventes residuais podem interferir no crescimento

microbiano. Chapaval *et al.* (2018) determinaram a CIM de diferentes demonstrando que misturas hidroalcoólicas acima de certos limiares influenciar resultados do crescimento bacteriano, enquanto DMSO e surfactantes como Tween 80% podem ser melhor opção quando controlados. Portanto, a definição da polaridade e concentrações de solventes ao longo de todo o fluxo de trabalho é fundamental para garantir tanto a selectividade química quanto a validade biológica dos resultados obtidos.

A Partição líquido-líquido de extractos brutos, utilizando solventes imiscíveis de polaridades crescentes, constitui etapa central na purificação de extractos vegetais, permitindo concentrar classes específicas de compostos em diferentes fracções (Rodrigues *et al.*, 2016). Distribuição químicas segundo a polaridade dos solventes para constituintes apolares, moderadamente apolares, média polaridade e polares de forma sequenciada constitui, assim, um passo estratégico na transição do extracto bruto para fracções mais definidas, com impacto directo na interpretação dos resultados biológicos e na padronização de extractos farmacotecnicamente viáveis. (Lian *et al.*, 2024).

2.8.4. Importância da padronização dos extractos

A padronização de extractos vegetais abrange o controle rigoroso de parâmetros como espécie e parte vegetal utilizadas, condições de colheita e secagem, granulometria do material, método e condições de extração (tempo, temperatura, razão sólido-solvente, tipo e pureza do solvente), bem como o estabelecimento de marcadores químicos e padrões mínimas de teor para classes de metabólitos relevantes e garantir reprodutividade seguras e eficazes (Gondim, 2023).

Estudos voltados ao desenvolvimento de cosméticos como realizado por Costa *et al.* (2023), a padronização foi considerada ainda mais crítica, pois a eficácia e a segurança das formulações dependem de extractos com composição química consistente entre lotes. Chapaval *et al.* (2018), sustenta que escolha e a concentração de solventes usados na diluição dos extractos para ensaios microbiológicos devem ser padronizadas, sob pena de atribuir erroneamente aos extractos vegetais efeitos inibitórios que, na realidade, decorrem do próprio solvente. Assim, a padronização de extractos e de todas as etapas do fluxo experimental constitui requisito indispensável para a correlação confiável para a transposição dos resultados laboratoriais para a prática clínica e industrial.

2.9. Métodos de caracterização dos extractos vegetais

Os métodos de caracterização avaliam propriedades físico-químicas e composição molecular garantindo reprodutibilidade e padronização em estudos fitoquímicos. Estes procedimentos distinguem-se de análises preliminares de triagem, focando quantificação precisa e identificação estrutural, sem sobreposição com secções de extracção ou bioactividade (Lyrio *et al.*, 2021). Estabelecem a base para reprodutibilidade e padronização rigorosas em bioprospecção, diferenciando-se das triagens preliminares por priorizarem quantificações precisas e elucidações estruturais. Sua aplicação sistemática leva a melhores objectivos de padronização.

2.9.1. Ensaio físico-químico

O pH mede acidez ou basicidade dos extractos, influenciando na estabilidade e solubilidade de metabólitos. Sólidos totais quantificam massa seca residual após evaporação, reflectindo concentração de compostos activos. Rendimento calcula percentagem de extracto obtido por massa vegetal inicial, optimizando condições extractivas (Araújo *et al.*, 2025). Nesta senda, pH, sólidos totais e rendimento funcionam como parâmetros físico-químicos essenciais para caracterizar extractos vegetais, garantindo para além da estabilidade, na concentração e eficiência extractiva de compostos bioactivos. Sua determinação sistemática orienta optimizações processuais, assegurando reprodutibilidade e escalabilidade para aplicações industriais em bioprospecção vegetal.

2.9.2. Cromatografia

A cromatografia é uma técnica analítica de separação baseada na interação diferencial dos compostos entre uma fase móvel e uma fase estacionária, frequentemente envolvendo fenómenos de adsorção. Essa característica permite a separação de componentes de uma mistura de acordo com suas propriedades físico-químicas, como polaridade e volatilidade. Trata-se de um método amplamente utilizado para o rastreio qualitativo rápido (screening), possibilitando a deteção e a identificação preliminar de múltiplos constituintes em matrizes complexas.

Em particular, é altamente eficaz na análise de extractos vegetais, sendo adequada para a identificação de compostos voláteis e de baixa polaridade, devido à sua elevada sensibilidade e capacidade de resolução (Borges *et al.*, 2021). A CCD, HPLC e GC-MS formam um trio

complementar para caracterização fitoquímica, desde *screening* qualitativo até resoluções quantitativas complexas. Sua integração estratégica assegura identificação estrutural abrangente e padronização de extractos vegetais, acelerando a validação de potenciais bioativos para aplicações terapêuticas confiáveis.

2.9.3. Espectroscopia

Espectroscopia UV-Vis detecta cromóforos conjugados em fenóis e alcalóides por absorção electrónica. Infravermelho por transformação de Fourier (FTIR) revela vibrações moleculares, confirmando grupos hidroxilas e carbonilas. Ressonância magnética nuclear (RMN) elucida estruturas atómicas completas e esta técnica é essencial para caracterização precisa de metabólitos isolados (Borges *et al.*, 2021). UV-Vis, FTIR e RMN complementam-se na caracterização molecular de extractos vegetais. Sua aplicação sequencial garante identificação precisa e padronização robusta, elevando estudos fitoquímicos de *screening* exploratório a validações estruturais definitivas para bioprospecção aplicada.

2.10. Actividade antioxidante

A actividade antioxidante neutraliza espécies reactivas de oxigénio, distinta de secções antimicrobianas ou citotóxicas, centrando mecanismos redutores em extractos vegetais. Plantas com actividade oxidante são consideradas como promissoras para o controlo de *stress* oxidativo ou fenómeno conhecido por oxidação biológica (Sayed *et al.*, 2015).

Estresse oxidativo surge do desequilíbrio entre pro-oxidantes e defesas celulares, danificando lípidos, proteínas e DNA. Radicais livres, como superóxido e hidroxilo, geram-se no metabolismo mitocondrial de oxigénio. Em plantas medicinais, extractos contrabalançam este processo em sistema biológico (Belitibo *et al.*, 2025; Nzila *et al.*, 2022).

Seu potencial terapêutico contra patologias associadas ao desequilíbrio redox posiciona plantas medicinais como aliados promissores para prevenção e controle oxidativo em aplicações clínicas sustentáveis.

2.10.1. Métodos de avaliação do poder antioxidante

DPPH avalia sequestro de radicais estáveis por descoloração espectrofotométrica UV-Vis a 517 nm, onde o radical violeta reduz-se para amarelo-pálida pela doação de electrões ou hidrogénio dos antioxidantes, expressando-se como percentagem de inibição ou IC₅₀. ABTS

quantifica capacidade redutora de catião radical, aplicável a compostos hidrossolúveis e lipofílicos. FRAP mede redução de complexo férrico a ferroso, reflectindo poder redutor total neste processo (Ayoka *et al.*, 2022; Braca *et al.*, 2018).

Extractos vegetais ricos em potencial antioxidante validam o uso etnobotânico de plantas contra inflamações crónicas. É método simples, rápido, sensível, amplamente aplicado em análises de extratos vegetais para quantificar seu potencial antioxidante (Nozo *et al.*, 2023). Matematicamente determina-se o percentual de inibição em ($\%IC = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{extrato}}}{A_{\text{controle}}} \times 100$) ou a concentração inibitória de 50% (IC₅₀) via regressão linear da curva dose-resposta,

2.11. Toxicidade e citotoxicidade

O consumo indevido de antibióticos apresenta efeitos adversos bem conhecidos, pois todos os fármacos convencionais têm detalhes sobre efeitos colaterais, adversos esperados desde leves, moderados até mesmo graves, permitindo que profissionais de saúde e pacientes tenham acesso a informações claras sobre riscos e contraindicações (Belitibo *et al.*, 2025; Senigalia *et al.*, 2020).

Apesar de amplamente utilizadas por populações em todo o mundo desde tempos remotos, muitas plantas medicinais ainda carecem de estudos científicos rigorosos e que descrevam doses seguras ou potenciais interações. Isso cria uma lacuna preocupante no conhecimento popular e até mesmo profissional sobre os riscos do uso de fitoterápicos. Por isso, investigar a toxicologia dos extractos vegetais torna-se essencial.

Cientificamente, o termo toxicologia busca entender de forma sistemática os efeitos prejudiciais que substâncias químicas podem causar nos organismos vivos. Para isso, ela investiga o impacto dessas substâncias em níveis bioquímico, celular e molecular, explorando não apenas como causam danos, mas também os mecanismos de acção, as vias metabólicas envolvidas e os factores que modulam a toxicidade (Yang *et al.*, 2021).

Além disso, a toxicologia avalia os riscos associados à exposição a essas substâncias em diferentes contextos, como a frequência, tempo de exposição aliado as características individuais dos pacientes como idade, doenças pré-existentes e predisposição genética. Esse conhecimento é fundamental para estabelecer limites seguros, orientar políticas de saúde e desenvolver estratégias de prevenção e tratamento de intoxicação (Lima *et al.*, 2019).

Dessa forma, a toxicologia assume um papel central e indispensável no estudo de extractos vegetais. Apesar da ideia errônea de que "*natural é sempre seguro*", os compostos extraídos de plantas podem conter substâncias biologicamente activas com potencial tóxico considerável. Em muitas situações, esses produtos são administrados de forma isolada ou combinada sem qualquer conhecimento sólido sobre sua toxicidade real, doses seguras ou efeitos adversos de longo prazo.

Isso torna-se ainda mais crítico quando se considera o uso popular sem acompanhamento médico adequado, muitas vezes baseado apenas em tradição ou indicações informais. Por isso, estudar e compreender os riscos associados aos fitoterápicos é fundamental para garantir um uso seguro, eficaz e baseado em evidências. Ainda urge sustentar que investir em pesquisas toxicológicas de qualidade permite não apenas identificar perigos ocultos, oferece à sociedade alternativas terapêuticas (Dias *et al.*, 2017).

A toxicologia de extractos vegetais preenche lacunas críticas entre o uso tradicional desregulado e a segurança clínica, avaliando mecanismos de dano bioquímico, celular e molecular. Diferentemente dos fármacos sintéticos com perfis adversos bem documentados, os fitoterápicos demandam validação rigorosa para estabelecer limites seguros, mitigar interações e prevenir intoxicações, transformando "*natural*" em terapêuticas confiáveis.

2.11.1. Citotoxicidade e segurança no uso de fitoterápicos

As interações medicamentosas classificam-se em farmacodinâmicas e farmacocinéticas. As farmacodinâmicas resultam da acção do medicamento ou dos seus metabólitos, manifestando-se em sinergismo ou antagonismo. Já as farmacocinéticas decorrem de alterações nos processos de absorção e metabolismo dos mesmos (Valentin *et al.*, 2020).

Na medicina moderna (uso de fármacos convencionais) aparece com sua descrição sobre restrição no seu uso, em que situação medicamento não pode ser combinado com outro, quais são os alimentos a evitar de modo a não anular o efeito desejado para aquela infecção ou enfermidade. Na mesma vertente outros com propriedades semelhantes são acautelados de modo a não causar outros efeitos sobre os diferentes sistemas do organismo (Casanova & Costa, 2017).

Por isso no tratamento em fitoterápicos, deve-se ter em conta dois conceitos importantes: o antagonismo e sinergismos dos extractos vegetais quando administrados em simultâneo ou

em interação com medicamentos convencionais. Exemplo claro foi descrito por Silva *et al* (2021), quando estabeleceu que, um medicamento administrado para um certo fim, também é capaz de potencializar outro medicamento causando efeitos indesejáveis no organismo.

Os fitoterápicos caracterizam-se pela presença de múltiplos constituintes químicos, actuando por diferentes mecanismos e podendo interagir com diversos medicamentos, o que pode comprometer a sua eficácia e segurança. Diante da possibilidade dessas interações e partindo da ideia de que produtos naturais são isentos de riscos, torna-se essencial considerar os conceitos de sinergismo e antagonismo na avaliação das interações entre extractos vegetais e medicamentos.

Ora vejamos, o estudo de sinergismo nos extractos vegetais da *Hypericum perforatum L*, fitoterápico anti depressor com eficácia comprovada e equiparada a antidepressivos convencionais provou que este tem efeito sinérgico, devido a presença de procianidinas (substância com acção não antidepressiva), porque este aumenta a solubilidade em água da hypericina é um exemplo típico de sinergia farmacocinética (Casanova & Costa, 2017).

Por isso, população deve possuir conhecimento sobre a segurança no seu uso e suas potencialidades para que tenham efeito desejado. Entre os diversos métodos disponíveis para avaliar as interações entre substâncias activas, o método de Índice de Concentração Inibitória Fracionária (FICI), destaca-se por sua praticidade e flexibilidade na determinação dessas interações (Dalmagro *et al.*, 2022). O cálculo do FICI segue a fórmula: $FICI = FICA + FICB = (CIMAB/CIMA) + (CIMBA/CIMB)$.

Em que: CIMA e CIMB representam as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) das substâncias activas A e B testadas isoladamente; CIMAB e CIMBA são as CIMs das mesmas substâncias quando avaliadas em combinação. Essa metodologia permite quantificar de forma objectiva o tipo de interação entre os compostos testados. Os resultados são interpretados com base nos seguintes critérios:

- Interação sinérgica quando $FICI \leq 0,5$, indicando que a combinação potencializa o efeito inibitório além do esperado;
- Ausência de interação (adição ou indiferente) quando $0,5 < FICI \leq 4$, sugerindo que a combinação não altera significativamente o efeito das substâncias isoladas;
- Interação antagônica quando $FICI \geq 4$, apontando que a combinação reduz a actividade inibitória em relação às substâncias isoladas.

Esse método tem sido usado em estudos de combinação de antimicrobianos e compostos bioativos, por permitir uma avaliação quantitativa rigorosa e comparável entre diferentes estudos seguros.

2.12. Ensaio *in vitro* e viabilidade celular

Considerado teste preliminar citotóxico e de segurança dos extractos antes de estudos *in vivo* (CC₅₀), sendo fundamentais em estudos medicinais envolvendo extractos e não só bem como no desenvolvimento de fármacos (Yang *et al.*, 2021; Sultão *et al.*, 2022).

Ensaio de viabilidade celular em culturas de células humanas ou animais medem a integridade metabólica e estrutural após exposição aos extractos, indicando concentrações seguras para posterior avaliação de actividade antimicrobiana ou antiviral e simultaneamente, monitorar possíveis efeitos tóxicos sobre células hospedeiras (Rozatto, 2012).

O princípio do ensaio de MTT (CC₅₀) é um teste simples e barato usado para saber se as células estão vivas ou não quando expostas, quer dizer as células vivas conseguem transformar uma substância chamada MTT em um material escuro (formazan). Depois, mede-se essa cor em espectrofotómetro UV-Vis e quanto mais intensa a cor, maior o número de células vivas na amostra (Mudenda *et al.*, 2024). A redução de formazan em função da concentração do extracto permite calcular a viabilidade relativa e o CC₅₀ citotóxico.

Este tipo de abordagem é particularmente relevante quando se estudam patógenos oportunistas como *Candida albicans*, dado que a janela entre concentração eficaz e tóxica deve ser cuidadosamente definida (Talapko *et al.*, 2021).

Outro ensaio levado em conta é teste de hemólise que utiliza eritrócitos, como modelo simples para avaliar dano de membrana provocado pelos extractos, medindo a libertação de hemoglobina para o meio. Percentagens elevadas de hemólise indicam potencial risco de toxicidade sistémica, enquanto resultados reduzidos apoiam a segurança preliminar de extractos com actividade antimicrobiana (Sultão *et al.*, 2022). Para plantas usadas tradicionalmente em infecções urogenitais, este ensaio é útil para validar o uso empírico e evitar formulações com efeito detergente excessivo sobre membranas celulares.

O *brine shrimp test* (ensaio de letalidade em *Artemia salina*), mas importante também, avalia toxicidade geral através da mortalidade de náuplios expostos a diferentes concentrações de extractos, permitindo estimar valores de LC₅₀ como indicador de toxicidade aguda. Adequado para triagem inicial de uma grande quantidade de amostras vegetais (Mudenda *et al.*, 2024).

Extractos com baixa toxicidade em ensaio e efeitos promissores sobre microrganismos patogénicos justificam a continuidade em ensaios mais específicos de viabilidade celular e em modelos de infecciosos.

Ensaio *in vitro* e *in vivo* de triagem (como MTT, hemólise e *brine shrimp*) estabelecem a selectividade terapêutica de extratos vegetais, definindo valores de CC₅₀, janelas de segurança e CL₅₀/DL₅₀ agudas antes de validações *in vivo* mais complexas. Esses testes preliminares diferenciam a toxicidade celular da potência antimicrobiana, validando usos tradicionais contra patógenos oportunistas enquanto identificam riscos sistémicos, acelerando a triagem para formulações seguras e eficazes.

2.13. Epidemiologia das infeções sexualmente transmissíveis

A disfunção sexual e a infertilidade associadas às infeções sexualmente transmissíveis configuram-se como problemas de saúde pública, com repercussões significativas tanto nas dimensões biológicas quanto sociais dos indivíduos afectados (Quirino *et al.*, 2019).

Embora existam diversas opções sintéticas disponíveis para o tratamento das ITS's, observa-se que, por factores diversos e efeitos colaterais de medicamentos convencionais, práticas culturais e crenças populares, muitos indivíduos optam por recorrer às ervas e plantas medicinais por serem consideradas acessíveis (Sultão *et al.*, 2022).

Em complemento a isso, é importante destacar que as ITS's exercem um impacto directo e contínuo sobre a saúde sexual e reprodutiva da população, mantendo-se como uma das mais persistentes preocupações da OMS, sustentado pela magnitude e a urgência da questão. As infeções sexualmente transmissíveis configuram crise em saúde pública global com mais de um milhão de casos diários, afetando desproporcionalmente mulheres (63%) e homens (37%) aliado a vários factores como: diagnóstico tardio e barreiras masculinas, comprometendo fertilidade, disfunção sexual e facilitando transmissão de HIV/SIDA.

2.14. Microorganismos implicados em infeções sexualmente transmissíveis

2.14.1. *Candida albicans*: características, patogenicidade, resistência antifúngica

É fungo comensal presente na cavidade orofaríngea, trato gastrointestinal, vaginal e na pele de indivíduos saudáveis. Em cerca de 50% da população, pode provocar desde infeções mucocutâneas superficiais até formas invasivas. Diversos factores sistémicos, locais,

genéticos e ambientais alteram o equilíbrio normal desse microrganismo, favorecendo a sua transição de componente da flora normal para patogénico, culminando no desenvolvimento de candidíase (Talapko *et al.*, 2021).

A relação comensal mantém-se enquanto há equilíbrio entre o sistema imunitário do hospedeiro e os factores de virulência. Alterações no pH vaginal podem romper esse equilíbrio, favorecendo o início do processo infeccioso (Quirino *et al.*, 2019). Este é o principal agente das infecções fúngicas, responsável por quase 85% dos casos de candidíase oral e vulvovaginal

2.14.2. *Streptococcus agalactiae*: características e patogenicidade

O *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus* do grupo B, segundo a classificação de Lancefield) é um importante agente etiológico de infecções neonatais graves, frequentemente associadas à transmissão vertical decorrente da colonização materna das regiões anal, perineal e/ou vaginal. Dada a magnitude desse risco, o rastreio deste microrganismo em mulheres grávidas deve ser priorizado. Contudo, em Moçambique, o diagnóstico e a vigilância permanecem fragilizados (Jacomini & Murayama, 2023). Nesse contexto, o controlo deste microrganismo reveste-se de elevada importância clínica para a redução de infecções e melhoria dos desfechos materno-infantis.

2.14.3. *Streptococcus* do grupo D: características e patogenicidade

Os estreptococos do grupo D incluem principalmente *Enterococcus spp.* e algumas espécies de *Streptococcus* que colonizam o trato gastrointestinal e o geniturinário, comportando-se como comensais em indivíduos saudáveis (Cesarino, 2019). Em condições de desequilíbrio da microbiota, imunossupressão ou após procedimentos invasivos, estas bactérias podem tornar-se oportunistas, associando-se a infecções do trato urinário, endocardite, bacteriemia e, em menor grau, a infecções genitais. A transmissão por via sexual e o contacto íntimo com a região perineal e anal podem facilitar a disseminação para o trato genital, particularmente em contextos de higiene comprometida.

A patogenicidade dos estreptococos do grupo D relaciona-se com a capacidade de formar biofilmes, aderir ao epitélio mucoso e expressar factores como hemolisinas e proteases, que contribuem para evasão imunitária e inflamação local. Em mulheres em idade reprodutiva, a colonização genital por estes microrganismos pode actuar como co-factor em vaginites mistas

e infecções ascendentes, potenciando o risco de complicações obstétricas e neonatais, de forma análoga ao observado para *S. agalactiae*, embora com menor frequência relatada (Talapko *et al.*, 2021).

2.14.4. *Lactobacillus spp.*: papel na microbiota vaginal

Lactobacillus spp. são bacilos Gram-positivos predominantes na microbiota vaginal saudável de mulheres em idade fértil, sendo considerados microrganismos benéficos e protectores. Produzem ácido láctico, peróxido de hidrogénio e bacteriocinas, mantendo o pH vaginal ácido (cerca de 3,8-4,5) e inibindo o crescimento de patógenos como *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, enterobactérias e estreptococos potencialmente patogénicos. A sua presença está associada a menor incidência de vaginose bacteriana, candidíase (Jacomini & Murayama, 2023).

A redução quantitativa ou qualitativa de *Lactobacillus spp.*, seja por uso de antibióticos, alterações hormonais, práticas de higiene agressivas ou comportamentos sexuais de risco, conduz à perda da barreira biológica natural. Esse desequilíbrio facilita a virulência dos microrganismos patogénicos, fragilizando a susceptibilidade a infecções vulvovaginais e às suas complicações reprodutivas (Rosa *et al.*, 2023; Rodrigues *et al.*, 2022). Assim, *Lactobacillus spp.* funcionam como um importante marcador de eubiose vaginal e alvo de estratégias probióticas para restaurar o equilíbrio em mulheres com infecções recorrentes.

2.14.5. *Gardnerella vaginalis*: características e patogénese na vaginose bacteriana

Do ponto de vista taxonómico e morfológico, a *Gardnerella vaginalis* é classificada como um cocobacilo facultativamente anaeróbio e Gram-variável. Embora a análise filogenética a posicione firmemente no filo *Actinomycetota* (característico de bactérias Gram-positivas), a sua parede celular apresenta uma ultra estrutura atípica devido a uma camada de peptidoglicano extremamente fina e desprovida de ácidos teicóicos. Consequentemente, durante o processo analítico de coloração de Gram, esta barreira estrutural não retém eficazmente o complexo cristal violeta-iodo face à descoloração por álcool-acetona, originando uma coloração inconsistente ao microscópio óptico (com células coradas simultaneamente a roxo e rosa). Esta natureza tintorial ambígua torna o termo Gram-variável a descrição laboratorial mais precisa para o patógeno, distinguindo-o das classes bacterianas convencionais (Lima *et al.*, 2019).

Em condições normais, pode estar presente em baixa quantidade na microbiota vaginal, mas, quando ocorre redução de *Lactobacillus spp.* e aumento do pH vaginal, prolifera e passa a dominar o ecossistema. Esta sob recrescência leva à formação de biofilmes aderidos ao epitélio vaginal, com produção de aminas voláteis responsáveis pelo odor característico e pela inflamação subclínica (Chinsembu *et al.*, 2019). Clinicamente, *G. vaginalis* associa-se a corrimento vaginal acinzentado, pH elevado e presença de “*clue cells*”, além de maior risco de infecções ascendente, partos prematuros e susceptibilidade acrescida a ITS’s.

A patogénese envolve adesinas de superfície, produção de citotoxinas como a vaginolisina e capacidade de co-agregar com outras bactérias anaeróbias, formando consórcios microbianos resistentes à resposta imune local e aos antimicrobianos. O desequilíbrio entre *G. vaginalis* e *Lactobacillus spp.* é, portanto, central na compreensão da saúde vaginal e das infecções associadas.

2.14.6. *Escherichia coli*: patogenicidade

Escherichia coli é um bacilo gram-negativo comensal do intestino humano, mas várias estirpes uropatogénicas estão implicadas em infecções do trato urinário, incluindo cistite, pielonefrite e uretrite. A proximidade anatómica entre região anal, perineal e meato uretral facilita a migração de *E. coli* para o trato urinário, sobretudo em mulheres, sendo as práticas sexuais um factor adicional que favorece esta translocação. Em contextos de ITS’s e vaginites, a colonização concomitante por *E. coli* pode agravar inflamação local e predispor a infecções ascendentes (Gondim, 2023; Braca, 2018).

A patogenicidade de *E. coli* uropatogénica está ligada à expressão de fímbrias adesinas (como P-fímbrias), produção de toxinas, sideróporos e capacidade de formar biofilmes na mucosa urogenital. Estes factores de virulência asseguram aderência ao epitélio, evasão da resposta imune e recorrência infecciosa, o que é particularmente preocupante em cenários de resistência a antibióticos amplamente descrita para este género bacteriano (Senigalia *et al.*, 2020). Em populações com acesso limitado a diagnóstico microbiológico, como em várias regiões de Moçambique, *E. coli* deve ser considerada uma agente chave nas infecções urogenitais associadas a comportamentos sexuais de risco e condições de higiene deficientes.

2.15. Testes biológicos de actividade antimicrobiana

Para responder pressupostos da OMS (Saúde para todos até 2030), as infecções precisam ser combatidas. Deste modo o tratamento deve ser eficaz e somente administrado a partir de resultados de diagnóstico orientado para cada microorganismo associado. Os extractos vegetais têm sido utilizados desde os tempos remotos e com o desenvolvimento de técnicas puramente científicas, o mundo de antibioterapia passou a ser mais eficaz, visto que passou a ser possível testar a acção de cada antibiótico em função da bactéria em causa, tornando deste modo o tratamento bacteriano mais eficaz.

Por isso, a necessidade de se realizar a testagem de antibiograma para determinar a actividade biológica dos extractos e comprovar o saber local. Existem várias técnicas cientificamente validadas e utilizadas para a realização do teste de sensibilidade de antibiograma que podem ser destacadas na figura abaixo, que sistematiza as técnicas em alusão. Mas a de maior destaque versa sobre a técnica de microdiluição, apesar poder ter algumas interferências considera-se a mais eficaz para produtos naturais. Existem outras técnicas para caso de aplicação simultânea de extractos como o *Checkerboard* e o *Time-kill* (Rozatto, 2012).

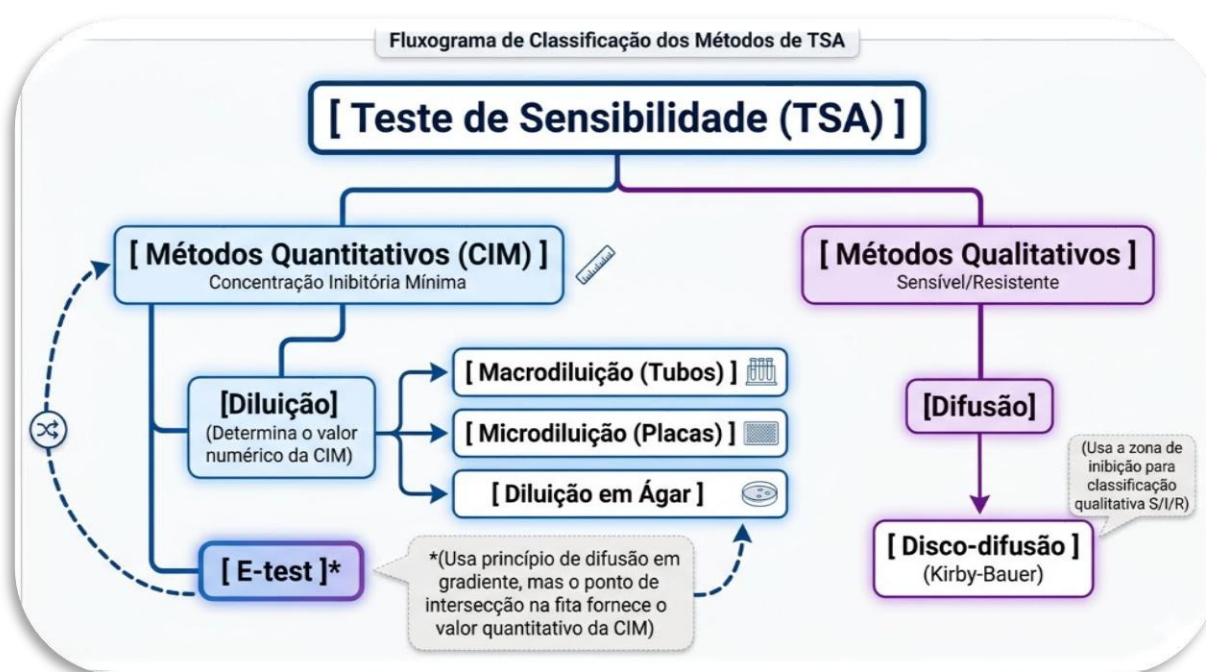


Figura 4 Sistematização dos métodos para realização dos testes de sensibilidade aos antibióticos

Fonte: (Fabris, 2018)

É importante destacar que existem diversos factores tido como de interferência, meios de cultura utilizados e a concentração do ágar, bem como a sua origem, uma vez que estes parâmetros podem influenciar os resultados do ensaio.

A avaliação da eficácia antibacteriana de compostos bioactivos assenta na distinção analítica entre a Concentração Inibidora Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM). A CIM define-se como a menor concentração do agente capaz de inibir o crescimento bacteriano visível, exercendo um efeito predominantemente bacteriostático. Por sua vez, a CBM determina a menor concentração necessária para induzir a morte celular.

Metodologicamente, a determinação do rácio CBM/CIM constitui um indicador fitoquímico crucial, estes valores iguais ou inferiores a 4 classificam o extracto ou molécula isolada como bactericida, enquanto rácios superiores a 4 sinalizam uma acção meramente bacteriostática como conceptualizado . Esta diferenciação é fundamental para traçar o perfil farmacodinâmico preliminar antes dos ensaios biológicos posteriores (Fabris, 2018).

2.16. Meios de cultura mais utilizados

Em estudos biológicos, a escolha do meio de cultura é determinante para um crescimento reprodutível das bactérias e fungos testados. O ágar de Sangue é um meio não selectivo, rico em nutrientes, amplamente utilizado em culturas devido a sua versatilidade (Araújo *et al.*, 2025; Lobo *et al.*, 2024). O ágar Sabouraud dextrose é mais adequado para o isolamento e crescimento de leveduras e fungos filamentosos, sendo frequentemente usado em ensaios contra *Candida spp.* e outros fungos oportunistas associados a infecções urogenitais (Alfaia & Almeida, 2016). O ágar Mueller-hinton constitui o padrão para testes de susceptibilidade por apresentar composição, pH controlados, baixa interferência com a difusão de antimicrobianos (Maema *et al.*, 2020).

2.17. Procedimentos de cultivo laboratorial de microorganismos

Os procedimentos de cultivo bacteriano e fúngico seguem princípios de assepsia rigorosa, padronização do inóculo e condições adequadas de incubação. As bactérias são geralmente cultivadas em meios próprios, inoculando-se colónias isoladas em meio fresco e incubando-as a 35-37°C por 18-24 horas, até obtenção de culturas jovens padronizadas, que posteriormente são ajustadas ao padrão 0,5 de Macfarland para uso em ensaios de difusão ou microdiluição (Araújo *et al.*, 2025; Lobo *et al.*, 2024).

Em contextos clínicos ligados a infecções neonatais por estreptococos do grupo B, o cultivo em meios apropriados é essencial para o diagnóstico microbiológico e a definição do perfil de susceptibilidade, reforçando a importância de protocolos laboratoriais bem definidos (Jacomini & Murayama, 2023). Estes procedimentos de cultivo também são relevantes quando se avalia o potencial antimicrobiano em infecções sexualmente transmissíveis.

2.18. Ensaios e determinação de CIM

Os ensaios são amplamente utilizados como triagem inicial da actividade antimicrobiana de extractos e compostos isolados. Em ágar Mueller-Hinton ou Sangue, aplicam-se discos impregnados ou poços contendo o extracto sobre a superfície previamente inoculada com o microrganismo-alvo, após incubação, medindo o diâmetro inibição, permitindo fazer comparação semi-quantitativa, a potência relativa entre amostras (Alfaia & Almeida, 2016; Araújo *et al.*, 2025).

Em placas de microdiluição, preparam-se diluições seriadas do extracto em meio líquido padronizado, inocula-se um volume definido da suspensão microbiana e, após incubação, observa-se turvação ou recorre-se a indicadores metabólicos para leitura (Araújo *et al.*, 2025; Lobo *et al.*, 2024). A CIM permite comparar a força de inibição entre moléculas e sustentar o uso, enquanto a CBM observa-se o resultado no meio onde não houve crescimento bacteriano ou fúngico na totalidade, de modo a determinar a CBM (Alfaia & Almeida, 2016).

2.19. Tratamento das ITS'S em Moçambique segundo algoritmo do MISAU

Algumas ITS's, o seu tratamento visa em reestabelecer o equilíbrio da microbiota vaginal como um possível incremento dos *Lactobacilos spp.*, como em vaginoses bacterianas enquanto outras requerem o uso de antibióticos em dose combinada ou dose fixa.

Para o tratamento das ITS's deve-se ter em conta o quadro clínico do paciente, sexo (se for mulher deve se tomar nota o estado gestacional) e idade. Segundo MISAU (2007) recomenda o seguinte para o tratamento das ITS's em Moçambique, bem como o seu código no Formulário Nacional de Medicamentos (FNM).

- a) **Ciprofloxacina (FNM-8-H-3):** um potente antibiótico da classe fluorquinolonas que possui um amplo. É a quinolona mais activa contra infecções por *Neisseria*, *Clamídia*.

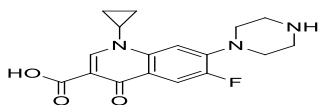


Figura 5 Fórmula estrutural da Ciprofloxacina

Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- b) **Azitromicina (FNM-8-F-1):** antibiótico indicada nas ITS's não complicadas devido a *Clamidia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, quando a sua dosagem, na gonorreia e no cancroide 1g em dose única.

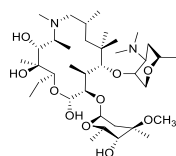


Figura 6 Fórmula estrutural da Azitromicina

Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- c) **Metronidazol (FNM-8-K-4):** um antibiótico usado contra bactérias Gram negativas e positivas e alguns protozoários, nas ITS's é usado na erradicação da *Gardnerella vaginalis*, e *Mobiluncus spp.*, em vaginose bacteriana. É contraindicado no primeiro trimestre da gravidez.

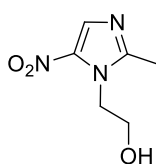


Figura 7 Fórmula estrutural de Metronidazol

Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- d) **Cefixime (FNM-8-B-6):** indicado no tratamento de gonorreia não complicada

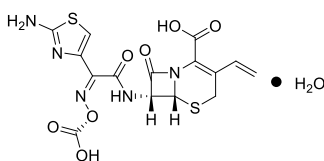


Figura 8 Fórmula estrutural de Cefixime

Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- e) **Aciclovir (FNM-8-R-1):** recomendando para o tratamento de herpes simples do tipo I e II, profilaxia de episódios de herpes genital tanto para imunoglobulinas IGM/IGG.

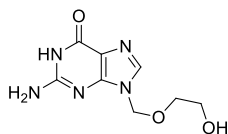


Figura 9 Fórmula estrutural de aciclovir

Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- f) **Penicilina G Benzantínica (FNM-8-A-4):** fármaco de 1ª linha no tratamento da sífilis

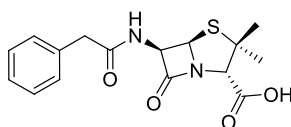


Figura 10 Fórmula estrutural de Penicilina G benzantínica

Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- g) **Eritromicina (FNM-8-F-6):** um medicamento indicado como alternativa de eleição nos doentes alérgicos à penicilina e tetraciclina, em crianças menores de 12 anos, gravidez, lactação, insuficiência renal. Constitui fármaco alternativo à Doxicilina no tratamento das infecções genitais não gonocócicas por Clamídia e em mulher grávida

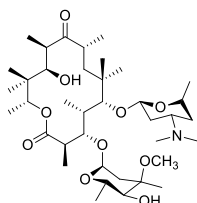


Figura 11 Fórmula estrutural da eritromicina

Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- h) **Clotrimazol (FNM-4-A-2):** um medicamento indicado para o tratamento da Candidíase vulvovaginal, infecções por *Streptococcus spp.* e *Staphylococcus spp.*

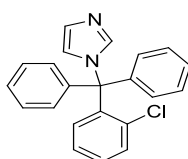


Figura 12 Fórmula estrutural de Clotrimazol

Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- i) **Kanamicina (FNM-8-D-5):** indicado para infecções estafilocócicas na Vaginose bacteriana, também serve como tratamento de 2ª linha na tuberculose resistente.

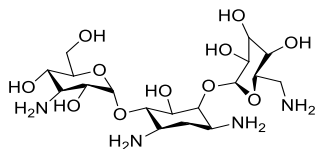


Figura 13 Fórmula estrutural de Kanamicina
Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- j) **Doxiciclina (FNM-8-G-1):** tem mesmo uso da tetraciclina, a vantagem deste pode ser administrada em apenas duas tomas diárias, não é contraindicado em doentes com insuficiência renal.

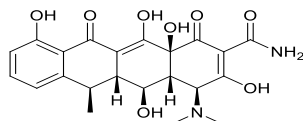


Figura 14 Fórmula estrutural de doxiciclina
Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- k) **Penicilina G Procaina (FNM-8-A-6):** um medicamento que possui as mesmas indicações do 8-A-5 (penicilina Cristalina) mas em situações menos graves e que não requeiram tratamento muito agressivo.

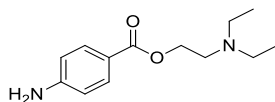


Figura 15 Fórmula estrutural de Penicilina G Procaina
Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

- l) **Tetraciclina (FNM-8-G-3):** um fármaco indicado nas infecções por *Clamídia* como uretrites, salpingites, linfogranuloma venéreo, tracoma, fármaco de 1ª linha no tratamento de infecções por *rickettsias*, *micoplasma*, *brucelas*, *Borrélias*. Tratamento alternativo para Sífilis.

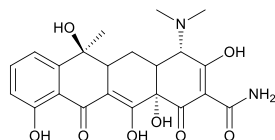


Figura 16 Fórmula estrutural de tetraciclina
Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

m) Podofilina (FNM-15-F-5): este medicamento existe em forma de solução. O seu componente principal a podofilotoxina extraída na base de plantas, indicado no cáustico nas vegetações venéreas

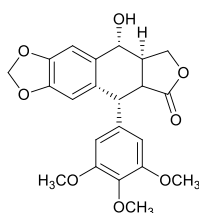


Figura 17 Fórmula estrutural de Podofilina

Fonte: Autor adaptado pelo ChemDraw

n) Nitrato de prata solução (FNM-5-F-4): solução de nitrato de prata $\text{Ag}(\text{NO}_3)$ tem sido usada no Tratamento de condilomas, remoção de verrugas como consequência de ITS's tratadas tardiamente ou mal tratadas.

2.20. Tratamento das enfermidades com recurso a extractos vegetais

A fitoterapia eficaz começa com recolha sustentável e responsável das plantas medicinais, ao respeitar os princípios que protegem a saúde humana quanto o meio ambiente. Corte apenas o terço superior dos caules para partes aéreas, escave raízes completamente, colha sementes intactas pelo caule, retire cascas somente de ramos secundários nunca do tronco principal e, para camadas internas de raízes, raspe a fina camada externa após extração total (Bezerra, 2009).

Após a recolha, desidrate imediatamente as partes se não forem usadas no momento e armazene em recipientes escuros, longe de calor e luz, preservando assim os compostos bioativos essenciais (Silva *et al.*, 2021).

A preparação adapta-se ao tipo de tecido vegetal e à estabilidade térmica dos princípios activos, garantindo máxima extração sem degradação. Na decocção, ideal para raízes e cascas resistentes, ferver por 10-15 minutos e coar; a infusão, para folhas e flores delicadas, usa-se água quente em repouso por 5-10 minutos; já a maceração a frio (2-10 dias em solvente aquoso) serve a tecidos leves, evitando fermentações indesejadas (Lobo *et al.*, 2024)

Transforme plantas secas em pó triturando manualmente, peneirando e armazenando em frascos selados; para uso tópico, prepare compressas com panos embebidos em infusões concentradas (quentes ou frias) ou loções, aplicando chás diretamente na pele afectada, facilitando a penetração cutânea (Borges *et al.*, 2021).

Finalmente, o sucesso terapêutico depende do *timing* e dosagem precisa, ajustada por idade e objectivo. Tome laxantes, depurativos, diuréticos e vermífugos em jejum, para antirreumáticos, hepatoprotetores, neurotônicos, antitérmicos e antitussígenos 2 horas antes ou após refeições, siga com tônicos e antiácidos 30 min antes das refeições; digestivos e anticarbogases logo após ingerir alimentos (Borges *et al.*, 2021).

Para chás infantis e adultos: bebês <1 ano ganham 1 colher de café 3x/dia; 1-2 anos, ½ xícara 2x/dia; 2-5 anos, ½ xícara 3x/dia; 5-10 anos, ½ xícara 4x/dia; e >10 anos/adultos, 1 xícara 3x/dia-sempre sob orientação profissional (Silva *et al.*, 2022).

3. Metodologia

Nessa unidade estão apresentadas e descritas as opções metodológicas que foram aplicadas na execução do trabalho. O trabalho optou por uma abordagem quantitativa fundamentada por uma amostragem intencional na recolha de partes vegetais usadas tratamento das ITS's no distrito de Massingir e método experimental e laboratorial (Lukosevicius, 2018).

A elaboração da metodologia deste trabalho considerou as limitações identificadas na literatura e seu uso massivo no distrito de Massingir para responder os desafios da Saúde Pública espécies em estudo, destacando a abordagem fragmentada entre caracterização química e ensaio biológico. Esta estratégia visa colmatar as lacunas identificadas, gerar evidências mais robustas sobre eficácia e segurança das espécies seleccionadas e aproximar a prática etnomedicinal dos requisitos de validação científica.

3.1.Descrição do local de estudo: *distrito de Massingir*

3.1.1. Localização, Superfície e População

O distrito Massingir está localizado a Noroeste da província de Gaza, com superfície de 5.698 km² e população está estimada em 33 mil habitantes (Joaquim-Meque *et al.*, 2025).

3.1.2. Clima, hidrografia, Relevos, Solos e Recursos Naturais

O distrito apresenta clima predominantemente semiárido seco, com temperatura média anual em torno de 30 °C e precipitação média de aproximadamente 600 mm. O período mais quente (setembro e fevereiro) e período fresco (março a agosto). Os solos são, em geral, arenosos nas zonas mais elevadas e pedregosos no interior do Parque Nacional do Limpopo. Na área interna predominam solos pouco profundos, associados a uma cobertura arenosa de espessura variável. Ao longo dos vales dos rios, observa-se vegetação gramínea e solos de coloração acinzentada. Já nas zonas altas, predominam formações arbustivas e arbóreas, com solos avermelhados em relação aos esbranquiçados, destacando-se ainda a presença abundante de espécies como Chanatsi e Micaia (Chiure, 2019).

3.1.3. Infraestruturas, economia e serviços

O distrito está servido por 8 unidades sanitárias, distribuídos em seus postos administrativos e em comunidades que possibilitam o acesso progressivo da população aos serviços de Saúde.

Entre as actividades no distrito de Massingir abunda a exploração de recursos florestais (plantas medicinais, lenha, caniço, estacas, corte de árvores para carvão), para além da agricultura, pesca e pecuária (Chiure, 2019).

3.1.4. História, cultura e sociedade civil

A designação Massingir tem origem em “Massingir Ngovene”, nome de um antigo chefe de terras que viveu na actual aldeia de Massingir-sede, no posto administrativo de Mavodze. O distrito de Massingir é maioritariamente habitado por populações do grupo étnico falante de Xitsonga, cuja estrutura social se baseia na linhagem, composta por grupos de famílias. Em termos religiosos, predomina a fé Sião/Zione, sendo também comuns práticas tradicionais de invocação dos antepassados para diferentes finalidades (Chiure, 2019).

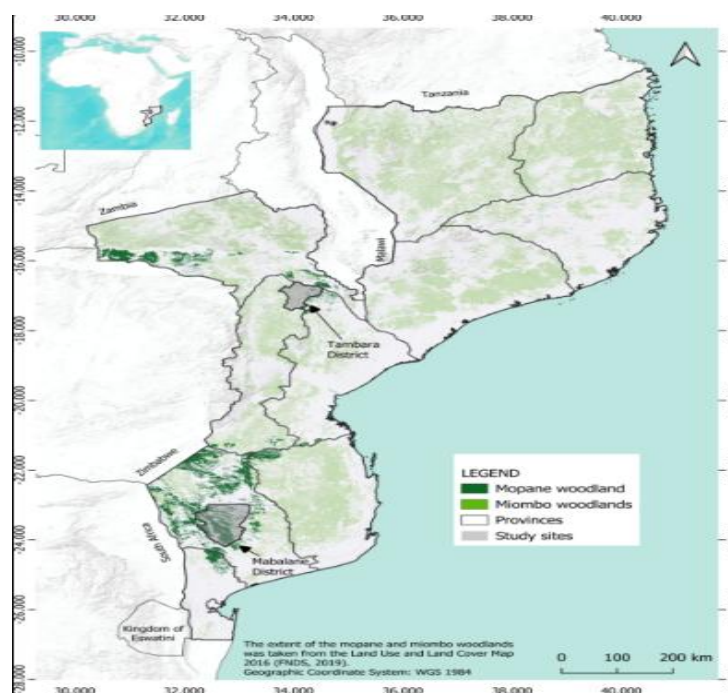


Figura 18 Perfil geográfico do local de estudo
Fonte: Autor (2025) adaptado *googlemaps*

3.2. Classificação da pesquisa

Segundo Santana *et al* (2022), é uma pesquisa aplicada e de campo, procura gerar evidências científicas directamente utilizáveis em etnobotânica. Para além das evidências teóricas já existentes, o estudo aplica técnicas com vista a subsidiar o uso seguro e eficaz dos extractos. Para a dimensão temporal, a investigação apresenta delineamento transversal.

3.3.Amostragem e amostra

A selecção amostral deste estudo baseou-se em critérios intencionais, focando-se nas espécies vegetais *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana*, seleccionadas devido à sua relevância etnomedicinal, abundância regional e lacunas identificadas na literatura. Para mitigar vieses e assegurar a reprodutibilidade analítica, a amostragem procurou abranger a variabilidade fenotípica natural, controlando variáveis latentes como a idade, o estágio de desenvolvimento, a sazonalidade da colheita e as condições climáticas locais.

O delineamento experimental permitiu estabelecer relações de causa e efeito, avaliando sistematicamente como o tipo de solvente extractor e as diferentes fracções vegetais influenciam a actividade biológica. Esta abordagem metodológica e a definição estrita das variáveis são fundamentais para garantir a robustez científica das conclusões sobre o potencial farmacológico das espécies (Santana *et al.*, 2022). O modelo intencional validou a inclusão das plantas com base no conhecimento tradicional, enquanto a delimitação geográfica direccionou a recolha para populações medicinais acessíveis na região de Massingir.

3.4.Delineamento experimental e unidade de análise

O delineamento experimental deste estudo corresponde a cada amostra de extracto vegetal obtida a partir da raiz e o método de extração utilizado foi tratada como uma instância independente, permitindo avaliação individualizada da composição fitoquímica e actividade biológica. Para assegurar a robustez dos resultados, todas as análises foram realizadas com replicações técnicas.

O controle de variáveis foi realizado de forma rigorosa, de modo a minimizar interferências externas e garantir que os efeitos observados possam ser atribuídos às condições experimentais definidas. Entre as variáveis controladas destacam-se: *temperatura, tempo e solvente de extracção, concentração do extracto, condições de armazenamento, meio de cultura nos ensaios antimicrobianos*. Variáveis potencialmente interferentes, como *contaminação microbiológica, degradação de compostos bioativos ou variações ambientais durante a recolha das plantas*, foram cuidadosamente monitoradas e minimizadas por meio de protocolos laboratoriais estabelecidos.

3.5.Trabalho de Campo e Laboratorial

Fase 1: Pré-campo

Nesta fase feita a revisão de literatura para contextualizar e abordar informações disponíveis sobre epidemiologia das ITS's a nível global e contexto nacional, aplicabilidade e sistematização da fitoterapia e relação das plantas medicinais *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana* implicadas no tratamento de ITS's do distrito de Massingir com principal enfoque para *C. albicans*, *Streptococcus* e outros microorganismos infecciosos em diferentes motores de busca com uso de operadores booleanos e visitas a bibliotecas de modo a compreender lacunas na pesquisa sobre etnobotânica e farmacognosia africana especificamente para Moçambique e manejo de infecções sexualmente transmissíveis em destaque para linha de pesquisa no âmbito de valorização de produtos naturais.

As principais palavras de busca de fontes tinham como principal êxito a abordagem de resistência antimicrobiana dos microorganismos causadores das ITS's e necessidade das indústrias farmacêuticas em desenvolvimento de novas opções terapêuticas a partir da síntese de novos compostos isolados a partir de extractos vegetais. Após a revisão seguiu a fase de elaboração de procedimentos operacionais padronizados que foram aplicados no laboratório para os diferentes métodos sobre os extractos vegetais e testagem de susceptibilidade dos extractos sobre os microorganismos seleccionados para o estudo. Terminada esta fase, avaliada a sua viabilidade e contactos com laboratórios parceiros nacionais e internacionais seguiu o trabalho de campo.

Fase 2: Campo

O trabalho de campo consistiu em contacto com líder da AMETRAMO em outubro de 2024 e abril de 2025 no local de estudo, para recolha das partes vegetais das raízes mediante uma prévia autorização do Governo local. Realizada a recolha mediante a observação *in loco* dos PMT de modo a preservar a biodiversidade e natureza cultural. Após a recolha das amostras vegetais foram catalogadas e transportadas em cartolinas de modo a manter a integridade dos princípios activos (evidências científicas) até ao local do estudo para a sua conservação, obedecendo todos critérios de transporte, conservação e tratamento prévio de modo a não comprometer os resultados da pesquisa.

Uma vez foram recolhidas as raízes no estudo, para efeitos de identificação no Laboratório de Botânica da UEM foi feita meio de folhas das plantas em estudo adquiridas aos PMT e técnico da Universidade que acompanhou a recolha das amostras. As amostras das raízes foram lavadas de modo a reduzir material contaminante, lavadas, fragmentadas e colocadas a processo de secagem no Laboratório da Universidade Eduardo Mondlane, onde foram necessário 4 meses para a secagem completa e desidratação total.

Fase 2.1: Trabalho Experimental/Laboratorial

Após estarem completamente secas as amostras vegetais à temperatura ambiente e reduzidas em pequenos fragmentos, foram trituradas na Universidade Pedagógica de Maputo com recurso a um triturador de sólidos de marca GEEPSR com potência de 750, realizada em 3000 RPM até que todas ficaram completamente trituradas com observação periódica a cada 30 segundo do processo. Após serem trituradas as amostras vegetais foram levadas para a investigação subsequente.

Fase 3: ensaios laboratoriais

As experiências laboratoriais consistiram em:

- i. Extracção hidroalcoólica por *Soxhlet* , vaporização e isolamento do extracto vegetal das raízes de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana*.
- ii. Preparação das fracções com n-hexano, diclorometano, com acetato de etila e por fim a fracção aquosa dos extractos das raízes das espécies em estudo, a posterior vaporização na UPM e UEM.
- iii. Prospeccção fitoquímica das fracções obtidas.
- iv. Determinação da actividade antioxidante das fracções os extractos no CIDE
- v. Testagem da actividade biológica das fracções obtidas nas concentrações previamente preparadas, componente Qualitativa e a componente Quantitativa (Determinação da CIM) no Laboratório de Faculdade de Medicina da UEM e *Department of Nutrition Dietetics and Food Sciences University of Zimbabwe*.
- vi. Quantificação dos compostos fenólicos em fracções de EtOAc por meio de LC-MS no *Department of Nutrition Dietetics and Food Sciences University of Zimbabwe*.

- vii. Avaliar o potencial antimicrobiano e os efeitos sinérgicos das frações DCM e EtOAc contra microrganismos clinicamente relevantes para infecções sexualmente transmissíveis seleccionadas para o estudo no *Department of Nutrition Dietetics and Food Sciences University of Zimbabwe*.
- viii. Investigar a citotoxicidade (CC₅₀) em MTT (linhagem contínua de células epiteliais derivadas do rim de mamífero) *Department of Nutrition Dietetics and Food Sciences University of Zimbabwe*.
- ix. Análise estatística: média, desvio padrão. A significância por teste de ANOVA e *Post-hoc de Tukey*, com cálculo dos valores de F e P para cada combinação de extracto e microorganismo.

Após a realização das experiências laboratoriais seguiu-se a fase de interpretação e discussão dos resultados obtidos. Os resultados da pesquisa foram divulgados em diferentes eventos científicos nacionais e internacionais, publicação de artigos científicos em revistas, jornais e por fim apresentação oral mediante um júri para obtenção de título académico de Mestre em Química e Processamento de Recursos Locais na especialidade de Produtos Naturais.

3.6.Procedimentos das actividades laboratoriais

3.6.1. Extracção por Soxhlet e partição por solventes dos extratos vegetais

a) Materiais

- Cartuchos de papel para *Soxhlet*; Funis de separação de vidro (250 mL);
- Balões de fundo redondo (250 mL); Provetas graduadas; Béqueres; Bastão de vidros;
- Espátulas; Papel de filtro; Algodão; Pérolas de vidro;
- Frascos de vidro âmbar rotulados; Papel de alumínio; Moinho triturador ou almofariz e pistilo;
- Balança analítica.

b) Equipamentos

- Sistema de extração Soxhlet; Condensador de refluxo; Manto de aquecimento;
- Suporte universal com mufa e garra; Sistema de refrigeração com circulação de água;
- Evaporador rotativo (Rotavapor) com vácuo; Capela de exaustão.

c) Reagentes / Solventes

- n-Hexano; Diclorometano; Acetato de etila; Etanol a 96%; Água destilada

d) Procedimentos

Soxhlet, método clássico de obtenção de classes químicas, utilizando solventes e tempo como principais factores. Essa abordagem baseia-se na capacidade dos solventes em dissolver compostos de interesse presentes na amostra vegetal, e no tempo de contacto para favorecer sua difusão. A amostra vegetal (raiz), após ser triturada, foi pesada. A trituração visa aumentar a área de contato entre o solvente e os tecidos vegetais, facilitando a liberação dos metabólitos secundários, enquanto a pesagem precisa garante a reprodutibilidade da experiência (Gondim, 2023).

O material vegetal foi submetido à extração hidroalcoólica por 8h de tempo na solução de etanol (96%) e água em 1:1 (v/v) em 150 ml no volume final em 30g de amostra vegetal. Após ser filtrado o extracto foi submetido a vaporização do solvente no rotavapor, segundo Nozo *et al* (2023) e em seguida foi feita partição passando em funil de separação três vezes o extracto sobre o tipo de solvente e ordem, por fim obteve-se a solução, perfazendo deste modo 4 extractos para cada amostra, processo na qual que enfatiza eficiência de extração polifásica.

A escolha da solução hidroalcoólica enfatiza com a capacidade do etanol em extrair compostos orgânicos apolares e semi-polares e a água favorece a extração de compostos mais polares, ampliando assim o espectro de substâncias extraídas, enquanto a partição sequenciada permite a imiscibilidade baseada em solubilidade dos compostos em solventes de polaridade distinta, promovendo uma melhor separação das fracções (Nozo *et al.*, 2023).

No processo de partição sequenciada gera diferença de solubilidade entre as fases levando a imiscibilidade dos líquidos, o que facilita a recolha das soluções separadas. Cada fracção obtida foi transferida para recipientes apropriado e, em seguida, para balões de evaporação, onde ocorreu a vaporização e concentração dos extractos deixando-os prontos para triagem fitoquímica e outros procedimentos laboratoriais.

3.6.2. Prospeção fitoquímicas dos extractos vegetais

A marcha fitoquímica seguiu protocolos validados em literatura de (Assis, 2015). Nesta senda foi organizado o material, equipamento e regantes para cada procedimento. Para todos os ensaios fitoquímicos qualitativos foram utilizados:

a) Material

- Fracções dos extractos vegetais; Tubos de ensaio e marcadores;
- Pipetas de Pasteur ou micropipetas; Béqueres; Provetas graduadas; Funis de vidro;

- Papel de filtro; Bastão de vidro; Algodão; Suporte para tubos de ensaio;
- b) Equipamentos
- Banho-maria; Bico de aquecimento; Suporte para tubos de ensaio; Cronómetro; Termómetro.
- c) Reagentes

Foram utilizados reagentes de grau analítico, específicos para cada classe fitoquímica:

- Solução de ácido sulfúrico a 1% (H_2SO_4); ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4);
- Etanol a 80%; Ácido clorídrico concentrado (HCl); Etanol a 80%;
- Clorofórmio (CHCl_3); Anidrido acético; Hidróxido de sódio a 5% (NaOH);
- Solução de cloreto férrico a 5% (FeCl_3); Sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4);
- Reagente de Dragendorff; Reagente de Mayer; Reagente de Wagner;
- Magnésio metálico em pequenos fragmentos; Água destilada.

3.6.2.1. Identificação de Taninos

No teste Braymer, adicionou-se 3 gotas do reagente principal (FeCl_3 a 1%) em 3 ml do extracto em tubo de ensaio e fez-se a leitura dos resultados. A coloração azul-escuro indica taninos hidrolisáveis e tonalidade verde-escuro determina taninos condensados. Este método tem como vantagem por ser sensível e de fácil execução, reacção imediata e detecta tanto taninos condensados quanto hidrolisáveis. A intensidade da cor pode variar com concentração e interferentes, sendo recomendada confirmação adicional por métodos cromatográficos quando necessário, isso configura como limitação (Costa Rosa *et al.*, 2023).

3.6.2.2. Identificação Esteróides e Triterpenóides

Na reacção de Liebermann-Burchard foi tomada como evidencia ao dissolver-se 2 ml do extracto em clorofórmio adicionando 2 ml de anidrido acético e 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Tonalidades verde-azulada indica esteróides ou vermelho/rosa para triterpenos confirmam presença. Os triterpenóides levaram como diferencial reacção de Salkansk. Este protocolo clássico com alta selectividade e rápida resposta visual, amplamente validado em diferentes espécies. O meso estudo encontra limites ao referir subjectividade na avaliação da cor, por isso recomenda-se cromatografia de camada delgada para confirmação (Borges *et al.*, 2021).

3.6.2.3. *Identificação Flavonóides*

Na reacção de Liebermann-Burchard, este metabólito foi adicionado 1 ml de extracto com 5 gotas de ácido clorídrico de concentração máxima e pequenos fragmentos de magnésio metálico, teste este conhecido como reacção de Shinoda, onde a coloração rósea/vermelha revela a positividade. Leva vantagem por ser específico para flavonóides, mas estudos ressaltam que os resultados podem ser influenciados por flavonóides glicosilados ou outros fenólicos, por isso procedimentos mais apurados são recomendados (Zocolo *et al.*, 2019).

3.6.2.4. *Identificação Alcalóides*

Os testes clássicos para detecção de alcalóides em extratos vegetais baseiam-se em reacções de precipitação com reagentes específicos, realizados após a acidificação prévia do extracto com ácido clorídrico diluído como descrito por (Gondim, 2023) No teste de Dragendorff, preparado a partir de subnitrito de bismuto com iodeto de potássio, formam-se iões bismuto-iodo responsáveis pela reacção. Ao adicionar 3 gotas desse reagente a 2 ml do extracto previamente acidificado, um precipitado de cor laranja a avermelhada indica a presença de alcalóides.

No teste com o reagente de Mayer, composto por cloreto mercúrico e iodeto de potássio que originam o complexo tetraiodomercurato de potássio, mistura-se o extrato acidificado com cerca de 3 gotas do reagente e o aparecimento de um precipitado branco-creme caracteriza uma reacção positiva.

Já no teste com o reagente de Wagner, constituído por uma solução de iodo em iodeto de potássio formando um complexo triiodeto, procede-se de forma semelhante, adicionando 3 gotas do reagente ao extracto e os alcalóides são identificados por precipitado marrom-avermelhado. Praticamente, o procedimento envolve acidificar e aquecer levemente extracto vegetal, filtrá-lo se necessário e distribuí-lo em três tubos de ensaio para aplicação de cada um dos reagentes mencionados. A interpretação baseia-se na cor e no tipo de precipitado formado. Esses testes apresentam boa sensibilidade, custo reduzido e são amplamente utilizados em análises fitoquímicas preliminares.

Contudo, concentrações muito baixas de alcalóides ou matrizes vegetais complexas podem dificultar a leitura visual e, em alguns casos, impurezas podem gerar falsos positivos. Por isso, em pesquisas mais avançadas, recomenda-se complementar o rastreio com técnicas cromatográficas ou espectrométricas para confirmação estrutural (Borges *et al.*, 2021).

3.6.2.5. Identificação Saponinas

Conhecido como teste de espuma, foi misturado 2 ml de amostra adicionando 8 ml de água destilada, levado a ebulição em ácido sulfúrico a 1% e foi agitada a mistura vigorosamente por 1 minuto e deixado a repousar 10 minutos. persistência de espuma por 1 cm em 10 minutos ou mais indica a presença de saponinas.

Extremamente simples, replicável e específica devido ao carácter anfílico das saponinas. Misturas com detergentes naturais interferem para quantificação ou identificação de subtipo, nesta senda são requeridos métodos cromatográficos ou espectroscópicos (Kabuka *et al.*, 2022). Na validação de testes fitoquímicos os pesquisadores devem ter em conta que as metodologias clássicas (precipitação, coloração, formação de espuma) oferecem baixo custo, fácil implementação, rapidez e adequação para triagem inicial e para trabalhos exploratórios em biodiversidade.

Mas para melhor pureza, é necessário ter em conta outros métodos como cromatografia em camada delgada, um dos métodos complementares para confirmação de resultados e diferenciação de subtipos de metabólitos. Análises espectrométricas e cromatográficas devem ser utilizadas para confirmação estrutural e quantificação de metabólitos activos com papel relevante em bioatividade.

3.6.3. Atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais

a) Materiais e Consumíveis

- Frações vegetais obtidas por partição; Pontas descartáveis para micropipetas;
- Cuvetes espectrofotométricas; Papel de alumínio;

b) Reagentes e Soluções

- 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (radical livre DPPH, grau analítico).
- Metanol; Solução de trabalho de DPPH (0,1 mM), preparada por dissolução de 3,94 mg de DPPH sólido em 100 mL de metanol.

c) Equipamentos

- Balança analítica de precisão; Micropipetas; Vórtex; Espectrofotómetro UV-Vis.

d) Procedimentos

Para o teste, adicionou-se 2 ml da solução de DPPH a alíquotas de 25, 50, 75 e 100 µl das soluções dos extractos (preparadas em metanol nas concentrações desejadas conforme

delineamento). Todas as etapas foram conduzidas em luz reduzida, e depois incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente antes da leitura espectrofotométrica a 517 nm, determinou-se o valor de IC50, ou seja, a concentração necessária para neutralizar 50% dos radicais livres presentes. O ensaio de DPPH permitiu avaliar de modo rigoroso o potencial dos extractos vegetais em neutralizar radicais livres.

3.6.4. Actividade biológica: antimicrobiana quantitativa e concentração citotóxica

Para esta actividade tendo em conta os ensaios qualitativos e quantitativos, o estudo teve como alusão o seguinte lista de organização

a) Materiais e Consumíveis

- Microplacas de 96 poços: Placas estéreis de poliestireno (fundo em "U" para microbiologia e fundo plano para cultura celular/MTT).
- Pontas descartáveis estéreis para micropipetas de volumes variáveis (10 µL, 100 µL e 200 µL).
- Tubos de ensaio estéreis (vidro borossilicato).

b) Reagentes e Meios de Cultura Unificados

- Dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% (v/v): co-solvente inerte para reconstituição das fracções secas e para a solubilização dos cristais de formazan.
- Solução salina estéril de cloreto de sódio a 0,9%.
- Meios de Cultivo Microbiológico (Ágar Mueller-Hinton, Sabouraud Dextrose, Ágar de Sangue)
- Suspensões padronizadas de *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus* grupo D, *Lactobacillus* spp., *Gardnerella vaginalis* e *Candida albicans*.
- Componentes de Cultura Celular e MTT (Linhagem contínua de células Vero-células epiteliais de rim de macaco e frascos de expansão celular)
- Antibióticos (penicilina/estreptomicina); Solução de Tripsina
- Reagente MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] preparado em Tampão Fosfato Salino

c) Equipamentos

- Cabine de Segurança Biológica; Incubadora de CO₂ e estufa;
- Leitor de Microplacas; Jarras de anaerobiose; Microscópio óptico invertido; Câmara de Neubauer.

d) Procedimentos

D-1: Microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibidora Mínima

Foi preparada a solução-mãe onde as fracções vegetais secas foram pesadas e solubilizada em solução aquosa de Dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% (v/v). Nas microplacas de 96 poços, adicionou-se inicialmente um volume fixo do caldo de cultura estéril específico para cada microrganismo em todos os poços das linhas de ensaio.

Sequencialmente, alíquotas da solução-mãe foram adicionadas aos poços da primeira coluna e, através de transferências consecutivas de volumes idênticos ao longo da linha, realizaram-se diluições seriadas na razão de definida. Após a estruturação do gradiente cada poço recebeu volumes de suspensões microbianas. Alguns poços serviram de base para controlo de qualidade. As microplacas preparadas foram hermeticamente fechadas e incubadas a 37 °C, respeitando-se escrupulosamente as exigências fisiológicas e de tempo de cada grupo biológico.

Decorrido o tempo de incubação, procedeu-se à leitura analítica. A CIM foi definida como a menor concentração da fração vegetal capaz de inibir visualmente a 100% o crescimento microbiano, evidenciada pela total ausência de turvação no meio ou pela não formação de um botão (*pellet*) de precipitação bacteriana no fundo do poço.

D-2: Ensaio de citotoxicidade *in vitro* pelo método do MTT

Células Vero cultivadas foram submetidas ao descolamento enzimático utilizando uma solução de tripsina. Após a dissociação, a suspensão celular foi homogeneizada, quantificada instrumentalmente e semeada nas placas de 96 poços. As placas foram incubadas a 37 °C numa incubadora com atmosfera humedecida e enriquecida com 5% de CO₂ até que as células aderissem ao substrato de poliestireno.

Após a verificação microscópica da confluência, o meio de cultura antigo foi totalmente aspirado e removido de cada poço. Substituiu-se de imediato por meio de cultura fresco contendo as diferentes concentrações seriadas das fracções vegetais. Em paralelo, foram preparados poços destinados ao controlo negativo (células Vero mantidas apenas em meio de cultura puro, representando 100% de viabilidade) e controlos do veículo solvente (DMSO).

As placas de cultura contendo as células e as respectivas soluções de tratamento foram reintroduzidas na incubadora de CO₂ a 37 °C, permanecendo sob exposição contínua por um período regulado de 24-48 horas. Concluído o tempo de exposição experimental, adicionou-se uma alíquota da solução de trabalho do reagente MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] a todos os poços.

As placas foram devolvidas à incubadora por um período de 2-4 horas. Durante esta etapa, as enzimas desidrogenases mitocondriais das células metabolicamente activas e viáveis clivaram o anel de tetrazólio do MTT, convertendo o sal amarelo em cristais intracelulares insolúveis de formazan de coloração roxa. O sobrenadante contendo o meio e o MTT residual foi removido por aspiração cuidadosa para não deslocar os cristais fixados.

Posteriormente, adicionou-se a solução de solubilização constituída por DMSO a 1% para romper as membranas celulares e dissolver integralmente os cristais de formazan. Após agitação mecânica suave na plataforma para homogeneizar a solução roxa resultante, a densidade óptica de cada poço foi medida num leitor de microplacas a um comprimento de onda analítico de 570 nm.

A percentagem de viabilidade celular de cada poço tratado foi calculada através da razão entre a sua absorvância e a absorvância média obtida nos poços do controlo negativo não tratado. Os dados percentuais de viabilidade foram modelados através de curvas de regressão não-linear de dose-resposta, permitindo determinar graficamente a Concentração Citotóxica (CC₅₀), definida como a concentração exata de fração vegetal capaz de reduzir a actividade metabólica ou a população de células Vero a metade (50%).

D-3: Avaliação Qualitativa por Difusão em Disco (antibiograma)

Colónias isoladas e puras de cada microrganismo, obtidas a partir de cepas foram preparadas as suas suspensões. A suspensão celular foi homogeneizada no Vórtex e a turbidez ajustada em densitómetro ao padrão 0,5 da escala de McFarland. Este padrão corresponde aproximadamente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL para bactérias e 1×10^6 células/mL para *Candida albicans*. Uma zaragatoa estéril foi imersa na suspensão padronizada, removendo-se o excesso por compressão nas paredes do tubo. As placas de Petri contendo meios de cultura adequados foram inoculadas por técnica de espalhamento em superfície. A zaragatoa foi friccionada de forma uniforme em três direções diferentes (aproximadamente 60° entre si), garantindo a formação de um tapete microbiano homogéneo (lawn) após incubação.

Discos de papel de filtro estéreis foram impregnados com volumes definidos das soluções de extratos vegetais. Os discos foram mantidos em cabine de segurança biológica até completa absorção e evaporação do solvente. Discos contendo apenas o solvente utilizado na dissolução dos extratos e contendo antimicrobianos de referência foram usados como controles de qualidade.

Após secagem da superfície das placas inoculadas, os discos foram depositados assepticamente sobre o ágar com auxílio de pinça metálica esterilizada. Cada disco foi levemente pressionado para assegurar contacto uniforme com o meio, garantindo a difusão radial dos compostos. Foi mantida distância adequada entre discos e margens da placa para evitar sobreposição dos halos de inibição.

As placas foram incubadas invertidas a $37\pm0,5^{\circ}\text{C}$ sob condições apropriadas para cada microrganismo. Após incubação, as placas foram examinadas visualmente contra fundo escuro para avaliação dos halos de inibição. Os diâmetros dos halos foram medidos com paquímetro, incluindo o diâmetro do disco (6 mm).

4. Apresentação dos resultados

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos na pesquisa como as análises fitoquímicas, actividade antioxidante, actividade antimicrobiana, a citotoxicidade na parte final a quantificação de compostos fenólicos dos extratos vegetais das raízes de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana*. A apresentação dos resultados é realizada em função dos objetivos estabelecidos no estudo, sem interpretação extensiva, permitindo uma descrição objectiva do desempenho biológico e químico das espécies investigadas.

4.1. Parte das plantas, nome vernacular, finalidade e formas de preparação no contexto dos praticantes da medicina tradicional

As três espécies estudadas *Cassia abbreviata*, *Senna petersiana* e *Colophospermum mopane* são utilizadas na medicina tradicional a partir das raízes, preparadas predominantemente na forma de decoto aquoso, recebendo respectivamente os nomes locais *Lumanyama*, *Nembe-nembe* e *Mopane/Chanatsi* (Chale *et al.*, 2025).

Essa forma de uso está em consonância com o conhecimento etnobotânico que descreve o uso das raízes administradas por via oral em comunidades (Kabuka *et al.*, 2022). Para os praticantes da medicina tradicional no distrito de Massingir na Província de Gaza, região Sul de Moçambique, a recolha das partes vegetais observa princípios que preservam a biodiversidade e os rituais estabelecidos pelos ancestrais.

4.2. Composição fitoquímica dos extractos vegetais das amostras estudadas

4.2.1. Perfil fitoquímico nas fracções de extractos da raiz de *Cassia abbreviata*

Na triagem fitoquímica qualitativa de *C. abbreviata*, taninos, flavonoides, foram detectados apenas nos extractos de acetato de etila e aquoso. Esteróides e triterpenóides apresentaram resultado positivo somente no extractos aquoso.

Não foram detectados alcalóides nem saponinas em nenhuma das fracções analisadas. Esses resultados evidenciam que a presença dos principais metabólitos se concentra em extratos de maior polaridade.

A Tabela 3 abaixo ilustrada, apresenta os resultados fitoquímicas realizados no extractos da raiz da planta *Cassia abbreviata*.

Tabela 3 Prospeção fitoquímica preliminar da Cassia abbreviata

Metabólito pesquisados	<i>Cassia abbreviata</i>			
	n-Hexano	Diclorometano	acetato de etila	Aquosa
Taninos	-	-	+	+
Esteróides	-	-	-	+
Triterpenóides	-	-	-	+
Flavonóides	-	-	+	+
Alcalóides	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-

Fonte: Autor

Os metabólitos secundários pesquisados foram identificados por meio de testes químicos específicos, cujos resultados são indicados por sinais de presença (+) ou ausência (-).

4.2.2. Perfil fitoquímico nas fracções de extractos da raiz de *Senna petersiana*

Na triagem fitoquímica de *Senna petersiana*, os taninos, flavonóides, triterpenoides em os extractos de acetato de etila e aquoso foram positivos. Para esteróides, apenas o extracto aquoso demonstrou resultado positivo. Alcalóides não foram identificados em nenhum dos extractos analisados. Por fim, as saponinas foram evidenciadas somente na fracção aquosa, através da formação de espuma persistente segundo a validação do procedimento metodológico. A Tabela 4 abaixo descreve claramente os resultados fitoquímicos realizados a partir de extractos da raiz da planta *S. petersiana*.

Tabela 4 Prospeção fitoquímica preliminar da Senna petersiana

Metabólito pesquisados	<i>Senna petersiana</i>			
	n-Hexano	Diclorometano	Acetato de etila	Aquosa
Taninos	-	-	+	+
Esteróides	-	-	-	+
Triterpenóides	-	-	+	+
Flavonóides	-	-	+	+
Alcalóides	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	+

Fonte: Autor

Os metabólitos secundários pesquisados foram identificados por meio de testes químicos específicos, cujos resultados são indicados por sinais de presença (+) ou ausência (-).

4.2.3. Perfil fitoquímico nas fracções de extractos da raiz de *C. mopane*

Os resultados da triagem fitoquímica para *Colophospermum mopane* indicaram que taninos estiveram ausentes nos extractos de hexano e diclorometano. Esteróides e Flavonóides foram identificados exclusivamente no extracto aquoso, enquanto triterpenóides apareceram nos extractos de acetato de etila e aquoso. Não foram detectados alcalóides em nenhum dos extractos. Saponinas foram identificadas somente no extracto de acetato de etila. A Tabela 5 abaixo ilustra os resultados fitoquímicos nos extractos de *Colophospermum mopane*.

Tabela 5 Prospecção fitoquímica preliminar da *C. mopane*

Metabólito pesquisados	<i>Colophospermum mopane</i>			
	n-Hexano	Diclorometano	acetato de etila	Aquosa
Taninos	-	-	+	+
Esteróides	-	-	-	+
Triterpenóides	-	-	+	+
Flavonóides	-	-	-	+
Alcalóides	-	-	-	-
Saponinas	-	-	+	-

Fonte: Autor

Os metabólitos secundários pesquisados foram identificados por meio de testes químicos específicos, cujos resultados são indicados por sinais de presença (+) ou ausência (-).

4.2.4. Comportamento das raízes de *S. petersiana*, *C. mopane* e *C. abbreviata* ao ambiente ecológico e afinidade com solventes

A análise dos resultados da triagem fitoquímica qualitativa nas raízes das plantas *Senna petersiana*, *Colophospermum mopane* e *Cassia abbreviata* revelou um perfil metabólico semelhante entre as espécies estudadas, evidenciando a presença expressiva de compostos de polaridade crescente em todas amostras. Alcalóides, por outro lado, não foram identificados em nenhuma das espécies avaliadas. Quanto às saponinas, foram detectadas em *S. petersiana* e *C. mopane*, mas não foram observadas nas amostras de *C. abbreviata*. Esses achados ressaltam o potencial fitoquímico compartilhado das espécies da família *Fabaceae* abordadas e sugerem similaridade em seus possíveis efeitos biológicos e aplicações farmacológicas, especialmente pelos compostos fenólicos e triterpénicos nas raízes analisadas.

Tabela 6 comportamento bioquímico das raízes das plantas em estudo

Metabólitos pesquisados	Raízes das plantas		
	<i>Senna petersiana</i>	<i>Colophospermum mopane</i>	<i>Cassia abbreviata</i>
Taninos	+	+	+
Esteróides	+	+	+
Triterpenóides	+	+	+
Flavonóides	+	+	+
Alcalóides	-	-	-
Saponinas	+	+	-

Fonte: Autor

4.3.Quantificação da actividade antioxidante por método de sequestro de radical

Este ensaio permitiu estabelecer a capacidade antioxidante de diferentes amostras vegetais, fornecendo um parâmetro comparativo entre extractos e guiando a selecção de materiais com elevado conteúdo de compostos bioactivos para aplicação farmacêutica, nutracêuticas ou cosmética, a revelar a capacidade contra estresse oxidativo (Zocolo *et al.*, 2019).

Ressalta-se que esta determinação é relevante, pois o estresse oxidativo resulta de um desequilíbrio entre produção de espécies reactivas de oxigénio e a defesa antioxidante celular, podendo ser desencadeada por múltiplos factores como ambientais, fisiológicos e patológicos, e não apenas por infecções microbianas (Yang *et al.*, 2021).

A actividade antioxidante dessas plantas revelam-se de grande importância em diferentes áreas. No contexto da saúde humana, compostos antioxidantes estão associados a envelhecimento, e combate a doenças e produção de fármacos e suplementos.

Na indústria alimentar, esses compostos podem actuar como conservantes naturais, retardando processos de oxidação, como o ranço de óleos e gorduras, e substituindo antioxidantes sintéticos. Na indústria cosmética, os antioxidantes desempenham um papel fundamental na formulação de produtos anti-envelhecimento (Yang *et al.*, 2021).

Por fim, no âmbito da pesquisa científica, o estudo da actividade antioxidante permite a exploração do potencial medicinal de espécies vegetais nativas. Dessa forma os antioxidantes tem importância para o desenvolvimento de produtos destinados à protecção celular e prevenção de danos oxidativos em diferentes contextos biológicos (Assis, 2015). Do estudo feito foram obtidos os seguintes resultados conforme a gráfico (gráfico 1).

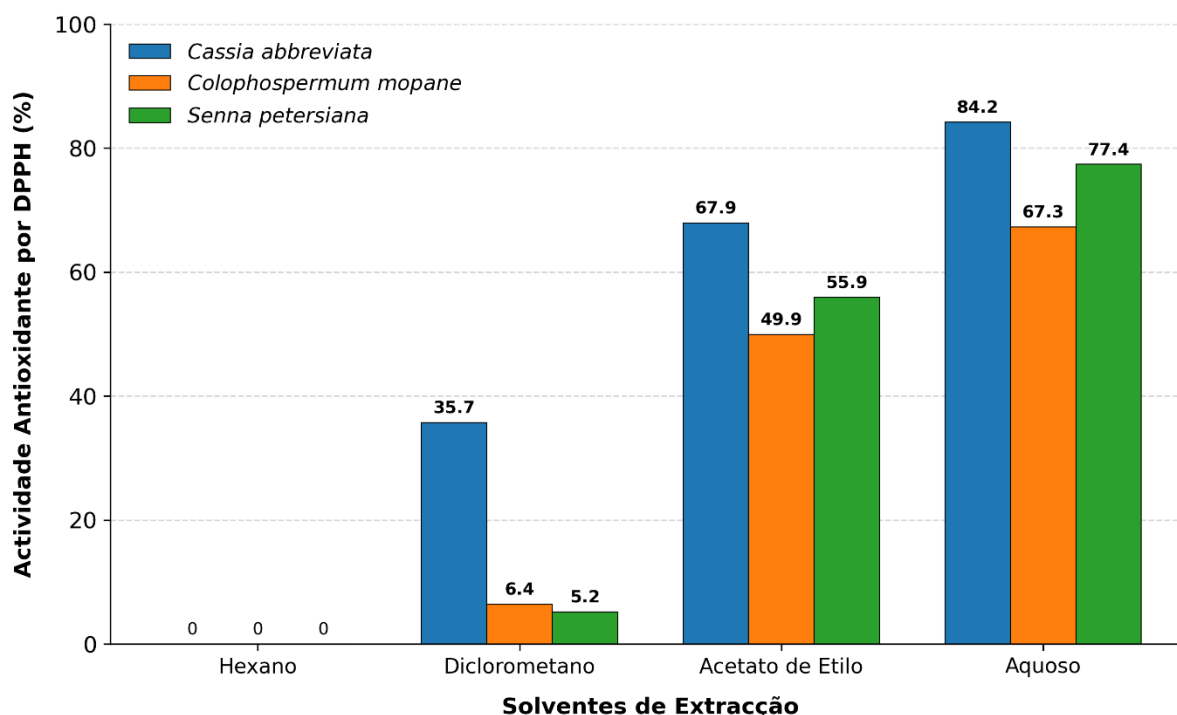


Figura 19 Actividade antioxidante das plantas em estudo
Fonte: Autor

4.4. Actividade antimicrobiana e Citotoxicidade

4.4.1. *Colophospermum mopane*

Na espécie *C. mopane* os valores de CIM variaram amplamente entre as fracções, com n-hexano apresentando CIM médias elevadas entre 900 ± 20 $\mu\text{g/mL}$ para *E. coli*, 927 ± 15 $\mu\text{g/mL}$ em *C. albicans* e 1072 ± 7 $\mu\text{g/mL}$ em *Lactobacillus spp.*, enquanto a fracção EtOAc apresentou valores substancialmente menores 65 ± 5 $\mu\text{g/mL}$ para *E. coli*, 67 ± 3 $\mu\text{g/mL}$ para *C. albicans* e 77 ± 3 $\mu\text{g/mL}$ em *Lactobacillus spp.* respectivamente. As fracções em DCM mostraram actividade intermediária de 372 ± 8 $\mu\text{g/mL}$ para *E. coli* e 402 ± 7 $\mu\text{g/mL}$ para *Lactobacillus spp.*, e as fracções aquosas apresentaram CIM moderadas na faixa de 352-425 $\mu\text{g/mL}$ em todos microorganismos testados.

Os ensaios de MTT em linhagem celular Vero indicaram CC_{50} de 1.200 $\mu\text{g/mL}$ para n-hexano sendo a mais elevada, 600 $\mu\text{g/mL}$ na fracção de DCM, 400 $\mu\text{g/mL}$ em EtOAc e 850 $\mu\text{g/mL}$ para extracto da fracção aquosa, sugerindo baixa citotoxicidade, especialmente para n-hexano e aquoso, e uma boa janela terapêutica para EtOAc, que combina CIM baixas com CC_{50} de 400 $\mu\text{g/mL}$, sendo o extracto mais aceitável para ensaios subsequentes. Os resultados estão descritos na tabela 7. Para melhor compreensão os resultados sobre microorganismos

testados foram sistematizados os extractos com melhor CIM Seguem em anexo a tabela que descreve os valores CIM obtidos para fracção EtOAc. As fracções em acetato de etila (EtOAc) apresentaram consistentemente os menores valores de CIM, indicando a melhor actividade antimicrobiana.

Tabela 7 Descrição dos valores de CIM e CC50 na espécie de *Colophospermum mopane*

Tipo de extracto	microorganismo	CIM ($\mu\text{g/mL}$)			Média $\pm$ SD	CC ₅₀	F-value	P-value
		1	2	3				
n-Hexano	<i>E. coli</i>	900	880	920	900 $\pm$ 20	1200	18.4	0.004
n-Hexano	<i>Candida albicans</i>	940	910	930	927 $\pm$ 15	1200	17.2	0.005
n-Hexano	<i>S. agalactiae</i>	820	810	830	820 $\pm$ 10	1200	19.0	0.003
n-Hexano	<i>S. group D</i>	980	990	985	985 $\pm$ 5	1200	16.8	0.006
n-Hexano	<i>Lactobacillus</i> spp.	1070	1080	1065	1072 $\pm$ 7	1200	15.9	0.007
n-Hexano	<i>G. vaginalis</i>	850	860	845	852 $\pm$ 7	1200	18.1	0.004
DCM	<i>E. coli</i>	380	365	370	372 $\pm$ 8	600	21.3	0.002
DCM	<i>Candida albicans</i>	400	395	410	402 $\pm$ 7	600	20.5	0.003
DCM	<i>S. agalactiae</i>	345	350	340	345 $\pm$ 5	600	19.8	0.004
DCM	<i>S. group D</i>	420	415	430	422 $\pm$ 7	600	20.2	0.003
DCM	<i>Lactobacillus</i> spp.	460	455	470	462 $\pm$ 7	600	18.7	0.004
DCM	<i>G. vaginalis</i>	365	370	360	365 $\pm$ 5	600	21.0	0.002
EtOAc	<i>E. coli</i>	65	70	60	65 $\pm$ 5	400	23.5	0.001
EtOAc	<i>Candida albicans</i>	68	64	70	67 $\pm$ 3	400	22.1	0.002
EtOAc	<i>S. agalactiae</i>	60	58	65	61 $\pm$ 3	400	24.0	0.001
EtOAc	<i>S. group D</i>	72	68	70	70 $\pm$ 2	400	21.5	0.002
EtOAc	<i>Lactobacillus</i> spp.	80	75	77	77 $\pm$ 3	400	22.9	0.001
EtOAc	<i>G. vaginalis</i>	65	68	62	65 $\pm$ 3	400	23.2	0.001
Aquoso	<i>E. coli</i>	385	390	400	392 $\pm$ 8	850	16.5	0.005
Aquoso	<i>Candida albicans</i>	405	400	410	405 $\pm$ 5	850	15.9	0.006
Aquoso	<i>S. agalactiae</i>	350	360	345	352 $\pm$ 7	850	17.0	0.004
Aquoso	<i>S. group D</i>	420	430	425	425 $\pm$ 5	850	16.2	0.005
Aquoso	<i>Lactobacillus</i> spp.	460	470	455	462 $\pm$ 7	850	18.1	0.004
Aquoso	<i>G. vaginalis</i>	365	370	360	365 $\pm$ 5	850	16.8	0.005

Dessa forma, a sistematização dos valores de CIM permitiu identificar, de maneira clara a fracção mais activa, sendo resumida a tabela especialmente para fracção EtOAc. Em conjunto, esses resultados consolidam o perfil antimicrobiano das espécies estudadas e fornecem base objectiva para interesse em etapas posteriores, como o isolamento de compostos activos e a confirmação da eficácia em modelos biológicos mais complexos visto que par este estudo limitou-se em MTT.

4.4.2. *Senna petersiana*

Nos extractos de *S. petersiana*, a mesma tendência foi observada, com a fracção EtOAc novamente apresentando os menores valores de CIM entre todas as fracções. Para EtOAc, as CIM médias variaram entre $52,3 \pm 2,5$ $\mu\text{g/mL}$ para *Streptococcus agalactiae* e $66,7 \pm 1,5$ $\mu\text{g/mL}$ para *Lactobacillus spp.*, enquanto DCM apresentou CIM intermediárias de 35 ± 5 $\mu\text{g/mL}$ na bactéria de *E. coli* e 402 ± 7 $\mu\text{g/mL}$ em *Lactobacillus spp.*, e as fracções n-hexano e aquosa mantiveram CIM elevadas acima de 400-1.100 $\mu\text{g/mL}$. As CC_{50} linhagem celular vero foram de 1100 $\mu\text{g/mL}$ para n-hexano, 500 $\mu\text{g/mL}$ na fracção de DCM, 350 $\mu\text{g/mL}$ em EtOAc e 750 $\mu\text{g/mL}$ no extracto da fracção aquosa, o que, em conjunto com as CIM, indicaram melhor relação actividade/segurança para a fracção EtOAc, seguida pela fracção DCM. Os resultados das outras fracções testadas encontram-se evidenciadas na tabela 13 dos anexos. Mais abaixo evidenciou-se a tabela de resultados da fracção mais activa para os microorganismos testados (Tabela 8).

Tabela 8 Descrição dos valores CIM e CC_{50} na espécie de *Senna petersiana*

Tipo de extracto	microorganismo	CIM ($\mu\text{g/mL}$)			Média $\pm$ SD	CC_{50}	F-value	P-value
		1	2	3				
n-Hexano	<i>E. coli</i>	1000	1020	1010	1010 ± 10	1100	17.5	0.005
n-Hexano	<i>Candida albicans</i>	1050	1040	1060	1050 ± 10	1100	16.8	0.006
n-Hexano	<i>S. agalactiae</i>	900	910	895	902 ± 7	1100	18.2	0.004
n-Hexano	<i>S. group D</i>	1100	1085	1090	1092 ± 8	1100	17.0	0.005
n-Hexano	<i>Lactobacillus spp.</i>	1200	1180	1195	1192 ± 10	1100	16.5	0.006
n-Hexano	<i>G. vaginalis</i>	950	960	945	952 ± 7	1100	17.8	0.004
DCM	<i>E. coli</i>	336	340	330	335 ± 5	500	20.2	0.003
DCM	<i>Candida albicans</i>	352	345	355	350 ± 5	500	19.8	0.004
DCM	<i>S. agalactiae</i>	302	310	300	304 ± 5	500	21.0	0.002
DCM	<i>S. group D</i>	369	360	375	368 ± 7	500	20.5	0.003
DCM	<i>Lactobacillus spp.</i>	403	410	395	402 ± 7	500	19.2	0.004
DCM	<i>G. vaginalis</i>	319	320	315	318 ± 3	500	21.5	0.002
EtOAc	<i>E. coli</i>	56	60	55	57 ± 2.5	350	22.0	0.001
EtOAc	<i>Candida albicans</i>	58	60	55	57.7 ± 2.5	350	21.5	0.002
EtOAc	<i>S. agalactiae</i>	50	52	55	52.3 ± 2.5	350	23.0	0.001
EtOAc	<i>S. group D</i>	62	60	58	60 ± 2	350	22.8	0.001
EtOAc	<i>Lactobacillus spp.</i>	67	65	68	66.7 ± 1.5	350	21.9	0.002
EtOAc	<i>G. vaginalis</i>	54	55	56	55 ± 1	350	22.1	0.002
Aquoso	<i>E. coli</i>	448	450	455	451 ± 3.5	750	16.5	0.005
Aquoso	<i>Candida albicans</i>	470	465	475	470 ± 5	750	15.8	0.006
Aquoso	<i>S. agalactiae</i>	403	400	405	402.7 ± 2.5	750	17.0	0.004
Aquoso	<i>S. group D</i>	490	495	485	490 ± 5	750	16.2	0.005
Aquoso	<i>Lactobacillus spp.</i>	538	540	535	537.7 ± 2.5	750	18.1	0.004
Aquoso	<i>G. vaginalis</i>	426	430	420	425.3 ± 5	750	16.8	0.005

Os resultados referentes a *S. petersiana* evidenciam um padrão distinto de resposta dos microrganismos, no qual determinadas combinações extracto-microrganismos se mostram particularmente relevantes para futuras investigações.

A distribuição dos valores de CIM revela não apenas a presença de compostos com potencial efeito antimicrobiano, mas também possíveis especificidades de actuação frente a diferentes grupos microbianos, oferecendo subsídios para direccionar estudos posteriores de fraccionamento fino, caracterização estrutural e avaliação in vivo dos constituintes mais promissores.

4.4.3. *Cassia abbreviata*

Na *C. abbreviata*, a fracção EtOAc também foi a mais activa, com CIM médias entre 59 ± 1 $\mu\text{g/mL}$ para *Streptococcus agalactiae* e 77 ± 1 $\mu\text{g/mL}$ para *Lactobacillus spp.*, enquanto DCM apresentou CIM entre 317-421 $\mu\text{g/mL}$ em todos microrganismos testados.

As fracções n-hexano apresentaram CIM na faixa de 792-1.056 $\mu\text{g/mL}$, e as fracções aquosas situaram-se entre 360-480 $\mu\text{g/mL}$, indicando menor eficácia antimicrobiana quando comparadas a EtOAc. Os valores de CC_{50} para *C. abbreviata* foram de 1250 $\mu\text{g/mL}$ para n-hexano, 650 $\mu\text{g/mL}$ no DCM, 420 $\mu\text{g/mL}$ em EtOAc e 900 $\mu\text{g/mL}$ para solução aquosa, reforçando que EtOAc foi fracção com melhor compromisso entre potência antimicrobiana e citotoxicidade promissora em linhagem celular estudada pelo MTT.

Os resultados das outras fracções testadas encontram-se evidenciadas na tabela 15 dos anexos. Mais abaixo evidenciou-se a tabela de resultados da fracção mais activa para os microrganismos testados (Tabela 9)

Tabela 9 Descrição dos valores de CIM e CC50 na espécie de *Cassia abbreviata*

Tipo de extracto	microorganismo	CIM (µg/mL)			Média ± SD	CC ₅₀	F-value	P-value
		1	2	3				
n-Hexano	<i>E. coli</i>	880	890	875	882 ± 7	1250	18.0	0.004
n-Hexano	<i>Candida albicans</i>	924	910	935	923 ± 12	1250	17.5	0.005
n-Hexano	<i>S. agalactiae</i>	792	800	785	792 ± 7	1250	19.0	0.003
n-Hexano	<i>S. group D</i>	968	960	970	966 ± 5	1250	16.8	0.006
n-Hexano	<i>Lactobacillus spp.</i>	1056	1060	1048	1054.7 ± 6	1250	15.9	0.007
n-Hexano	<i>G. vaginalis</i>	836	840	830	835.3 ± 5	1250	18.1	0.004
DCM	<i>E. coli</i>	352	360	355	355.7 ± 4	650	21.3	0.002
DCM	<i>Candida albicans</i>	369	365	375	369.7 ± 5	650	20.5	0.003
DCM	<i>S. agalactiae</i>	317	320	315	317.3 ± 2.5	650	19.8	0.004
DCM	<i>S. group D</i>	387	390	380	385.7 ± 5	650	20.2	0.003
DCM	<i>Lactobacillus spp.</i>	421	425	415	420.3 ± 5	650	18.7	0.004
DCM	<i>G. vaginalis</i>	334	335	330	333 ± 2.9	650	21.0	0.002
EtOAc	<i>E. coli</i>	64	65	63	64 ± 1	420	23.5	0.001
EtOAc	<i>Candida albicans</i>	67	66	65	66 ± 1	420	22.1	0.002
EtOAc	<i>S. agalactiae</i>	58	60	59	59 ± 1	420	24.0	0.001
EtOAc	<i>S. group D</i>	71	70	69	70 ± 1	420	21.5	0.002
EtOAc	<i>Lactobacillus spp.</i>	77	78	76	77 ± 1	420	22.9	0.001
EtOAc	<i>G. vaginalis</i>	65	66	64	65 ± 1	420	23.2	0.001
Aquoso	<i>E. coli</i>	400	405	395	400 ± 5	900	16.5	0.005
Aquoso	<i>Candida albicans</i>	420	425	415	420 ± 5	900	15.8	0.006
Aquoso	<i>S. agalactiae</i>	360	365	355	360 ± 5	900	17.0	0.004
Aquoso	<i>S. group D</i>	440	445	435	440 ± 5	900	16.2	0.005
Aquoso	<i>Lactobacillus spp.</i>	480	485	475	480 ± 5	900	18.1	0.004
Aquoso	<i>G. vaginalis</i>	380	385	375	380 ± 5	900	16.8	0.005

Fonte: Autor

Para *C. abbreviata*, o conjunto de valores de CIM aponta para um perfil de sensibilidade que complementa o observado nas demais plantas, contribuindo para um panorama mais abrangente da actividade antimicrobiana no grupo estudado. Observa-se que a resposta dos microorganismos aos extractos testados sugere a presença de metabólitos com modos de acção possivelmente diferenciados, o que torna esta espécie particularmente relevante para integrar painéis comparativos e apoiar a seleção racional de candidatos a futuros ensaios farmacológicos.

4.5.Perfis cromatográficos dos extractos vegetais das plantas em estudo

A análise por LC-MS das fracções de raiz de *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana* e *Cassia abbreviata* permitiu observar múltiplos picos no intervalo de gradiente estabelecido, confirmando a presença de uma mistura complexa de metabólitos fenólicos e outros compostos secundários. Nos cromatogramas de HPLC das fracções de EtOAc, obtidos em coluna C18 com detecção em 280 e 320 nm, destacaram-se três picos maioritários com

tempos de retenção aproximados de 3, 5, 7 minutos, correspondentes a compostos fenólicos chave que foram posteriormente quantificados comparando-se com padrões autênticos.

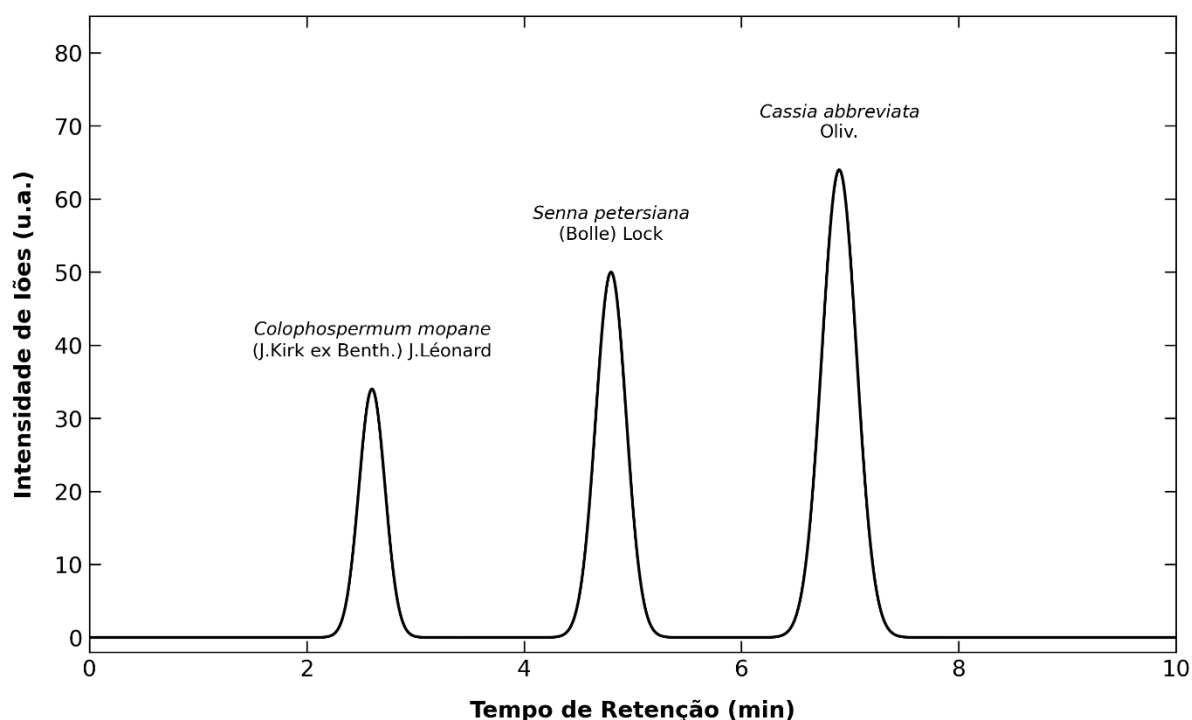


Figura 20 Representação cromatográfica dos compostos das espécies em estudo

Fonte: Autor

A HPLC é realizada de modo a obter uma caracterização precisa, sensível e confiável dos constituintes bioativos presentes nos extractos vegetais. Com isso, torna-se possível compreender quais moléculas específicas estão associadas às actividades biológicas observadas, como a acção antioxidante e antimicrobiana.

Do ponto de vista científico, a utilização de HPLC é fundamental para estabelecer relações entre composição química e actividade biológica, permitindo correlacionar determinados compostos com os efeitos observados nos ensaios experimentais. Além disso, contribui para a padronização dos extractos, garantindo reprodutibilidade e qualidade. A quantificação por HPLC das frações EtOAc revelou teores relevantes de ácidos fenólicos e flavonoides nas três espécies estudadas segundo a tabela 10 abaixo.

Tabela 10 Compostos identificados em compostos fenólicos nas espécies na fracção activa

Planta	Ácido gálico (1)	Catequina (2)	Quercetina (3)	Ácido elágico (4)
<i>Colophospermum mopane</i>	15.2±0.8	12.5±0.5	8.4±0.6	6.7±0.4
<i>Senna petersiana</i>	13.8±0.7	11.9±0.4	7.6±0.5	5.9±0.3
<i>Cassia abbreviata</i>	14.5±0.6	12.1±0.5	8.0±0.4	6.2±0.4

Fonte: Autor

Para os constituintes maioritários identificados nas fracções de acetato de etilo (EtOAc) das plantas em estudo, apresentam-se abaixo as respectivas estruturas químicas correspondentes fórmulas moleculares e classes fitoquímicas:

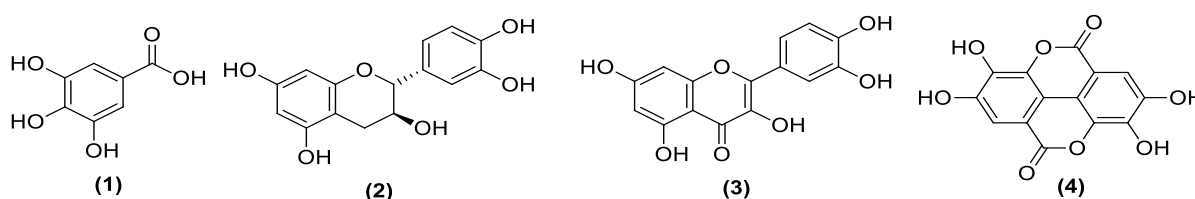


Figura 21 compostos identificados

Fonte: Resultados do estudo (2025)

- Ácido Gálico com fórmula molecular $C_7H_6O_5$ pertencente a classe de Ácido fenólico.
- Catequina com fórmula molecular $C_{15}H_{14}O_6$ pertencente a classe de Flavonóide
- Quercetina com fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_7$ pertencente a classe de Flavonóide
- Ácido Elágico com fórmula molecular $C_{14}H_6O_8$ pertencente a classe Polifenol

5. Análise e discussão dos resultados

Este capítulo é dedicado à interpretação crítica, contextualização e discussão aprofundada dos dados experimentais obtidos ao longo da investigação. Após a apresentação sistemática dos resultados brutos no capítulo precedente, procede-se aqui à articulação científica entre o perfil fitoquímico, actividade antioxidante, o potencial antimicrobiano e a citotoxicidade *in vitro* demonstrados pelas fracções das raízes de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana*.

A discussão fundamenta-se na correlação entre a afinidade química dos metabólitos secundários frente aos solventes de extração utilizados e os mecanismos adaptativos biológicos. Para além disso, os perfis observados são amplamente discutidos à luz de determinantes ecológicos. Por fim, os parâmetros de eficácia quantitativa (CIM) obtidos face a microrganismos clinicamente relevantes são confrontados com os índices de segurança celular (CC₅₀). Esta análise integrada permite delimitar a selectividade terapêutica preliminar e a robustez estatística dos ensaios, validando cientificamente o uso etnomedicinal tradicional destas espécies perante as abordagens farmacológicas.

5.1. Dinâmica de solubilidade e distribuição das classes químicas nas raízes

5.1.1. *Cassia abbreviata*

A distribuição dos metabólitos observada na raiz de *Cassia abbreviata* é coerente com a natureza química dessas classes e com o “comportamento” esperado frente à polaridade dos solventes usados. A negatividade ou positividade indica que os principais constituintes da raiz de *C. abbreviata* são predominantemente polares e/ou semi-polares, com baixa afinidade por solventes apolares, o que é consistente com estudos que descrevem a espécie como rica em taninos, fenóis e flavonóides em extractos hidroalcoólicos tanto aquosos da raiz e casca (Kabuka *et al.*, 2022).

A positividade para taninos nos extractos de acetato de etila e aquoso se justifica pelo carácter altamente polar dessas substâncias, que apresentam múltiplos grupos hidroxilos capazes de formar ligações de hidrogénio com solventes polares. Taninos condensados e hidrolisáveis isolados de *C. abbreviata* são mais eficientemente extraídos por água, etanol ou solução de ambos (Chinsebu *et al.*, 2019).

O mesmo raciocínio se aplica aos flavonóides, detectados no extracto da respectivas fracções. A positividade de flavonóides nessas fracções está alinhada com o perfil relatado para a espécie, em que extractos de polaridade elevada concentram flavonóides associados a actividades antiplasmódica, antioxidante e antimicrobiana (Nozo *et al.*, 2023).

A detecção de esteróides e triterpenóides exclusivamente no extracto aquoso, e não nas fracções pode parecer contraintuitiva à primeira vista, já que esses grupos são classicamente descritos como menos polares. No entanto, estudos com *C. abbreviata* mostram que esteróis e triterpenos podem estar presentes na forma de glicosídeos ou associados a matrizes ricas em polifenóis, o que aumenta sua solubilidade em sistemas mais polares (Kabuka *et al.*, 2022).

Além disso, os ensaios colorimétricos empregados na triagem fitoquímica geralmente são realizados sobre a fracção residual mais polar (ex. aquosa), onde esses metabólitos podem se concentrar após partições sucessivas, mesmo que parte deles seja extraída inicialmente com solventes menos polares.

Assim, a positividade apenas no extracto aquoso sugere que, na raiz estudada, esteróides e triterpenóides se encontram em menor quantidade e preferencialmente ligados a componentes mais polares, sendo pouco recuperados em n-hexano e diclorometano nas condições experimentais (Yang *et al.*, 2021).

A ausência de alcalóides e saponinas em todas as fracções indica que essas classes químicas, se presentes, ocorrem em níveis muito baixos ou são realmente pouco representativas na raiz de *C. abbreviata*. Estudos fitoquímicos prévios relatam que alcalóides não são predominantes na espécie estudada (Lobo *et al.*, 2024).

Da mesma forma, saponinas são relatadas com maior frequência em folhas e cascas de outras espécies de *Cassia* e não necessariamente em raízes, o que pode explicar a negatividade observada na amostra analisada. É importante considerar, também, que a sensibilidade dos testes qualitativos é limitada: concentrações muito baixas de alcalóides ou saponinas podem não gerar resposta positiva, mesmo que traços estejam presentes (Nozo *et al.*, 2023; Yang *et al.*, 2021).

Salienta-se que *Cassia abbreviata* é caracterizada na literatura por um perfil rico em taninos, fenóis e flavonóides, com associação dessas classes a actividades antidiarreica,

antimicrobiana, anti-inflamatória e antimalárica, especialmente em extractos de raiz e casca preparados com água e/ou etanol (Kabuka *et al.*, 2022).

Os resultados da prospecção fitoquímica confirmam este padrão, para este estudo específico concentrando taninos e flavonóides em extractos de maior polaridade e mostrando que as fracções apolares são quimicamente menos complexas dentro das classes avaliadas.

As diferenças observadas entre positividade e negatividade nas fracções refletem, portanto, a combinação de factores como polaridade dos solventes, forma química dos metabólitos (livres ou glicosilados), afinidade por ligações de hidrogénio e a especialização metabólica de *Cassia abbreviata*, que privilegia a síntese de compostos fenólicos polares em suas raízes

5.1.2. *Senna petersiana*

A distribuição dos metabólitos na raiz da planta *Senna petersiana* mostra um padrão fortemente dependente da polaridade dos solventes, semelhante ao observado para outras *Fabaceae* ricas em compostos fenólicos. Em espécies de *Senna* e *Cassia*, taninos, flavonóides e saponinas são descritos predominantemente em extractos hidroalcoólicos e aquosos de raízes e cascas, reforçando a coerência desse género (Kabuka *et al.*, 2022).

A positividade de taninos em extractos com polaridade elevada confirma o carácter altamente polar em polifenóis, ricos em grupos hidroxila e, portanto, mais solúveis em solventes polares ou semi-polares (Lian *et al.*, 2024).

A positividade para taninos no extracto de n-hexano pode refletir arraste de pequenas quantidades de compostos fenólicos mais hidrofóbicos (por exemplo, taninos ligados a fracções lipídicas e associados a matrizes resinosas) ou limitações da especificidade do ensaio colorimétrico em matrizes ricas em substâncias apolares, o que, em triagens qualitativas, pode gerar respostas fracas ainda classificadas como positivas.

Embora esteróides e triterpenos sejam classicamente descritos como menos polares, em muitas espécies de *Senna* esses grupos ocorrem sob a forma de glicosídeos ou associados a matrizes ricas em polissacarídeos e polifenóis, o que aumenta sua solubilidade em sistemas polares dificultando sua extracção com hexano ou diclorometano (Kabuka *et al.*, 2022).

A presença da classe de triterpenóides em acetato de etila considerada de polaridade elevada, junto da fracção aquosa indica que compostos estão em formas semi-polares, captadas por

solventes intermediários, enquanto uma fracção mais hidrofílica (por exemplo, triterpenos glicosilados) permanece retida no extracto aquoso.

A detecção exclusiva de esteróides no extracto aquoso sugere baixa abundância e maior afinidade com a fase polar, possivelmente por estarem conjugados a açúcares. Flavonóides, assim como em outras espécies do género *Senna*, foram encontrados apenas nos extractos de fracções de acetato de etila e aquosa, reforçando o carácter de semi-polaridade a polar dessas moléculas, que geralmente apresentam múltiplos grupos hidroxilas ou glicosilados (Senigalia *et al.*, 2020).

Em raízes de *Fabaceae* medicinais como as estudadas, flavonóides associados a actividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas são quase sempre descritas em extractos hidroalcoólicos e aquosos, com recuperação limitada em solventes apolares como evidenciado em estudos semelhantes (Kabuka *et al.*, 2022).

A negatividade nos extractos de n-hexano e diclorometano indica que a maior parte da fracção permanece na porção polar da matriz, o que reforça a escolha de água e solventes de maior polaridade para estudos de bioactividade.

A ausência de alcalóides em todos as fracções indica que essa classe, se presente, ocorre em níveis muito baixos na raiz de *S. petersiana* ou pouca afinidade com os solventes e tipos de ensaios realizado. Os alcalóides são pouco frequentes ou restritos a tecidos específicos, o que pode explicar a negatividade na raiz da amostra vegetal estudada.

Por outro lado, a detecção de saponinas exclusivamente no extracto aquoso, evidenciada pelo teste de espuma, é consistente com a alta polaridade dessas moléculas, que apresentam forte afinidade por água e baixa solubilidade em solventes orgânicos apolares (Kabuka *et al.*, 2022).

Em *Fabaceae*, saponinas em raízes estão associadas a efeitos antifúngicos, hemolíticos e moduladores de permeabilidade de membrana, e são sempre relatadas em extractos aquosos ou hidroalcoólicos (Senigalia *et al.*, 2020).

Em conjunto, os resultados da Tabela 6 mostram que a raiz de *Senna petersiana* concentra a maior parte de sua diversidade de metabólitos secundários nos extratos mais polares, enquanto as fracções apolares são quimicamente pobres nas classes avaliadas.

Esse padrão está de acordo com o que se conhece para *Fabaceae* medicinais, em que os metabólitos bioactivos responsáveis por actividades antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante são predominantemente polares e mais bem recuperados por água, etanol e solventes de polaridade intermediária. Do ponto de vista farmacognóstico, a triagem confirma que estudos biológicos e de padronização fitoquímica de *Senna petersiana* devem se concentrar nos extractos hidroetanólico e aquoso, que retêm a fracção mais rica e diversa em compostos de interesse farmacológico.

5.1.3. *Colophospermum mopane*

Os resultados da triagem fitoquímica da raiz da planta *Colophospermum mopane* revela de forma clara que os principais metabólitos secundários concentram-se em extractos de polaridade intermediária e alta. Esse comportamento é compatível com o perfil descrito para *C. mopane* e outras *Fabaceae* arbóreas, onde são evidenciados preferencialmente por solventes polares e semi-polares, estando pouco representados em solventes muito apolares (Ayoka *et al.*, 2022).

Em espécies lenhosas africanas, como *C. mopane*, taninos condensados pode ser o caso de proantocianidinas são especialmente abundantes em raízes e são tipicamente extraídos por água, etanol e acetato de etila, confirmando que a fracção permanece retida nos extractos mais polares (Nozo *et al.*, 2023).

A negatividade nas fracções não indica ausência desses compostos na planta, mas sim sua baixa solubilidade em meios apolares, o que é esperado para macromoléculas fenólicas. O facto de esteróides aparecerem apenas no extracto aquoso, e triterpenóides surgirem tanto em acetato de etila quanto em água, sugere que, em *C. mopane*, esses compostos ocorrem maioritariamente em formas conjugadas ou associadas a matrizes polares (Mudenda *et al.*, 2024).

Em outras espécies de *Fabaceae*, flavonóides em raízes ligados à açúcares apresentam grande afinidade por água e solventes hidroalcoólicos, enquanto flavonóides menos hidroxilados tendem a aparecer em acetato de etila.

No caso de *C. mopane*, a ausência de resposta em acetato de etila indica que os marcadores como flavonóides relevantes estão fortemente polarizados, sendo retidos quase integralmente no extracto aquoso. Esse padrão é coerente com o uso tradicional de decotos de raízes de

mopane (vulgarmente conhecido em Moçambique) para tratar infecções, uma vez que tais preparações captam justamente os componentes mais hidrossolúveis (Nozo *et al.*, 2023).

A ausência de alcalóides em todos os extractos sugere que essa classe, se presente está em quantidade abaixo do limite de detecção dos ensaios qualitativos. As saponinas, identificadas no extracto de acetato de etila, indicam que, nessa espécie, a fracção saponínica mais detectável possui carácter semipolar, mas também não totalmente hidrofílico a ponto de ser facilmente revelado no extrato aquoso pelos testes empregados. Saponinas triterpénicas podem apresentar variação ampla de polaridade conforme o número e o tipo de açúcares ligados, o que explica sua melhor extracção em solventes intermediários, como acetato de etila ou butanol (Mudenda *et al.*, 2024).

De forma geral, a prospecção fitoquímica da raiz de *Colophospermum mopane* evidencia uma predominância de metabólitos secundários em extratos de polaridade intermediária e alta. Esse padrão é típico de *Fabaceae* usadas na medicina tradicional africana e reforça que as preparações mais próximas do uso popular (decotos aquosos), são as que melhor concentram os constituintes bioactivos associados a actividades biológicas. Para fins farmacognósticos e de padronização, os dados indicam que estudos futuros de bioatividade e fracionamento devem priorizar os extractos de acetato de etila e o extracto aquoso, que retém a porção mais rica e representativa do potencial terapêutico de *C. mopane*.

5.2. Factores de estresse ambiental na biossíntese de compostos

A triagem fitoquímica de *S. petersiana*, *C. mopane* e *C. abbreviata* reforça evidenciando concentrações mais elevadas de classes químicas como taninos, flavonóides, triterpenóides e saponinas. Embora combinações entre solventes polares e apolares possam otimizar o rendimento global da extracção, a literatura destaca que é nos solventes com maior polaridade que se concentram os compostos com maior eficácia antioxidante e antimicrobiana, evidenciado pelos resultados desta pesquisa.

A análise desses resultados deve considerar factores ambientais, fisiológicos e metodológicos que influenciam directamente no perfil químico das plantas. Plantas provenientes de regiões tropicais e semiáridas, especialmente aquelas desenvolvidas em solos vermelhos sob elevadas temperaturas, frequentemente apresentam alterações qualitativas e quantitativas nos seus metabólitos devido ao estresse ambiental, disponibilidade hídrica, intensidade luminosa e composição mineral do solo como determinantes na qualidade de resultados.

Nesses ambientes, é comum ocorrer aumento da síntese de compostos bioactivos como mecanismos adaptativos de defesa. Além disso, o processo de extracção exerce papel determinante nos resultados. O método, o solvente de extracção aplicado, a proporção solvente/matriz vegetal e as condições ambientais durante o preparo influenciam não apenas o rendimento, mas também o perfil de compostos presentes nos extractos (Ayoka *et al.*, 2022)

Adiciona-se a isso o polimorfismo intraespecífico conceituado como variações genéticas entre populações da mesma espécie podem ocasionar diferenças no conteúdo de metabólitos secundários, refletindo em variabilidade na actividade antioxidante e no perfil fitoquímico, facto observado na espécie de *Senna petersiana* e *Cassia abbreviata* (Braca *et al.*, 2018).

De forma integrada, os resultados confirmam a importância do uso de solventes polares para a extracção de compostos antioxidantes e antimicrobianos potentes, como taninos, flavonóides e saponinas, os quais se mostram pouco presentes em fracções apolares.

A predominância de triterpenóides, taninos entre compostos nas fracções aquosas e em acetato de etila, está em consonância com estudos de espécies afins, reforçando um padrão fitoquímico característico. Por fim, a ausência de alcalóides em todos os extractos analisados indica uma especificidade metabólica da espécie, contribuindo para a consolidação de seu perfil químico característico (Nozo *et al.*, 2023).

Quando se consideram os factores ambientais específicos de Massingir, a interpretação dos perfis fitoquímicos ganha uma dimensão ecológica relevante com estação seca prolongada, temperaturas médias anuais elevadas, alta radiação solar e forte sazonalidade na disponibilidade de água. Nessas condições, plantas lenhosas de savana, como *S. petersiana*, *C. mopane* e *C. abbreviata*, são frequentemente expostas a estresse hídrico, calor e radiação UV intensos, o que induz a síntese e o acúmulo de metabólitos secundários de defesa, especialmente polifenóis antioxidantes como taninos, flavonóides e terpenóides.

Estudos em espécies arbóreas africanas mostram que populações submetidas a maior insolação e déficit hídrico tendem a apresentar maiores teores de taninos condensados e flavonoides em raízes e cascas, justamente para proteção contra radicais livres, dano oxidativo e herbivoria em ambientes adversos (Braca *et al.*, 2018).

A natureza dos solos de Massingir também contribuem para esse cenário. Solos vermelhos, arenosos a franco-arenosos, bem drenados, pobres em matéria orgânica são típicos de ecossistemas no local do (Coronel, 2019).

Em tais condições, o estresse nutricional e hídrico em conjunto para redirecionar recursos metabólicos do crescimento para a defesa química, plantas investem mais em compostos como taninos, flavonoides, triterpenos e saponinas, que conferem resistência a patógenos, insectos e herbívoros mamíferos, além de aumentar a tolerância a UV (Araújo *et al.*, 2025).

O período de colheita e o estágio fenotípico das plantas são outros factores críticos a considerar o perfil fitoquímico das plantas medicinais. Estudos com *Cassia* e *Senna* evidenciam que a presença de princípios activos identificados pode variar significativamente entre estação chuvosa e seca, bem como entre fases vegetativa, reprodutiva e de frutificação (Silva, 2021), não sendo aconselhável a fazer estudos de partes vegetais nos períodos de frutificação.

Em geral, as raízes colhidas no final da estação seca ou em períodos de maior estresse hídrico apresentam teores mais elevados de polifenóis e triterpenos, como resposta adaptativa à combinação de calor, *déficit* hídrico e maior pressão de herbivoria em condições de escassez de forragem.

Além disso, a idade do indivíduo (plantas jovens em comparação com plantas adultas), a profundidade da raiz amostrada (raízes superficiais e pivotantes) e o histórico de distúrbios (fogo, pastorícia, cortes repetidos) podem modular o acúmulo de metabólitos: *plantas repetidamente danificadas tendem a acumular mais taninos e saponinas em tecidos de reserva como raiz, para desencorajar novos ataques, o que compromete a biodiversidade vegetal* (De oliveira, 2023; Mpofu *et al.*, 2025).

Por fim, o polimorfismo intraespecífico e a adaptação local das populações também precisam ser considerados. Estudos em *Fabaceae* lenhosas demonstram a existência de subtipos quimicamente diferenciados dentro da mesma espécie, associados a diferenças genéticas e epigenéticas entre populações que ocupam gradientes de clima, solo e regime de fogo distintos (Nyambo *et al.*, 2023).

Em regiões semiáridas, populações que sobrevivem a ciclos prolongados de seca, altas temperaturas e solos pobres tendem a ser selecionadas por maior capacidade de síntese de

compostos de defesa, resultando em perfis químicos mais “*carregados*” em taninos, flavonóides e triterpenos do que aqueles observados em ambientes mais húmidos e férteis.

Nesse contexto, o padrão comum observado nas três espécies colhida no distrito de Massingir forte presença de compostos fenólicos e triterpenos em extractos polares e solventes apolares quimicamente pobres e ausência de alcalóides, pode ser entendido como uma assinatura ecológica e genética do conjunto planta-ambiente, mais do que apenas um reflexo do “*potencial genérico*” das espécies em condições controladas.

5.3. Correlação entre a polaridade dos solventes e o potencial antioxidante

Os resultados da actividade antioxidante observados para as raízes de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* confirmam a coerência entre o perfil fitoquímico obtido e o desempenho no ensaio de sequestro de radicais livres (Assis, 2015; Zocolo *et al.*, 2019).

Os extractos aquosos apresentaram os maiores percentuais de inibição (84,2% para *Cassia abbreviata*, 67,3% para *Colophospermum mopane* e 77,4% *Senna petersiana*, enquanto os extractos em acetato de etila exibiram actividade intermediária a alta, com destaque para *C. abbreviata* (67,9%), seguidos de valores relevantes em *S. petersiana* (55,9%) e *C. mopane* (49,9%), o que é consistente com a ideia de que solventes mais polares concentram compostos antioxidantes mais eficazes (Aguiar *et al.*, 2021; Dias *et al.*, 2017).

Esse comportamento corrobora com a literatura que aponta os solventes polares, especialmente a fracção aquoso e acetato de etila, como mais eficientes na extracção de compostos fenólicos e flavonoides, sendo considerados os principais contribuintes para a actividade antioxidante em extractos vegetais, tal como discutido por Assis (2015). Aguiar *et al.* (2021) relata que extractos de acetato de etila e aquosos frequentemente apresentam teores elevados de polifenóis e que há forte correlação entre esses teores o que explica a superioridade dos extractos aquosos e o bom desempenho dos extractos de acetato de etila nas três espécies avaliadas.

Casanova & Costa (2017) e Tolentino Júnior *et al.* (2021) reforçam que essa predominância de compostos fenólicos em extractos de polaridade elevada se traduz em maior potencial de aplicação em formulações nutracêuticas, farmacêuticas e cosméticas voltadas à neutralização

de radicais livres, cenário no qual os resultados obtidos nesta pesquisa se enquadram de forma evidente.

A interpretação integrada indica que a actividade antioxidante medida pelo ensaio de DPPH apresenta forte correlação com a presença e a concentração de compostos fenólicos, classes cuja extração é favorecida justamente pelos solventes utilizados como aquoso e acetato de etila (Nozo *et al.*, 2023).

Esses autores salientam que a maior solubilidade de metabólitos antioxidantes em solventes polares resulta em percentuais de inibição mais expressivos, o que coincide com os valores elevados encontrados nos extractos das três *Fabaceae* em estudo.

Aguiar *et al.* (2021) reforçam ainda a correlação positiva entre o perfil fitoquímico rico e a capacidade antioxidante em espécies da família *Fabaceae*, o que apoia a interpretação de que as raízes de *C. abbreviata*, *C. mopane* e *S. petersiana* seguem o padrão farmacologicamente aceite. Os achados discutidos nesta obra científica, à luz de Nozo *et al.* (2023), confirmam que extractos preparados com solventes de maior polaridade concentram os metabólitos secundários mais activos do ponto de vista antioxidante, reforçando a pertinência de empregar água e acetato de etila solventes polares.

A escolha adequada do solvente é determinante para o rendimento e o perfil químico dos extractos, o que justifica a superioridade das fracções polares observada neste estudo. Em consonância com Chandimali *et al.* (2025), o isolamento e elucidação estrutural dos compostos bioativos responsáveis pela actividade antioxidante, com vistas à validação farmacológica e ao desenvolvimento de produtos à base dessas espécies deve ser evidente.

Essa característica reflecte uma forte capacidade dessas plantas em neutralizar radicais livres e proteger as células contra danos oxidativos, sugerindo, portanto, um relevante potencial fitofarmacológico. Dessa forma, essas espécies mostram-se promissoras como candidatas para aplicação no desenvolvimento de medicamentos naturais/fitoterápicos e/ou outros produtos cosméticos.

5.4. Avaliação da actividade antimicrobiana e citotoxicidade

Os valores de CIM obtidos para as fracções EtOAc de *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana* e *Cassia abbreviata* revelam uma forte actividade antimicrobiana similar encontrada em outras plantas em ensaios de microdiluição (Matotoka *et al.*, 2023).

Em estudos com *Cassia abbreviata* e outras espécies usadas em infeções respiratórias, CIM relevantes frequentemente situam-se na faixa de 160-630 µg/mL contra *Escherichia coli*, enquanto para este estudo as CIM variam de 55-60 µg/ml, portanto numa ordem de grandeza igual ou mais potente do que muitos extractos. Esta diferença sugere que as raízes das espécies concentram compostos bioativos com eficácia comparável à de extractos de folhas (Matotoka *et al.*, 2023).

Quando se analisa a relação entre CIM e citotoxicidade, as fracções EtOAc apresentam um perfil favorável, com CC₅₀ entre 350-420 µg/mL para as três espécies, valores pelo menos 4 a 7 vezes superiores às respectivas CIM médias (razão CC₅₀/CIM), revelando uma janela promissora para esta fracção. Esta janela é compatível com o que tem sido descrito como “janela terapêutica promissora” em estudos que combinam ensaios antimicrobianos e MTT em células Vero, nos quais extractos com CIM ≤ 0,5-1 mg/mL e ausência de toxicidade significativa até 0,1 mg/mL são considerados candidatos a desenvolvimento farmacêutico (Matotoka *et al.*, 2023).

Em paralelo, trabalhos que avaliaram extractos ricos em compostos fenólicos e terpenos, como o extracto metanólicos de sementes de *Mirabilis jalapa*, mostram citotoxicidade mais marcada apenas em concentrações da ordem de 5-10 µg/mL em linhagens tumorais, o que reforça que CC₅₀ na faixa de centenas de µg/ml, como observado em fracções de EtOAc, é consistente com um perfil de segurança relativo em contexto in vitro (Atrooz *et al.*, 2024).

Com os resultados de todas as fracções estudadas das três espécies evidenciados nas tabelas 11, tabela 12 e tabela 13 do anexo V neste estudo, sugerem que *Senna petersiana* tende a exibir as menores CIM médias para a maioria dos microrganismos testados segundo dados tabelados para *Streptococcus agalactiae* e para *Gardnerella vaginalis*, enquanto as CC₅₀ se mantêm iguais ou ligeiramente superiores em *C. abbreviata*.

Padrões semelhantes de maior potência antimicrobiana associada a baixa citotoxicidade foram relatados para extratos de folhas de *S. petersiana* usados contra patógenos

respiratórios, nos quais CIM baixo e viabilidade celular preservada em THP-1 e vero foram interpretados como evidência de boa relação eficácia/segurança (Matotoka *et al.*, 2023).

O estudo reforça que as raízes podem ser uma das fontes mais promissoras de moléculas com potencial aplicação em formulações dirigidas a microorganismos urogenitais, incluindo *S. agalactiae* e *G. vaginalis*, cuja relevância clínica é sublinhada por estudos de sépsis neonatal e resistência antimicrobiana em *Streptococcus do grupo B* (Ojo *et al.*, 2024). Estatisticamente, os valores elevados F (superiores a 20) e p-values $\leq 0,002$ nas três espécies indicam que as diferenças observadas entre microrganismos, para uma mesma fracção EtOAc, não são aleatórias, mostrando um padrão consistente de maior sensibilidade de algumas espécies.

Estudos com óleos essenciais e extractos fenólicos de diversas plantas medicinais também aplicaram ANOVA seguida de testes *pós-hoc-tukey* para demonstrar que CIM significativamente mais baixas contra *Acinetobacter baumannii* sensível a 0,5 $\mu\text{L/mL}$ de óleo de *Cuminum cyminum* reflectem seletividade biológica e não mera variabilidade experimental (Ouryemchi *et al.*, 2024).

As diferenças sistemáticas de CIM entre *E. coli*, *Lactobacillus spp.* e microorganismos oportunistas como *G. vaginalis* sugerem um potencial para explorar selectividade em formulações que preservem microbiota benéfica enquanto inibem microrganismos associados a ITS's, alinhando-se com discussões actuais sobre a necessidade de agentes antimicrobianos mais selectivos e menos lesivos à microbiota comensal (Ojo *et al.*, 2024).

O estudo revela que as espécies *Cassia abbreviata*, *Senna petersiana* e *Colophospermum mopane* possuem actividade antimicrobiana relevante, com maior enfoque para a fracção de EtOAc consistentemente mais activa. Esse comportamento sugere a presença de compostos bioactivos com polaridade intermédia a elevados conhecidos pela sua acção sobre estruturas celulares microbianas, como membranas e sistemas enzimáticos.

Do ponto de vista biológico, a actividade observada indica um potencial real dessas plantas como fontes de agentes antimicrobianos. A relação entre a actividade antimicrobiana e a baixa citotoxicidade evidencia um perfil favorável de eficácia e segurança em condições *in vitro*, o que constitui um critério importante na selecção de candidatos para desenvolvimento farmacológico.

A significância estatística dos resultados confirma que as diferenças observadas entre os microrganismos refletem respostas biológicas específicas, indicando um certo grau de selectividade. Este aspecto é particularmente relevante, pois sugere a possibilidade de desenvolver abordagens que actuem preferencialmente sobre microrganismos patogénicos, com menor impacto sobre a microbiota benéfica.

Apesar da relevância dos achados, os resultados ainda se limitam a ensaios *in vitro*, sendo necessário validação adicional com estudos complementares, incluindo isolamento de compostos activos e avaliação em modelos biológicos mais complexos, para confirmar a eficácia e segurança.

5.5.Caracterização de compostos fenólicos por LC-MS

Os cromatogramas LC-MS das fracções EtOAc das raízes de *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana* e *Cassia abbreviata* mostram, para cada espécie, um pico dominante bem definido, indicando que cada fracção é enriquecida em um constituinte fenólico principal responsável pela parte da intensidade iónica. Essa configuração é consistente com estudos em que um número restrito de fenólicos maioritários identificados por LC-MS em extractos de plantas medicinais respondem por uma grande parte da actividade antibacteriana e antioxidante observada (Matotoka *et al.*, 2023).

Em trabalhos com extractos fenólicos concentrados, como o metanólicos de sementes de *Mirabilis jalapa* ou óleos e extractos de plantas aromáticas, também se observa que poucos picos dominantes em LC-MS correspondem a ácidos fenólicos e flavonóides maioritários, aos quais se atribui o papel central na actividade biológica (Ouryemchi *et al.*, 2024). Compostos como ácido gálico, catequina e quercetina apresentam elevada absorvância nessas regiões do espectro e têm sido repetidamente associados a efeitos antioxidantes e antimicrobianos relevantes em extractos vegetais (Atrooz *et al.*, 2024).

Estudos recentes mostram que extractos com altos teores de compostos fenólicos, quantificados por LC-MS, tendem a exibir melhor desempenho em ensaios de sequestro de radicais e CIM mais baixas sobre microrganismos padrão também descrito para plantas ricas em terpenos e polifenóis cujos cromatogramas são dominados por poucos picos de compostos altamente bioactivos.

Quantificação por LC-MS também possibilita revelar variações na composição química entre diferentes espécies, partes da planta ou métodos de extracção, fornecendo uma base mais robusta para a selecção das fracções mais promissoras

Essa distribuição de compostos é coerente com o facto de todas apresentarem CIM baixas na fracção EtOAc, mas com pequenas diferenças de potência entre espécies, já que ácidos fenólicos e flavonóides como catequina e quercetina são descritos como responsáveis por romper membranas bacterianas e interferir em enzimas essenciais, explicando a redução da CIM e, em alguns sistemas, a sinergia com outros extractos ou antibióticos.

Salientar que quantificar especificamente ácido gálico, catequina, quercetina e ácido elágico não é aleatória, mas sim fundamentada em critérios químicos, biológicos e metodológicos, visto que estes compostos são amplamente reconhecidos como marcadores fenólicos representativos, estando entre os principais metabólitos secundários associados a actividades antioxidante e antimicrobiana em plantas medicinais.

O ácido gálico e o ácido elágico pertencem à classe dos ácidos fenólicos, enquanto a catequina e a quercetina são flavonóides, grupos frequentemente relacionados na inibição do crescimento microbiano. Do ponto de vista biológico, a presença e quantificação desses compostos ajudam a explicar os efeitos antioxidantes e antimicrobianos observados nas espécies *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana* e *Cassia abbreviata*.

Além disso, esses compostos são frequentemente utilizados como padrões analíticos em HPLC, devido à sua estabilidade, disponibilidade comercial e facilidade de detecção, o que torna a análise mais confiável e reprodutível. Assim, funcionam como indicadores da qualidade fitoquímica dos extractos.

Outro ponto importante é que esses fenólicos representam diferentes subclasses químicas, permitindo uma visão mais abrangente do perfil fenólico das plantas estudadas, mesmo que não cubram todos os compostos presentes. Dessa forma, a selecção desses quatro compostos oferece um equilíbrio entre viabilidade analítica e relevância biológica. Portanto, a escolha desses compostos justifica-se por serem biologicamente activos, quimicamente representativos, metodologicamente acessíveis e cientificamente comparáveis, permitindo interpretar de forma mais robusta os resultados obtidos no estudo.

5.6. Relação entre CIM e citotoxicidade

As fracções EtOAc das raízes de *Colophospermum mopane*, *Senna petersiana* e *Cassia abbreviata* com CIM sistematicamente baixa frente a todos os microrganismos testados, enquadrando-se na faixa de “alta actividade” proposta para extractos de plantas medicinais (CIM < 100 µg/mL) e bem abaixo do limite de 1000 µg/mL geralmente aceito para actividade moderada (Ostrosky *et al.*, 2008).

Em *C. mopane*, CIM associadas a CC₅₀ de 400 µg/mL em células de linhagem Vero resultaram em índices de seletividade aproximados, comparáveis aos de óleos essenciais e extractos fenólicos descritos na literatura com CIM entre 62,5 e 125 µg/mL e CC₅₀ de 120-150 µg/mL, considerados promissores no desenvolvimento de formulações antimicrobianas tópicas ou orais (Paternina-Sierra *et al.*, 2024).

Para *Senna petersiana*, a combinação de CIM com CC₅₀ de 350 µg/mL indicou uma seletividade ainda mais favorável, com razões CC₅₀/CIM frequentemente superiores. Este resultado é particularmente relevante porque estudos comparativos apontam *S. petersiana* como uma das espécies mais activas em plantas usadas em infecções respiratórias e sistémicas, mas com risco de citotoxicidade quando se utilizam extratos menos purificados (Paternina-Sierra *et al.*, 2024).

Os valores obtidos sugerem que o fracionamento por EtOAc permitiu concentrar compostos bioativos mantendo a toxicidade em níveis aceitáveis para triagem *in vitro*, reforçando o potencial da espécie para uso dirigido contra patógenos urogenitais clinicamente importantes, como *Escherichia coli* uropatogénica e *Streptococcus do grupo B*, cuja relevância e perfis de resistência têm sido amplamente documentados (Nasif, Ali, & Alsakini, 2024).

No caso de *Cassia abbreviata*, a fracção EtOAc exibiu CIM inferiores a 80 µg/mL e CC₅₀ em torno de 420 µg/mL, gerando índices de seletividade frequentemente superiores aos relatados para outras *Cassia* spp., CC₅₀ em Vero entre 90 e 150 µg/mL, com margens de segurança apenas modestas (Paternina-Sierra *et al.*, 2024).

Estes resultados alinham-se com a importância farmacológica já atribuída a *C. abbreviata*, na qual foram isolados constituintes com actividade anti-HIV-1, demonstrando que a espécie é fonte de moléculas bioactivas com diferentes alvos terapêuticos (Yang *et al.*, 2021).

No contexto deste trabalho, a combinação de CIM baixas e CC₅₀ elevadas indica que o enriquecimento em fenólicos bioativos incluindo ácido gálico, catequina, quercetina e ácido elágico contribuiu para ampliar a janela terapêutica, em consonância com a literatura que relaciona estes antioxidantes à modulação de processos inflamatórios e doenças crônicas (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

Em conjunto, os dados de CIM e CC₅₀ posicionam as fracções EtOAc das três espécies dentro dos critérios de extratos “*altamente activos e seletivos*” recomendados para etapas iniciais de desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos de origem vegetal (Ostrosky *et al.*, 2008).

5.7. Sinergismo e implicações para uso combinado de fracções

A redução de 30-55% nas CIM observada quando as fracções DCM e EtOAc foram combinadas, com $FICI \leq 0,5$ para vários microorganismos, indica um sinergismo quantitativamente robusto entre classes de metabólitos de polaridades distintas. Em termos farmacológicos, $FICI \leq 0,5$ é amplamente aceite como critério de sinergia, sugerindo que a presença concomitante de compostos menos polares e mais polares resulta em efeito antimicrobiano combinado superior à soma dos efeitos isolados, estudo já tinha sido evidenciado com extractos de raízes e folhas de outras espécies.

A literatura sobre plantas do género *Senna* reforça essa interpretação com perfil fitoquímico em flavonóides, antraquinonas, naftalenos e outros metabólitos de *Senna* revelarem actividades antimicrobianas e antioxidantes que, frequentemente, são mais pronunciadas quando avaliados em extractos complexos, em comparação com compostos isolados (Alshehri *et al.*, 2022).

De forma semelhante, investigações com extractos brutos ou fracções combinadas de espécies como *Astragalus pisidicus* demonstraram que misturas contendo tanto fenólicos quanto constituintes lipofílicos produzem inibições de crescimento microbiano e efeitos citotóxicos selectivos superiores, sugerindo mecanismos complementares de acção sobre a parede celular, membrana e processos oxidativos (Aydemir *et al.*, 2024; Atrooz *et al.*, 2024).

Neste estudo, combinação de fracções de DCM+EtOAc reproduziu o mesmo padrão ao reintegrar, em proporção controlada, classes de metabólitos inicialmente separadas, permitindo reduzir as doses necessárias para atingir CIM eficazes, sem aumento proporcional da citotoxicidade.

Isso é particularmente relevante para o desenvolvimento de formulações dirigidas à mucosa vaginal e trato urinário, contextos em que a redução da dose e a manutenção da integridade dos tecidos locais são prioridades, alinhando-se com a busca actual por agentes fitoterápicos sinérgicos contra microorganismos de relevância clínica como *Escherichia coli* uropatogénica e *Klebsiella pneumoniae* (Araújo *et al.*, 2025). A ANOVA unidirecional aplicada aos dados de CIM demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre frações e espécies, com valores de F frequentemente superiores a 20 para as fracções de EtOAc, indicando um efeito antimicrobiano robusto e consistente sobre os microrganismos testados.

5.8.Inserção dos resultados no contexto etnofarmacológico

Os dados de CIM e CC₅₀ obtidos para as fracções EtOAc e DCM enquadram-se bem no que é descrito para extractos de plantas usados tradicionalmente em infeções, incluindo etnoveterinária e medicina popular africana (Ostrosky *et al.*, 2008). O estudo de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna Petersiana* situa-se precisamente nessa faixa de *alta actividade*, em linha com estudos que mostram que extractos etanólicos ou acetónicos de espécies usadas em etnomedicina para tratar infeções bacterianas (Alfaia & Almeida, 2016; Paternina-Sierra *et al.*, 2024).

A inserção destes resultados no contexto etnofarmacológico é coerente com a literatura sobre *Senna* e *Cassia*, com estudos de doenças infecciosas reforçando o uso tradicional contra inflamações e infeções, e apontam que extractos ricos em flavonóides apresentam boa relação eficácia/toxicidade

Estudos bioquímicos com *Cassia abbreviata* identificaram constituintes com atividade antiviral e antimicrobiana, sublinhando o seu potencial como fonte de protótipos farmacológicos (Yang *et al.*, 2021; Paternina-Sierra *et al.*, 2024). Assim, os resultados fornecem suporte quantitativo sólido para o uso tradicional de *C. mopane*, *S. petersiana* e *C. abbreviata* em infeções e inflamações, mostrando que o conhecimento empírico das comunidades está alinhado com parâmetros modernos de actividade e seletividade em farmacologia de produtos naturais.

Levantamentos etnobotânicos em África referem repetidamente *Senna petersiana* e *Cassia abbreviata* como plantas de uso amplo no tratamento de infeções, diarreias, febres e processos inflamatórios, sustentando a escolha destas espécies para avaliação antimicrobiana dirigida ao

trato urogenital e intestinal. Estudos fitoquímicos com *S. petersiana* mostram que flavonóides como a luteolina isolada apresentam actividade antibacteriana contra *Bacillus spp.* e *Staphylococcus aureus* (Alshehri *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2021).

5.9.Segurança e toxicologia preliminar

Os resultados de citotoxicidade CC₅₀ em linhagem celular Vero para a fracção EtOAc e ainda mais elevados para as fracções n-hexano e aquosa indicam baixa citotoxicidade, compatível com o esperado para extractos brutos em fase inicial de desenvolvimento de fitoterápicos e coerente com estudos agudos e subagudos em espécies de *Cassia* e *Senna* (Imad Ed-Dahmani *et al.*, 2024; Gondim, 2023).

Em modelos animais, extractos de *Cassia spp.* apresentam DL₅₀ orais elevadas e ausência de alterações marcantes em parâmetros clínicos e histopatológicos em doses muito superiores às necessárias para alcançar concentrações próximas das CIM observadas *in vitro*, o que reforça a existência de uma margem de segurança preliminar, ainda que se mantenha a necessidade de investigação de efeitos (Dias *et al.*, 2017; Gondim, 2023).

Em *Senna petersiana*, ensaios de citotoxicidade e toxicidade revelam um perfil de segurança aceitável nas faixas de concentração em que se observa actividade antimicrobiana, mas apontam que compostos isolados podem ser mais tóxicos do que o extracto total, o que sustenta a opção metodológica de trabalhar, nesta etapa, com extractos e fracções bem caracterizadas em vez de um único princípio activo purificado (Imad Ed-Dahmani *et al.*, 2024; Gondim, 2023).

Considerando o quadro mais amplo da toxicologia de extratos vegetais ricos em compostos fenólicos, estes resultados alinham-se com o que tem sido descrito para outras espécies medicinais, nas quais a combinação de DL₅₀ elevadas, baixa citotoxicidade em *in vitro* e actividade biológica relevante justifica a continuidade dos estudos, desde que acompanhada de avaliações subcrônica e crônicas dirigidas a fígado, rim e outros órgãos (Chandimali *et al.*, 2025; Dias *et al.*, 2017).

5.10. Implicações para aplicações terapêuticas e formulações

A combinação de CIM baixas em fracções EtOAc e DCM, CC₅₀ reactivamente elevadas e sinergismo entre fracções sugere que formulações contendo associações DCM+EtOAc dessas

raízes podem ser promissoras para desenvolvimento de produtos fitoterápicos direccionados a infeções vaginais e urogenitais (Chandimali *et al.*, 2025; Imad Ed-Dahmani *et al.*, 2024).

Esses ensaios de sinergia realizados neste estudo indicam que a combinação de classes de metabólitos de diferentes polaridades melhora a eficácia sem necessariamente aumentar a citotoxicidade, o que é particularmente relevante para formulações tópicas (óvulos vaginais, géis, cremes), em que a tolerabilidade local é crítica (Gondim, 2023).

Elevado teor de fenólicos (ácido gálico, catequina, quercetina, ácido elágico) nas frações EtOAc sugere que estas formulações podem fornecer não apenas actividade antimicrobiana directa, mas também efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios complementares, em consonância com revisões que destacam o potencial de extractos ricos em polifenóis na modulação de *stress* oxidativo e inflamação (Chandimali *et al.*, 2025; Imad Ed-Dahmani *et al.*, 2024).

Em linha com a literatura sobre padronização e desenvolvimento de fitoterápicos, estes dados reforçam a pertinência de avançar para formulações tópicas baseadas em associações de fracções, desde que acompanhadas por estudos adicionais de estabilidade, liberação e segurança clínica (Gondim, 2023).

6. Conclusão

Neste ponto, sintetizam-se os resultados obtidos ao longo do estudo, realçando o estrito cumprimento dos objectivos definidos e a validação das hipóteses de investigação. Os dados experimentais permitiram caracterizar, de forma abrangente e integrada, o perfil fitoquímico, a capacidade antioxidante e a actividade biológica das três espécies estudadas perante microrganismos associados a infecções sexualmente transmissíveis.

Observou-se que as fracções de maior polaridade, em especial os extractos aquosos e de acetato de etilo, concentram os maiores teores de compostos bioactivos. Esta distribuição traduziu-se numa elevada capacidade de sequestro de radicais livres, numa forte inibição do crescimento de microrganismos clinicamente relevantes e numa citotoxicidade moderada em linhagem celular *Vero*, estabelecendo uma janela terapêutica promissora.

A prospecção fitoquímica preliminar evidenciou, de forma consistente, a presença de taninos, flavonóides, triterpenóides e esteróides nas fracções aquosas e de acetato de etilo das três espécies, registando-se a ausência de alcalóides e a detecção de saponinas apenas em *Senna petersiana* e *Colophospermum mopane*.

A convergência de taninos e flavonóides nos solventes polares, bem como a ocorrência de saponinas nestas *Fabaceae*, reforça a noção de que as preparações tradicionais sob a forma de decoto aquoso, amplamente utilizados pelas comunidades do distrito de Massingir, são farmacognosticamente adequados para extrair a fracção bioactiva destas raízes.

O estudo demonstrou que as três espécies apresentam uma actividade antioxidante mensurável, com evidente destaque para os extractos aquosos, que atingiram percentuais de inibição particularmente elevados (cerca de 84% em *Cassia abbreviata*), seguidos das fracções em acetato de etilo, enquanto as fracções obtidas com solventes apolares exibiram respostas substancialmente menores.

Esta distribuição acompanha o enriquecimento em compostos fenólicos e flavonóides nas fases polares e semi-polares, revelando-se uma estratégia eficaz para maximizar a recuperação de metabólitos capazes de neutralizar espécies reactivas de oxigénio. Estes achados reforçam o interesse destas raízes não apenas em contextos infecciosos, mas também como candidatas ao desenvolvimento de formulações dirigidas à mitigação do stress oxidativo em sistemas biológicos.

No que concerne à actividade antimicrobiana, as fracções em acetato de etilo destacaram-se como as mais potentes, apresentando valores de CIM na faixa aproximada de 50 a 80 µg/mL para todas as espécies vegetais e microrganismos avaliados, o que se enquadra nos critérios de "*elevada actividade*" para extractos vegetais.

Em contrapartida, as fracções apolares (*n*-hexano) e aquosas apresentaram valores de CIM mais elevados, sugerindo menor eficácia isolada contra os patógenos testados. Contudo, as combinações de fracções (DCM+EtOAc) induziram reduções de 30% a 55% nas CIMs, caracterizando um sinergismo farmacodinâmico promissor. Do ponto de vista translacional, estes resultados sugerem que abordagens fitoterápicas combinadas, inspiradas no uso tradicional de misturas de plantas, podem potenciar a acção antimicrobiana em ITS's , preservando, em simultâneo, a microbiota vaginal (*Lactobacillus* spp.).

Relativamente à segurança preliminar, os ensaios de MTT em células *Vero* mostraram que as fracções em acetato de etilo exibiram valores de CC₅₀ situados entre aproximadamente 350 e 420 µg/mL. Esta relação originou razões CC₅₀/CIM na ordem de 4 a 7 para a maioria dos microrganismos testados, um índice de selectividade compatível com o conceito de "*janela terapêutica promissora*" em triagens *in vitro*, indicando que é possível obter um efeito antimicrobiano robusto com toxicidade celular controlada. Em paralelo, as fracções *n*-hexano e aquosa apresentaram valores de CC₅₀ mais elevados, traduzindo uma citotoxicidade ainda mais baixa, embora acompanhada por uma menor potência antimicrobiana.

Em conjunto, estes achados corroboram solidamente a hipótese central da investigação, demonstrando que as raízes de *Cassia abbreviata*, *Colophospermum mopane* e *Senna petersiana* reúnem propriedades antioxidantes e antimicrobianas relevantes, aliadas a perfis de segurança compatíveis com modelos biológicos *in vitro*. Estes dados validam cientificamente o racional etnofarmacológico do uso destas plantas na medicina tradicional moçambicana e consolidam o seu potencial como fontes promissoras de protótipos fitofarmacêuticos.

Adicionalmente, os resultados apontam para a necessidade premente de estudos futuros, incluindo ensaios de toxicidade subcrônica, genotoxicidade e ensaios de eficácia *in vivo*, fundamentais para garantir a transição para formulações clínicas seguras e eficazes

7. Limitação e recomendações

Este ponto apresenta as limitações analíticas do presente estudo e estabelece as diretrizes científicas estritas para investigações futuras. A identificação destes aspetos é fundamental para contextualizar o alcance dos resultados *in vitro* obtidos e delinear os passos necessários para o aprofundamento do potencial bioactivo das raízes estudadas.

7.1.Limitações do estudo

- Restrição ao estado planctónico: ensaio limitou-se à avaliação de microrganismos na sua forma isolada (planctónica), não contemplando a formação de biofilmes, que desempenham um papel central na fisiopatologia das infecções.
- Modelo celular: citotoxicidade foi investigada exclusivamente na linhagem de células vero. embora forneça uma indicação inicial de segurança celular, este modelo não substitui ensaios em células específicas da mucosa genital humana, nem dispensa a realização futura de testes de toxicidade sistémica *in vivo*.
- Triagem fitoquímica qualitativa: embora a caracterização por LC-MS e HPLC-DAD tenha quantificado os compostos fenólicos chave na fracção em acetato de etilo, a identificação exata de todos os constituintes e as correlações directas de causa-efeito ainda carecem de um fracionamento integral guiado por bioensaios.

7.2.Recomendações

Considerando o carácter preliminar e *in vitro* desta pesquisa, recomenda-se que os estudos subsequentes priorizem as seguintes etapas científicas antes de qualquer proposta de aplicação biomédica:

- Ensaios em modelos de biofilme: avaliar a actividade antimicrobiana das fracções de acetato de etilo (EtOAc) e das combinações diclorometano/acetato de etilo (DCM+EtOAc) sobre biofilmes de *Gardnerella vaginalis* e *Candida albicans*, verificando se a eficácia se mantém em contextos de maior complexidade estrutural.
- Validação em modelos celulares da mucosa humana: conduzir testes de citotoxicidade, viabilidade e biomarcadores inflamatórios em células epiteliais vaginais humanas imortalizadas (como a linhagem VK2/E6E7), garantindo uma triagem de segurança local mais representativa da anatomia humana.

- Fracionamento guiado por bioensaio: realizar o isolamento e a purificação dirigida dos compostos presentes nas fracções mais activas (EtOAc e DCM), visando estabelecer de forma rigorosa as relações estrutura-actividade e os mecanismos moleculares de sinergia.
- Ensaio toxicológico avançado: expandir a avaliação de segurança *in vitro* através de testes de genotoxicidade e mutagenicidade, seguidos por ensaios de toxicidade aguda e subcrónica *in vivo* em modelos animais, indispensáveis para determinar as margens de segurança terapêutica.
- Modelos de infecção *in vivo*: investigar o potencial antimicrobiano e a selectividade das fracções em modelos animais de infecção urogenital experimental, monitorizando o impacto real sobre a carga patogénica, a integridade da mucosa e a preservação da microbiota comensal (*Lactobacillus* spp.).

Referências bibliográficas

- Adedoyin, B. A., Fagge, A. K., & Garba, D. (2024). Antimicrobial screening of the ethanol extract and alkaloid fraction from the root of *Acalypha hispida*. *Proceedings of the 1st ACS Africa Regional Conference on Green and Sustainable Chemistry*. [ACS Nigeria Chapter Proceedings](#).
- Aguiar, B. A., Silva, J. K. de O., Bezerra, J. L. dos S., Araújo, L. O., Carvalho, G. G., Rodrigues, A. de Q., & Paulini, F. (2021). Propriedades antioxidantes de metabólitos secundários de algas pardas: Uma revisão integrativa. In S. Almeida Júnior (Ed.), *Produtos naturais e suas aplicações: Da comunidade para o laboratório* (pp. 129-142). Editora Científica Digital. <https://doi.org/10.37885/210303827>
- Alfaia, D. P. S., & Almeida, S. S. M. S. (2016). Avaliação fitoquímica, análise citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas de *Annona muricata* L. (Annonaceae). *Biota Amazônia*, 6(1), 26-30. <https://doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v6n1p26-30>
- Alshehri, M. M., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sharifi-Rad, J., Tutuncu, S., Aydar, E. F., Topkaya, C., Mertdinc, Z., Ozcelik, B., Aital, M., Kumar, N. V. A., Lapava, N., Rajkovic, J., Ertani, A., Nicola, S., Semal, P., Painuli, S., González-Contreras, C., Martorell, M., & Cho, W. C. (2022). A review of recent studies on the antioxidant and anti-infectious properties of *Senna* plants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022 (1). <https://doi.org/10.1155/2022/6025900>
- Araújo, E. K. N., Ribeiro, E. C., De Jesus, R. D. S., Penha, M. S. C., Teixeira, R. D. C., Pereira, J. G. S., De Castro, H. T. D. J. O., & De Miranda, R. D. C. M. (2025). Bioprospecção de metabólitos secundários de *Streptomyces* spp. frente a cepa de *Klebsiella pneumoniae*. *Caderno Pedagógico*, 22(2), e13398. <https://doi.org/10.54033/cadpedv22n2-007>
- Assis, C. S. D. (2015). *Avaliação dos efeitos tóxicos in vitro e in vivo do extrato hidroetanólico dos frutos de Genipa americana L. (Rubiaceae) em camundongos Swiss* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas]. Repositório Institucional da UFRN.

- Atrooz, O. M., Sohemat, A. A., Alhmoud, J. F., Farah, H. S., & Al-Tarane, F. M. (2024). In vitro assessment of biological and cytotoxic activity of methanol seed extract of Jordanian *Mirabilis jalapa* L. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(2), 6087-6092. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i2.5>
- Auricchio, M. T., Bugno, A., Barros, S. B. M., & Bacchi, E. M. (2007). Atividades antimicrobiana e antioxidante e toxicidade de *Eugenia uniflora*. *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(1), 76-81. http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/1/LAJOP_26_1_1_13_M4UGP1G3U6.pdf
- Aydemir, E., Odabaş Köse, E., Özkaya Gül, S., Korkut, A., Kilit, A. C., Celep, M. E., Yavuz, M., Göktürk, R. S., & Sarikurkcu, C. (2024). Phytochemical and biological investigations of crude extracts of *Astragalus pisidicus*. *Pharmaceuticals*, 18(1), 10. <https://doi.org/10.3390/ph18010010>
- Ayoka, T. O., Ezema, B. O., Eze, C. N., & Nnadi, C. O. (2022). Antioxidants for the prevention and treatment of non-communicable diseases. *Journal of Exploratory Research in Pharmacology*, 7(3), 170-189. <https://doi.org/10.14218/JERP.2022.00028>
- Bandeira, P. N., Pessoa, O. D. L., Trevisan, M. T. S., & Lemos, T. L. G. (2002). Metabólitos secundários de *Protium heptaphyllum* March. *Química Nova*, 25(6B), 1078-1080. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000700006>
- Bashige, C. V., Alombong, A. G., Kamimba, M. A., Bakari, A. S., & Okusa, N. P. (2020). Ethnobotanical study of medicinal plants used in the treatment of sexual dysfunctions in traditional medicine in Kampemba-Lubumbashi, DR Congo. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 7(3), 16-32. <https://doi.org/10.30574/jarr.2020.7.3.0328>
- Belitibo, D. B., Meressa, A., Negassa, T., Abebe, A., Degu, S., Endale, M., Assamo, F. T., Ayana, T. A., Gurmessa, G. T., & Abdissa, N. (2025). In vitro antimicrobial and cytotoxic evaluation of leaf, root, and stem extracts of *Solanum dasyphyllum* and root and stem extracts of *Dovyalis abyssinica*. *Frontiers in Pharmacology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1529854>

- Bezerra, G. C. D. (2009). *Efeito de extratos brutos e frações de meliáceas (Rutales: Meliaceae) na sobrevivência e no comportamento de Bemisia tabaci (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro* [Tese de doutorado, Universidade de São Paulo]. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP. <https://doi.org/10.11606/T.11.2009.tde-18052009-162657>
- Borges, R., Resende, J., Moraes, A., Pereira, A., Garrett, R., Bauermeister, A., & Silva, A. (2021). Guia para processamento de dados de cromatografia acoplada a espectrometria de massas. *Química Nova*, 44(7), 883-895. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170838>
- Braca, A., Sinisgalli, C., De Leo, M., Muscatello, B., Cioni, P. L., Milella, L., Ostuni, A., Giani, S., & Sanogo, R. (2018). Phytochemical profile, antioxidant and antidiabetic activities of *Adansonia digitata* L. (baobab) from Mali, as a source of health-promoting compounds. *Molecules*, 23(12), 3104. <https://doi.org/10.3390/molecules23123104>
- Casanova, L. M., & Costa, S. S. (2017). Interações sinérgicas em produtos naturais: Potencial terapêutico e desafios. *Revista Virtual de Química*, 9(2), 575-595. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170034>
- Chale, Z. M., Monjane, J. A., & Boane, A. A. (2025). Potencial fitoquímico e atividade antimicrobiana de *Aloe vera*, *Aloe ferox* e *Cyphostemma barbosa* contra microrganismos associados a infecções sexualmente transmissíveis. *Revistaft*, 29(151), 58-59. <https://doi.org/10.69849/revistaft/cl10202510232058>
- Chandimali, N., Bak, S. G., Park, E. H., Lim, H.-J., Won, Y.-S., Kim, E.-K., Park, S.-I., & Lee, S. J. (2025). Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: A review. *Cell Death Discovery*, 11(1), 19. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02278-8>
- Chapaval, L., Neto, J. O., Estella, B. M., & Cavalcante, A. A. (2018). *Concentração inibitória mínima de solventes utilizados na diluição de extratos vegetais com potencial antimicrobiano sobre Staphylococcus aureus* (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento No. 41)1-17. Embrapa Pecuária Sudeste. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1098925>

- Chinsembu, K. C., Syakalima, M., & Semanya, S. S. (2019). Ethnomedicinal plants used by traditional healers in the management of HIV/AIDS opportunistic diseases in Lusaka, Zambia. *South African Journal of Botany*, 122, 369-384. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.09.007>
- Chiúre, C. A. M. (2019). *A importância das áreas de conservação para o desenvolvimento local sustentável através do turismo na zona tampão do Parque Nacional do Limpopo* [Dissertação de mestrado, Escola Superior de Educação de Coimbra]. Repositório Comum. <http://hdl.handle.net/10400.26/31117>
- Coronel, L. G. (2016). *Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de algas frente a bactérias patogênicas para aquicultura* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina]. Repositório Institucional da UFSC. ufsc.br
- Costa Rosa, F., Gonçalves Mota, A., Lima de Almeida, B., dos Santos de Souza, G., Carvalho Araújo, M., Franzoi Melo, M. H., Silva dos Santos Aliança, A., & Miranda de Mendonça, R. de C. (2023). Importância dos metabólitos secundários produzidos por actinobactérias. *Revista Ciências da Saúde CEUMA*, 1(1), 72-87. <https://doi.org/10.61695/rcs.v1i1.6>
- Cruz, C. K. S., Ribeiro, R. C. L., Oliveira, M. C. B. de, Brito, M. G. A., Rocha, G. M. de M., Silva, M. de A., & Oliveira, G. A. L. de. (2020). O uso de plantas medicinais no tratamento da obesidade: Revisão integrativa. *Research, Society and Development*, 9(9), e439997167. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7167>
- Dalmagro, M., Donadel, G., Moraes Pinc, M., Leuch Stecanella, A., Capello Tominc, G., Miranda, N., Zardeto, G., Alberton, O., Luiz Botelho Lourenço, E., & Hoscheid, J. (2022). Teste de sinergismo da atividade antimicrobiana dos extratos de *Eugenia uniflora* e própolis por método de checkerboard. *Revista Multidisciplinar em Saúde*, 3(2), 1-8. <https://doi.org/10.51161/remes/3385>
- Dias, G. T., Lima, C. M. B. L., Lira, A. B., Ramalho, J. A., Oliveira, K. M., & Diniz, M. F. F. M. (2017). Toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides* L. *Acta Brasiliensis*, 1(1), 8-13. <https://doi.org/10.22571/Actabra1120178>

- Erasto, P., & Majinda, R. (2012). Bioactive proanthocyanidins from the root bark of *Cassia abbreviata*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(5), 2170-2179. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v5i5.36>
- Fabris, R. D. C. (2018). *Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima de extratos hidroalcoólicos das folhas de Myracrodruon urundeuva All. e Qualea grandiflora Mart. sobre Streptococcus mutans e Lactobacillus casei* [Tese de doutorado, Universidade de São Paulo]. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP. <https://doi.org/10.11606/T.25.2018.tde-19022018-105838>
- Ferreira, C. D. O., Davoglio, R. S., Vianna, A. D. S. A., Silva, A. A. D., Rezende, R. E. A. D., & Davoglio, T. R. (2019a). Vulnerabilidade a infecções sexualmente transmissíveis em idosos usuários de um centro de testagem e aconselhamento. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, 23(3), 159-168. <https://doi.org/10.25110/arqsaude.v23i3.2019.6757>
- Gondim, R. S. D. (2023). *Padronização dos extratos de Stachytarpheta cayennensis (Rich) Vahl na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos* [Tese de doutorado, Universidade Federal do Maranhão]. Repositório Institucional da UFMA. <https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/5529>
- Imad Ed-Dahmani, I., Kara, M., Lfitat, A., Touijer, H., Bousraf, F. Z., Slighoua, M., Nouioura, G., El Atki, Y., El Fadili, M., Taleb, M., & Abdellaoui, A. (2024). Evaluation of polyphenolic content, antioxidant and antimicrobial activities, and toxicity study of *Ferula communis* L. fruits. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(2), 6098-6107. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i2.34>
- Jacomini, D. L. J., & Murayama, H. B. (2023). A importância do diagnóstico precoce no período neonatal para estreptococo do grupo B. *Revista de Medicina*, 102(Esp.), e204159. <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v102iespe-204159>
- Joaquim-Meque, E., Louzada, J., Mady, F. T. M., Souza, V. C. F. de, Liberato, M. L. R., & Fonseca, T. F. (2025). Wood anatomy properties and global climate change constraints of forest species from the natural forest of Mozambique. *Forests*, 16(6). <https://doi.org/10.3390/f16061018>

- Kabuka, R., Mudenda, S., Kampamba, M., Chulu, M., Chimombe, T., & Hikaambo, C. N. (2022a). Phytochemical analysis of leaf, stem bark, and root extracts of *Cassia abbreviata* grown in Zambia. *Pharmacology & Pharmacy*, 13(5), 119-128. <https://doi.org/10.4236/pp.2022.135009>
- Kayode, M. S., Shittu, A., Stanislaus, N. N., & Olalere, S. (2025). Phytochemical profiling, cytotoxicity, and antimicrobial activities of gum extracts from the stem bark of *Eucalyptus globulus*. *The Nigerian Journal of Pharmacy*, 59(1), 228-238. <https://doi.org/10.51412/psnnjp.2025.22>
- Lian, Y., Tang, X., Hu, G., Miao, C., Cui, Y., Zhangsun, D., Yu, Y., & Luo, S. (2024). Characterization and evaluation of cytotoxic and antimicrobial activities of cyclotides from *Viola japonica*. *Scientific Reports*, 14(1), 9733. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-60246-9>
- Lima, M. F. F., Araújo Silva, J. S., Silva, J. K., Moura, A. H. N., Lopes, R. L. F., Cordeiro, B. D. A., Cordeiro, R. P., & Melo, A. F. M. (2019). Avaliação toxicológica através do bioensaio com *Artemia salina* Leach de espécimes vegetais pertencentes à catinga. *Brazilian Journal of Health Review*, 2(6), 5950-5963. <https://doi.org/10.34119/bjhrv2n6-088>
- Lobo, A. L. E., Campos, G. G. N., Carvalho, L. F., Pinho, J. D., Freitas, A. C. B. de, Mesquita, L. S. S. de, Santos, L. O. de, & Alves, M. S. (2024). Identificação da atividade biológica de *Streptomyces* spp. contra *Staphylococcus aureus* resistentes. *Caderno Pedagógico*, 21(13), e11594. <https://doi.org/10.54033/cadpedv21n13-105>
- Lukosevicius, A. P. (2018). Executar é preciso, planejar não é preciso: Proposta de framework para projetos de pesquisa. *Administração: Ensino e Pesquisa*, 19(1), 32-65. <https://doi.org/10.13058/raep.2018.v19n1.765>
- Lyrio, M., Feu, A., Motta, L., Figueroa, L., Boasquevisque, L., Pinto, R., Rosa, A., Arantes, H., Bottocim, R., Fonseca, V., Santos, N., Lacerda, V., Castro, E., & Romão, W. (2021). Comparando o desempenho de dois analisadores de massas (FT-ICR MS & LTQ MS): Uma aula experimental sobre análise de compostos orgânicos. *Química Nova*, 44(9), 1198-1207. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170832>

- Maema, L. P., Potgieter, M. J., & Samie, A. (2020). Treatment of sexually transmitted infections by Bapedi traditional health practitioners in the Limpopo Province, South Africa. *South African Journal of Botany*, 131, 178-186. <https://doi.org/10.56042/ijtk.v19i3.41449>
- Matotoka, M. M., Mashabela, G. T., & Masoko, P. (2023). Phytochemical content, antibacterial activity, antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic effects of traditional medicinal plants against respiratory tract bacterial pathogens. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2023(1), 1243438. <https://doi.org/10.1155/2023/1243438>
- Mpofu, M. C., Makumbe, P., Du Toit, L., Chikanda, D., Madzimure, J., & Chakeredza, S. (2025). The contribution of indigenous multipurpose trees found in southern Africa to increased livestock production and climate change adaptation: A review. *Frontiers in Climate*, 7,1636284. <https://doi.org/10.3389/fclim.2025.1636284>
- Mudau, H. S., Mokoboki, H. K., Ravhuhali, K. E., & Mkhize, Z. (2022). Effect of soil type: Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals in some browse species leaves found in savannah biome of South Africa. *Molecules*, 27(5), 1462. <https://doi.org/10.3390/molecules27051462>
- Mudenda, S., Chale, R., Kabuka, R., & Chabalenge, B. (2024). Antibacterial activity of *Cassia abbreviata* Oliv. roots against *Neisseria gonorrhoeae*: A potential traditional medicine for the treatment of sexually transmitted infections. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 12(1), 121-126. <https://doi.org/10.22271/plants.2024.v12.i1b.1632>
- Nasif, S. H., Ali, M. R., & Alsakini, A. H. (2024). Characterization of uropathogenic *Escherichia coli* by phylogenetic grouping, integron, and antibiotic resistance properties. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(4), 6824-6829. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i4.41>
- Neves, A., Costa, S. P., Coutinho, M. G. S., Souza, E. B., Dos Santos, H. S., Silva, M. G. V., & Fontenelle, O. S. R. (2017). Chemical characterization and the antimicrobial potential of species of the genus *Senna* Mill. (*Fabaceae*). *Revista Virtual de Química*, 9(6), 2506-2538. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170149>

- Neves, R. (2017). *Caracterização das infecções sexualmente transmissíveis (IST) de origem bacteriana na ilha de São Vicente em Cabo Verde* [Dissertação de mestrado, Universidade Nova de Lisboa]. Repositório da Universidade Nova de Lisboa. <http://hdl.handle.net/10362/2284>
- Nwozo, O. S., Effiong, E. M., Aja, P. M., & Auchi, C. G. (2023). Antioxidant, phytochemical, and therapeutic properties of medicinal plants: A review. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 359-388. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2157425>
- Nyambo, K., Adu-Amankaah, F., Tapfuma, K. I., Baatjies, L., Julius, L., Smith, L., Ngxande, M., Govender, K., Mabasa, L., Traore, A., Masiphephethu, M. V., Niang, I. S., & Mavumengana, V. (2023). *In silico* and *in vitro* assessments of some *Fabaceae*, *Rhamnaceae*, *Apocynaceae*, and *Anacardiaceae* species against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and triple-negative breast cancer cells. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 219. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-04041-5>
- Nzila, C., Oluoch, N., Kiprop, A., Ramkat, R., & Kosgey, I. (Eds.). (2022). *Advances in phytochemistry, textile and renewable energy research for industrial growth*. Proceedings of the International Conference of Phytochemistry, Textile and Renewable Energy for Sustainable Development (ICPTRE 2020), August 12-14, Eldoret, Kenya (1a ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003221968>
- Ojo, S. K. S., Udeena, L. U., Olarinoye, O. O., Durodola, O. T., Ariyo, O. O., Herbert, S. J., & Laal, A. M. (2024). Antibacterial activity of *Bryophyllum pinnatum* and *Rauvolfia vomitoria* on neonatal group B *Streptococcus*. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(2), 6061-6066. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i2.39>
- Oliveira, A. P. S. de. (2023). *Estudo químico e farmacológico de plantas do nordeste dos gêneros Senna e Chamaecrista: desreplicação e ensaios in silico* [Tese de doutorado, Universidade Federal do Ceará]. Repositório Institucional da UFC. <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/73445>
- Ostrosky, E. A., Mizumoto, M. K., Lima, M. E. L., Kaneko, T. M., Nishikawa, S. O., & Freitas, B. R. (2008). Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista*

Brasileira de Farmacognosia, 18(2), 301-307. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026>

Ouryemchi, I., Ouryemchi, A., Taibi, M., Elbouzidi, A., Ouhssine, M., Jaber, H., Haida, S., Tarfaoui, K., Atfaoui, K., Chaabane, K., El Guerrouj, B., Bellaouchi, R., Asehraou, A., Addi, M., & Benzakour, A. (2024). GC-MS characterization, antioxidant, antimicrobial and insecticidal potential of Moroccan *Cuminum cyminum* L. essential oil. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(2), 5940-5946. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i2.8>

Paternina-Sierra, K., Montero-Castillo, P., Acevedo-Correa, D., Duran-Lengua, M., & Arroyo-Salgado, B. (2024). Phytochemical screening, antibacterial activity, and toxicity of *Calathea lutea* leaf extracts. *Preventive Nutrition and Food Science*, 29(4), 522-532. <https://doi.org/10.3746/pnf.2024.29.4.522>

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. UAB/NTE/UFSM. [ufsm.br https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf)

Quirino, K. D. S., Filho, P. H. F., & Lima, L. R. de. (2019). Utilização de plantas medicinais no tratamento de infecções vulvovaginais: Uma revisão bibliográfica. *Revista Cathedral*, 1(3), 85-97. [galoa.com.br https://doi.org/10.61622/0100-7254527202403](https://doi.org/10.61622/0100-7254527202403)

Ramos, R. de S., Ângelo, T., Mesquita, M. L. de, & Martins, P. M. (2023). Influência de diferentes tipos de extração aquosa em extratos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Brazilian Journal of Health Review*, 6(2), 7136-7148. <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n2-213>

Rodrigues, F. A., Pimenta, V. D. S. C., Braga, K. M. D. S., & Araújo, E. G. de. (2016). Obtenção de extratos de plantas do Cerrado. *Enciclopédia Biosfera*, 13(23), 870-887. https://doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2016_075

Rodrigues, H. J. C., Silva, H. F. M. de, Pereira, L. de S., Castro, G. de J. B., Silva, S. A. M., Araújo, E. A., Lopes, D. A., & Pinho, J. D. (2022). Prevalência de vulvovaginites em

- mulheres da zona rural. *Research, Society and Development*, 11(3), e2611326192. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i3.26192>
- Rosa, L. M. (2023). *Associação da N-acetilcisteína com antifúngicos contra Candida albicans* [Trabalho de conclusão de curso, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”]. Repositório Institucional UNESP. <http://hdl.handle.net/11449/243760>
- Rozatto, M. R. (2012). *Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de Arrabidaea brachypoda* [Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”]. Repositório Institucional UNESP. <https://repositorio.unesp.br/items/7a60df3d-9f72-42cf-8d70-82d22503feeb>
- Salgado, S. N. F., Quaresma, C. A. S., Diniz, M. C. D. S., Lameira, O. A., & Lameira, C. N. (2024). Análise fitoquímica qualitativa e avaliação da atividade biológica de *Libidibia ferrea* contra a espécie de fungo *Candida albicans*. *Journal of Media Critiques*, 10(26), e114. <https://doi.org/10.17349/jmcv10n26-033>
- Santana, A. C. D. A., Narciso, R., & Fernandes, A. B. (2025). Explorando as metodologias científicas: Tipos de pesquisa, abordagens e aplicações práticas. *Caderno Pedagógico*, 22(1), e13333. <https://doi.org/10.54033/cadpedv22n1-130>
- Sayed, M. A., El-Rahman, T. M. A. A., Abdelsalam, H. K., El-Souad, S. M. S. A., Shady, R. M., Amen, R. A., Zaki, M. A., Mohsen, M., Desouky, S., Saeed, S., Omar, S., & El-Bassuony, A. A. H. (2024). Biosynthesis of silver, copper, and their bi-metallic combination of nanocomposites by *Staphylococcus aureus*: Their antimicrobial, anticancer activity, and cytotoxicity effect. *Indian Journal of Microbiology*, 64(4), 1721-1737. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01229-2>
- Senigalia, R. L. C., Ferreira, A. L. de S., Kratz, D., Coelho, M. D. F. B., Santos, A. S. R. M. d., & Castro, D. A. (2020). Toxicidade de extratos vegetais de plantas do cerrado de uso medicinal. *Brazilian Journal of Development*, 6(8), 55308–55317. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-088>
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam,

- M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. E., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., ... Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in Physiology*, 11, 694. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>
- Silva, F. (2021). *Estudo químico e biológico das flores de Cassia bakeriana Craib*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. <https://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.356>
- Silva, F. C., Ribeiro, A. B., & Ribeiro, P. R. S. (2017). Avaliação da qualidade de plantas medicinais comercializadas no município de Imperatriz-MA. *Scientia Plena*, 13(2), 024501. <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2017.024501>
- Silva, M. C. D., Colino, P. D. S., & Pontes Neto, J. G. (2021). Interações medicamentosas em fitoterápicos. *Research, Society and Development*, 10(15), e224101522892. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.22892>
- Silva, R. S. (2017). Perfil químico e potencial antimicrobiano de plantas medicinais comercializadas no município de Recife/PE com indicação popular para tratamento de infecções [Dissertação de mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco]. TEDE UFRPE. <http://ufrpe.br>
- Soares, A. M. (2022). *O uso indiscriminado de antibióticos e sua relação com a resistência bacteriana*. In Tópicos especiais em ciências da saúde: Teoria, métodos e práticas 5 (1a ed., p. 12). AYA Editora. <https://doi.org/10.47573/aya.5379.2.78>
- Sultan, I. N., Tareen, M., Tareen, A. K., & Khan, M. W. (2022). Phytochemical effectiveness of some ethnomedicinal plants of Balochistan, Pakistan against urogenital infections. *International Journal of Agricultural Technology*, 18(5), 22712282. [http://www.ijat-aatsea.com/pdf/v18_n5_2022_September/30_IJAT_18\(5\)_2022_Sultan%20I%20N.pdf](http://www.ijat-aatsea.com/pdf/v18_n5_2022_September/30_IJAT_18(5)_2022_Sultan%20I%20N.pdf)
- Sun, Z., & Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic potential of phenolic compounds in medicinal plants: Natural health products for human health. *Molecules*, 28(4), 1845. <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>

- Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021). *Candida albicans*: The virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of Fungi*, 7(2), 79. <https://doi.org/10.3390/jof7020079>
- Tolentino Júnior, D. S., Santos, S. N., Marques, A. B. D. S., Farias, K. P., Souza, A. B., Lima, G. N., & Rodrigues, J. L. (2021). Revisão sobre cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas aplicada à análise toxicológica de alimentos. *Research, Society and Development*, 10(5), e47910515419. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.15419>
- Yang, X., He, Z., Zheng, Y., Wang, N., Mulinge, M., Schmit, J.-C., Steinmetz, A., & Seguin-Devaux, C. (2021). Chemical constituents of *Cassia abbreviata* and their anti-HIV-1 activity. *Molecules*, 26(9), 2455. <https://doi.org/10.3390/molecules26092455>
- Zocolo, G. J., Silva, M. F. S., Silva, F. A. N., Canuto, K. M., & Brito, E. S. de. (2019). *Fracionamento de extratos vegetais em escala preparativa como ferramenta para formação de biblioteca de produtos naturais* (Comunicado Técnico N.º 256). Embrapa Agroindústria Tropical. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109538>

Anexo

Anexo I: Declaração de autorização de coautor para utilização de artigo em dissertação

Declaração de Autorização de Coautor Para Utilização de Artigo em Dissertação

Eu, Alberto Arnaldo Boane, Doutor (PhD) em Energia e Meio Ambiente com Especialidade em Tecnologias Sustentáveis para Geração de Energia, Docente Investigador da Universidade Pedagógica de Maputo, Faculdade de Ciências Naturais e Matemática, Departamento de Estudos em Tecnologias Ambientais, na qualidade de coautor do artigo científico intitulado “Potencial Fitoquímico e Atividade Antimicrobiana de *Aloe vera*, *Aloe ferox* e *Cyphostemma barbosae* contra microrganismos associados a Infecções Sexualmente Transmissíveis”, venho, por meio desta, declarar para os devidos fins que:

Estou ciente de que o referido artigo foi desenvolvido em coautoria com o autor principal Zito Manuel Chale, Mestrando em Química e Processamento de Recursos Locais na Universidade Eduardo Mondlane.

Autorizo de forma plena e irrevogável a utilização integral do referido artigo científico na dissertação de pós-graduação, incluindo a inserção do artigo como capítulo, seção ou anexo da dissertação, reprodução de tabelas, figuras, gráficos e demais elementos do artigo, depósito, divulgação e disponibilização pública da dissertação em formato impresso e/ou digital, em repositórios institucionais, bibliotecas universitárias e outras bases académicas sem fins comerciais.

Declaro que assumo a co-responsabilidade ética e científica pelo conteúdo do trabalho, nos limites da minha participação na pesquisa e na redação do manuscrito. Declaro, ainda, que essa autorização não implica qualquer transferência de direitos autorais, permanecendo válidas as condições editoriais estabelecidas, tratando-se de uso exclusivamente académico e sem fins lucrativos.

Maputo, Março de 2026

Alberto Arnaldo Boane



Doutor (PhD), em Energia e Meio Ambiente

Anexo II-Actividades laboratoriais

Secagem das partes vegetais no Laboratório de Produtos naturais da Universidade Eduardo Mondlane



Trituração das amostras vegetais

Resultados de trituração das amostras vegetais



Pesagem do material vegetal

Processo de extracção por *Soxhlet*

Vaporização do solvente



Processo de filtração do extracto vegetal

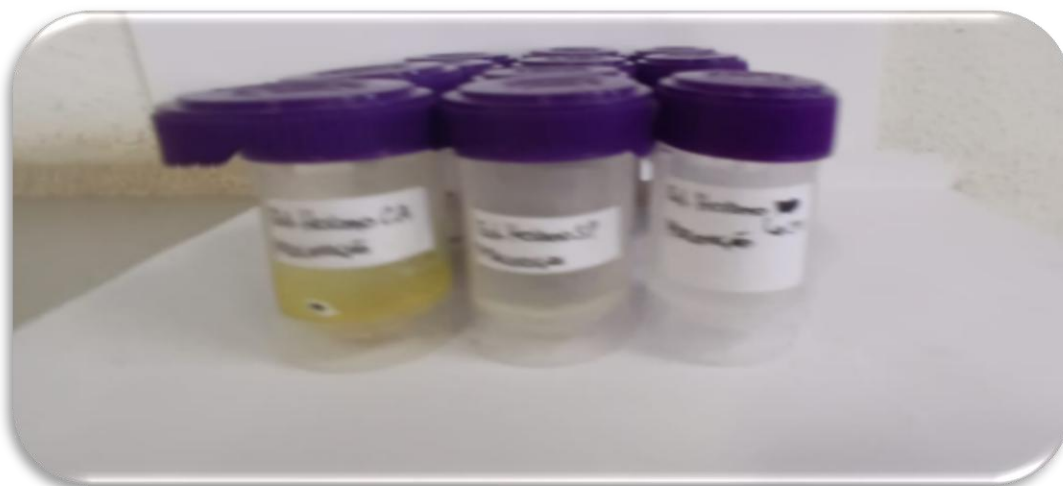
Fracionamento dos extractos



Resultado do processo de partição dos extractos

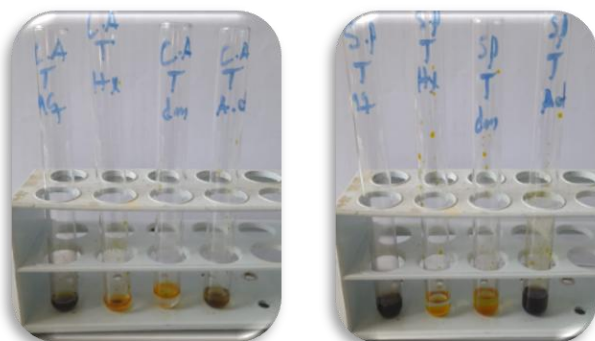


extractos após passar pelo processo de evaporação do solvente



Anexo III-Prospecção dos princípios activos/triagem fitoquímica: exemplo

Identificação de taninos



Identificação de Alcalóides

