



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM QUÍMICA E PROCESSAMENTO DE
RECURSOS LOCAIS

Análise fitoquímica e avaliação da actividade antioxidante e antimicrobiana dos
extractos de *Solanum linnaeanum*



Autor: Rogério Sebastião Chivodze

Maputo, Setembro de 2022



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM QUÍMICA E PROCESSAMENTO DE
RECURSOS LOCAIS

Análise fitoquímica e avaliação da actividade antioxidante e antimicrobiana dos
extractos de *Solanum linnaeanum*



Autor: Rogério Sebastião Chivodze

Supervisor: Prof. Doutor François Munyemana

Maputo, Setembro de 2022

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Rogério Sebastião Chivodze, declaro por minha honra que esta dissertação é da minha autoria, nunca foi apresentada na sua essência para quaisquer fins e constitui fruto da minha investigação, elaborada com uso de recursos aos quais faço a devida indicação ao longo do texto e no capítulo de referências bibliográficas, todas as fontes por mim consultadas.

Esta dissertação é apresentada em cumprimento parcial dos requisitos para a obtenção do grau de Mestrado em Química e Processamento de Recursos Locais da Faculdade de Ciências da Universidade Eduardo Mondlane.

Maputo, Setembro de 2022

Rogério Sebastião Chivodze

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, amparo nos momentos difíceis e por me proporcionar à transformação de um sonho em realidade.

A minha família em geral e em especial a minha amada esposa Meldina Siteo, os meus queridos filhos Khensany e Chelsea, por estarem sempre comigo mesmo distante fisicamente, por todo o incentivo, conforto nos momentos difíceis, por serem fundamentais na minha vida e pelo amor incondicional.

Ao Mestre Hercílio Zimila, pela oportunidade oferecida de fazer parte do projecto "Avaliação da bioactividade e toxicidade de plantas medicinais utilizadas no distrito de Matuitine, Província de Maputo", por tornar possível a realização de um sonho, pela confiança e amizade.

Ao Prof. Doutor François Munyemana, pelo acompanhamento ao longo do trabalho, estímulo, confiança depositada, assim como pelas contínuas discussões frutuosas, o meu profundo reconhecimento.

A Mestre Atifa Sulemane, meus sinceros agradecimentos por este período em que trabalhamos juntos e pelo apoio incondicional prestado nas experiências feitas.

A Mestre Saquina Cassamo Rugunate, Lic. Isabel Magaia e a Mestre Vanina Saete pelo acompanhamento técnico, ensinamentos, tempo disponibilizado, carinho e colaboração para a realização deste trabalho.

Ao colega Salustiano Zavala pela amizade, companheirismo e auxílio durante a realização do trabalho.

Aos professores do programa de Mestrado em Química e Processamento de Recursos Locais, pelo apoio, ensino e incentivo.

Ao Mestre Américo Pedro Manguê, Chefe do Departamento de Gestão de Documentos do AHM, pela compreensão mostrada durante a minha ausência nas actividades laborais para cumprir com as obrigações académicas, bem-haja.

Ao Mestre Gabriel Albano, Director da Estação de Biologia Marítima da Inhaca (EBMI), pela excelente contribuição para o engrandecimento deste estudo.

Ao Sr. Francisco Mapanga, pelo apoio prestado na identificação e localização do material vegetal em estudo.

Ao Sr. Alberto Nhaca, pelo transporte, auxílio, carinho e colaboração durante o processo de colecta das amostras.

Ao Sr. Sérgio Mapanga, Técnico Herbário, pelo interesse e boa vontade mostrada na herborização da espécie em estudo, muito obrigado.

A Universidade Eduardo Mondlane (UEM), por me proporcionar a realização de um curso de mestrado com qualidade, contribuindo para a minha formação.

Ao Instituto Superior de Ciências e Tecnologia de Moçambique (ISCTEM), pela disponibilização do laboratório de microbiologia para avaliação da actividade antimicrobiana.

Ao Arquivo Histórico de Moçambique (AHM), pela oportunidade concedida para a continuidade com os estudos.

Ao Fundo Nacional de Investigação (FNI), pelo financiamento do projecto "Avaliação da bioactividade e toxicidade de plantas medicinais utilizadas no distrito de Matuitine, província de Maputo" que permitiu a colecta de amostras, aquisição de reagentes e diversos materiais necessários para a realização desta investigação.

A ASDI, pela bolsa de mestrado concedida.

E a todos que directa ou indirectamente contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade que, porventura, tenha esquecido de citar.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
ÍNDICE DE ANEXOS	XI
ABSTRACT	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS, SÍMBOLOS E SIGLAS	XIV
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJECTIVOS	3
2.1. Objectivo geral	3
2.2. Objectivos específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Família Solanaceae.....	4
3.2. Género <i>Solanum</i> L.....	4
3.3. Descrição botânica de <i>Solanum linnaeanum</i>	4
3.4. Propriedades farmacológicas do género <i>Solanum</i> L.	5
3.5. Extracção de compostos bioactivos das espécies vegetais.....	6
3.6. Triagem fitoquímica preliminar	7
3.6.1. Alcalóides	8
3.6.2. Flavonóides	9
3.6.3. Taninos.....	10
3.6.4. Cumarinas	10
3.6.5. Triterpenóides	11
3.6.6. Saponinas	12
3.7. Actividade antioxidante.....	13
3.8. Actividade antimicrobiana	13
4. MATERIAIS E MÉTODOS	15

4.1.	Desenho da pesquisa	15
4.2.	Colecta e preparação do material botânico	15
4.3.	Solventes e reagentes químicos.....	16
4.4.	Obtenção de extractos	16
4.5.	Triagem fitoquímica preliminar	18
4.5.1.	Teste para alcalóides	18
4.5.2.	Teste para compostos fenólicos	19
4.5.3.	Teste para esteróides	19
4.5.4.	Teste para cumarinas.....	19
4.5.5.	Teste para antraquinonas.....	19
4.5.6.	Teste para glucósidos cardíacos.....	20
4.5.7.	Teste para saponinas	20
4.5.8.	Análise fitoquímica por cromatografia de camada fina.....	20
4.6.	Análise fitoquímica quantitativa	21
4.6.1.	Determinação de fenóis totais.....	21
4.6.2.	Determinação de flavonóides totais	22
4.6.3.	Determinação de taninos condensados: cianidinas equivalentes	23
4.7.	Determinação da actividade antioxidante	23
4.7.1.	Redução do radical livre DPPH	23
4.7.2.	Redução do complexo de fosfomolibdénio.....	24
4.7.3.	Poder de redução de ferro – FRAP	24
4.8.	Determinação da actividade antimicrobiana	25
4.9.	Análise estatística.....	26
5.	RESULTADOS	27
5.1.	Fitoquímica qualitativa.....	27
5.1.1.	Testes fitoquímicos qualitativos preliminares	27
5.1.2.	Análise por cromatografia de camada fina	28

5.2.	Fitoquímica quantitativa de compostos fenólicos	30
5.3.	Resultados da actividade antioxidante dos extractos e fracções de <i>S. linnaeanum</i> ...	31
5.3.1.	Correlação entre a actividade antioxidante e os compostos fenólicos	32
5.4.	Resultados da avaliação da actividade antimicrobiana de <i>S. linnaeanum</i>	33
6.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	35
6.1.	Análise fitoquímica	35
6.2.	Análise fitoquímica quantitativa	36
6.2.1.	Flavonóides	37
6.2.2.	Fenóis totais	37
6.2.3.	Taninos condensados	38
6.3.	Correlação de Pearson	39
6.4.	Actividade antioxidante.....	40
6.4.1.	DPPH	40
6.4.2.	Fosfomolibdénio	42
6.4.3.	FRAP.....	43
6.5.	Actividade antimicrobiana dos extractos brutos hidroetanólicos e fracções de acetato de etilo de <i>S. linnaeanum</i>	44
7.	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	47
7.1.	Conclusões	47
7.2.	Recomendações.....	48
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
9.	ANEXOS.....	60

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Eluentes, reagentes de pulverização e controles positivos utilizados na análise por TLC da casca da raiz, casca do caule e folha de <i>S. linnaeanum</i>	21
Tabela 2. Resultados da triagem fitoquímica qualitativa de <i>S. linnaeanum</i>	27
Tabela 3. Rfs da análise cromatográfica dos extractos de <i>S. linnaeanum</i>	29
Tabela 4. Resultados do teor de fenóis totais, flavonóides e taninos condensados da casca da raiz, casca do caule e folhas de <i>S. linnaeanum</i>	30
Tabela 5. Resultados da actividade antioxidante pelo método de DPPH, Fosfomolibdénio e FRAP.....	31
Tabela 6. Valores do coeficiente de correlação entre a actividade antioxidante e o teor de fenóis totais e flavonóides totais de <i>S. linnaeanum</i>	32
Tabela 7. Resultados dos testes da actividade antibacteriana e antifúngica dos extractos e fracções de <i>S. linnaeanum</i> pelo método de difusão em disco na concentração de 500 mgmL ⁻¹	33
Tabela 8. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extractos brutos hidroetanólicos e das fracções de acetato de etilo das folhas, cascas de caule e cascas da raiz de <i>S. linnaeanum</i>	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ilustração de <i>S. linnaeanum</i> . Foto tirada na Ilha da Inhaca, Fevereiro, 2020	5
Figura 2: Ilustração dos glicoalcalóides solasonina (a) e solamargina (b) isolados do extracto metanólico dos frutos de <i>S. linnaeanum</i>	9
Figura 3: Ilustração estrutural de Kaempferol-3- <i>O</i> - β -D-glicopiranosídeo (astragalina), identificado nas espécies do género <i>Solanum</i>	10
Figura 4: Ilustração estrutural da escopoletina (7-hidroxi-6-metoxicromen-2-ona), isolada das espécies do género <i>Solanum</i>	11
Figura 5: Ilustração estrutural do triterpenóide glicirrizina.....	12
Figura 6: Ilustração estrutural da diosgenina isolada nas espécies do género <i>Solanum</i>	13
Figura 7: Fluxograma mostrando o esquema seguido para análise fitoquímica e avaliação da actividade antioxidante e antimicrobiana dos extractos e fracções de <i>S. linnaeanum</i>	15
Figura 8: a) – EBMI, local onde foi realizada a herborização da espécie; b), c) e d) – preparação e secagem das amostras de casca de raiz, folhas e casca de caule, respectivamente; e) – Conservação das amostras em pó até a data do processo extractivo	16
Figura 9: Fluxograma de obtenção de extractos e fracções por maceração e partição líquido-líquido nas cascas de raiz, caule e folhas de <i>S. linnaeanum</i>	17
Figura 10: a) e b) - Ilustração dos processos de extracção líquido-líquido e de concentração dos extractos no vaporizador rotativo, respectivamente; c) – Extracto seco	18
Figura 11: Ilustração das cromatoplasmas de (a) flavonóides da casca de raiz; (b) triterpenóides; (c) esteróides; (d) taninos das cascas de caule e (e) taninos das folhas.	29
Figura 12: Ilustração de algumas placas resultantes do teste da actividade antimicrobiana da fracção de AE das cascas de raiz e caule de <i>S. linnaeanum</i>	34
Figura 13: Ião complexo flavonóide-Al(III), em solução metanólica de cloreto de alumínio	37
Figura 14: Ilustração da reacção dos iões complexos de Mo	38
Figura 15: Reacção de redução de DPPH ^o a DPPH-H.....	41
Figura 16: Reacção química que descreve a forma ferrosa (Fe ⁺²) a partir da redução de Fe ⁺³ (forma férrica) presente no complexo com TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina).....	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Correlação entre fenóis totais, flavonóides totais e actividade antioxidante	60
Anexo B. Análise fitoquímica quantitativa	72
Anexo C. Actividade antioxidante	82
Anexo D. Actividade antimicrobiana	107

RESUMO

A *Solanum linnaeanum* pertence à família Solanaceae e é usada na medicina tradicional para o tratamento de diversas enfermidades, incluindo doenças inflamatórias, mas as investigações científicas visando determinar o seu potencial terapêutico são escassas. O presente trabalho teve como objectivo avaliar o perfil fitoquímico, a actividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* do extracto hidroetanólico e das respectivas fracções de clorofórmio, acetato de etilo, n-butanol e do resíduo aquoso das folhas, cascas de caule e da raiz de *S. linnaeanum*.

As análises fitoquímicas qualitativa e quantitativa foram realizadas usando métodos padrão, enquanto a actividade antioxidante foi estimada usando ensaios de DPPH, Fosfomolibdénio e Poder Antioxidante de Redução de Ferro (FRAP). A actividade antimicrobiana foi determinada pelo método de disco-difusão em ágar contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

A análise fitoquímica qualitativa revelou a presença de taninos condensados, cumarinas, flavonóides e fenóis em todos os extractos. A fracção de acetato de etilo das folhas apresentou os maiores teores de fenóis totais ($49,527 \pm 0,178 \text{ mgEAGg}^{-1}$), flavonóides totais ($28,743 \pm 0,145 \text{ mgEQg}^{-1}$) e taninos condensados ($12,133 \pm 0,036 \text{ mgECyag}^{-1}$). A fracção de acetato de etilo das folhas também demonstrou o maior poder sequestrante do radical DPPH ($\text{IC}_{50} = 347,533 \pm 4,219 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), maior poder de redução do complexo fosfomolibdénio ($35,091 \pm 0,150\%$) e maior poder antioxidante de redução de ferro ($322,070 \pm 3,375 \text{ } \mu\text{MFe}^{2+}\text{g}^{-1}$). Os extractos e fracções de *S. linnaeanum* não apresentaram actividade antimicrobiana significativa contra as cepas microbianas estudadas.

Os resultados contribuíram para revelar algumas características fitoquímicas desta espécie, e sugerem que *S. linnaeanum* é uma planta promissora que merece mais estudos para sua exploração como uma nova fonte de compostos com actividade antioxidante.

Palavras-chave: *Solanum linnaeanum*, fitoquímica, fenólico, antioxidante, antimicrobiana.

ABSTRACT

Solanum linnaeanum belongs to the Solanaceae family and is used in traditional medicine for the treatment of various ailments, including inflammatory diseases, but scientific investigations aiming to determine its therapeutic potential are scarce. The present study aimed to evaluate the phytochemical profile and assess the *in vitro* antioxidant and antimicrobial activity of the crude hydroethanolic extract and the respective chloroform, ethyl acetate, n-butanol and residual aqueous fractions of leaves, stem bark, and root bark of *S. linnaeanum*.

Qualitative and quantitative phytochemical analyses were performed using standard methods, whereas the antioxidant activity was estimated using DPPH, Phosphomolybdenum, and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assays. Antimicrobial activity was determined by the agar disk diffusion method against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, and *Candida albicans*.

Qualitative phytochemical analysis revealed the presence of condensed tannins, coumarins, flavonoids, and phenols in all extracts. The ethyl acetate fraction of the leaves showed the highest contents of total phenols ($49.527 \pm 0.178 \text{ mgGAEg}^{-1}$), total flavonoids ($28.743 \pm 0.145 \text{ mgQEG}^{-1}$), and condensed tannins ($12.133 \pm 0.036 \text{ mgCyaEG}^{-1}$). The ethyl acetate fraction of the leaves demonstrated also the highest DPPH radical scavenging power ($\text{IC}_{50} = 347.533 \pm 4.219 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), highest reduction of the phosphomolybdenum complex ($35.091 \pm 0.150\%$) and the highest ferric reducing antioxidant power ($322.070 \pm 3.375 \text{ } \mu\text{MFe}^{2+} \text{ g}^{-1}$). *S. linnaeanum* extracts and fractions did not show significant antimicrobial activity against the studied microbial strains.

The results contributed to reveal some phytochemical characteristics of this species, and suggest that *S. linnaeanum* is a promising plant that deserves further studies for its exploration as a new source of compounds with antioxidant activity.

Key words: *Solanum linnaeanum*, phytochemistry, phenolic, antioxidant, antimicrobial.

LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS, SÍMBOLOS E SIGLAS

CIM – Concentração Inibitória Mínima

DMSO – Dimetilsulfóxido

DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

EAG – Equivalente de Ácido Gálico

FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*

OMS – Organização Mundial da Saúde

UV-Vis – Ultra Violeta Visível

EQ – Equivalente de Quercetina

EC₅₀ – Equivalente de cianidina-3-glucósido

IC₅₀ – Coeficiente de Inibição a 50%

A.A.R – Actividade Antioxidante Relativa

TPTZ – 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina

Abs. – Absorvância

Conc. – Concentração

DP – Desvio Padrão

Ac. – Ácido

EBMI – Estação de Biologia Marítima de Inhaca

TLC – *Thin-Layer Chromatography*

BHT – Butilhidroxitolueno

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas com fins medicinais para o tratamento, cura e prevenção de doenças está entre as práticas medicinais mais antigas da história da humanidade. A produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de inúmeras patologias começou com o uso de plantas medicinais (Pinto *et al.*, 2006). A medicina tradicional continua a ser o sistema de saúde mais acessível, particularmente nas áreas rurais onde a cobertura dos sistemas nacionais de saúde é escassa, deficiente ou inexistente. Actualmente, 80% da população mundial depende de fitoterápicos para cuidar da saúde e combater muitas doenças (Maridass & De Brito, 2008).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) também recomendou a avaliação da eficácia das plantas contra doenças humanas e o desenvolvimento de medicamentos modernos e seguros (Inamdar *et al.*, 2008). Em Moçambique, as plantas medicinais são uma ferramenta valiosa da medicina tradicional, sendo amplamente utilizadas nas zonas rurais como a principal fonte de medicamentos para os cuidados de saúde primários (Senkoro *et al.*, 2012).

A família Solanaceae é um dos maiores grupos entre as plantas vasculares, com aproximadamente 2400 espécies e 98 géneros. Várias espécies desta família têm grande importância económica, agrícola e farmacêutica (Zadra *et al.*, 2012).

O género *Solanum* L. é o maior género da família Solanaceae, com cerca de 1500 espécies. O grupo compreende uma ampla gama de espécies de arbustos perenes ou trepadeiras (Zadra *et al.*, 2012; Kaunda & Zhang, 2019).

Nos últimos anos, vários trabalhos foram publicados sobre os usos da etnomedicina, fitoquímica e propriedades farmacológicas do género *Solanum* (Zadra *et al.*, 2012; Kaunda & Zhang, 2019; Sbhatu & Abraha, 2020; Mahomoodally & Ramcharun, 2015; Kaunda & Zhang, 2020). Uma variedade de constituintes químicos foi isolada de espécies de *Solanum*, dependendo de sua distribuição geográfica e uso tradicional. Os constituintes químicos isolados incluem saponinas esteroidais, alcalóides esteroidais, glicosídeos pregnanos, terpenos, flavonóides, lignanas, esteróis, compostos fenólicos, cumarinas e outros compostos. Suas actividades farmacológicas incluem propriedades anticancerígenas, antioxidantes, antidepressivas, anti-hipertensivas, anti-inflamatórias, hipolipemiantes, hipoglicemiantes,

hepatoprotetoras e antidiabéticas (Kaunda & Zhang, 2019; Kaunda & Zhang, 2020; Elizalde-Romero *et al.*, 2021).

Uma das características mais importantes do género *Solanum* é o alto acúmulo de alcalóides e flavonóides, que contribuem para uma ampla gama de efeitos biológicos, incluindo anestésico, psicoestimulante, antimicrobiano e antioxidante (Zadra *et al.*, 2012; Kaunda & Zhang, 2019; Sbhata & Abraha, 2020; Kaunda & Zhang, 2020).

A *S. linnaeanum* também conhecida como “Ntuma grande” na região sul de Moçambique, está entre os membros mais presentes de *Solanum* L. na África Austral (África do Sul, Zimbabué e Moçambique), onde é amplamente utilizada pelas comunidades locais para o tratamento de várias doenças. Por exemplo, o decoto de raízes é usado pelos praticantes da medicina tradicional no tratamento da epilepsia. Além disso, as raízes, caules, folhas e frutos são utilizados no tratamento de doenças inflamatórias, oftalmológicas e estomatológicas. Nas Maurícias, os frutos de *S. linnaeanum* são tradicionalmente utilizados como alimento antidiabético, bem como para controlar os níveis de glicose no sangue (Mahomoodally & Ramcharun, 2015).

Estudos fitoquímicos e farmacológicos anteriores de *S. linnaeanum* ocorreram principalmente no fruto, onde relataram a presença de glicoalcalóides solanina, solamargina e solasonina e indicaram que esta espécie pode ser considerada uma planta medicinal promissora que merece ser mais explorada para o controle de diabetes e complicações relacionadas, como obesidade (Mahomoodally & Ramcharun, 2015; Gurbuz *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2003).

Em Moçambique, a maioria das plantas medicinais são utilizadas na medicina tradicional sem evidência científica da sua bioactividade ou biossegurança. A escassez de informações científicas na literatura sobre a análise fitoquímica e bioactividade de diferentes partes de *S. linnaeanum*, inspirou a realização do presente estudo para estabelecer o perfil fitoquímico e avaliar a actividade antioxidante e antimicrobiana dos extractos das folhas, cascas de caule e da raiz de *S. linnaeanum*.

2. OBJECTIVOS

2.1. Objectivo geral

Avaliar a composição fitoquímica e a actividade antioxidante e antimicrobiana dos extractos e fracções de *S. linnaeanum*.

2.2. Objectivos específicos

- a) Realizar a análise fitoquímica qualitativa preliminar dos extractos e fracções da casca de raiz, caule e folhas de *S. linnaeanum*;
- b) Determinar os fenóis totais, flavonóides totais e taninos totais dos extractos e fracções da casca de raiz, caule e folhas de *S. linnaeanum*;
- c) Determinar a actividade antioxidante *in vitro* dos extractos e fracções da casca de raiz, caule e folhas de *S. linnaeanum*, por diferentes métodos;
- d) Determinar a actividade antimicrobiana dos extractos e fracções da casca de raiz, caule e folhas de *S. linnaeanum*;
- e) Estabelecer uma relação entre as actividades biológicas dos extractos e a sua composição fitoquímica.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Família Solanaceae

A família Solanaceae compreende um dos maiores grupos dentre as plantas vasculares, com aproximadamente 2400 espécies e cerca de 98 gêneros (Zadra *et al.*, 2012). As espécies da família Solanaceae ocorrem em todas as regiões de clima temperado e tropical, mas a maior biodiversidade desta família é encontrada no hemisfério ocidental (Olmstead *et al.*, 2008).

Muitas espécies desta família possuem uma grande importância econômica, agrícola e farmacéutica, sendo que várias delas se destacam por seu caráter alimentício, como *Solanum tuberosum* L. (batata inglesa), *Solanum melongena* L. (beringela), *Solanum muricatum* Ait. (melão), *Lycopersicon esculentum* L. (tomate) (Zadra *et al.*, 2012; Kaunda & Zhang, 2019; Kaunda & Zhang, 2020).

3.2. Género *Solanum* L.

O género *Solanum* L. é considerado um dos maiores entre os Angiospermas e o mais representativo e maior da família Solanaceae, com cerca de 1500 espécies, foi descrito pela primeira vez por Lineu em 1753 (Kaunda & Zhang, 2020; Elizalde-Romero *et al.*, 2021).

O grupo destas espécies é usado na medicina popular, bem como em culturas alimentares. Inclui numerosas espécies de plantas perenes arbustivas ou trepadeiras distribuídas principalmente em regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África e Austrália (Kaunda & Zhang, 2020; Elizalde-Romero *et al.*, 2021).

3.3. Descrição botânica de *Solanum linnaeanum*

A *S. linnaeanum* é uma espécie subarbusta, erecta e espessa com cerca de 0,5 a 2 m de altura, pertence à família Solanaceae e ao género *Solanum* L, possui flores em forma de estrela geralmente roxas, mas por vezes podem ser bastante pálidas, as frutas são globulares, verdes com manchas pálidas ou de cor esbranquiçada quando jovens e contém numerosas sementes. As frutas ficam amarelas quando maduras (Figura 1) e acabam se tornando acastanhadas ou enegrecidas e enrugadas à medida que envelhecem (Vorontsova & Knapp, 2012).



Figura 1. Ilustração de *S. linnaeanum*. Foto tirada na Ilha da Inhaca, Fevereiro, 2020

3.4. Propriedades farmacológicas do género *Solanum* L.

Várias pesquisas tem mostrado que flavonóides, ácidos fenólicos, alcalóides, saponinas e outras moléculas podem ser encontradas nas espécies deste género e estão associadas ao combate de diversas doenças (Elizalde-Romero *et al.*, 2021).

De acordo com Agra e colaboradores (2007), o género *Solanum* L. se destaca pela quantidade das espécies utilizadas na medicina popular, a exemplo de *Solanum agrarium* Sendetn, como abortivo e inflamações prostáticas; *Solanum rhytidoandrum* Sendetn no tratamento de doenças hepáticas e *Solanum paniculatum* L. como diurético, contra doenças do fígado, anemia e tuberculose.

As plantas deste género destacam-se pela capacidade de biossintetizar esteróides a alcalóides, livres ou na forma de heterosídeos. Estes compostos, em geral são de interesse terapêutico, visto que apresentam diversas actividades, como citotóxica, anti-inflamatória e antiulcerogénica (Pinto *et al.*, 2011). O alcalóide solasodina, característico do género, é um importante precursor na síntese de anticoncepcionais e anti-inflamatórios (Silva *et al.*, 2003).

Este género caracteriza-se pela presença de glicoalcalóides esteroidais, que são de grande interesse do ponto de vista ecológico e de saúde humana. A maioria das plantas utiliza glicoalcalóides, pois a principal aglicona é a solasodina na forma de triglicosídeos solasonina (SN) e solamargina (SM) solúvel em água, que ocorre em aproximadamente 200 espécies de plantas de *Solanum*. Esses dois compostos possuem a mesma aglicona, solasodina, e diferem um do outro apenas na natureza das trioses envolvidas, a saber, solatriose para solasonina e chacotriose para solamargina (Sinani *et al.*, 2018).

A solamargina e a solasonina são economicamente benéficas porque suas estruturas químicas são muito semelhantes às hormonas esteroidais. Por isso, têm sido propostas para uso como importantes fontes na produção de medicamentos, como anticoncepcionais e anti-inflamatórios esteroidais. Investigações biológicas de solamargina e solasonina mostraram uma citotoxicidade significativa contra várias linhagens celulares de câncer humano e tumores de pele (Sinani *et al.*, 2018).

3.5. Extração de compostos bioactivos das espécies vegetais

Os extractos vegetais apresentam-se como misturas complexas de diferentes compostos com distintas propriedades físicas e químicas. A extração permite a separação dos mesmos ou de outros produtos naturais, em várias fracções de polaridades diferentes com classes diversificadas de compostos químicos, através de extracções (ou partições) sequenciais com solventes imiscíveis de polaridade crescente (Dai & Mumper, 2010).

De acordo com Dai & Mumper (2010), as extracções por solventes são os procedimentos mais comumente usados na preparação de extractos de materiais vegetais devido à sua facilidade de uso, eficiência e ampla aplicabilidade. É geralmente conhecido que o rendimento da extração química depende do tipo de solvente com polaridades variadas, tempo e temperatura de extração, razão amostra-solvente, bem como da composição química e características físicas das amostras.

Para Dai & Mumper (2010), os materiais vegetais podem conter compostos fenólicos que variam de simples (por exemplo, ácidos fenólicos, antocianinas) a substâncias altamente polimerizadas (por exemplo, taninos) em diferentes quantidades. Além disso, os compostos fenólicos também podem estar associados a outros componentes vegetais, como carboidratos e proteínas. Portanto, não existe um procedimento de extração universal adequado para a extração de todos os compostos fenólicos vegetais.

Dependendo do sistema de solvente usado durante a extração, uma mistura de compostos fenólicos solúveis no solvente será extraída de materiais vegetais. Também pode conter algumas substâncias não fenólicas, como açúcar, ácidos orgânicos e gorduras. Como resultado, etapas adicionais podem ser necessárias para remover esses componentes indesejados (Dai & Mumper, 2010).

Em diversos registos científicos da literatura consultada sobre as espécies do género *Solanum* L., verificou-se que os extractos hidroalcoólicos e etanólicos, que são extractos polares obtidos pelos métodos de maceração e extracção por soxhlet, foram os mais utilizados para a realização dos ensaios químicos de prospecção e de actividades biológicas.

De acordo com Gonçalves e colaboradores (2016), no estudo sobre a caracterização fitoquímica e actividade antimicrobiana de extractos de *Solanum subinerme* (Solanaceae), a diferença no potencial antimicrobiano dos extractos ocorre em função do método de extracção empregado.

O extracto etanólico de caule de *Solanum subinerme* obtido por soxhlet na concentração máxima de 510 mgmL⁻¹ não foi eficaz quanto à actividade antimicrobiana, enquanto o mesmo extracto desta espécie por maceração com 30 mgmL⁻¹ conseguiram resultados satisfatórios (média de halo inibitório de 14 mm). O extracto obtido por maceração das raízes *Solanum subinerme* nas concentrações de 50-100 mgmL⁻¹ apresentou halos de inibição que variaram de 9 a 12 mm, enquanto que o extracto obtido por decocção nesse mesmo intervalo de concentração não foi eficaz (Gonçalves *et al.*, 2016). Segundo Wiest e colaboradores (2009), há evidências de que o tipo de extracção influencia a eficácia antibacteriana das soluções.

3.6. Triagem fitoquímica preliminar

Segundo Trindade e colaboradores (2021), a realização das reacções de prospecção fitoquímica directamente no extracto bruto pode eventualmente mascarar os resultados. Portanto o fraccionamento do extracto e a realização dos testes com as fracções obtidas possibilitam reacções mais nítidas.

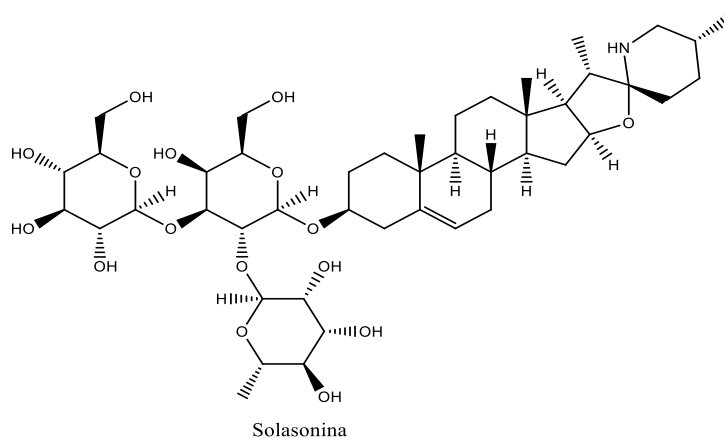
Dos resultados obtidos por Gonçalves e colaboradores (2016) para averiguação dos constituintes químicos presentes nos extractos etanólicos das raízes, caules, folhas e frutos de *Solanum subinerme* por meio da análise fitoquímica preliminar dos extractos, foi possível identificar classes de metabólitos secundários de interesse farmacológico, tais como alcalóides (presente em todos os extractos), flavonóides, taninos, cumarinas, saponinas, triterpenos, esteróides e glicosídeos cardiotónicos. Somente os derivados antracénicos livres não foram detectados pelos testes ensaiados.

Os glicosídeos, saponinas e triterpenos foram encontrados em todas as partes de *S. subinerme*. As classes de taninos não foram identificadas nas raízes. As cumarinas não foram identificadas nos extractos dos frutos, enquanto os flavonóides estavam presentes somente no caule e folhas. As folhas e frutos foram as partes da planta que apresentaram 87% dos metabólitos analisados com ausência somente dos derivados antracênicos livres (Gonçalves *et al.*, 2016).

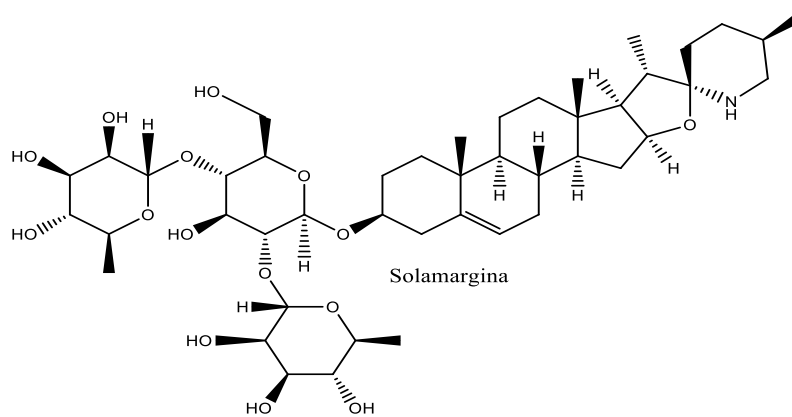
3.6.1. Alcalóides

As plantas geralmente produzem os alcalóides em formas glicosídicas que são chamadas de glicoalcalóides. Estes compostos são metabólitos interessantes uma vez que podem ter efeitos prejudiciais e benéficos à saúde humana. Promovem a diminuição do nível de colesterol, protegem contra a infecção por *Salmonella typhimurium*, têm actividade anticancerígena e aumentam os efeitos da vacina contra a malária, inactivam os vírus, incluindo *Herpes simplex*, *Herpes zoster* e *Herpes genitalis* (Friedman, 2006; Sauerbrei & Wutzeler, 2007).

A solasonina e a solamargina são consideradas os constituintes glicoalcalóides comuns das espécies de *Solanum* (Schwarz *et al.*, 2007). Segundo Gurbuz e colaboradores (2015) os frutos de *S. linnaeanum* são uma boa fonte de glicoalcalóides solamargina e solasonina (Figura 2) com propriedades medicinais.



(a)



(b)

Figura 2: Ilustração dos glicoalcalóides solasonina (a) e solamargina (b) isolados do extracto metanólico dos frutos de *S. linnaeanum*. Fonte: (Gurbuz *et al.*, 2015).

3.6.2. Flavonóides

Os diferentes tipos de flavonóides desempenham diversas funções nos vegetais, incluindo a defesa e pigmentação. Os flavonóides fazem parte dos compostos polifenólicos de maior interesse devido a suas diversas propriedades biológicas (Jash & Brahmachari, 2013).

Flavonas, flavonóis e seus *O*-heterosídeos são compostos que fazem parte de um grande grupo de flavonóides de origens biossintéticas muito próximas, e são muito encontrados em espécies do género *Solanum* (Pereira & Vega, 2016).

Dados da literatura indicam a presença de flavonóides em diferentes órgãos vegetais, tais como, frutos, folhas, flores, caules, raízes e sementes. Grande parte dos flavonóides isolados do género *Solanum* foram encontrados nas folhas e partes aéreas (Pereira & Vega, 2016).

Setenta e dois flavonóides já foram identificados no género *Solanum*, com quercetina e kaempferol como os flavonóides primários. Também foram obtidos vários flavonóides glicosilados, como por exemplo, afzelina, astragalina (Figura 3), kaempferol-3-*O*-[apiofuranosil-(1→2)]- α -ramnosídeo e - β -galactosídeo a partir de *Solanum cernuum* (Kaunda & Zhang, 2019).

Flavonóides do género *Solanum* exibem diversas actividades biológicas tais como, anticancerígeno, antidepressivo e características antivirais e hepatoprotetoras (Kaunda & Zhang, 2019).

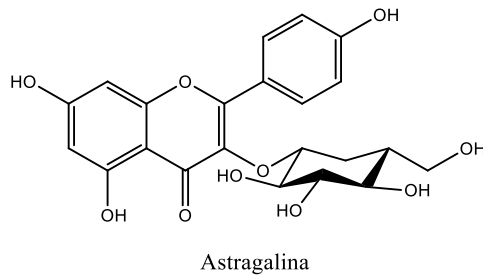


Figura 3: Ilustração estrutural de Kaempferol-3-O-β-D-glicopiranosídeo (astragalina), identificado nas espécies do género *Solanum*

3.6.3. Taninos

Os taninos pertencem a um grupo de compostos polifenólicos de alto peso molecular, provenientes do metabolismo secundário das plantas e actuam como um dos meios de defesa da planta contra fungos patogénicos, bactérias, vírus e contra ataques de insectos e herbívoros. São classificados em dois grupos, nomeadamente taninos hidrolisáveis que, após hidrólise, produzem carboidratos e ácidos fenólicos e taninos condensados, que são resistentes à hidrólise, e são oligómeros do grupo flavan-3-ol ou flavan 3,4-diol (Saxena *et al.*, 2013; Butler *et al.*, 1984; Katou *et al.*, 1989).

Matias e colaboradores (2019), detectaram a presença em quantidades moderadas de taninos nas cascas das raízes de cinco espécies do género *Solanum*, nomeadamente, *Solanum agrarium*, *Solanum palinacanthum*, *Solanum paniculatum*, *Solanum lycocarpum* e *Solanum stipulaceum*. Este grupo de metabólitos está relacionado com actividades antidiarreica, diurética, anti-inflamatória, antisséptica, antioxidante e hemostática.

Além de actuarem como enzimas reguladoras, estimulando as células fagocíticas envolvidas nos processos de cicatrização de feridas, esses compostos também estão relacionados com actividades antibacteriana, antifúngica, e antiviral, o que pode ser devido à capacidade dos taninos de complexar macromoléculas, como proteínas e polissacarídeos (Matias *et al.*, 2019).

3.6.4. Cumarinas

As cumarinas constituem uma classe de metabólitos secundários amplamente distribuídas no reino vegetal e excepcionalmente encontradas em bactérias e fungos. Estes metabólitos estão

presentes em diferentes partes das plantas tanto nas raízes como nas flores e frutos e podem estar distribuídas em diferentes famílias de Angiospermae como Apiaceae, Rutaceae, Asteraceae nas quais são encontradas com ampla ocorrência. Também estão presentes em Fabaceae, Oleaceae, Moraceae, Thymeleaceae e Solanaceae (Celeghini *et al.*, 2001; Ribeiro & Kaplan, 2002; Barbosa *et al.*, 2017).

As cumarinas podem apresentar grande contribuição na pesquisa para prevenção e tratamento de doenças devido a capacidade de exercer interações não covalentes com estruturas protéicas, possuindo um amplo espectro de actividades biológicas (Franco *et al.*, 2021).

Dezassete cumarinas foram isoladas das espécies do género *Solanum*. As sementes de *Solanum indicum* produziram o maior número de cumarinas. A escopolina e escopoletina (Figura 4) foram as principais cumarinas isoladas nas espécies de *Solanum* (Kaunda & Zhang, 2019).

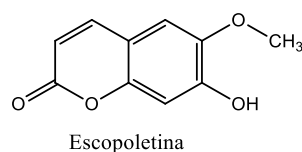


Figura 4: Ilustração estrutural da escopoletina (7-hidroxi-6-metoxicromen-2-ona), isolada das espécies do género *Solanum*

3.6.5. Triterpenóides

Zhang e colaboradores (2013), afirmam que os triterpenóides são terpenóides que consistem de seis unidades isoprénicas que conferem uma gama de propriedades farmacológicas que levaram a investigações de materiais vegetais resinosos para doenças intestinais, tumores cerebrais, asma, inflamatórias entre outras actividades farmacológicas.

Nas folhas de cinco espécies do género *Solanum*, nomeadamente, *Solanum agrarium*, *Solanum palinacanthum*, *Solanum paniculatum*, *Solanum lycocarpum* e *Solanum stipulaceum*, foi possível observar a presença de triterpenóides em quantidade moderadas. As actividades biológicas reportadas para estes compostos incluem anticancerígena, antimalárica, diurética e antimicrobiana, que estão relacionadas às substâncias artemisinina e glicirrizina (Figura 5); anti-inflamatória, analgésica, antiespasmódica, anticariogénica, antiviral, hepatoprotetora e cardioprotetora (Matias *et al.*, 2019).

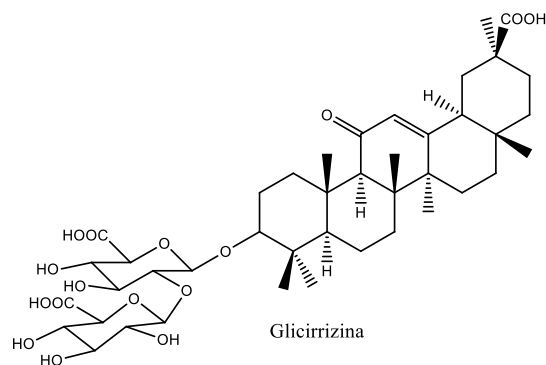


Figura 5: Ilustração estrutural do triterpenóide glicirrizina

3.6.6. Saponinas

As saponinas são compostos glicosídicos constituídos por uma aglicona (sapogenina) ligada a uma ou mais porções de oligossacarídeos (Elizalde-Romero *et al.*, 2021). Podem ser consideradas parte do sistema de defesa da planta, e como tal têm sido incluídas num largo grupo de moléculas protectoras encontradas na planta chamadas de fitoprotectoras (Saxena *et al.*, 2013).

A capacidade de algumas saponinas em formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolípidos da membrana determinam um inúmero variado de propriedades biológicas para essas substâncias, destacando-se a sua acção sobre as membranas celulares formando poros, produzindo vazamento das células e alterando a sua permeabilidade. Um amplo efeito citotóxico ou antimicrobiano é geralmente consequência dessa alteração (Wink, 2003).

As saponinas obtidas das espécies do género *Solanum* possuem actividade antitumoral, anti-inflamatória, antiviral, antimicótica, antioxidante, hipoglicemiante e hipolipemiante (Elizalde-Romero *et al.*, 2021).

As saponinas isoladas de cascas de *Solanum melongena* mostraram a inibição da enzima lipase, que foi mais efectiva do que a droga usada como controle (orlistat). A diosgenina (Figura 6), está presente nas espécies de *Solanum* e foi isolada para estudar seus efeitos promotores da saúde: modulando o estresse oxidativo, melhorando o perfil lipídico e a regulação da via de disfunção mitocondrial. Em *Solanum suratense* pelo menos 11 saponinas diferentes foram isoladas e foi demonstrado *in vitro* as actividades citotóxicas contra o câncer. Os frutos de *Solanum torvum* possuem diversas saponinas com efeitos anticancerígenos contra o câncer da mama, do fígado, linhas de câncer gástrico e de pulmão

(Elizalde-Romero *et al.*, 2021).

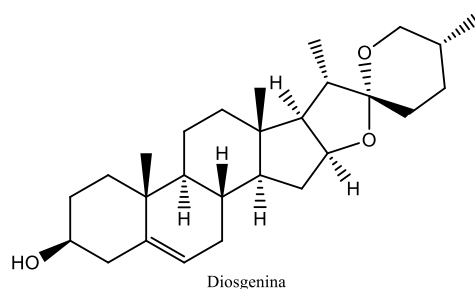


Figura 6: Ilustração estrutural da diosgenina isolada nas espécies do género *Solanum*

3.7. Actividade antioxidante

Embora não se saiba quais os compostos mais activos das plantas, os antioxidantes naturais presentes nas plantas podem ser polifenóis, alcalóides, carotenóides ou vitaminas (ácido ascórbico ou tocoferol). Os polifenóis têm recebido cada vez mais atenção devido a algumas das suas actividades biológicas e alguns autores têm descrito a existência de uma correlação positiva entre o teor de polifenóis e actividade antioxidante (Lu *et al.*, 2011; Gonçalves *et al.*, 2013; Kchaou *et al.*, 2013; Djeridane, 2006; Velioglu *et al.*, 1998).

De um modo geral, plantas do género *Solanum* demonstram boas capacidades antioxidantes. Al-fatimi e colaboradores (2007) testaram dez espécies de diferentes géneros frente ao radical DPPH, e verificaram que o extracto de *Solanum nigrum* apresentou a melhor capacidade antioxidante, comparável ao padrão ácido ascórbico. Além disso, a capacidade antioxidante de *Solanum paniculatum* foi avaliada por Ribeiro e colaboradores (2007), sendo que os extractos etanólicos e aquoso apresentaram capacidades equivalentes ao padrão BHT (butilhidroxitolueno), facto que foi atribuído à presença de polifenóis e flavonóides.

Em outro estudo, foi avaliada a actividade antioxidante das folhas de *Solanum surattense* através de testes *in vitro*, como o sequestro de radicais hidroxil e anião superóxido, de peróxido de hidrogénio e do radical DPPH, onde os resultados das amostras mostraram uma capacidade antioxidante superior quando comparados aos padrões analisados (Muruhan *et al.*, 2013).

3.8. Actividade antimicrobiana

Os antibióticos continuam a ser a principal terapia utilizada no tratamento de infecções

microbianas, tanto bacterianas como fúngicas (Khan *et al.*, 2009). No entanto, a sua utilização excessiva, indiscriminada e generalizada, nas últimas décadas, resultou no desenvolvimento e no aumento da resistência contra diversos grupos de microrganismos patogénicos, tornando-os cada vez menos eficazes (Bhalodia & Shukla, 2011; Gaikwad *et al.*, 2012). Este facto, associado a efeitos secundários resultantes da sua utilização, como por exemplo reacções alérgicas, impulsionou a pesquisa de novas substâncias antimicrobianas provenientes de várias fontes naturais (Pandey & Kumar, 2013; Ghosh *et al.*, 2008).

Na literatura, são encontradas várias pesquisas acerca da actividade de extractos de plantas e compostos isolados do género *Solanum* contra uma grande variedade de microorganismos, incluindo bactérias, fungos e micobactérias (Chah *et al.*, 2000; Wanyonyi *et al.*, 2003; Essien *et al.*, 2012; Balachandran & Duraipandiyar, 2012). Estudos feitos com *Solanum torvum* demonstraram que a mesma apresenta alta actividade antimicrobiana (Chah *et al.*, 2000; Wiart *et al.*, 2004), a qual pode ser relacionada à alta quantidade de alcalóides, taninos e esteróides presentes na planta. Em outro estudo, solanopubamina, um alcalóide esteroidal isolado de *Solanum schimperianum*, apresentou boa actividade antifúngica contra *Candida albicans* e *Candida tenuis*, com valor de CIM de 12,5 µg mL⁻¹, para ambas (Al-rehaily *et al.*, 2013).

No estudo realizado por Gonçalves e colaboradores (2016), sobre a actividade antimicrobiana de *Solanum subinerme* concluíram que os extractos etanólicos dos frutos, folhas e raízes são potenciais fontes de agentes antimicrobianos capazes de inibirem o crescimento de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), apresentando halos de inibição que variaram de 7 a 17,7 mm.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Desenho da pesquisa

O fluxograma (Figura 7) apresenta o esquema que foi seguido para a análise fitoquímica e avaliação da actividade antioxidante e antimicrobiana dos extractos de *S. linnaeanum*.

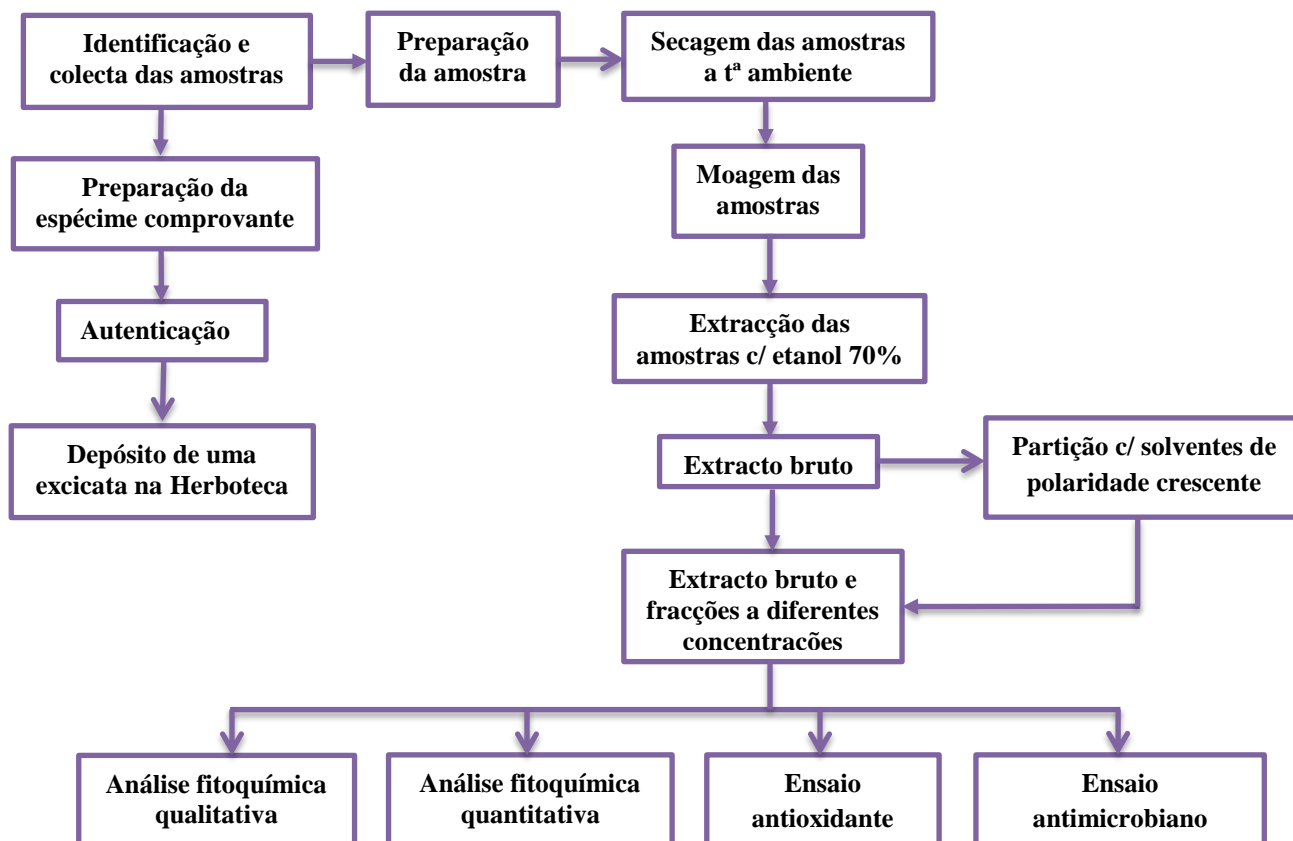


Figura 7: Fluxograma mostrando o esquema seguido para análise fitoquímica e avaliação da actividade antioxidante e antimicrobiana dos extractos e fracções de *S. linnaeanum*.

4.2. Colecta e preparação do material botânico

As raízes, caules e folhas de *S. linnaeanum* foram colectados em Fevereiro de 2020 na Ilha da Inhaca - distrito de Kanyaka, Maputo, Moçambique. A espécie foi identificada e autenticada pelos botânicos do herbário da Estação de Biologia Marítima da Inhaca (EBMI), uma unidade científica da Faculdade de Ciências da Universidade Eduardo Mondlane, por comparação com uma espécie existente com o voucher número 1698. Posteriormente, as folhas, cascas de caule e cascas da raiz de *S. linnaeanum* foram secas à temperatura ambiente durante 30 dias no Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química - Universidade Eduardo Mondlane, Moçambique. As amostras secas foram moídas em um pó fino usando

um moinho eléctrico e armazenadas à temperatura ambiente em recipientes de vidro fechados, cobertos com papel alumínio conforme mostram as imagens na Figura 8.



Figura 8: a) – EBMI, local onde foi realizada a herborização da espécie; b), c) e d) – preparação e secagem das amostras de casca de raiz, folhas e casca de caule, respectivamente; e) – Conservação das amostras em pó até a data do processo extractivo

4.3. Solventes e reagentes químicos

Todos os solventes e reagentes químicos usados para a extracção e fraccionamento ou ensaios analíticos foram adquiridos na sua forma pura em laboratórios de referência a partir de fornecedores locais.

O ácido ascórbico (99,5%), ácido tânico (33%), 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) (85%) e ácido gálico (98%) foram obtidos da Sigma - Aldrich, África do Sul. A quercetina (95%), 2,4,6 - tris (piridil) - s - triazina (TPTZ) ($\geq 98\%$) e o reagente Folin-Ciocalteu foi adquirido da Acros Organics (África do Sul), Alfa Ae sar (Alemanha) e LNS labs (África do Sul), respectivamente.

4.4. Obtenção de extractos

Os extractos brutos e fracções das diferentes partes de *S. linnaeanum* (casca da raiz, casca de caule e folha) foram preparados seguindo o método descrito por Zadra e colaboradores

(2012), com pequenas modificações. O extracto bruto conforme mostra a Figura 9 foi preparado por maceração sob agitação constante a 190 rpm por 24 h utilizando etanol 70%. O extracto resultante foi filtrado com papel de filtro Whatman No. 1 e o resíduo foi reextraído duas vezes seguindo o mesmo procedimento. Os extractos foram combinados e concentrados sob pressão reduzida a 40 °C em vaporizador rotativo.

Parte do extracto concentrado foi suspensa em água destilada e submetida a uma partição solvente-solvente em ordem crescente de polaridade como segue: 3x100 mL de clorofórmio (FC), 3x100 mL de acetato de etilo (AE) e 3x100 mL de n-butanol (nBu). Todas as fracções foram evaporadas até a secura (com excepção da fracção residual aquosa (Aq) que ficou semi-pastosa) em vaporizador rotativo sob pressão reduzida a 40 °C, conforme mostrado na Figura 10 e armazenadas sob refrigeração a 4 °C para testes fitoquímicos e biológicos.

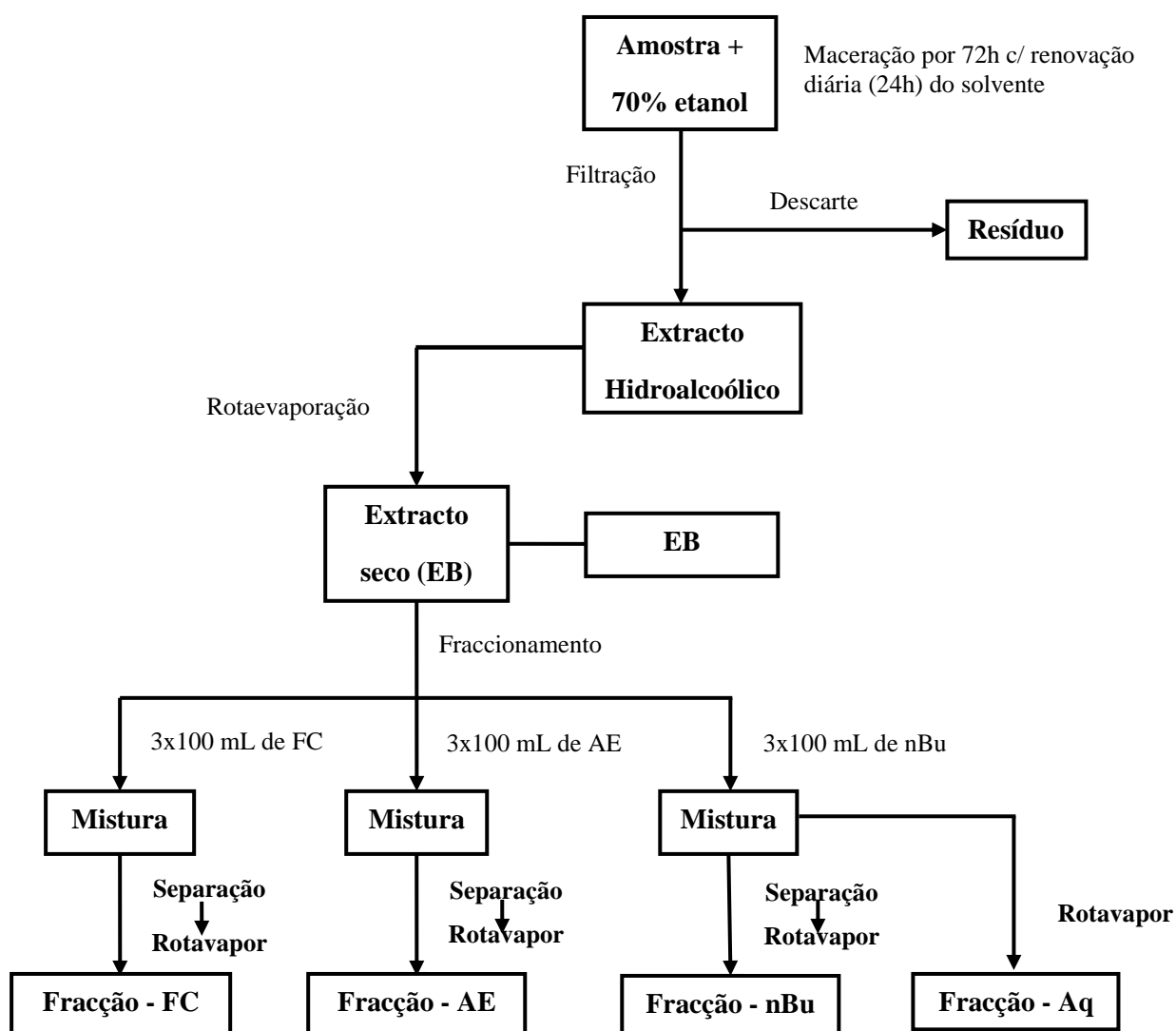


Figura 9: Fluxograma de obtenção de extractos e fracções por maceração e partição líquido-líquido nas cascas de raíz, caule e folhas de *S. linnaeanum*.

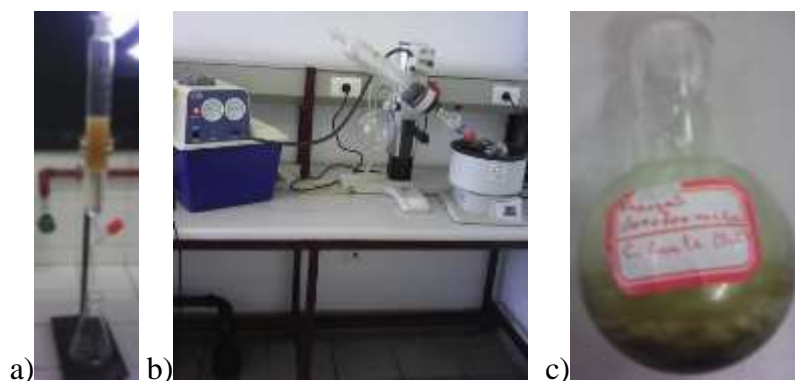


Figura 10. a) e b) - Ilustração dos processos de extracção líquido-líquido e de concentração dos extractos no vaporizador rotativo, respectivamente; c) – Extracto seco

4.5. Triagem fitoquímica preliminar

Para a realização da prospecção fitoquímica preliminar qualitativa, foram usadas metodologias descritas por Geetha & Geetha (2014); Tiwari e colaboradores (2011) e Bargah (2015) e reagentes habituais de identificação dos constituintes químicos. Os extractos e fracções da planta foram submetidos à triagem fitoquímica preliminar para a detecção das principais classes de metabólitos secundários através de reacções químicas que resultam no desenvolvimento de coloração e/ou formação de precipitado ou espuma.

4.5.1. Teste para alcalóides

Foram dissolvidos 5 mg do extracto em 5 mL de solução de HCl a 5% e posteriormente foi filtrado. Separaram-se três porções de 1 mL em tubos de ensaio e foram adicionados de 2 a 3 gotas dos seguintes reactivos:

- Tubo 1: Reactivo de Bouchardat. A formação do precipitado laranja vermelho é indicativo da presença de alcalóides.
- Tubo 2: Reactivo de Dragendorff. A formação do precipitado vermelho tijolo é indicativo da presença de alcalóides.
- Tubo 3: Reactivo de Mayer. A formação do precipitado branco, é indicativo da presença de alcalóides.

4.5.2. Teste para compostos fenólicos

- a) Teste de hidróxido de sódio: 5 mg do extracto foram dissolvidos em 0,5 mL de solução de ácido sulfúrico a 20%, seguido pela adição de algumas gotas de solução aquosa de hidróxido de sódio, ao tornar-se azul indica a presença de fenóis.
- b) Na solução teste foram adicionadas 3 gotas de solução alcoólica de cloreto de ferro III (FeCl_3) a 10%, seguida de uma agitação vigorosa. A formação de um precipitado azul escuro indica a presença de taninos hidrolisáveis e a de precipitado verde, indica a presença de taninos catéquicos ou condensados.
- c) Teste de reagentes alcalinos: os extractos foram tratados com poucas gotas da solução de hidróxido de sódio. A formação de uma cor amarela intensa, que se torna incolor em adição de ácido diluído, indica a presença de flavonóides.
- d) Teste de acetato de chumbo: 10 mg de extractos foram tratados com poucas gotas de solução de acetato de chumbo a 10%. A formação de um precipitado de cor amarela indica a presença de flavonóides.

4.5.3. Teste para esteróides

Teste de Salkowski: 5 mg do extracto foram dissolvidos em 2 mL de clorofórmio e igual volume de ácido sulfúrico concentrado foram adicionados ao longo dos lados do tubo de ensaio, a camada superior torna-se vermelha e a camada inferior torna-se amarela com verde fluorescente, indicando a presença de esteróides no extracto.

4.5.4. Teste para cumarinas

Adicionou-se 1 mL de cada extracto a um tubo de ensaio contendo 1 mL de NaOH a 10%. O aparecimento de uma tonalidade amarela indica a presença de cumarinas.

4.5.5. Teste para antraquinonas

Teste de Borntragers: cerca de 500 mg do extracto foram colocados em um tubo de ensaio seco e 5 mL de clorofórmio foram adicionados e agitados por 5 min. O extracto foi filtrado e o filtrado foi agitado com igual volume da solução de amónia a 10%. A cor violeta rosa ou vermelha na camada inferior indica a presença de antraquinonas.

4.5.6. Teste para glucósidos cardíacos

5 mL do extracto foi misturado com 2 mL do ácido acético glacial, uma gota de cloreto de ferro (III) e 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. O aparecimento de um anel acastanhado nas interfaces indica a presença de glucósidos cardíacos.

4.5.7. Teste para saponinas

Em 2 ml do extracto adicionou-se 2 ml de água destilada e 3 gotas de ácido clorídrico (HCl), em um tubo de ensaio. Em seguida a solução foi agitada permanentemente por 3 min. e observando a formação de espuma. Espuma persistente e abundante (colarinho) indica a presença de saponinas.

4.5.8. Análise fitoquímica por cromatografia de camada fina

No presente estudo a cromatografia de camada fina (TLC) foi usada para confirmar a presença de alcalóides, flavonóides, esteróides, triterpenóides, saponinas e taninos nos extractos e fracções de folhas e cascas de *S. linnaeanum* seguindo o método descrito por Iikasha e colaboradores (2017). Os solventes, reagentes de pulverização e controles positivos usados em TLC estão resumidos na Tabela 1.

Os extractos e fracções da planta foram dissolvidos em metanol e todas as análises foram feitas em placa de sílica gel (60F₂₅₄) sobre chapas de alumínio. Em cada placa, os pontos foram marcados com lápis leve a 2 cm da esquerda para direita, 2 cm de baixo para cima e entre uma distância de 1,5 cm para cada ponto na placa cromatográfica. Em cada ponto foi colocado cerca de 10 µL do extracto usando tubos capilares. Após o desenvolvimento das placas na câmara cromatográfica contendo os respectivos solventes ou sistemas de solventes, as mesmas foram secas à temperatura ambiente e de seguida pluvizadas com o respectivo reagente de detecção e em certos casos procedeu-se ao aquecimento da placa a uma temperatura de 110 a 120 °C por 5 a 10 minutos.

Tabela 1: Eluentes, reagentes de pulverização e controles positivos utilizados na análise por TLC da casca da raiz, casca do caule e folha de *S. linnaeanum*

Classe de metabólitos	Sistema de solventes	Padrão	Revelador
Alcalóides	MetOH-NH ₄ OH (200:3)	Quinina	Reagente de Dragendorf
Flavonóides	nButOH-Ac. Acét-H ₂ O (4:1:5)	Quercetina	5% de FeCl ₃ em MetOH
Esteróides	Tolueno-AcOEt (85:15)	-	10% de H ₂ SO ₄ em MetOH
Triterpenóides	nHexano-AcOEt (17:3)	-	Reagente de Lieberman
Saponinas	CHCl ₃ -MetOH-H ₂ O (7:3:1)	-	10% de H ₂ SO ₄ em Etanol e 1% de vanilina em Etanol
Taninos	1% de KOH em MetOH	Ácido tânico	1% de FeCl ₃ em solução Aquosa de MetOH 50%

MetOH – metanol; **nButOH** – n-butanol; **Ac. Acét.**-Ácido acético **AcOEt** – Acetato de etilo

4.6. Análise fitoquímica quantitativa

4.6.1. Determinação de fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais presentes nos extractos foi feita com recurso ao método colorimétrico clássico de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Amorim e colaboradores (2012). Para a análise dos extractos, 500 µL de cada extracto na concentração 1 mgmL⁻¹ preparados em metanol foram colocados separadamente nos tubos de ensaio. Em seguida, 500 µL de reagente Folin-Ciocalteu a 10% (v/v) foram adicionados, agitados vigorosamente e deixados em repouso por 10 min à temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se 1 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% (m/v) e 8 mL de água destilada e a mistura foi deixada em repouso à temperatura ambiente por 2h. A absorvância da solução azul formada foi medida a 760 nm no espectrofotómetro UV/Vis Spectroquant® Pharo 300 M.

O teor de fenóis totais foi calculado usando as equações (1) e (2). A equação 1, obteve-se através de uma curva de calibração (Figura B1 do anexo B) plotada com padrão analítico de ácido gálico na faixa de concentração que variou de 1-10 µgmL⁻¹ e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extracto seco (mgEAGg⁻¹). Todos os ensaios foram feitos em triplicata e o teor de fenóis totais foi expresso como

média \pm desvio padrão.

$$A = 0,0043C + 0,0734 \quad R^2 = 0,9948 \quad (1)$$

Onde, **A** – absorvância, **C** – concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$) e **R²** – quadrado do coeficiente de correlação de Pearson.

$$\text{mgEAGg}^{-1} = \frac{CxV}{m} \quad (2)$$

Onde, **mgEAGg⁻¹** – miligramas equivalentes de ácido gálico por grama do extracto seco; **C** – concentração de ácido gálico em $\mu\text{g mL}^{-1}$; **V** - volume do extracto usado no teste em mL e **m** – massa do extracto em g.

4.6.2. Determinação de flavonóides totais

Os flavonóides totais foram determinados usando o método de complexação selectiva de alumínio descrito por Woisky & Salatino (1998). Cinco mililitros da solução do extracto (1 mg mL^{-1} em metanol) foram colocados em um balão volumétrico de 25 mL e, em seguida, foi adicionado 0,5 mL de cloreto de alumínio a 2% (m/v) em metanol. A absorvância das soluções amarelas formadas que intensificaram proporcionalmente com a concentração dos flavonóides, foi medida a 425 nm, após 30 min de reacção, no espectrofotómetro UV/Vis Spectroquant® Pharo 300 M. O teor de flavonóides totais foi calculado usando a equação (4) e (3), das quais a equação 3, obteve-se através de uma curva de calibração (Figura B2 do anexo B) plotada com padrão analítico de quercetina na faixa de concentração que variou de $1\text{-}10 \mu\text{g mL}^{-1}$ e os resultados foram expressos em miligrama equivalente de quercetina por grama de extracto seco (mgEQg^{-1}). Todos os ensaios foram feitos em triplicata e o conteúdo total de flavonóides foi expresso como média \pm desvio padrão.

$$A = 0,0692C + 0,0112 \quad R^2 = 0,9972 \quad (3)$$

Onde, **A** – absorvância, **C** – concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$) e **R²** – quadrado do coeficiente de correlação Pearson

$$\text{mgEQg}^{-1} = \frac{CxV}{m} \quad (4)$$

Onde, **mgEQg⁻¹** – miligramas equivalentes de quercetina por grama do extracto seco; **C** - concentração de quercetina em $\mu\text{g mL}^{-1}$; **V** - volume do extracto usado no teste em mL e **m** - massa do extracto em g.

4.6.3. Determinação de taninos condensados: cianidinas equivalentes

O teor de taninos condensados foi obtido pelo método descrito por Zemmouri e colaboradores (2014). Dois mililitros da solução de extracto (1 mgmL^{-1} em metanol) foram misturados em um tubo de ensaio com 5 mL de solução ácido-butanol e traços de sulfato ferroso (77 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em 500 mL de butanol - HCl (5:2)). Os tubos foram tampados e colocados em banho-maria a $95 \text{ }^\circ\text{C}$ por 50 min. Após este período a solução alterou a sua coloração de verde para vermelho e as absorvâncias foram medidas a 530 nm no espectrofotómetro UV/Vis Spectroquant® Pharo 300 M e o resultado foi expresso em miligramas equivalentes de cianidina-3-glicosídeo por grama de extracto seco (mgECyag^{-1}). Todos os ensaios foram realizados em triplicata e o teor de taninos condensados foi calculado através da equação 5.

$$\text{mgECyag}^{-1} = [\mathbf{A} * \mathbf{V} * \mathbf{M} * \mathbf{V2}] / [\mathbf{l} * \boldsymbol{\epsilon} * \mathbf{v} * \mathbf{m}] \quad (5)$$

Onde: **A** – é a absorvância da amostra em 530 nm; **V** - o volume total da reacção (7 mL); **M** - a massa molar ($484,83 \text{ g mol}^{-1}$ de cianidina-3-glicosídeo); **V2** - o volume total da solução de extracto (25 mL); **l** – a largura do caminho óptico da cubeta (1 cm); **ϵ** - o coeficiente de extinção molar ($26.900 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); **v** - o volume da solução de extracto utilizada no teste (2 mL); e, **m** - a massa do extracto seco (0,025 g).

4.7. Determinação da actividade antioxidante

4.7.1. Redução do radical livre DPPH

A actividade antioxidante pelo método de DPPH foi determinada conforme descrito por Gawron-Gzella e colaboradores (2012). Para a análise dos extractos, 1,4 mL da solução de DPPH recentemente preparada a partir da dissolução de 6,2 mg de DPPH em 100 mL de metanol foi misturada com 0,2 mL da solução de extracto dissolvido em metanol a diferentes concentrações ($12,5 - 6000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$). O ácido ascórbico ($5 - 100 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$) foi usado como padrão. A mistura reaccional foi agitada e deixada em repouso no escuro à temperatura ambiente durante 30 min. A absorvância das soluções amarelas formadas que foram diminuindo de intensidade proporcionalmente com a redução do radical DPPH a hidrazina foi medida a 517 nm no espectrofotómetro UV/Vis Spectroquant® Pharo 300 M e as percentagens de inibição (equação 6) foram usadas para determinar o valor de IC_{50} das

amostras. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os valores de IC₅₀ das amostras foram apresentados como média ± desvio padrão.

$$\% \text{ Inibição} = [(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / (A_{\text{controle}})] \times 100 \quad (6)$$

Onde: A_{controle} - absorvância da solução de DPPH sem extracto; A_{amostra} - absorvância da amostra com DPPH.

4.7.2. Redução do complexo de fosfomolibdénio

A actividade antioxidante pelo método do fosfomolibdénio foi avaliada conforme descrito por Prieto e colaboradores (1999). Para análise dos extractos, 300 µL de cada extracto dissolvido em metanol na concentração de 200 µg mL⁻¹ foram combinados com 3 mL da solução reagente de fosfomolibdénio (ácido sulfúrico 0,6 M, fosfato de sódio 28 mM e molibdato de amónio 4 mM), incubados a 95 °C por 90 min e depois resfriado à temperatura ambiente. A absorvância da solução verde formada foi medida a 695 nm no espectrofotómetro Spectroquant® Pharo 300 M contra um branco consistindo de toda a mistura de reacção e metanol em vez do extracto.

O ácido ascórbico (6,25 a 200 µg mL⁻¹) foi usado como padrão. Todos os ensaios foram feitos em triplicata e os resultados expressos em percentagem da actividade antioxidante relativa (% AAR), sendo a capacidade antioxidante dos extractos expressa em relação ao ácido ascórbico de acordo com a equação 7.

$$(\% \text{AAR ácido ascórbico}) = [(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / (A_{\text{padrão}} - A_{\text{branco}})] \times 100 \quad (7)$$

Onde: %AAR – corresponde a redução do complexo fosfomolibdénio em percentagem de ácido ascórbico.

4.7.3. Poder de redução de ferro – FRAP

A actividade antioxidante avaliada quanto ao poder de redução do ferro foi mensurada seguindo a metodologia descrita por Firuzi e colaboradores (2005). A solução FRAP foi obtida por adição de 25 mL de tampão acetato 300 mM, pH 3,6 e 2,5 mL de cloreto férrico hexa-hidratado 20 mM e 2,5 mL de TPTZ 10 mM.

Em tubos de ensaio foram adicionados 90 μL de cada extracto (1mgmL^{-1}) a 270 μL de água destilada e 2,7 mL de reagente FRAP. Após 30 min de incubação a 37 °C, os dados da absorvância das soluções azuis intensas formadas foram lidos no espectrofotómetro Spectroquant® Pharo 300 M a 595 nm.

O potencial antioxidante dos extractos foi calculado com base numa curva de calibração, traçada usando o padrão analítico de sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) em concentrações que variaram de 500 a 2000 μM . Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados expressos em micromoles de sulfato ferroso por grama de extracto seco ($\mu\text{MFe}^{2+}\text{g}^{-1}$).

4.8. Determinação da actividade antimicrobiana

A actividade antimicrobiana dos extractos brutos hidroetanólicos e as respectivas fracções de acetato de etilo foi avaliada pelo método de disco-difusão em ágar conforme descrito por Klančnik e colaboradores (2010) e Farjana e colaboradores (2014). Foram utilizadas quatro cepas bacterianas que incluíram Gram-negativo *E. coli* ATCC 25922, Gram-positivo *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212 e *S. pneumoniae* ATCC 49619) e a levedura *C. albicans* ATCC 10231. As cepas microbianas foram obtidas no Laboratório de Microbiologia do Hospital Central de Maputo, e subcultivadas em caldo nutritivo e Ágar Sabouraud Dextrose (SDB), e incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24h e 48h, para bactérias e fungos, respectivamente. Posteriormente, as culturas foram padronizadas para uma turbidez de 0,5 na escala de Mcfarland em solução salina 0,9%, por comparação visual com uma suspensão padrão de sulfato de bário equivalente a uma suspensão de *E. coli* contendo $1,5 \times 10^8$ cells/mL. Para o teste, 500 μL da suspensão de cada microrganismo foi espalhado uniformemente em uma placa de Petri (90 mm) contendo ágar Muller Hinton usando um swab estéril. Discos de papel estéril de 6 mm de diâmetro foram colocados (com pinça estéril) e impregnados com 10 μL de cada amostra em concentrações entre 15,625 e 500 mgmL^{-1} . O dimetilsulfóxido (DMSO) foi usado como solvente e controle negativo. A tetraciclina 30 $\mu\text{g}/\text{disco}$ e a nistatina 100 $\mu\text{g}/\text{disco}$ foram usadas como controles positivos nos testes de sensibilidade bacteriana e fúngica, respectivamente. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24h. O extracto foi considerado activo se o diâmetro da zona de inibição fosse igual ou superior a 8 mm.

4.9. Análise estatística

Todos os dados foram submetidos ao tratamento estatístico com recurso ao software Minitab® 17 e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três repetições. A significância das diferenças entre as médias foi avaliada a um nível de confiança de 95% pelo teste t-Student e pela Análise de Variância One-way (ANOVA) seguida do teste post-hoc de comparação múltipla de Tukey.

5. RESULTADOS

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos nos testes fitoquímicos qualitativos e quantitativos para as diferentes classes de metabólitos secundários. Além disso, são ainda apresentados os resultados referentes à capacidade antioxidante e a determinação da actividade antimicrobiana.

5.1. Fitoquímica qualitativa

5.1.1. Testes fitoquímicos qualitativos preliminares

Os resultados da análise fitoquímica qualitativa dos extractos brutos hidroetanólicos e respectivas fracções de *S. linnaeanum* estão resumidos na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados da triagem fitoquímica qualitativa de *S. linnaeanum*

Extracto	Alc.	Tan. Cond.	Fenóis	Flav.	Est.	Trit.	Antr.	Cum.	Gluc. Card.	Sap.
Casca de raiz										
EB	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-
FC	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
AE	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
nBu	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-
Aq	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Casca de caule										
EB	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
FC	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
AE	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
nBu	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-
Aq	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Folhas										
EB	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
FC	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
AE	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
nBu	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-
Aq	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-

EB – extracto bruto hidroetanólico; **FC** – fracção de clorofórmio; **AE** – fracção de acetato de etilo; **nBu** – fracção de n - butanol; **Aq.** – fracção do resíduo aquoso; (+) - presente; (-) –

ausente; **Alc.** – alcalóides; **Tan. Cond.** – taninos condensados; **Flav.** – flavonóides; **Est.** – esteróides; **Trit.** – triterpenóides; **Antr.** – antraquinonas; **Cum.** – cumarinas; **Gluc. Card.** – glucósidos cardíacos; **Sap.** – saponinas.

5.1.2. Análise por cromatografia de camada fina

Através da técnica TLC e com recurso ao sistema de eluição mostrado na Tabela 1 foi possível analisar diferentes classes fitoquímicas, nomeadamente, alcalóides, flavonóides, esteróides, triterpenóides e taninos, visando estabelecer o perfil fitoquímico dos extractos e fracções da planta em estudo. Os respectivos R_fs das classes de metabólitos secundários detectados em todos os extractos e fracções estão evidenciados na Tabela 3. As cromatoplasmas ilustradas na Figura 11, mostram algumas manchas detectadas. A presença de alcalóides nos extractos de *S. linnaeanum* foi evidenciada após revelação pelo aparecimento de manchas alaranjadas que também foram correspondentes ao padrão utilizado, quinina. Os flavonóides evidenciaram-se com o aparecimento de manchas verdes a acastanhas correspondentes ao padrão utilizado, quercetina, enquanto que nas cromatoplasmas dos taninos, após revelação observou-se o aparecimento de manchas verdes escuras correspondente ao padrão utilizado, ácido tânico. Os triterpenóides e esteróides evidenciaram-se com o aparecimento de manchas acastanhas a verdes e vermelha-acastanhadas, respectivamente.

Tabela 3: Rfs da análise cromatográfica dos extractos de *S. linnaenum*

Rfs da casca de raiz							
Classes	EB	FC	AE	nBu	Aq	Padrão usado	Rf do padrão
Flavonóides	0,45 0,93	0,45 0,32 0,90	0,86	0,41	0,41	Quercetina	0,88
Esteróides	0,38	0,38 0,80	0,38	-	-	-	-
Triterpenóides	-	0,38	0,24 0,38 0,61	-	-	-	-
Taninos	0,65	0,66	0,63	0,66	0,65	Ac. tânico	0,78
Rfs da casca de caule							
Flavonóides	0,93	0,85	0,88	0,56 0,73	0,80	Quercetina	0,87
Esteróides	0,38 0,99	0,38 0,80 0,89 0,99	0,38 0,96	-	-	-	-
Triterpenóides	0,19 0,25 0,33 0,93	0,19 0,25 0,31 0,45 0,58 0,78 0,93	0,19 0,25 0,33 0,93	-	-	-	-
Taninos	0,70	0,75	0,69	0,66	0,60	Ac. tânico	0,75
Rfs da folha							
Alcalóides	-	0,59	0,60	-	-	Quinina	0,44
Flavonóides	0,53	0,86	0,87	0,55	0,47	Quercetina	0,92
Esteróides	0,40 0,56 0,71	-	-	-	-	-	-
Triterpenóides	0,19 0,33 0,38	0,16	-	-	-	-	-
Taninos	0,71	0,73	0,70	0,68	0,54	Ac. tânico	0,77

EB – extracto bruto hidroetanólico; **FC** – fracção de clorofórmio; **AE** – fracção de acetato de etilo; **nBu** – fracção de n-butanol; **Aq** – fracção do resíduo aquoso.

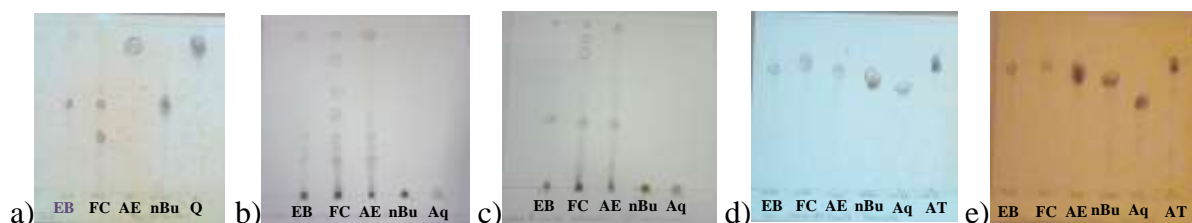


Figura 11: Ilustração das cromatoplasmas de (a) flavonóides da casca de raiz; (b) triterpenóides; (c) esteróides; (d) taninos das cascas de caule e (e) taninos das folhas.

5.2. Fitoquímica quantitativa de compostos fenólicos

Os resultados fitoquímicos quantitativos de compostos fenólicos de folhas e cascas de caule e raiz de *S. linnaeanum* estão sumarizados na tabela 4 para fenóis totais, flavonóides totais e taninos condensados, incluindo as Tabelas B2, B3, B4, B6, B7, B8, B9, B10 e B11 (anexo B).

Nas Tabelas B1 e B5 e Figuras B1 e B2 (anexo B) estão sumarizados os resultados das absorvâncias e representadas as curvas de calibração dos padrões ácido gálico e quercetina, respectivamente.

Tabela 4: Resultados do teor de fenóis totais, flavonóides e taninos condensados da casca da raiz, casca do caule e folhas de *S. linnaeanum*

	Casca de raíz	Casca de caule	Folhas
Teor de fenóis totais			
Extracto	(mgEAGg ⁻¹)	(mgEAGg ⁻¹)	(mgEAGg ⁻¹)
EB	9,178 ±0,138 ^a	20,767 ±0,116 ^a	40,806 ±0,355 ^a
FC	6,078 ±0,178 ^b	15,845 ±0,293 ^b	30,922 ±0,597 ^b
AE	23,519 ±0,661 ^c	32,899 ±0,710 ^c	49,527 ±0,178 ^c
nBu	5,031 ±0,374 ^d	14,876 ±0,355 ^d	29,256 ±0,233 ^d
Aq	1,581 ±0,116 ^e	5,147 ±0,681 ^e	19,566 ±0,533 ^e
Teor de flavonóides totais			
Extracto	(mgEQg ⁻¹)	(mgEQg ⁻¹)	(mgEQg ⁻¹)
EB	2,900 ±0,150 ^a	20,409 ±0,110 ^a	26,069 ±0,546 ^a
FC	1,407 ±0,042 ^b	14,123 ±0,042 ^b	20,602 ±0,150 ^b
AE	5,910 ±0,145 ^c	20,217 ±0,072 ^c	28,743 ±0,145 ^c
nBu	1,768 ±0,042 ^d	14,557 ±0,042 ^d	21,036 ±0,221 ^d
Aq	0,973 ±0,042 ^e	7,259 ±0,042 ^e	9,668 ±0,217 ^e
Teor de taninos condensados			
Extracto	(mgECyag ⁻¹)	(mgECyag ⁻¹)	(mgECyag ⁻¹)
EB	2,505 ±0,036 ^a	1,493 ±0,036 ^a	2,124 ±0,036 ^a
FC	3,974 ±0,063 ^b	3,112 ±0,036 ^b	0,610 ±0,036 ^b
AE	2,944 ±0,036 ^c	2,713 ±0,275 ^c	12,133 ±0,036 ^c
nBu	1,682 ±0,096 ^d	5,278 ±0,036 ^d	7,423 ±0,096 ^d
Aq	1,241 ±0,036 ^e	0,505 ±0,126 ^e	4,626 ±0,096 ^e

EB – extracto bruto hidroetanólico; **FC** – fracção de clorofórmio; **AE** – fracção de acetato de etilo; **nBu** – fracção de n-butanol; **Aq** – fracção do resíduo aquoso.

As médias seguidas por letras diferentes em cada coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

5.3. Resultados da actividade antioxidante dos extractos e fracções de *S. linnaeanum*

No presente estudo, os extractos e fracções de *S. linnaeanum* foram usados para a avaliação do seu potencial antioxidante *in vitro* e os respectivos teores estão quantificados e sumarizados na Tabela 5 e com mais pormenores nas tabelas C1 a C40 (anexo C) e Figuras C1 a C18 (anexo C), para os métodos DPPH, fosfomolibdénio e FRAP, respectivamente.

Table 5: Resultados da actividade antioxidante pelo método de DPPH, Fosfomolibdénio e FRAP

	Folhas	Casca de caule	Casca de raíz
DPPH			
Extracto	IC ₅₀ (µgmL ⁻¹)	IC ₅₀ (µgmL ⁻¹)	IC ₅₀ (µgmL ⁻¹)
EB	492,362 ±2,224 ^a	960,630 ±8,772 ^a	2005,875 ±6,660 ^a
FC	519,151 ±4,226 ^b	1030,467 ±7,831 ^b	2082,899 ±3,910 ^b
AE	347,533 ±4,219 ^c	513,788 ±6,713 ^c	605,281 ±9,139 ^c
nBu	708,311 ±1,799 ^d	1073,294 ±8,602 ^d	2216,555 ±5,481 ^d
Aq	941,652 ±3,168 ^e	2083,757 ±2,652 ^e	4505,910 ±1,806 ^e
Fosfomolibdénio			
Extracto	(%)	(%)	(%)
EB	14,780 ±0,260 ^a	12,878 ±1,786 ^a	10,170 ±0,735 ^a
FC	29,617 ±2,271 ^b	19,994 ±0,607 ^b	16,998 ±0,613 ^b
AE	35,091 ±0,150 ^c	22,962 ±0,492 ^c	20,916 ±0,396 ^c
nBu	10,948 ±0,576 ^d	8,931 ±0,780 ^d	6,799 ±0,607 ^d
Aq	7,087 ±0,567 ^e	5,676 ±0,908 ^e	4,638 ±0,563 ^e
FRAP			
Extracto	(µMFe ²⁺ g ⁻¹)	(µMFe ²⁺ g ⁻¹)	(µMFe ²⁺ g ⁻¹)
EB	151,320 ±2,563 ^a	77,520 ±1,580 ^a	20,370 ±2,240 ^a
FC	161,971 ±0,779 ^b	101,920 ±3,435 ^b	36,920 ±1,751 ^b
AE	322,070 ±3,375 ^c	183,520 ±3,467 ^c	62,370 ±1,447 ^c
nBu	86,120 ±3,274 ^d	46,170 ±3,786 ^d	7,870 ±0,853 ^d
Aq	67,370 ±3,005 ^e	34,120 ±1,790 ^e	4,020 ±1,333 ^e

EB – extracto bruto hidroetanólico; **FC** – fracção de clorofórmio; **AE** – fracção de acetato de etilo; **nBu** – fracção de n-butanol; **Aq** – fracção de resíduo aquoso.

As médias seguidas por letras diferentes em cada coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

5.3.1. Correlação entre a actividade antioxidante e os compostos fenólicos

Nas Figuras A1 a A18 (anexo A) são apresentadas através de gráficos e respectivas Tabelas A1 a A18 (anexo A) as correlações obtidas com o método DPPH vs fenóis totais e o método DPPH vs flavonóides totais, bem como os métodos fosfomolibdénio e FRAP correlacionados com os fenóis totais e flavonóides totais.

Na Tabela 6, estão apresentados os valores dos coeficientes de determinação e de correlação entre actividade antioxidante versus fenóis totais e flavonóides totais para a casca da raiz, casca do caule e folhas de *S. linnaeanum*.

Tabela 6: Valores do coeficiente de correlação entre a actividade antioxidante e o teor de fenóis totais e flavonóides totais de *S. linnaeanum*

Partes da planta	Método	Coeficiente de correlação			
		Fenóis		Flavonóides	
		r	R ²	r	R ²
Casca da raiz	DPPH	0,838	0,702	0,803	0,645
	Fosfomolibdénio	0,811	0,657	0,719	0,517
	FRAP	0,897	0,804	0,823	0,678
Casca de caule	DPPH	0,922	0,850	0,914	0,836
	Fosfomoldénio	0,815	0,665	0,799	0,639
	FRAP	0,912	0,831	0,836	0,699
Folhas	DPPH	0,951	0,904	0,945	0,893
	Fosfomolibdénio	0,717	0,514	0,653	0,427
	FRAP	0,880	0,775	0,769	0,591

Onde: r – coeficiente de correlação de Pearson; R² – coeficiente de determinação

5.4. Resultados da avaliação da actividade antimicrobiana de *S. linnaeanum*

As concentrações preparadas dos extractos brutos hidroetanólicos e as respectivas fracções de acetato de etilo das cascas de raiz, caule e folhas de *S. linnaeanum* para os testes antimicrobianos variaram de 15,625 a 500 mgmL⁻¹ e os resultados são resumidamente apresentados na Tabela 7 e 8, para as concentrações de 500 mgmL⁻¹ e CIM (Concentração Inibitória Mínima) dos extractos e fracções de *S. linnaeanum*, respectivamente, incluindo as Tabelas D1 a D2 (anexo D). Na Figura 12 estão apresentadas algumas placas resultantes do teste da actividade antimicrobiana.

Tabela 7: Resultados dos testes da actividade antibacteriana e antifúngica dos extractos e fracções de *S. linnaeanum* pelo método de difusão em disco na concentração de 500 mgmL⁻¹

Microorgan.	Médias dos diâmetros dos halos de inibição em mm ± DP								
	NT	TC	DMSO	R-EB	C-EB	F-EB	R-AE	C-AE	F-AE
<i>E. coli</i> ATCC 25922		24,0 ±1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	13,0 ±0,5
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619		31,0 ±0,0	0,0	10,5 ±0,5	9,0 ±0,0	9,7 ±0,6	13,5 ±1,0	15,5 ±0,9	15,8 ±1,0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213		20,0 ±0,0	0,0	0,0	17,2 ±0,3	0,0	10,3 ±0,6	11,2 ±1,0	12,7 ±1,3
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212		15,3 ±0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,0 ±0,5
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	16,7 ±0,6		0,0	0,0	0,0	0,0	11,7 ±0,6	16,5 ±0,5	14,0 ±0,9

Onde: **R-EB**, **C-EB** e **F-EB** – extractos brutos das cascas de raiz, caule e folha, respectivamente; **R-AE**, **C-AE** e **F-AE** – fracções de acetato de etilo das cascas de raiz, caule e folha, respectivamente; Controle positivo – Tetraciclina (**TC**) 30 µg/disco para bactérias e nistatina (**NT**) 100 µg/disco para *Candida albicans*.

Tabela 8: Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extractos brutos hidroetanólicos e das fracções de acetato de etilo das folhas, cascas de caule e cascas da raiz de *S. linnaeanum*.

		CIM em mgmL ⁻¹ (Zona de inibição em mm ±DP)				
Extracto da planta		<i>E. coli</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
	Casca da raiz	>500	500 (10,5 ±0,5)	>500	>500	>500
EB	Casca de caule	>500	500 (9,0 ±0,0)	125 (10,7 ±0,3)	>500	>500
	Folhas	>500	500 (9,7 ±0,6)	>500	>500	>500
	Casca da raiz	>500	125 (8,0 ±0,0)	250 (8,7 ±0,6)	>500	250 (9,7 ±1,5)
AE	Casca de caule	>500	31,25 (8,2 ±0,3)	250 (8,3 ±0,6)	>500	62,5 (8,0 ±0,5)
	Folhas	125 (8,5 ±0,5)	62,5 (8,0 ±0,0)	125 (8,0 ±0,0)	125 (8,5±0,9)	125 (8,2 ±0,3)
Tetracycline 30 µg/disc		(24,0 ±1,0)	(31,0 ±0,0)	(20,0 ±0,0)	(15,3 ±0,6)	-
Nystatin 100 µg/disc		-	-	-	-	(16,7 ±0,6)

EB – extracto bruto hidroetanólico; **AE** – fracção de acetato de etilo; **DP** – desvio padrão.



Figura 12: Ilustração de algumas placas resultantes do teste da actividade antimicrobiana da fracção de AE das cascas de raiz e caule de *S. linnaeanum*.

6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

6.1. Análise fitoquímica

As análises fitoquímicas fornecem informações relevantes da presença de metabólitos secundários nas plantas. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo para a averiguação dos constituintes químicos nos extractos brutos hidroetanólicos e as respectivas fracções, na casca da raiz, caule e folha de *S. linnaeanum* por meio de análise fitoquímica preliminar e cromatografia de camada fina, foi possível identificar a presença de classes de metabólitos secundários de interesse farmacológico.

Neste estudo a cromatografia de camada fina revelou a presença de uma (1) mancha verde-escura correspondente a taninos em cada extracto, com valores de R_fs próximos, em todas as partes da planta analisadas, sugerindo a presença do mesmo tipo de taninos nas folhas, cascas de caule e raiz de *S. linnaeanum*.

Nos flavonóides foram observados duas e três manchas verde-acastanhadas correspondentes ao EB e FC da casca de raiz, respectivamente, o nBu da casca de caule revelou duas manchas, sendo que os extractos remanescentes revelaram apenas uma (1) mancha. Na análise de esteróides, foram observadas duas manchas vermelha-acastanhadas nos extractos EB, AE da casca de caule e no FC da casca de raiz, enquanto no EB da folha e FC da casca de caule, observaram-se três e quatro manchas, respectivamente, e por fim foi observada apenas 1(uma) mancha nos EB e AE da casca da raiz. Para a análise de triterpenóides, quatro manchas acastanhas a verdes foram observadas no EB e AE da casca de caule, três no AE da casca da raiz e EB da folha e sete observadas no FC da casca de caule, sugerindo a presença de vários tipos de flavonóides, esteróides e triterpenóides nas folhas, cascas de caule e raiz de *S. linnaeanum*.

Nenhuma mancha referente às saponinas foi observada através deste método em todos os extractos de todas as partes da planta analisadas, sugerindo a ausência das saponinas e confirmando o resultado negativo observado no teste fitoquímico preliminar.

Conjugando os dois métodos de análise fitoquímica qualitativa usados no presente estudo, a fracção de acetato de etilo apresentou o maior número de metabólitos secundários com

actividade biológica, enquanto a fracção residual aquosa apresentou o menor número de metabólitos secundários.

A fraca presença dos metabólitos secundários observada na fracção remanescente do resíduo aquoso pode ter sido influenciada pelo longo processo de separação líquido-líquido, durante qual a grande parte dos metabólitos foram extraídos pelos solventes anteriores mas também podendo ter dado origem a eventuais degradações. Além disso, o ponto de ebulição da água sendo relativamente alto, a concentração desta fracção foi de difícil obtenção, o que pode ter aumentado a probabilidade de ter ocorrido a formação de produtos indesejáveis, bem como a decomposição ou isomerização de compostos presentes na mesma fracção (Jones e Kinghorn, 2006) citado por (Santos, 2014).

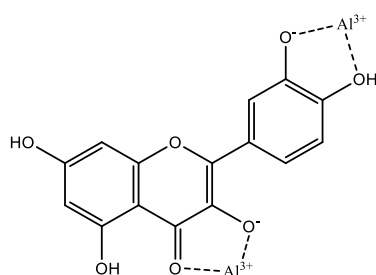
Conforme mostrado na Tabela 2, fenóis, flavonóides, taninos condensados e cumarinas estavam presentes em todos os extractos e fracções analisados. Antraquinonas e saponinas não foram detectadas em nenhuma fracção, enquanto alcalóides foram detectados apenas nas fracções de clorofórmio e acetato de etilo das folhas. Estes resultados divergem um pouco daqueles obtidos anteriormente nos frutos de *S. linnaeanum* e outras espécies de *Solanum* (Kaunda & Zhang, 2019; Sbhatu & Abraha, 2020; Mahomoodally & Ramcharun, 2015) uma vez que no presente estudo notou-se a ausência de saponinas, e, mesmo os alcalóides não foram identificados na maioria das fracções das partes da planta estudada. As saponinas esteroidais são os metabólitos típicos das espécies de *Solanum*, das quais foram obtidos 134 compostos (Kaunda & Zhang, 2019). Por outro lado, o género *Solanum* é conhecido pela prevalência de alcalóides (principalmente glicoalcalóides), esteróides e compostos fenólicos (principalmente flavonas e flavonóis, incluindo seus heterosídeos), que desempenham um papel crucial na protecção das plantas contra fitopatógenos e são responsáveis por actividades farmacológicas (Silva *et al.*, 2003; Gobbo-Neto & Lopes, 2007). A discrepância observada deve ser explicada pela influência de diversos factores como diferença genética, origem geográfica, época de colecta, idade da planta, entre outros (Gobbo-Neto & Lopes, 2007; Yusuf *et al.*, 2018).

6.2. Análise fitoquímica quantitativa

Os resultados da análise fitoquímica quantitativa dos extractos de *S. linnaeanum* para fenóis totais, flavonóides totais e taninos condensados estão resumidos na Tabela 4.

6.2.1. Flavonóides

Os flavonóides são uma classe de metabólitos secundários vegetais, de natureza fenólica, que possuem notável capacidade antioxidante. Para a determinação do teor de flavonóides nos extractos e fracções da planta recorreu-se ao método de complexação com cloreto de alumínio (AlCl_3). Este reagente forma quelato com os grupos hidroxilos fenólicos e com o grupo cetónico nos flavonóides, originando um complexo flavonóide-Al(III) (Figura 13) de cor amarela, que proporciona um deslocamento batocrómico das bandas de absorvância do espectro de UV/Vis para uma região característica, com um máximo de absorção entre 300 a 400 nm (Savi *et al.*, 2017).



Complexo Quercetina – Al (III)

Figura 13: Ião complexo flavonóide-Al(III), em solução metanólica de cloreto de alumínio

Fonte: (Gutierrez & Gehlen, 2002)

O conteúdo de flavonóides variou de $0,973 \pm 0,042$ a $28,743 \pm 0,145$ mgEQg^{-1} do extracto seco. Em geral, os extractos e fracções obtidos da casca da raiz exibiram menor quantidade de flavonóides em relação às demais partes (casca do caule e folha). O teor de flavonóides decresceu na seguinte ordem: Folhas > Casca do caule > Casca da raiz. Estes metabólitos são os principais repónsáveis pela protecção das plantas contra a luz ultravioleta. Assim, as folhas apresentaram o maior teor de metabólitos presumivelmente porque são mais propensas à radiação ultravioleta em comparação com as raízes e o caule (Harbone & Williams, 2000).

6.2.2. Fenóis totais

A determinação dos fenóis totais, calculados como equivalente de ácido gálico, foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu que tem como reagente uma mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico, no qual o molibdéneo e o tungsténio encontram-se no estado de oxidação VI (Sousa *et al.*, 2007).

O método consiste na redução dos íons complexos de Mo e W pelos compostos fenólicos, neste caso, os agentes redutores, produzindo os chamados azul de molibdénio e de tungsténio, nos quais a média do estado de oxidação dos íons metálicos está entre 5 e 6 cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias via espectrofotometria na região de ultra-violeta visível. A Figura 14 ilustra a reacção em questão (Sousa *et al.*, 2007).

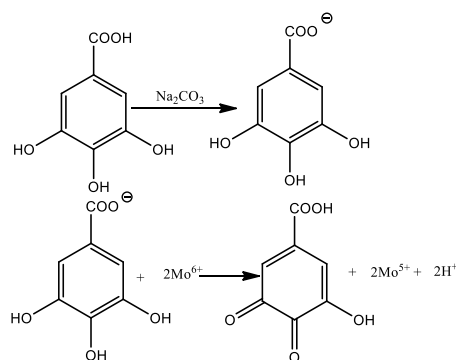


Figura 14: Ilustração da reacção dos íões complexos de Mo

Conforme apresentado na Tabela 4, a análise fitoquímica quantitativa mostrou que a fracção de acetato de etilo apresentou o maior teor de fenóis e flavonóides totais, enquanto a fracção residual aquosa apresentou o menor teor de fenóis e flavonóides totais. O conteúdo fenólico nos extractos e fracções de todas as partes de *S. linnaeanum* diminuiu na seguinte ordem: AE > EB > FC > nBu > Aq.

No extracto metanólico de frutos de *S. linnaeanum*, Mahomoodally & Ramcharun (2015) relataram um teor total de fenóis de $152,80 \pm 1,40 \text{ mgEAGg}^{-1}$ de extracto seco. O conteúdo fenólico total quantificado no presente estudo variou de $1,581 \pm 0,116$ a $49,527 \pm 0,178 \text{ mgEAGg}^{-1}$ de extracto seco, referente a folhas, cascas de caule e da raíz.

6.2.3. Taninos condensados

Os resultados da triagem fitoquímica preliminar na planta em estudo indicam a presença de taninos condensados e a ausência de taninos hidrolisáveis nos extractos e fracções de todos órgãos da planta analisados e por consequência disso no presente estudo foi quantificado apenas o conteúdo de taninos condensados.

Os métodos mais utilizados para a quantificação dos taninos condensados são o butanol-HCl e a vanilina (Schofield *et al.*, 2001; Morais *et al.*, 1999; Agostini-Costa *et al.*, 2003). Para a

determinação deste grupo específico de metabólitos no presente estudo recorreu-se ao método butanol-HCl. O butanol-HCl é específico para a proantocianidina e é considerado o melhor método para a determinação dos taninos condensados, através desta metodologia, subunidades do polímero tanino condensado são oxidados para produzir antocianidina, cuja reacção não envolve a hidrólise (Agostini-Costa *et al.*, 2003; Morais *et al.*, 1999; Schofield *et al.*, 2001).

De acordo com Schofield e colaboradores (2001), o maior problema para o método vanilina reside na reactividade de subunidades de polímeros de taninos, caracterizada pela falta de especificidade para taninos condensados. A base das dificuldades analíticas está na complexidade e variabilidade das estruturas dos taninos condensados.

De acordo com a Tabela 4, o teor de taninos condensados é maior na fracção de acetato de etilo das folhas em comparação com outros extractos e fracções de diferentes partes da planta. Oliveira e colaboradores (2009), relataram que a concentração de taninos, geralmente, é maior nas partes de vegetais expostas ao sol. Em contraste, Haslam (2007), reportou que acúmulos substanciais de taninos podem ocorrer em quase qualquer parte da planta, e o aumento da produção de taninos na planta está frequentemente associado a uma condição patológica particular, sendo a mais familiar e conhecida aquela causada por um ataque de insectos em certas partes da planta. Isso pode explicar a variação heterogénea observada no teor de taninos condensados nas três partes da planta analisadas no presente estudo: o maior teor de taninos condensados foi detectado na fracção acetato de etilo das folhas, na fracção de clorofórmio da casca da raiz e na fracção de n-butanol da casca de caule.

6.3. Correlação de Pearson

De acordo com as correlações de Pearson (R) que são mostradas na tabela 6 observou-se uma distinção das mesmas pela sua magnitude (fortes ou fracas). Mukaka (2012), afirma que existe uma escala de valores absolutos para o coeficiente de correlação de Pearson (R), pelo que, se o valor de R estiver entre 0,00-0,19 a correlação é muito fraca; entre 0,20-0,39 é fraca; 0,40-0,59 é uma correlação moderada; entre 0,60-0,79 é forte e finalmente entre 0,80-1,0 diz-se que é uma correlação muito forte.

6.4. Actividade antioxidante

Apesar da grande produção de antioxidantes em indivíduos saudáveis, os componentes celulares não são protegidos por antioxidantes endógenos em sua totalidade, sendo necessária a busca de antioxidantes exógenos para a complementação do sistema de defesa, isso faz com que o organismo seja protegido de substâncias oxidantes (Cerqueira *et al.*, 2007).

A actividade antioxidante pode ser medida através de vários métodos e não existe um método universal para medir de forma precisa e quantitativa a actividade antioxidante, devido aos diferentes tipos de radicais livres e seus diferentes mecanismos de acção nos organismos vivos (Alves *et al.*, 2010). No presente estudo, três métodos (DPPH, fosfomolibdénio e FRAP) foram empregues para avaliar a capacidade antioxidante dos extractos e fracções das folhas, casca de raiz e casca de caule de *S. linnaeanum*.

6.4.1. DPPH

O 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH^o) é um radical livre estável devido à deslocalização de um electrão desemparelhado por toda a molécula conferindo à solução uma coloração violeta, cuja absorção máxima situa-se a 517 nm (Villaño *et al.*, 2007; Alves *et al.*, 2010; Zengin *et al.*, 2015).

Este radical sintético é relativamente mais estável comparado com outras espécies que tem papel importante no mecanismo de *stress* oxidativo nos sistemas biológicos como é o caso do radical superóxido ou espécies hidroxilo (Zengin *et al.*, 2015).

O método baseia-se na medição da capacidade de uma substância antioxidante em sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, reduzindo-o a hidrazina, devido não só à transferência de electrões, mas também à doação de átomos de hidrogénios que permite a neutralização do radical livre e com a mudança simultânea da coloração a amarela (Figura 15), resultando numa diminuição do valor da absorvância medida espectrofotometricamente a 517 nm e quanto menor o valor da absorvância, maior será a actividade de captura do radical livre (Villaño *et al.*, 2007; Shalab & Shanab, 2013; Alves *et al.*, 2010).

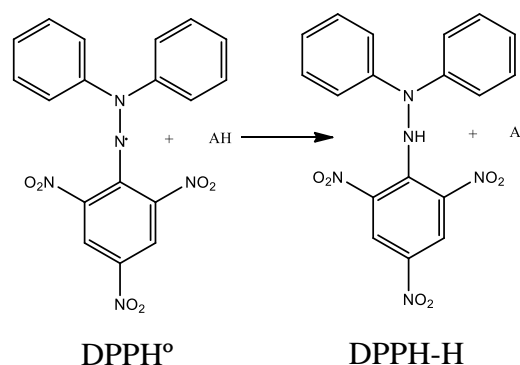


Figura 15: Reacção de redução de DPPH[°] a DPPH-H. **Fonte:** (Oliveira *et al.*, 2009)

As fracções de acetato de etilo das folhas, casca de caule e casca da raiz da planta em estudo exibiram os menores valores de IC₅₀, demonstrando uma capacidade relativamente alta de inibir o radical DPPH. A actividade antioxidante pelo método DPPH para as três partes da planta estudadas diminuiu na seguinte ordem: AE > EB > FC > nBu > Aq. Esta tendência foi semelhante à do conteúdo de fenóis e flavonóides analisados neste estudo, sugerindo que esses metabólitos são a razão subjacente por trás da actividade antioxidante observada.

O facto da fracção de acetato de etilo apresentar melhores resultados frente ao radical livre de DPPH se deve ao alto acúmulo de polifenóis nesta fracção. De acordo com Andrade e colaboradores (2007) os polifenóis apresentam alta solubilidade em acetato de etilo, o que faz com que esta fracção apresente maior actividade antioxidante.

Observou-se correlações moderadas a fortes e positivas entre o teor de fenóis totais, flavonóides totais e a actividade sequestrante de DPPH nas três partes da planta estudadas (Tabela 6), o que está de acordo com os estudos anteriores (Lu *et al.*, 2011; Gonçalves *et al.*, 2013; Kchaou *et al.*, 2013).

Esses resultados também estão de acordo com os apresentados por Zadra e colaboradores (2012) em seu estudo sobre *Solanum guaraniticum* A.ST.- HIL, onde a fracção de acetato de etilo exibiu a melhor capacidade antioxidante pelo método DPPH. Os valores de IC₅₀, nesse caso, seguiram a mesma tendência dos teores de polifenóis totais, ou seja, Acetato de etilo > Extrato bruto > n-butanol > Clorofórmio, sugerindo que esses metabólitos foram os maiores responsáveis pela pronunciada capacidade antioxidante da fracção de acetato de etilo.

A fracção de acetato de etilo de todas as partes de *S. linnaeanum* analisadas no presente estudo apresentou maior actividade antioxidante (IC₅₀ = 347,533 ± 4,219; 513,788 ± 6,713 e

605,281 ± 9,139 µgmL⁻¹) para folhas, cascas de caule e da raiz, respectivamente, do que a capacidade antioxidante demonstrada pelo extracto metanólico de frutos de *S. linnaeanum* analisado pelo método DPPH por Mahomoodally & Ramcharun (2015), com IC₅₀ = 2300 µgmL⁻¹.

6.4.2. Fosfomolibdénio

O poder redutor do complexo de fosfomolibdénio é outro importante ensaio antioxidante *in vitro* utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de extractos vegetais. O princípio do ensaio segue a redução do Mo (VI) em Mo (V) pelo extracto ou composto que possui o potencial antioxidante e conseqüentemente ocorre a formação de um complexo fosfato/Mo (V) com coloração verde em meio ácido, medida espectrofotometricamente a 695 nm, e valores maiores indicam uma actividade maior do complexo fosfomolibdénio, ou seja maior presença de actividade antioxidante nos extractos em estudo (Prieto *et al.*, 1999).

A avaliação pelo método de fosfomolibdénio tem a vantagem de avaliar a capacidade antioxidante de componentes lipofílicos e hidrofílicos e permite avaliar a capacidade total de uma mistura complexa de compostos (extractos e fracções obtidas da planta) (Prieto *et al.*, 1999). A actividade antioxidante total diminuiu na seguinte ordem: AE > FC > EB > nBu > Aq. A fracção de acetato de etilo das folhas, casca do caule e casca da raiz apresentou o maior potencial antioxidante de redução do complexo de fosfomolibdénio com actividades de 35,091 ± 0,150%, 22,962 ± 0,492% e 20,916 ± 0,396%, respectivamente, enquanto a fracção aquosa residual apresentou o menor potencial antioxidante de redução do complexo de fosfomolibdénio com actividades de 7,087 ± 0,567%, 5,676 ± 0,908% e 4,638 ± 0,563%, respectivamente.

A correlação entre fenóis totais/flavonóides totais com a actividade antioxidante pelo método de fosfomolibdénio é apresentada na Tabela 6. O coeficiente de correlação de Pearson (r) foi maior para o teor de fenóis totais do que para o teor de flavonóides totais. A actividade antioxidante no ensaio de fosfomolibdénio pode estar relacionada a uma mistura complexa de componentes químicos, com efeito sinérgico (Balestrin *et al.*, 2008).

6.4.3. FRAP

No método FRAP, o potencial de redução dos compostos antioxidantes é medido com base na capacidade de redução do complexo férrico-tripiridil-triazina (Fe^{3+} - TPTZ) na sua forma ferrosa (Fe^{2+} - TPTZ). A reacção ocorre em meio ácido na presença de uma solução tampão e tem como produto final um complexo reduzido de cor azul intensa conforme mostrado na Figura 16, cuja absorvância é medida espectrofotometricamente a 593 nm (Benzie & Strain, 1996).

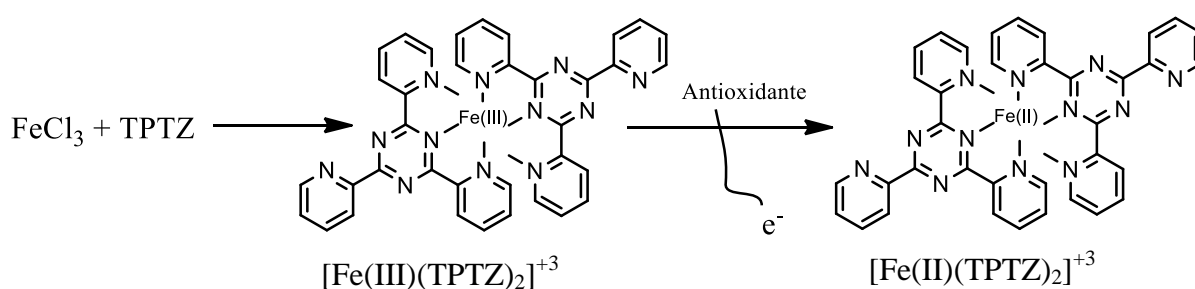


Figura 16: Reacção química que descreve a forma ferrosa (Fe^{2+}) a partir da redução de Fe^{+3} (forma férrica) presente no complexo com TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina)

Quanto maior a absorvância ou intensidade da coloração, maior será o potencial antioxidante uma vez que o método FRAP mede directamente a capacidade de redução da substância, que é considerado um parâmetro importante na determinação de um bom antioxidante (Urrea-Victoria *et al.*, 2016; Firuzi *et al.*, 2005).

Segundo Vignoli *et al.* (2012), o ensaio de FRAP mede os mecanismos de transferência de electrões que em combinação com outros métodos, pode ser útil na distinção de mecanismos dominantes com diferentes antioxidantes.

Embora este método tenha sido desenvolvido originalmente com o intuito de determinar o poder antioxidante do plasma, tem sido actualmente aplicado a diferentes extractos vegetais e oferece alta reprodutibilidade, simplicidade e baixos custos (Benzie & Strain, 1996; Liang & Kitts, 2014).

O Poder Antioxidante de Redução de Ferro (FRAP) de diferentes extractos foi estimado a partir de sua capacidade de reduzir TPTZ-Fe (III) a TPTZ-Fe (II). A capacidade de reduzir o Fe^{3+} é um bom indicador da potencial actividade antioxidante de um determinado extracto, porém, esse mecanismo não é exclusivo da actividade antioxidante (Lee *et al.*, 2013). Este

mede a capacidade dos compostos antioxidantes (agentes redutores) de actuarem por meio de um mecanismo de transferência de electrões, o que pode não necessariamente reflectir a actividade antioxidante da amostra (Shalab & Shanab, 2013). Assim, nem todos os agentes redutores que podem reduzir o Fe^{3+} são antioxidantes e nem todos os compostos antioxidantes são capazes de reduzir o Fe^{3+} (como é o caso dos grupos tiol contendo glutationa) (Liang & Kitts, 2014).

Conforme mostrado na Tabela 5, o maior poder redutor do Fe^{3+} nas três partes de *S. linnaeanum* (folhas, casca do caule e casca da raiz), foi observado na fracção de acetato de etilo ($322,070 \pm 3,375$; $183,520 \pm 3,467$ e $62,370 \pm 1,447 \mu\text{MFe}^{2+}\text{g}^{-1}$, respectivamente). A actividade antioxidante pelo método FRAP em extractos e fracções de *S. linnaeanum*, decresceu na seguinte ordem: AE > FC > EB > nBu > Aq. Esses resultados são semelhantes aos encontrados com o método do fosfomolibdénio.

A correlação do teor de fenóis totais e de flavonóides totais com a actividade antioxidante pelo método FRAP é mostrada na Tabela 6. O coeficiente de correlação de Pearson (r) foi forte para ambos fitoconstituintes.

6.5. Actividade antimicrobiana dos extractos brutos hidroetanólicos e fracções de acetato de etilo de *S. linnaeanum*

A susceptibilidade antimicrobiana dos extractos brutos hidroetanólicos e as respectivas fracções de acetato de etilo obtidos por maceração dinâmica sucessiva e partição líquido-líquido nas cascas de raiz, caule e folhas de *S. linnaeanum* foi avaliada pelo método de difusão de disco em agar, utilizando quatro espécies bacterianas, nomeadamente *E. coli* ATCC 25922, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *S. aureus* ATCC 29213, *E. Faecalis* ATCC 29212 e uma espécie levedura: *C. albicans* ATCC 10231.

A análise do potencial antimicrobiano dos extractos foi baseada no diâmetro do halo de inibição em milímetros de crescimento microbiano em torno do disco, que se encontrava impregnado com uma concentração de extracto que variou de 15,625 a 500 mgmL^{-1} . No caso da não existência de um halo de inibição, foi assumido que os extractos não apresentavam susceptibilidade ao agente antimicrobiano testado.

A actividade antimicrobiana dos extractos foi comparada com a presença de um controlo

negativo, o solvente utilizado para diluição dos extractos, o DMSO, e um controlo positivo, o antibiótico de referência para cada estirpe microbiana. Assim, foi possível averiguar a sensibilidade do método em cada ensaio, e o mesmo só é válido se o controlo positivo mostrar crescimento microbiano e o controlo negativo não mostrar crescimento (Andrews, 2001).

Apesar de ser uma substância relativamente tóxica, o DMSO foi selecionado como solvente de dissolução dos extractos devido a sua estabilidade e as suas excepcionais propriedades de solvente. Contudo, segundo Randhawa (2006), os fungos apresentam uma ligeira susceptibilidade antifúngica a este solvente, pois este afeta o seu crescimento. Desta forma, o DMSO pode potenciar a acção antifúngica dos extractos através do efeito sinérgico entre estes agentes em estudo e o solvente selecionado. Para inibir o efeito antifúngico do DMSO, este foi diluído a 50% em meio de cultura (Hazen, 2013; Randhawa, 2006).

Os resultados para a actividade antimicrobiana de extractos brutos hidroetanólicos e fracções de acetato de etilo da casca da raiz, casca de caule e folhas de *S. linnaeanum* são mostrados na Tabela 7 e 8. Nenhum dos extractos e fracções apresentou uma actividade antimicrobiana em concentrações abaixo de $31,25 \text{ mgmL}^{-1}$.

A fracção de acetato de etilo da casca de caule apresentou o menor valor de Concentração Inibitória Mínima (CIM) ($31,25 \text{ mgmL}^{-1}$ para a bactéria *S. pneumoniae* e $62,5 \text{ mgmL}^{-1}$ para o fungo *C. albicans*), seguida da fracção de acetato de etilo da folha com $62,5 \text{ mgmL}^{-1}$ referente a bactéria *S. pneumoniae*. Os presentes resultados mostram que as fracções de acetato de etilo apresentaram melhor efeito inibitório em comparação com os extractos brutos hidroetanólicos.

Holetz e colaboradores (2002), categorizaram a actividade antimicrobiana do extracto vegetal da seguinte forma: CIM menor que $100 \mu\text{gmL}^{-1}$ – bom; 100 a $500 \mu\text{gmL}^{-1}$ – moderado; 500 a $1000 \mu\text{gmL}^{-1}$ – fraco; acima de $1000 \mu\text{gmL}^{-1}$ – inactivo. Portanto, no presente estudo, os extractos brutos hidroetanólicos e as fracções de acetato de etilo de *S. linnaeanum* são considerados inactivos contra os microrganismos seleccionados.

A ausência de metabólitos com forte actividade antibacteriana como saponinas, antraquinonas, alcalóides (excepto nas fracções de acetato de etilo e clorofórmio das folhas) e o baixo teor de taninos nos extractos de *S. linnaeanum* podem ter contribuído

significativamente para a baixa actividade antimicrobiana (Jepkoech & Gakunga, 2017; Soetan *et al.*, 2006; Cushnie *et al.*, 2014; Campos-Xolapa *et al.*, 2021).

Esses resultados são semelhantes aos relatados por Likasha e colaboradores (2017), onde os extractos hidroetanólicos de frutos de *S. linnaeanum* não apresentaram actividade antibacteriana (CIM >1000 µgmL⁻¹) contra *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 e *S. boydii* ATCC 9207. O estudo farmacognóstico e a triagem biológica do extracto etanólico bruto de *Solanum lycocarpum* St. Hill não mostrou actividade antibacteriana e antifúngica (Martins, 2013). Da mesma forma, o extracto hidroetanólico de *Solanum guaraniticum* A. Hil apresentou actividade fraca contra *Pseudomonas aeruginosa*, e, as demais fracções (clorofórmio, acetato de etilo e n-butanol) foram inactivas contra *Klebsiella pneumonia* e *E. coli*. Todos os extractos de *S. guaraniticum* foram inactivos contra fungos (Zadra *et al.*, 2013).

Diferentemente da actividade antioxidante, que apresentou alta correlação com os teores de compostos fenólicos e flavonóides no presente estudo, não houve evidência de correlação positiva entre a actividade antimicrobiana e os teores de compostos fenólicos e flavonóides.

Não é possível correlacionar a actividade antimicrobiana dos extractos com o teor de polifenóis, embora estes apresentem propriedades antimicrobianas e exibam efeitos inibitórios contra diversos microorganismos, devido à presença de substâncias interferentes nos extractos (Cowan, 1999).

Em pesquisas feitas por meio de fontes orais aos praticantes da medicina tradicional nas comunidades locais, bem como na literatura científica, não foram encontrados relatos sobre o uso das três partes da planta como antimicrobianos. Os resultados deste estudo justificam a não utilização desta planta na medicina tradicional para combater as doenças causadas por microorganismos.

7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

7.1. Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho, permitem inferir o seguinte:

A análise fitoquímica preliminar qualitativa dos extractos e fracções nas folhas e cascas de raiz e de caule de *S. linnaeanum* revelou a presença de fénois, flavonóides, taninos condensados e cumarinas em todos os extractos e fracções analisados. As antraquinonas e saponinas não foram detectadas, e os alcalóides foram detectados apenas nas fracções de clorofórmio e de acetato de etilo das folhas. A análise fitoquímica quantitativa revelou que a fracção de acetato de etilo na folha apresenta alto teor de compostos polifenólicos.

A avaliação da actividade antioxidante dos extractos da planta pelos métodos de redução de radical livre de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), redução do complexo de fosfomolibdénio e poder de redução de ferro - FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), demonstrou que a fracção de acetato de etilo na folha tem melhor actividade antioxidante em comparação com as outras partes da planta estudadas o que pode ser atribuído ao maior teor de compostos polifenólicos detectados nesta fracção.

Os resultados da avaliação da actividade antioxidante nos três métodos usados no presente estudo demonstraram uma boa correlação com o teor dos compostos polifenólicos detectados nos extractos de todas partes de *S. linnaeanum*, sugerindo que estes foram os principais responsáveis pela capacidade antioxidante evidenciada pelos extractos e fracções da planta estudada.

Estes resultados sugerem que as folhas, as cascas de caule e de raiz de *S. linnaeanum* podem apresentar propriedades antioxidantes, oferecendo protecção contra radicais livres, além de ser uma importante e promissora fonte de antioxidantes naturais. No entanto, o extracto de *S. linnaeanum* não foi eficiente em inibir o crescimento das cepas microbianas estudadas.

A presença dos metabólitos secundários e a actividade antioxidante revelada no presente estudo pode explicar o uso desta planta na medicina tradicional.

7.2. Recomendações

Os resultados obtidos no presente estudo revelaram que a fracção de acetato de etilo de *S. linnaeanum* é uma fonte promissora de compostos bioactivos com propriedades antioxidantes, no entanto esta foi uma das primeiras tentativas de estabelecer dados valiosos sobre a bioactividade desta espécie, nesse contexto é extremamente pertinente a continuidade deste trabalho de investigação e recomenda-se:

A obtenção dos extractos e fracções de *S. linnaeanum* explorando outros solventes ou técnicas de extracção.

O estudo da capacidade antimicrobiana com outras estirpes bacterianas e fúngicas, bem como a exploração de outros métodos de avaliação antimicrobiana como é o caso de microdiluição em caldo.

A espécie estudada demonstrou-se relevante para os fins medicinais aos quais são popularmente utilizados e devido a este potencial antioxidante, merece estudos fitoquímicos bioguiados mais aprofundados, ou seja, a realização de mais ensaios para o isolamento, purificação e elucidação estrutural dos compostos activos responsáveis por actividade antioxidante demonstrada por esta espécie nas fracções de acetato de etilo.

O estudo toxicológico que forneça um embasamento científico para o uso seguro dos extractos desta espécie.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostini-Costa, T. da S., Lima, A., & Lima, M. V. (2003). Tannin in cashew apple: Vanillin versus butanol acid assay. *Química Nova*, 26(5), 763–765.
- Agra, M. F., Baracho, G. S., Nurit, K., Bas, I. J. L. D., & Coelho, V. P. M. (2007). Medicinal and poisonous diversity of the flora of “ Cariri Paraibano ”, Brazil. *Ethnopharmacology*, 111, 383–395. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.12.007>
- Al-fatimi, M., Wurster, M., Schroder, G., & Lindequist, U. (2007). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. *Ethnopharmacology*, 111, 657–666. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.01.018>
- Al-rehaily, A. J., Ahmad, M. S., Mustafa, J., Al-oqail, M. M., Hassan, W. H., Khan, S. I., & Khan, I. A. (2013). Solanopubamine, a rare steroidal alkaloid from *Solanum schimperianum*: Synthesis of some new alkyl and acyl derivatives, their anticancer and antimicrobial evaluation. *Journal of Saudi Chemical Society*, 17(1), 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2011.10.003>
- Alves, C. Q., David, J. M., David, J. P., Bahia, M. V., & Aguiar, R. M. (2010). Methods for determination of in vitro antioxidant activity for extracts and organic compounds. *Química Nova*, 33(10), 2202–2210. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>
- Amorim, E. L. C. De, Almeida de Castro, V. T. N. de, de Melo, J. G., Chernichiarro Correa, A. J., & Silva Peixoto Sobrinho, T. J. da. (2012). Standard Operating Procedures (SOP) for the spectrophotometric determination of phenolic compounds contained in plant samples. *InTech*, 47–66. <https://doi.org/10.5772/51686>
- Andrade, C. A. De, Costa, C. K., Bora, K., Miguel, M. D., Gomes Miguel, O., & Kerber, V. A. (2007). Determination of the phenolic content and evaluation of the antioxidant activity of *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(2), 231–235. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2007000200017>
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Antimicrobial Chemotherapy*, 48(1), 5–16.
- Balachandran, C., & Durairandiyan, V. (2012). Antimicrobial and Antimycobacterial Activities of Methyl Caffeate Isolated from *Solanum torvum* Swartz . Fruit. *Indian Journal of Microbiology*, 52(4), 676–681. <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0313-8>
- Balestrin, L., Dias, J. F. G., Miguel, O. G., Dall’Stella, D. S. G., & Miguel, M. D. (2008).

- Contribution to the phytochemical study of *Dorstenia multiformis* Miquel (Moraceae) with approach in antioxidant activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(2), 230–235. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2008000200016>
- Barbosa, H. M., Albino, A. M., Cavalcante, F. S. A., & Lima, R. A. (2017). Phytochemical approach of secondary metabolites in *Solanum acanthodes* (Solanaceae) Hook. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, 4(1), 30–41.
- Bargah, R. K. (2015). Preliminary test of phytochemical screening of crude ethanolic and aqueous extract of *Moringa pterygosperma* Gaertn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(1), 7–9. <http://www.phytojournal.com/archives/2015/vol4issue1/PartA/6.1.pdf>
- Benzie, I., & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76. <https://doi.org/10.1039/c6ay01739h>
- Bhalodia, N. R., & Shukla, V. J. (2011). Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 2(2), 104–109. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.82956>
- Butler, L. G., Riedl, D. J., Lebryk, D. G., & Blytt, H. J. (1984). Interaction of proteins with sorghum Tannin : mechanism , specificity and significance. *Jaocs*, 61(5), 916–920.
- Campos-Xolapa, N., Pérez-Ramos, J., Esquivel-Campos, A., Pérez-Gozález, C., Sánchez-Pérez, L., & Pérez-Gutiérrez, S. (2021). Cytotoxic and antimicrobial activities of quinones isolated from different organism. *IntechOpen*, 1–37.
- Celeghini, R. M. S., Vilegas, J. H. Y., Lanças, F. M., Química, I. De, Carlos, D. S., Paulo, U. D. S., & Sp, S. C. (2001). Extraction and quantitative HPLC analysis of coumarin in hydroalcoholic extracts of *Mikania glomerata* Spreng . (“ guaco ”) Leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12(6), 706–709.
- Cerqueira, F. M., Medeiros, M., & Augusto, O. (2007). Dietetic antioxidant: Controversies and perspectives. *Química Nova*, 30(2), 441–449.
- Chah, K. F., Muko, K. N., & Oboegbulem, S. I. (2000). Antimicrobial activity of methanolic extract of *Solanum torvum* fruit. *Fitoterapia*, 71, 187–189.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *American Society for Microbiology*, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.1128/cmr.12.4.564>
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids : An overview of their

- antibacterial , antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44, 377–386. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Djeridane, A. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 654–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>
- Elizalde-Romero, C. A., Montoya-Inzunza, L. A., Contreras-Angulo, L. A., Heredia, J. B., & Gutiérrez-Grijalva, E. P. (2021). Solanum fruits: Phytochemicals, bioaccessibility and bioavailability, and their relationship with their health-promoting effects. *Frontiers in Nutrition*, 8(November), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.790582>
- Essien, E. E., Ogunwande, I. A., Setzer, W. N., & Ekundayo, O. (2012). Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxicity studies on *S. erianthum* and *S. macranthum* essential oils. *Pharmaceutical Biology*, 50(4), 474–480. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.614623>
- Farjana, A., Zerín, N., & Kabir, M. S. (2014). Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(2), 920–923. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60758-1](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60758-1)
- Firuzi, O., Lacanna, A., Petrucci, R., Marrosu, G., & Saso, L. (2005). Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by “ferric reducing antioxidant power” assay and cyclic voltammetry. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1721, 174–184. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.11.001>
- Franco, D. P., Pereira, T. M., Vitorio, F., Nadur, N. F., Lacerda, R. B., & Kümmerle, A. E. (2021). The importance of coumarins for medicinal chemistry and development of bioactive compounds in the last years. *Química Nova*, 44(2), 180–197.
- Friedman, M. (2006). Potato glycoalkaloids and metabolites: Roles in the plant and in the diet. *Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8655–8681.
- Gaikwad, R. S., Kakde, R. B., Kulkarni, A. U., Gaikwad, D. R., & Panchal, V. H. (2012). In vitro antimicrobial activity of crude extracts of *Jatropha* species. *Current Botany*, 3(3), 9–15.
- Gawron-Gzella, A., Dudek-Makuch, M., & Matławska, I. (2012). DPPH radical scavenging activity and phenolic compound content in different leaf extracts from selected

- blackberry species. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 54(2), 32–38.
<https://doi.org/10.2478/v10182-012-0017-8>
- Geetha, T. S., & Geetha, N. (2014). Phytochemical screening, quantitative analysis of primary and secondary metabolites of *Cymbopogon citratus* (DC) stapf. Leaves from Kodaikanal hills, Tamilnadu. *International Journal of PharmTech Research*, 6(2), 521–529.
- Ghosh, A., Mandal, B., Chandra, G., Kanti Das, B., & Roy, A. (2008). Antibacterial activity of some medicinal plant extracts. *Nature Medicine*, 62, 259–262.
<https://doi.org/10.1007/s11418-007-0216-x>
- Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Medicinal plants: Factors of influence on the content of secondary metabolites. *Quimica Nova*, 30(2), 374–381.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>
- Gonçalves, S., Gomes, D., Costa, P., & Romano, A. (2013). The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 43, 465–471. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.066>
- Gonçalves, Vieira, G. de D., Cunha, P. N. A., Kissler, T. V. L., Hernandez, A. E. F., & Teles, C. B. G. (2016). Phytochemical Characterization and antimicrobial activity of *Solanum subinerme* (Solanaceae) extracts. *Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde*, 18(2), 8–16.
- Gurbuz, N., Karabey, F., Ozturk, T. K., Kiliç, A., Frary, A., & Doganlar, S. (2015). Glycoalkaloid isolation from *Solanum linnaeanum* berries. *Fruits*, 70(6), 371–375.
<https://doi.org/10.1051/fruits/2015037>
- Gutierrez, A. C., & Gehlen, M. H. (2002). Time resolved fluorescence spectroscopy of quercetin and morin complexes with Al³⁺. *Spectrochimica Acta Part A*, 58(1), 83–89.
[https://doi.org/10.1016/S1386-1425\(01\)00515-7](https://doi.org/10.1016/S1386-1425(01)00515-7)
- Harbone, J., & Williams, C. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481–504.
- Haslam, E. (2007). Vegetable tannins - Lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, 68, 2713–2721. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.09.009>
- Hazen, K. C. (2013). Influence of DMSO on antifungal activity during susceptibility testing in vitro. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 75(1), 60–63.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.09.002>
- Holetz, F. B., Pessini, G. L., Sanches, N. R., Cortez, A. G., Nakamura, C. V., Prado, B., & Filho, D. (2002). Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the

- treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(7), 1027–1031.
- Iikasha, A., Bock, R., & Mumbengegwi, D. (2017). Phytochemical screening and antibacterial activity of selected medicinal plants against laboratory diarrheal bacteria strains. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*, 6(5), 2337–2342.
- Inamdar, N., Edalat, S., Kotwal, V., & Pawar, S. (2008). Herbal drugs in milieu of modern drugs. *International Journal of Green Pharmacy*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.39154>
- Jash, S. K., & Brahmachari, G. (2013). Recent progress in the research of naturally occurring flavonoids: A look through. *Journal of Organic and Biomolecular Chemistry*, 1, 65–168.
- Jepkoech, K., & Gakunga, N. (2017). Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Solanum incanum* fruit extract against clinical samples of *Staphylococcus aureus* collecting from Nakuru Provincial General Hospital Laboratory, Kenya. *International Research Journal of Medicine and Biomedical Sciences*, 2(1), 1–8.
- Katou, T., Kasuya, M., Kagamimori, S., Kozuka, H., & Kawano, S. (1989). Effects of air pollution on tannin biosynthesis and predation damage in *cryptomeria Japonica*. *Phytochemistry*, 28(2), 439–445.
- Kaunda, J. S., & Zhang, Y. J. (2019). The genus *Solanum*: An ethnopharmacological, phytochemical and biological properties Review. *Natural Products and Bioprospecting*, 9, 77–137. <https://doi.org/10.1007/s13659-019-0201-6>
- Kaunda, J. S., & Zhang, Y. J. (2020). Chemical constituents from the fruits of *Solanum incanum* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 90, 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104031>
- Kchaou, W., Abbès, F., Blecker, C., Attia, H., & Besbes, S. (2013). Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Industrial Crops and Products*, 45, 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.028>
- Khan, R., Islam, B., Akram, M., Shakil, S., Ahmad, A., Ali, S. M., Siddiqui, M., & Khan, A. U. (2009). Antimicrobial activity of five herbal extracts against Multi Drug Resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. *Molecules*, 14, 586–597. <https://doi.org/10.3390/molecules14020586>
- Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B., & Možina, S. S. (2010). Evaluation of diffusion and

- dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, *81*, 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.02.004>
- Lee, Y. J., Kim, D. B., Lee, J. S., Cho, J. H., Kim, B. K., Choi, H. S., Lee, B. Y., & Lee, O. H. (2013). Antioxidant activity and anti-adipogenic effects of wild herbs mainly cultivated in Korea. *Molecules*, *18*, 12937–12950. <https://doi.org/10.3390/molecules181012937>
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: Assessment of methods that define mechanism of action. *Molecules*, *19*, 19180–19208. <https://doi.org/10.3390/molecules191119180>
- Lu, M., Yuan, B., Zeng, M., & Chen, J. (2011). Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. *Food Research International*, *44*, 530–536. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.055>
- Mahomoodally, F. M., & Ramcharun, S. (2015). In vitro kinetic of inhibition of lipase, antioxidant activity, glucose entrapment and polyphenolic content of *Solanum linnaeanum*. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, *5*(6), 383–396. <https://doi.org/10.1080/22311866.2016.1143785>
- Maridass, M., & De Brito, J. (2008). Origins of plant derived medicines. *Ethnobotanical Leaflets*, *12*, 373–387.
- Martins, G. Z. (2013). *Estudo Farmacognóstico e Screening Biológico de Solanum lycocarpum St . Hill (Solanaceae)*. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Araraquara.172 pp.
- Matias, L. D. J., Rocha, J. A., Royo, V. D. A., & Menezes, E. V. (2019). Phytochemistry in Medicinal Species of *Solanum L . (Solanaceae)*. *Pharmacognosy Research*, *11*, 47–50. <https://doi.org/10.4103/pr.pr>
- Morais, S. A. L., Nascimento, E. A., Queiroz, C. R. A. A., Piló-Veloso, D., & Drumond, M. G. (1999). Studies on Polyphenols and Lignin of *Astronium urundeuva* Wood. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *10*(6), 447–452. <https://doi.org/10.1590/S0103-50531999000600005>
- Mukaka, M. M. (2012). Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*, *24*(3), 69–71.
- Muruhan, S., Selvaraj, S., & Viswanathan, P. K. (2013). In vitro antioxidant activities of *Solanum surattense* leaf extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *3*(1), 28–34. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60019-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60019-2)

- Oliveira, Bevilaqua, C. M. L., Costa, C. T. C., Macedo, I. T. F., Barros, R. S., Rodrigues, A. C. M., Camurça-Vasconcelos, A. L. F., Morais, S. M., Lima, Y. C., Vieira, L. S., & Navarro, A. M. C. (2009). Anthelmintic activity of *Cocos nucifera* L. against sheep gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, *159*(1), 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.10.018>
- Olmstead, R. G., Bohs, L., Migid, H. A., Santiago-, E., Garcia, V. F., Collier, S. M., Olmstead, R. G., Bohs, L., Migid, H. A., Santiago-valentin, E., Garcia, V. F., & Collier, S. M. (2008). A molecular phylogeny of the Solanaceae. *Taxon*, *57*(4), 1159–1181.
- Pandey, A., & Kumar, S. (2013). Perspective on plant products as antimicrobials agents: A review. *Pharmacologia*, *4*(7), 469–480.
- Pereira, I., & Vega, M. R. G. (2016). Flavonoids from the Genus *Solanum*. *Revista Virtual de Química*, *8*(1), 4–26. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20160021>
- Pinto, E., Amorozo, M., & Furlan, A. (2006). Folk knowledge about medicinal plants within rural communities in Atlantic Forest, Itacaré, Bahia State, Brazil. *Acta Botânica Brasilica*, *20*(4), 751–762.
- Pinto, Silveira, E., Pessoa, O., Braz-Filho, R., Silva, F., Theodoro, P., & Espíndola, L. (2011). Antifungal glycoalkaloids, flavonoids and other chemical constituents of *Solanum asperum*. *Química Nova*, *34*(2), 284–288. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000200021>
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, *269*, 337–341. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>
- Randhawa, M. A. (2006). The effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on the growth of dermatophytes. *Japanese Journal of Medical Mycology*, *47*, 313–318. <https://doi.org/10.3314/jjmm.47.313>
- Ribeiro, C., & Kaplan, M. (2002). Evolutionary tendency of coumarin-bearing families in angiospermae. *Química Nova*, *25*(4), 533–538.
- Ribeiro, Fortes, C. C., Oliveira, S. C. C., & Castro, C. F. (2007). Assessment of the antioxidant activity of *Solanum paniculatum* (Solanaceae). *Arquivos Ciências Saúde Unipar, Umuarama*, *11*(3), 179–183.
- Santos, M. P. (2014). *Extração e Caracterização de Extractos de Jatropha gossypifolia L. Avaliação da sua actividade antimicrobiana e antioxidante*. Dissertação (Mestrado em

- Engenharia Química e Biológica) Instituto Superior de Engenharia de Lisboa. 147 pp.
- Sauerbrei, A., & Wutzeler, P. (2007). Herpes simplex and varicella-zoster virus infections during pregnancy: current concepts of prevention, diagnosis and therapy. Part 1: Herpes simplex virus infections. *Journal of Medical Microbiology and Immunology*, *196*, 89–94. <https://doi.org/10.1007/s00430-006-0031-0>
- Savi, P. D. R. S., Dos santos, L., Gonçalves, A. M., Biesek, S., & De Lima, C. P. (2017). Analysis of total flavonoids present in some of the most consumed conventional and organic fruits and vegetables in southern Brazil. *DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde*, *12*(1), 275–288. <https://doi.org/10.12957/demetra.2017.22391>
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., & Gupta, A. (2013). Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *1*(6), 168–182.
- Sbhatu, D. B., & Abraha, H. B. (2020). Preliminary antimicrobial profile of *Solanum incanum* L.: A common medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2020*, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2020/3647065>
- Schofield, P., Mbugua, D., & Pell, A. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, *91*(2001), 21–40.
- Schwarz, A., Pinto, E., Haraguchi, M., Oliveira, C. A. De, Bernardi, M. M., & Spinosa, H. D. S. (2007). Phytochemical study of *Solanum lycocarpum* (St . Hil) unripe fruit and its effects on rat gestation. *Phytotherapy Research*, *21*, 1025–1028. <https://doi.org/10.1002/ptr>
- Senkoro, A., Barbosa, F., Maquia, I., & Moura, I. (2012). Estudo e conservação de plantas medicinais em Moçambique. *Atas Do Congresso Internacional Em Moçambique*, 1–5.
- Shalab, E., & Shanab, S. (2013). Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *7*(10), 528–539. <https://doi.org/10.5897/AJPP2013>
- Silva, T. M. S. da, Carvalho, M. G. de, Braz-Filho, R., & Agra, M. de F. (2003). Occurrence of flavones and flavonols aglycones and its glycosides in *Solanum* (Solanaceae). *Química Nova*, *26*(4), 517–522. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422003000400014>
- Sinani, S. S. Al, Eltayeb, E. A., Kamal, Y. T., Khan, M. S., Al, S. S., Eltayeb, E. A., Kamal, Y. T., Khan, M. S., Al, S. S., Eltayeb, E. A., Kamal, Y. T., & Khan, M. S. (2018). Variations in the cytotoxic glycoalkaloids solamargine and solasonine in different parts of the *Solanum incanum* plant during its growth and development in Oman Variations in the cytotoxic glycoalkaloids solamargine and solasonine in different parts of the.

<https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.11.013>

- Soetan, K. O., Oyekunle, M. A., Aiyelaagbe, O. O., & Fafunso, M. A. (2006). Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of *Sorghum Bicolor* L. Moench. *African Journal of Biotechnology*, 5(23), 2405–2407. <https://doi.org/10.4314/ajb.v5i23.56024>
- Sousa, C. M. D. M., Silva, H. R. E., Vieira, G. M., Ayres, M. C. C., Da Costa, C. L. S., Araújo, D. S., Cavalcante, L. C. D., Barros, E. D. S., Araújo, P. B. D. M., Brandão, M. S., & Chaves, M. H. (2007). Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. *Quimica Nova*, 30(2), 351–355. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A Review. *Internationale Phamaceutica Scientia*, 1(1), 98–106. <https://doi.org/10.1002/hep.29375>
- Trindade, T. M. L. S., Carvalho Junior, A. R. de, & Ferreira, R. O. (2021). Phytochemical prospection, total phenol content and anti-radical activity of leaf extract and fraction of *Annona sylvatica* (Annonaceae). *Research, Society and Development*, 10(15), 1–9. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.22811>
- Urrea-Victoria, V., Pires, J., Torres, P. B., Santos, D. Y. A. C. dos, & Chow, F. (2016). Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas. *Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo*, 1–6. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.24094.64322>
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits , vegetables , and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4113–4117.
- Vignoli, J. A., Bassoli, D. G., & Benassi, M. de T. (2012). Antioxidant activity of roasted and instant coffees: Standardization and validation of methodologies. *Coffee Science*, 7(1), 68–75.
- Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230–235. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.050>
- Vorontsova, M. S., & Knapp, S. (2012). A new species of *Solanum* (Solanaceae) from South. *Phytokeys*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.8.2462>
- Wanyonyi, A. W., Chhabra, S. C., Mkoji, G., Njue, W., & Tarus, P. K. (2003). Molluscicidal

- and antimicrobial activity of *Solanum aculeastrum*. *Fitoterapia*, *74*, 298–301. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(03\)00030-3](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(03)00030-3)
- Wuart, C., Mogana, S., Khalifah, S., Mahan, M., Ismail, S., Buckle, M., Narayana, A. K., & Sulaiman, M. (2004). Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia. *Fitoterapia*, *75*, 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2003.07.013>
- Wiest, J. M., Carvalho, H. H. C., Avancin, C. A. M., & Girolometto, G. (2009). Antibacterial activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) extracts. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, *11*(1), 49–55.
- Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, *64*, 3–19. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00300-5)
- Woisky, R., & Salatino, A. (1998). Analisis of Propolis: Some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, *37*(2), 99–105.
- Yusuf, A. A., Lawal, B., Abubakar, A. N., Berinyuy, E. B., Omonije, Y. O., Umar, S. I., Shebe, M. N., & Alhaji, Y. M. (2018). In-vitro antioxidants, antimicrobial and toxicological evaluation of Nigerian *Zingiber officinale*. *Clinical Phytoscience*, *4*(12), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0070-2>
- Zadra, M., Piana, M., Boligon, A. A., De Brum, T. F., Rossato, L., Alves, S. H., Dalmolin, T. V., De Campos, M. M. A., & Athayde, M. L. (2013). In vitro evaluation of the antimicrobial and antimycobacterial activities of *solanum guaraniticum* A. St.-Hil. Leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *3*(9), 19–23. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.3904>
- Zadra, M., Piana, M., De Brum, T. F., Boligon, A. A., De Freitas, R. B., Machado, M. M., Stefanello, S. T., Soares, F. A. A., & Athayde, M. L. (2012). Antioxidant activity and phytochemical composition of the leaves of *solanum guaraniticum* A. St.-Hil. *Molecules*, *17*(11), 12560–12574. <https://doi.org/10.3390/molecules171112560>
- Zemmouri, H., Ammar, S., Boumendjel, A., Messarah, M., El Feki, A., & Bouaziz, M. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of *Borago officinalis* L. leaf extract growing in Algeria. *Arabian Journal of Chemistry*, *12*(8), 1954–1963. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.059>
- Zengin, G., Guler, G. O., Aktumsek, A., Ceylan, R., Picot, C. M. N., & Mahomoodally, M. F. (2015). Enzyme Inhibitory Properties, Antioxidant Activities, and Phytochemical Profile

of Three Medicinal Plants from Turkey. *Advances in Pharmacological Sciences*, 1–9.
<https://doi.org/10.1155/2015/410675>

Zhang, J., Qian, L., Wu, Y., Cai, X., Li, X., Cheng, X., & Qu, D. (2013). Deletion of *pic* results in decreased virulence for a clinical isolate of *Shigella flexneri* 2a from China. *BMC Microbiology*, 13–31.

9. ANEXOS

Anexos A: Correlação entre fenóis totais, flavonóides totais e actividade antioxidante

DPPH - Fenóis totais (casca da raiz)

Tabela A1: Correlação entre o método DPPH e teor de fenóis totais na casca de raiz

Extracto	Fenóis (mgEAGg ⁻¹)	IC ₅₀
EB	9,178	2005,875
FC	6,078	2082,899
AE	23,519	605,281
nBu	5,031	2216,555
Aq	1,581	4505,910

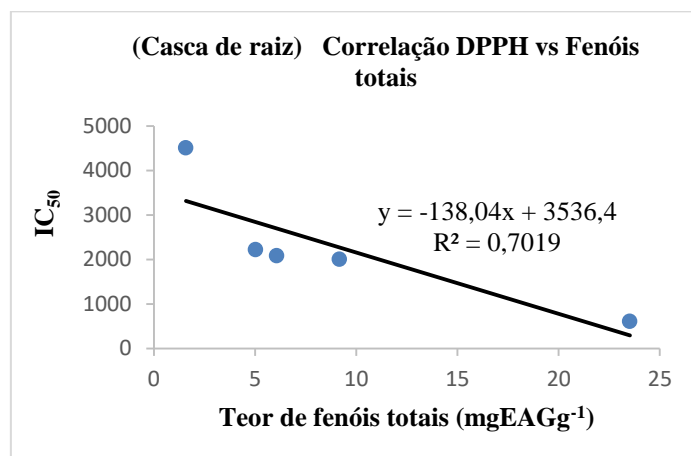


Figura A1: Gráfico de correlação entre o método DPPH e o teor de fenóis totais na casca de raiz

DPPH - Fenóis totais (casca de caule)

Tabela A2: Correlação entre o método DPPH e teor de fenóis totais na casca de caule

Extracto	Fenóis (mgEAGg ⁻¹)	IC ₅₀
EB	20,767	960,630
FC	15,845	1030,467
AE	32,899	513,788
nBu	14,876	1073,294
Aq	5,147	2083,757

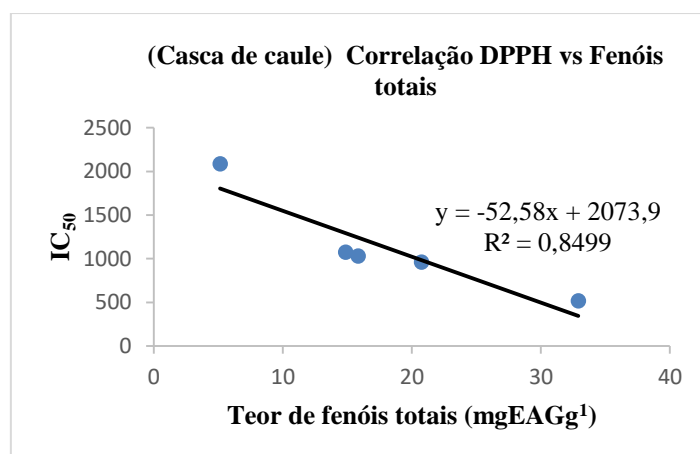


Figura A2: Gráfico de correlação entre o método DPPH e o teor de fenóis totais na casca de caule

DPPH - Fenóis totais (Folha)

Tabela A3: Correlação entre o método DPPH e teor de fenóis totais na folha

Extracto	Fenóis (mgEAGg ⁻¹)	IC ₅₀
EB	40,806	492,362
FC	29,256	708,311
AE	49,527	347,533
nBu	30,922	519,151
Aq	16,581	941,652

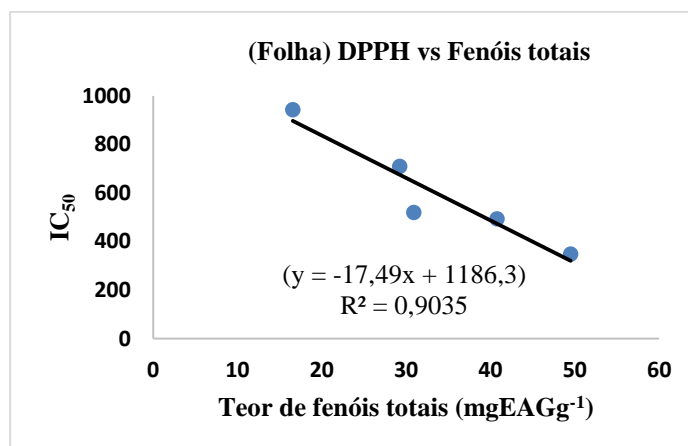


Figura A3: Gráfico de correlação dos valores de IC₅₀ de DPPH e os fenóis totais presentes em cinco extractos da folha.

Fosfomolibdénio - Fenóis totais (casca da raiz)

Tabela A4: Correlação entre o método fosfomolibdénio e teor de fenóis totais na casca de raiz

Extracto	Fenóis (mgEAGg ⁻¹)	%
EB	9,178	10,170
FC	6,078	16,998
AE	23,519	20,916
nBu	5,031	6,799
Aq	1,581	4,638

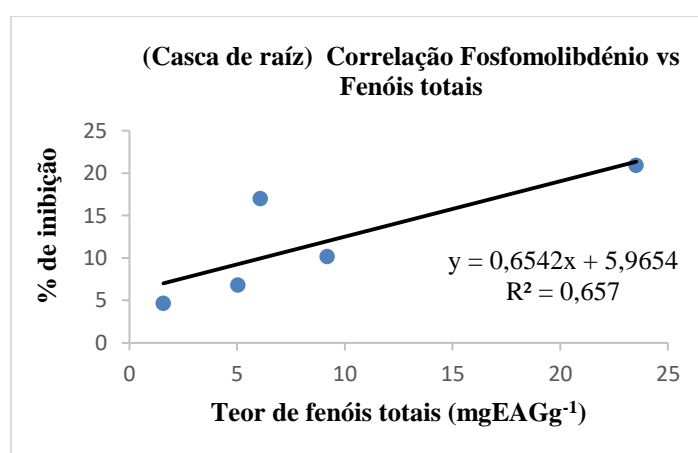


Figura A4: Gráfico de correlação entre o método fosfomolibdénio e o teor de fenóis totais na casca de raiz

Fosfomolibdénio - Fenóis totais (casca de caule)

Tabela A5: Correlação entre o método fosfomolibdénio e teor de fenóis totais na casca de caule

Extracto	Fenóis (mgGAEg ⁻¹)	%
EB	20,767	12,878
FC	15,845	19,994
AE	32,899	22,962
nBu	14,876	8,931
Aq	5,147	5,676

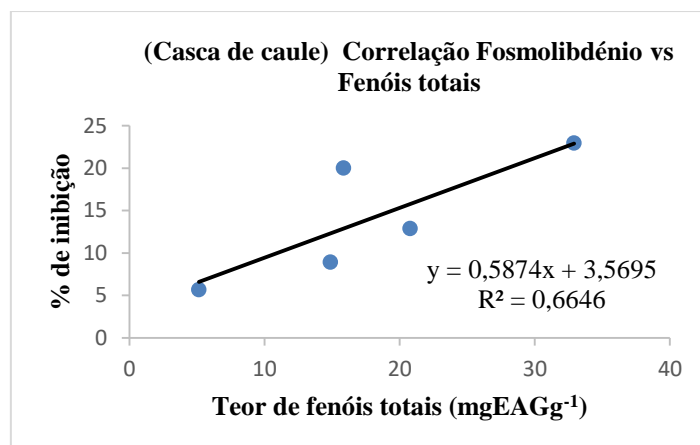


Figura A5: Gráfico de correlação entre o método fosfolibdénio e o teor de fenóis totais na casca de caule

Fosfolibdénio - Fenóis totais (Folha)

Tabela A6: Correlação entre o método fosfolibdénio e teor de fenóis totais na folha

Extracto	Fenóis (mgEAGg ⁻¹)	%
EB	40,806	14,780
FC	30,922	29,617
AE	49,527	35,091
nBu	29,256	10,948
Aq	16,581	7,087

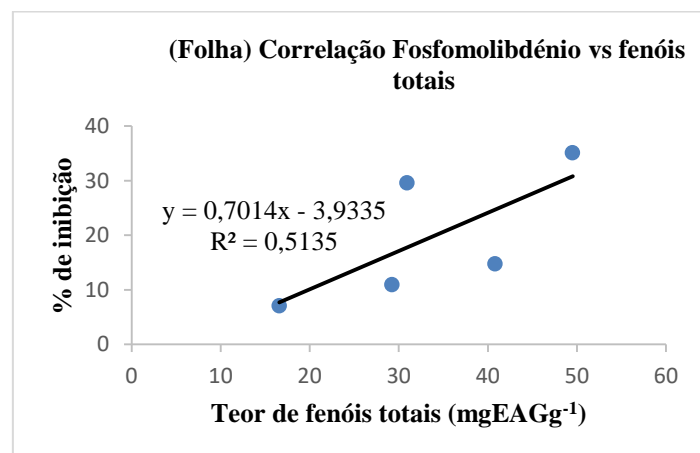


Figura A6: Gráfico de correlação entre o método fosfolibdénio e o teor de fenóis totais na folha

FRAP - Fenóis totais (casca da raiz)

Tabela A7: Correlação entre o método FRAP e o teor de fenóis totais na casca de raiz

Extracto	Fenóis (mgEAGg ⁻¹)	μMFe ⁺² g ⁻¹
EB	9,178	20,370
FC	6,078	36,920
AE	23,519	62,370
nBu	5,031	7,870
Aq	1,581	4,020

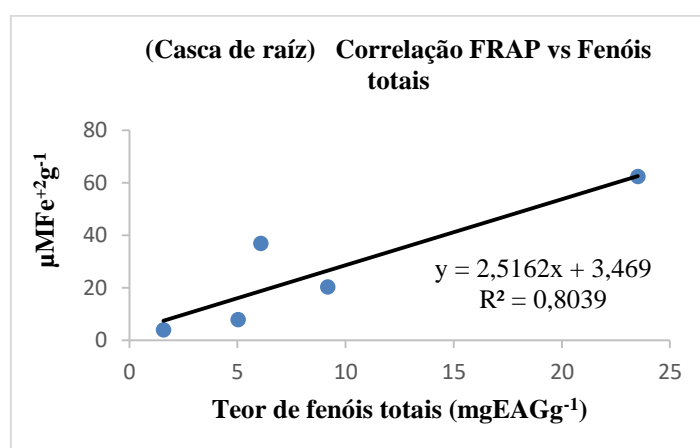


Figura A7: Gráfico de correlação entre o método FRAP e o teor de fenóis totais na casca de raiz

FRAP - Fenóis totais (casca de caule)

Tabela A8: Correlação entre o método FRAP e o teor de fenóis totais na casca de caule

Extracto	Fenóis (mgEAGg ⁻¹)	μMFe ⁺² g ⁻¹
EB	20,767	77,520
FC	15,845	101,920
AE	32,899	183,520
nBu	14,876	46,170
Aq	5,147	34,120

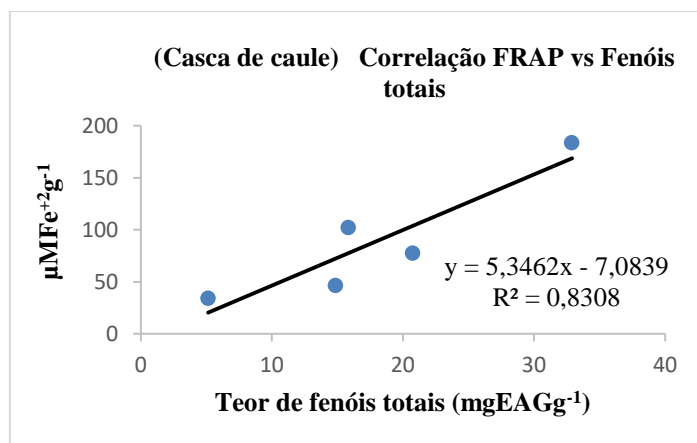


Figura A8: Gráfico de correlação entre o método FRAP e o teor de fenóis totais na casca de caule

FRAP - Fenóis totais (Folha)

Tabela A9: Correlação entre o método FRAP e o teor de fenóis totais na folha

Extracto	Fenóis (mgEAGg ⁻¹)	µMFe ⁺² g ⁻¹
EB	40,806	151,320
FC	29,256	86,120
AE	49,527	322,070
nBu	30,922	161,970
Aq	16,581	67,370

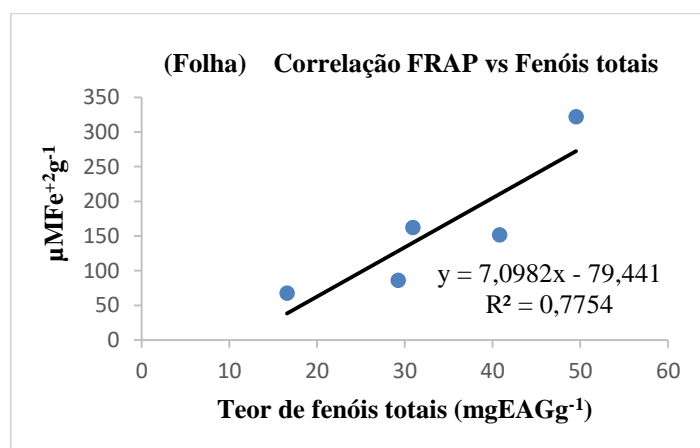


Figura A9: Gráfico de correlação entre o método FRAP e o teor de fenóis totais na folha

DPPH - Flavonóides totais (casca da raiz)

Tabela A10: Correlação entre o método DPPH e o teor de flavonóides totais na casca de raiz

Extracto	Flav. (mgEQg ⁻¹)	IC ₅₀
EB	2,900	2005,875
FC	1,407	2082,899
AE	5,910	605,281
nBu	1,768	2216,555
Aq	0,973	4505,910

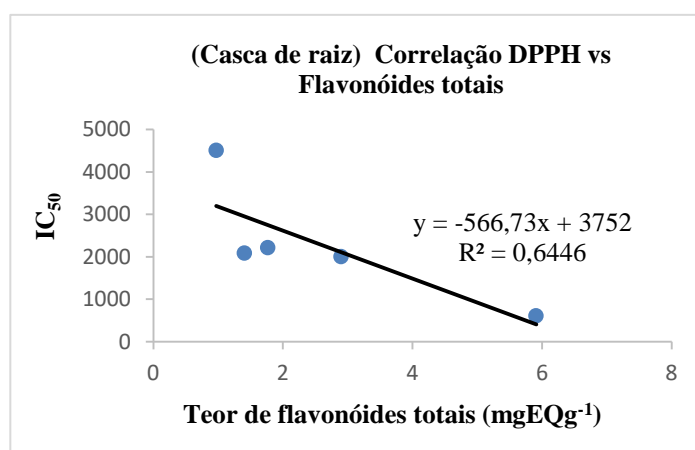


Figura A10: Gráfico de correlação entre o método DPPH e o teor de flavonóides totais na casca de raiz

DPPH - Flavonóides totais (casca de caule)

Tabela A11: Correlação entre o método DPPH e o teor de flavonóides totais na casca de caule

Extracto	Flav. (mgQEg ⁻¹)	IC ₅₀
EB	20,409	960,630
FC	14,123	1030,467
AE	20,217	513,788
nBu	14,557	1073,294
Aq	7,259	2083,757

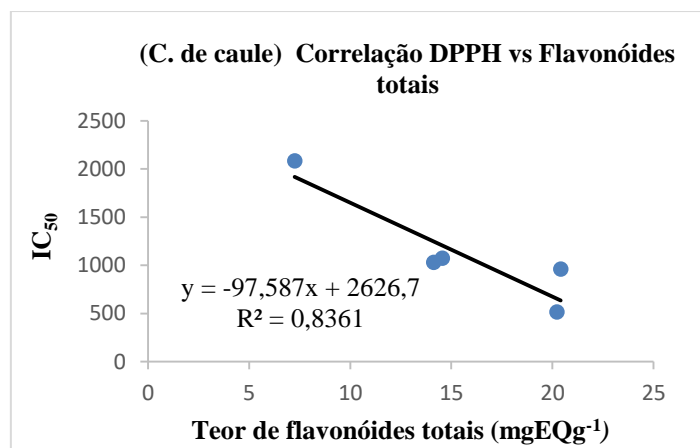


Figura A11: Gráfico de correlação entre o método DPPH e o teor de flavonóides totais na casca de caule

DPPH - Flavonóides totais (Folha)

Tabela A12: Correlação entre o método DPPH e o teor de flavonóides totais na casca de caule

Extracto	Flav. (mgEQg ⁻¹)	IC ₅₀
EB	26,069	492,362
FC	20,602	519,151
AE	28,743	347,533
nBu	21,036	708,311
Aq	9,668	941,652

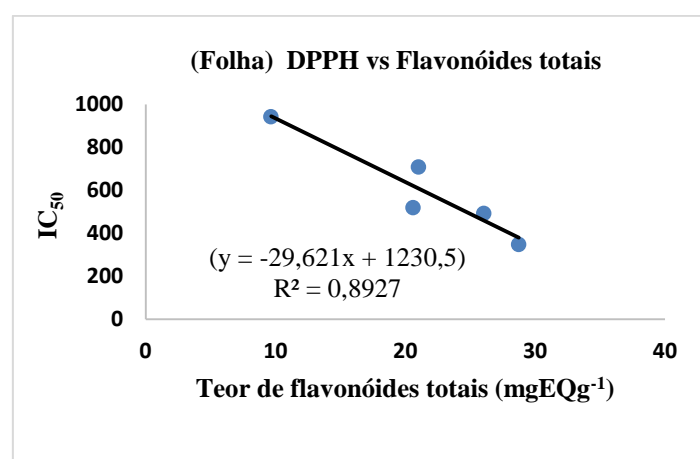


Figura A12: Gráfico de correlação dos valores de IC₅₀ de DPPH e os flavonóides totais presentes em cinco extractos da folha.

Fosfomolibdénio - Flavonóides totais (casca da raiz)

Tabela A13: Correlação entre o método fosfomolibdénio e o teor de flavonóides totais na casca de raiz

Extracto	Flav. (mgQEg ⁻¹)	%
EB	2,900	10,170
FC	1,407	16,998
AE	5,910	20,916
nBu	1,768	6,799
Aq	0,973	4,638

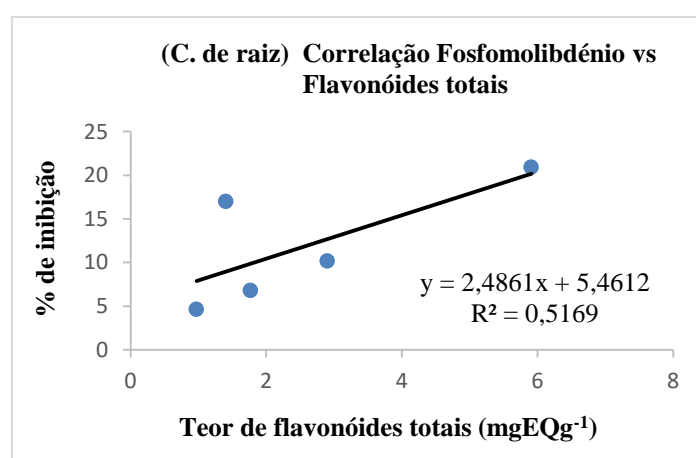


Figura A13: Gráfico de correlação entre o método fosfomolibdénio e o teor de flavonóides totais na casca de raiz

Fosfomolibdénio - Flavonóides totais (casca de caule)

Tabela A14: Correlação entre o método fosfomolibdénio e o teor de flavonóides totais na casca de caule

Extracto	Flav. (mgEQg ⁻¹)	%
EB	20,409	12,878
FC	14,123	19,994
AE	20,217	22,962
nBu	14,557	8,931
Aq	7,259	5,676

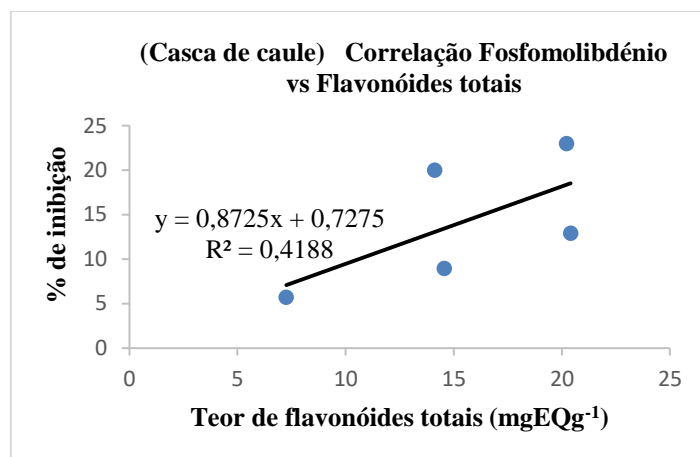


Figura A14: Gráfico de correlação entre o método fosfomolibdénio e o teor de flavonóides totais na casca de caule

Fosfomolibdénio - Flavonóides totais (Folha)

Tabela A15: Correlação entre o método fosfomolibdénio e o teor de flavonóides totais na folha

Extracto	Flav. (mgEQg ⁻¹)	%
EB	26,069	14,780
FC	20,602	29,617
AE	28,743	35,091
nBu	21,036	10,948
Aq	9,668	7,087

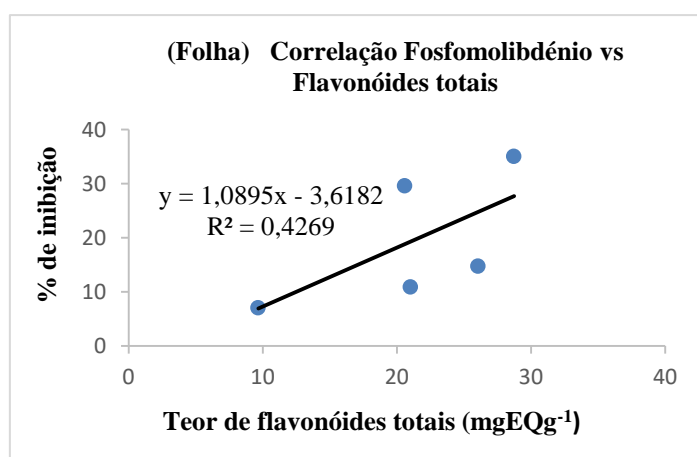


Figura A15: Gráfico de correlação entre o método fosfomolibdénio e o teor de flavonóides totais na folha

FRAP - Flavonóides totais (casca da raiz)

Tabela A16: Correlação entre o método FRAP e o teor de flavonóides totais na casca de raiz

Extracto	Flav. (mgEQg ⁻¹)	μMFe ⁺² g ⁻¹
EB	2,900	20,370
FC	1,407	36,920
AE	5,910	62,370
nBu	1,768	7,870
Aq	0,973	4,020

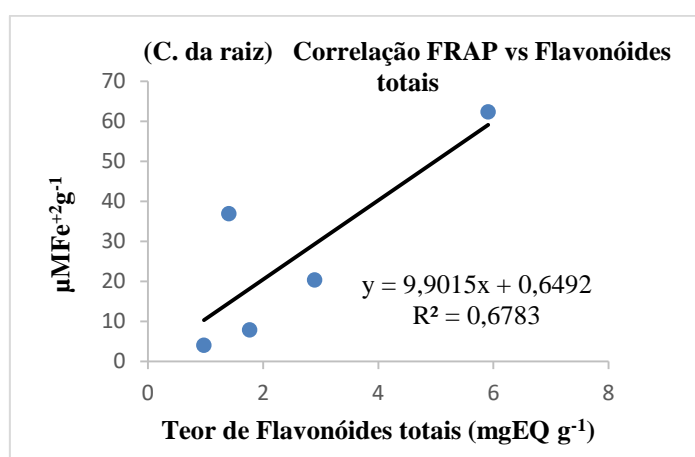


Figura A16: Gráfico de correlação entre o método FRAP e o teor de flavonóides totais na casca de raiz

FRAP - Flavonóides totais (casca de caule)

Tabela A17: Correlação entre o método FRAP e o teor de flavonóides totais na casca de caule

Extracto	Flav. (mgEQg ⁻¹)	μMFe ⁺² g ⁻¹
EB	20,409	77,520
FC	14,123	101,920
AE	20,217	183,520
nBu	14,557	46,170
Aq	7,259	34,120

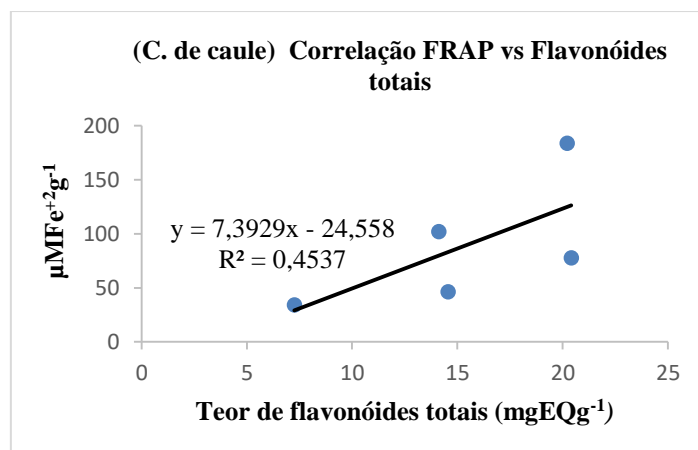


Figura A17: Gráfico de correlação entre o método FRAP e o teor de flavonóides totais na casca de caule

FRAP - Flavonóides totais (Folha)

Tabela A18: Correlação entre o método FRAP e o teor de flavonóides totais na folha

Extracto	Flav. (mgEQg ⁻¹)	μMFe ⁺² g ⁻¹
EB	26,069	151,320
FC	20,602	161,970
AE	28,743	322,070
nBu	21,036	86,120
Aq	9,668	67,370

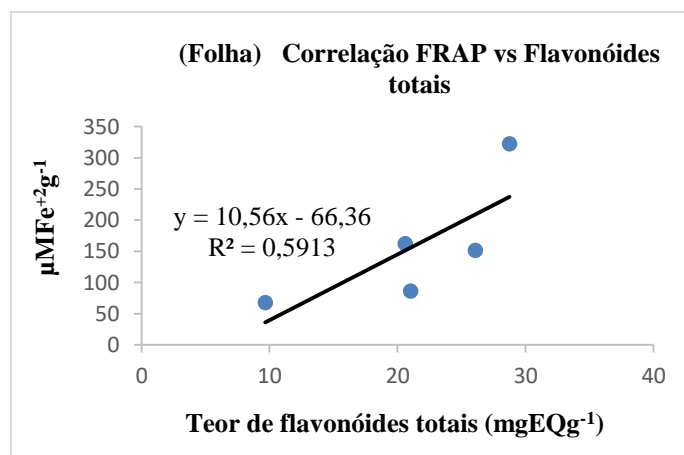


Figura A18: Gráfico de correlação entre o método FRAP e o teor de flavonóides totais na folha

Anexo B: Análise fitoquímica quantitativa

Fenóis totais

Tabela B1: Resultados da absorvância do padrão ácido gálico para a determinação de fenóis totais

Réplicas	$\mu\text{g mL}^{-1}$	Abs	Média	DP	CV (%)
1	1	0,079	0,077	0,002	2,597
2		0,077			
3		0,075			
1	2	0,083	0,082	0,001	1,220
2		0,082			
3		0,081			
1	3	0,085	0,086	0,001	1,163
2		0,087			
3		0,086			
1	4	0,090	0,091	0,002	2,296
2		0,093			
3		0,089			
1	5	0,098	0,097	0,003	3,139
2		0,094			
3		0,100			
1	10	0,114	0,116	0,005	4,086
2		0,112			
3		0,121			

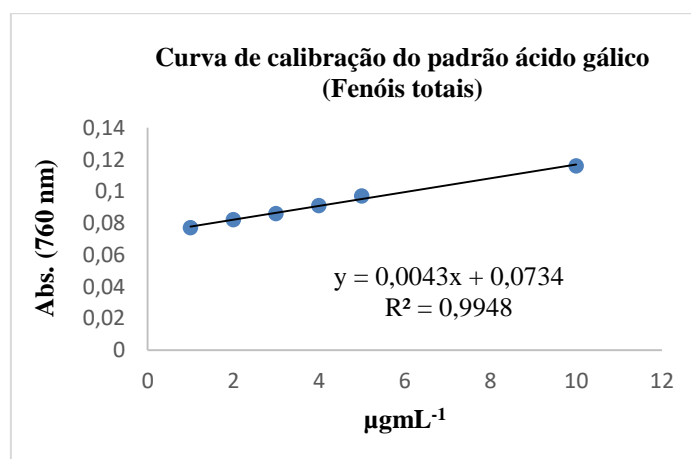


Figura B1: Gráfico da curva de calibração do padrão ácido gálico

Tabela B2: Resultados de fenóis totais nos extractos e fracções da casca de raiz de *S. linnaeanum*.

Amostras	Abs	Média	DP	µg	EAG (µgg ⁻¹)	EAG (mgg ⁻¹)	Média	DP	CV(%)
EB									
1	0,153			18,512	9255,814	9,256			
2	0,151	0,152	0,001	18,047	9023,256	9,023	9,178	0,134	1,463
3	0,153			18,512	9255,814	9,256			
FC									
1	0,126			12,233	6116,279	6,116			
2	0,124	0,126	0,002	11,767	5883,721	5,884	6,078	0,178	2,923
3	0,127			12,465	6232,558	6,233			
AE									
1	0,274			46,651	23325,581	23,326			
2	0,271	0,276	0,006	45,953	22976,744	22,977	23,519	0,661	2,811
3	0,282			48,512	24255,814	24,256			
nBu									
1	0,119			10,605	5302,326	5,302			
2	0,113	0,117	0,003	9,209	4604,651	4,605	5,031	0,374	7,430
3	0,118			10,372	5186,047	5,186			
Aq									
1	0,086			2,930	1465,116	1,465			
2	0,088	0,087	0,001	3,395	1697,674	1,698	1,581	0,116	7,353
3	0,087			3,163	1581,395	1,581			

Tabela B3: Resultados de fenóis totais nos extractos e fracções da casca de cule de *S. linnaeanum*.

Amostras	Abs	Média	DP	μg	EAG (μgg^{-1})	EAG (mgg^{-1})	Média	DP	CV(%)
EB									
1	0,253			41,767	20883,721	20,884			
2	0,251	0,252	0,001	41,302	20651,163	20,651	20,767	0,116	0,560
3	0,252			41,535	20767,442	20,767			
FC									
1	0,207			31,070	15534,884	15,535			
2	0,21	0,210	0,003	31,767	15883,721	15,884	15,845	0,293	1,847
3	0,212			32,233	16116,279	16,116			
AE									
1	0,363			67,349	33674,419	33,674			
2	0,351	0,356	0,006	64,558	32279,070	32,279	32,899	0,710	2,160
3	0,355			65,488	32744,186	32,744			
nBu									
1	0,198			28,977	14488,372	14,488			
2	0,202	0,201	0,003	29,907	14953,488	14,953	14,876	0,355	2,388
3	0,204			30,372	15186,047	15,186			
Aq									
1	0,12			10,837	5418,605	5,419			
2	0,122	0,118	0,006	11,302	5651,163	5,651	5,147	0,681	13,237
3	0,111			8,744	4372,093	4,372			

Tabela B4: Resultados de fenóis totais nos extractos e fracções da folha de *S. linnaeanum*.

Amostras	Abs	Média	DP	µg	EAG (µgg ⁻¹)	EAG (mgg ⁻¹)	Média	DP	CV(%)
EB									
1	0,425			81,767	40883,721	40,884			
2	0,421	0,424	0,003	80,837	40418,605	40,419	40,806	0,355	0,871
3	0,427			82,233	41116,279	41,116			
FC									
1	0,335			60,837	30418,605	30,419			
2	0,338	0,339	0,005	61,535	30767,442	30,767	30,922	0,597	1,930
3	0,345			63,163	31581,395	31,581			
AE									
1	0,501			99,442	49720,930	49,721			
2	0,498	0,499	0,002	98,744	49372,093	49,372	49,527	0,178	0,359
3	0,499			98,977	49488,372	49,488			
nBu									
1	0,315			56,186	28093,023	28,093			
2	0,335	0,325	0,010	60,837	30418,605	30,419	29,256	1,163	3,975
3	0,325			58,512	29255,814	29,256			
Aq									
1	0,212			32,233	16116,279	16,116			
2	0,215	0,216	0,005	32,930	16465,116	16,465	16,581	0,533	3,214
3	0,221			34,326	17162,791	17,163			

Flavonóides totais

Tabela B5: Resultados da absorvância do padrão quercetina para a determinação de flavonóides totais

Réplicas	($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Abs	Média	DP	CV (%)
1	1	0,076	0,076	0,002	2,632
2		0,074			
3		0,078			
1	2	0,137	0,133	0,005	3,544
2		0,128			
3		0,135			
1	3	0,224	0,225	0,002	0,770
2		0,227			
3		0,224			
1	4	0,300	0,301	0,001	0,192
2		0,301			
3		0,301			
1	5	0,378	0,368	0,010	2,717
2		0,358			
3		0,368			
1	10	0,701	0,695	0,020	2,834
2		0,673			
3		0,711			

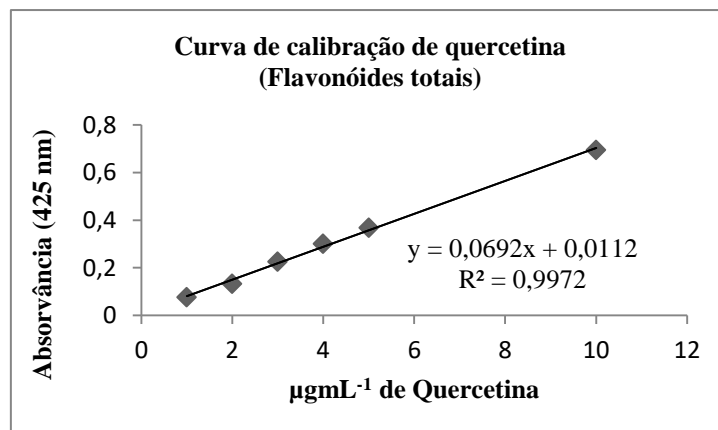


Figura B2: Gráfico da curva de calibração do padrão quercetina

Tabela B6: Resultados de flavonóides totais nos extractos e fracções da casca de raiz de *S. linnaeanum*.

Amostras	Abs	Média	DP	µg	QE (µgg ⁻¹)	QE (mgg ⁻¹)	Média	DP	CV(%)
EB									
1	0,052			0,590	2947,977	2,948			
2	0,049	0,051	0,002	0,546	2731,214	2,731	2,900	0,150	5,187
3	0,053			0,604	3020,231	3,020			
FC									
1	0,031			0,286	1430,636	1,431			
2	0,030	0,031	0,001	0,272	1358,382	1,358	1,407	0,042	2,966
3	0,031			0,286	1430,636	1,431			
AE									
1	0,095			1,211	6054,913	6,055			
2	0,093	0,093	0,002	1,182	5910,405	5,910	5,910	0,145	2,445
3	0,091			1,153	5765,896	5,766			
nBu									
1	0,036			0,358	1791,908	1,792			
2	0,036	0,036	0,001	0,358	1791,908	1,792	1,768	0,042	2,360
3	0,035			0,344	1719,653	1,720			
Aq									
1	0,025			0,199	997,110	0,997			
2	0,025	0,025	0,001	0,199	997,110	0,997	0,973	0,042	4,287
3	0,024			0,185	924,855	0,925			

Tabela B7: Resultados de flavonóides totais nos extractos e fracções da casca de caule de *S. linnaeanum*.

Amostras	Abs	Média	DP	µg	EQ (µgg ⁻¹)	EQ (mgg ⁻¹)	Média	DP	CV(%)
EB									
1	0,295			4,101	20505,780	20,506			
2	0,292	0,294	0,002	4,058	20289,017	20,289	20,409	0,110	0,541
3	0,294			4,087	20433,526	20,434			
FC									
1	0,207			2,829	14147,399	14,147			
2	0,206	0,207	0,001	2,815	14075,145	14,075	14,123	0,042	0,295
3	0,207			2,829	14147,399	14,147			
AE									
1	0,290			4,029	20144,509	20,145			
2	0,291	0,291	0,001	4,043	20216,763	20,217	20,217	0,072	0,357
3	0,292			4,058	20289,017	20,289			
nBu									
1	0,213			2,916	14580,925	14,581			
2	0,212	0,213	0,001	2,902	14508,671	14,509	14,557	0,042	0,287
3	0,213			2,916	14580,925	14,581			
Aq									
1	0,112	0,112	0,001	1,457	7283,237	7,283			
2	0,112			1,457	7283,237	7,283	7,259	0,042	0,575
3	0,111			1,442	7210,983	7,211			

Tabela B8: Resultados de flavonóides totais nos extractos e fracções da casca de folha de *S. linnaeanum*.

Amostras	Abs	Média	DP	μg	EQ (μgg^{-1})	EQ (mgg^{-1})	Média	DP	CV(%)
EB									
1	0,373			5,228	26141,618	26,142			
2	0,379	0,372	0,008	5,315	26575,145	26,575	26,069	0,546	2,093
3	0,364			5,098	25491,329	25,491			
FC									
1	0,297			4,130	20650,289	20,650			
2	0,298	0,296	0,002	4,145	20722,543	20,723	20,602	0,150	0,730
3	0,294			4,087	20433,526	20,434			
AE									
1	0,409			5,749	28742,775	28,743			
2	0,407	0,409	0,002	5,720	28598,266	28,598	28,743	0,145	0,503
3	0,411			5,777	28887,283	28,887			
nBu									
1	0,303			4,217	21083,815	21,084			
2	0,305	0,302	0,003	4,246	21228,324	21,228	21,036	0,221	1,049
3	0,299			4,159	20794,798	20,795			
Aq									
1	0,142			1,890	9450,867	9,451			
2	0,145	0,145	0,003	1,934	9667,630	9,668	9,668	0,217	2,242
3	0,148			1,977	9884,393	9,884			

Tabela B9: Resultados de taninos condensados nos extractos e fracções da casca de raiz de *S. linnaeanum*.

Amostras	Abs	Média	DP	mgECyag ⁻¹	Média	DP	CV (%)
EB							
1	0,040			2,523			
2	0,039	0,040	0,001	2,460	2,502	0,036	1,456
3	0,040			2,523			
FC							
1	0,064			4,037			
2	0,062	0,063	0,001	3,911	3,974	0,063	1,587
3	0,063			3,974			
AE							
1	0,047			2,965			
2	0,046	0,047	0,001	2,902	2,944	0,036	1,237
3	0,047			2,965			
nBu							
1	0,025			1,577			
2	0,027	0,027	0,002	1,703	1,682	0,096	5,728
3	0,028			1,766			
Aq							
1	0,020			1,262			
2	0,020	0,020	0,001	1,262	1,241	0,036	2,936
3	0,019			1,199			

Tabela B10: Resultados de taninos condensados nos extractos e fracções da casca de caule de *S. linnaeanum*.

Amostras	Abs	Média	DP	mgECyag ⁻¹	Média	DP	CV (%)
AE							
1	0,045			2,839			
2	0,046	0,043	0,004	2,902	2,713	0,275	10,137
3	0,038			2,397			
nBu							
1	0,084			5,299			
2	0,083	0,084	0,001	5,236	5,278	0,036	0,690
3	0,084			5,299			
FC							
1	0,049			3,091			
2	0,050	0,049	0,001	3,154	3,112	0,036	1,170
3	0,049			3,091			
EB							
1	0,024			1,514			
2	0,023	0,024	0,001	1,451	1,493	0,036	2,440
3	0,024			1,514			
Aq							
1	0,008			0,505			
2	0,006	0,008	0,002	0,378	0,505	0,126	24,950
3	0,010			0,631			

Tabela B11: Resultados de taninos condensados nos extractos e fracções da folha de *S. linnaeanum*.

Amostras	Abs	Média	DP	mgECyag ⁻¹	Média	DP	CV (%)
Aq							
1	0,075			4,731			
2	0,072	0,073	0,002	4,542	4,626	0,096	2,083
3	0,073			4,605			
AE							
1	0,192			12,111			
2	0,193	0,192	0,001	12,175	12,133	0,036	0,300
3	0,192			12,111			
nBu							
1	0,118			7,444			
2	0,116	0,118	0,002	7,318	7,423	0,096	1,298
3	0,119			7,507			
EB							
1	0,034			2,145			
2	0,034	0,034	0,001	2,145	2,124	0,036	1,715
3	0,033			2,082			
FC							
1	0,010			0,631			
2	0,010	0,010	0,001	0,631	0,610	0,036	5,973
3	0,009			0,568			

Anexo C: Actividade antioxidante

Método DPPH

Padrão ácido ascórbico

Tabela C1: Resultados da actividade antioxidante do padrão ácido ascórbico pelo método DPPH

µgmL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
5	9,195	9,119	8,736	9,017
12,5	21,456	22,835	21,303	21,865
25	42,069	42,299	42,222	42,197
50	76,475	76,858	77,011	76,781
75	90,345	89,732	90,038	90,038
100	93,870	93,563	93,716	93,716
IC₅₀	38,569	38,317	38,644	38,510

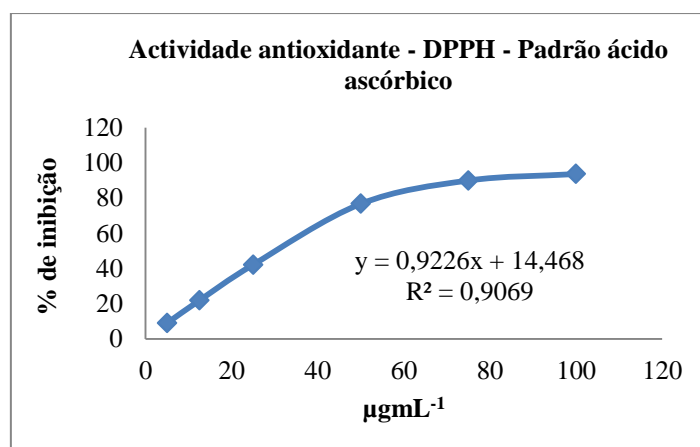


Figura C1: Gráfico da curva de inibição do padrão ácido ascórbico pelo método DPPH.

Tabela C2: Média dos IC_{50} obtidos pelo método DPPH referentes ao padrão ácido ascórbico

Réplicas	IC_{50}	Média	DP	CV (%)
1	38,569			
2	38,317	38,510	0,171	0,445
3	38,644			

Folha

Extracto bruto

Tabela C3: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH no extracto bruto da folha (EB).

$\mu\text{g mL}^{-1}$	% de Inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
12,5	2,109	2,891	2,422	2,474
50	8,125	7,969	8,203	8,099
100	12,969	12,734	13,203	12,969
200	26,250	26,016	26,328	26,198
300	35,391	35,547	35,078	35,339
500	60,938	59,063	56,719	58,907
700	70,090	72,535	74,491	72,372
1000	87,531	88,427	87,123	87,694
IC_{50}	494,296	489,911	492,878	492,362

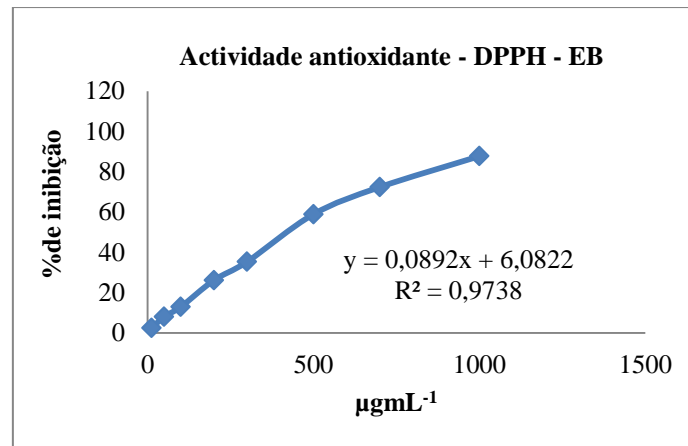


Figura C2: Gráfico da curva de inibição do extracto bruto da folha (EB) pelo método DPPH.

Tabela C4: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH no extracto bruto da folha (EB).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV(%)
1	494,296			
2	489,911	492,362	2,238	0,454
3	492,878			

Fracção de acetato de etilo

Tabela C5: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção de acetato de etilo da folha (AE).

µg mL ⁻¹	% de Inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
12,5	4,401	4,482	4,564	4,482
50	20,049	21,19	20,701	20,647
100	26,487	30,97	28,362	28,606
200	41,076	40,261	39,038	40,125
300	58,435	57,865	58,517	58,272
500	74,409	75,469	75,061	74,980
700	83,782	83,537	84,189	83,836
1000	95,844	96,496	96,822	96,387
IC₅₀	351,607	343,182	347,810	347,533

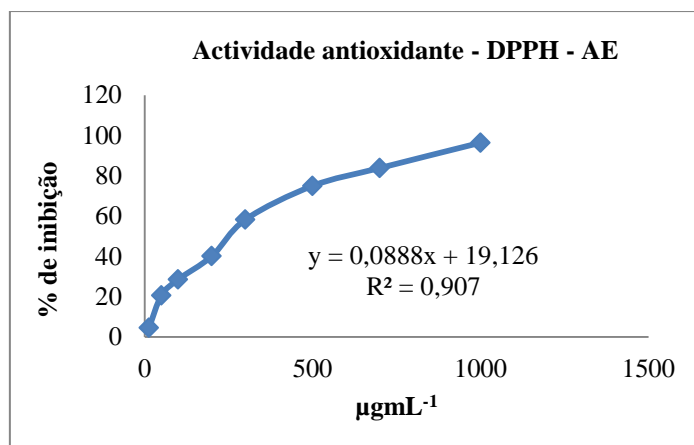


Figura C3: Gráfico da curva de inibição da fracção de acetato de etilo da folha (AE) pelo método DPPH.

Tabela C6: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção de acetato de etilo da folha (AE).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	351,607			
2	343,182	347,533	4,219	1,214
3	347,810			

Fracção de n-Butanol

Tabela C7: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção n-butanólica da folha (nBu).

µg mL ⁻¹	% de Inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
12,5	1,205	1,687	1,446	1,446
50	5,944	6,185	5,703	5,944
100	10,683	11,165	10,763	10,870
200	20,803	21,928	21,847	21,526
500	44,016	44,418	46,104	44,846
700	56,466	56,225	57,831	56,841
1000	72,048	71,165	70,683	71,299
1500	89,719	90,281	89,157	89,719
IC₅₀	710,383	707,137	707,414	708,311

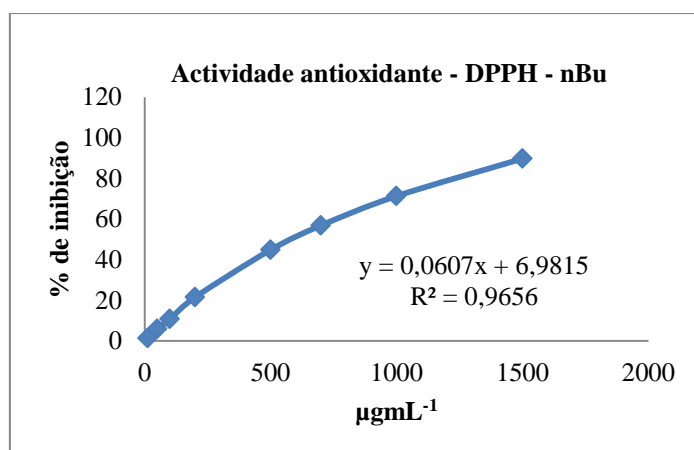


Figura C4: Gráfico da curva de inibição da fracção n-butanólica da folha (nBu) pelo método DPPH.

Tabela C8: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção n-butanólica da folha (nBu).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	710,383			
2	707,137	708,311	1,799	0,254
3	707,414			

Fracção de clorofórmio

Tabela C9: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção clorofórmica da folha (FC).

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
12,5	1,723	2,051	1,805	1,860
50	6,973	7,219	7,629	7,274
100	10,993	11,321	11,567	11,294
200	25,185	25,513	25,841	25,513
300	32,978	33,224	33,798	33,333
500	56,932	58,080	58,901	57,971
700	70,714	71,124	70,796	70,878
1000	81,460	82,855	80,968	81,761
IC₅₀	523,716	515,376	518,361	519,151

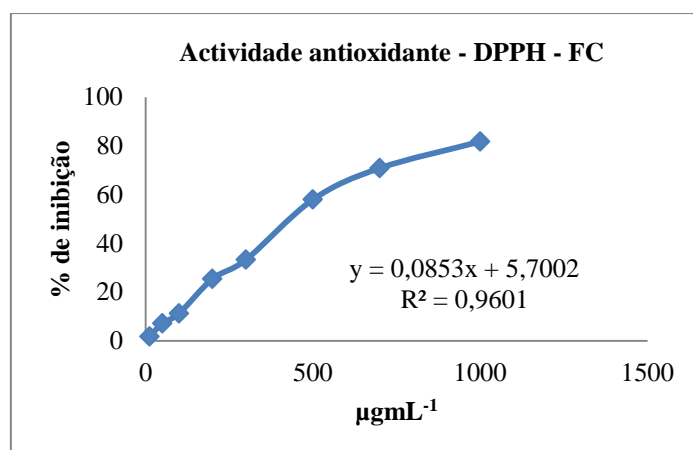


Figura C5: Gráfico da curva de inibição da fracção clorofórmica da folha (FC) pelo método DPPH.

Tabela C10: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção clorofórmica da folha (FC).

Réplica	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	515,376			
2	523,716	519,151	4,226	0,814
3	518,361			

Fracção do resíduo aquoso

Tabela C11: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção do resíduo aquoso remanescente da folha (Aq).

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
50	2,587	1,940	2,344	2,290
100	5,012	5,093	4,931	5,012
200	10,186	10,428	10,752	10,455
500	23,605	23,929	24,414	23,983
700	48,424	48,666	49,232	48,774
1000	63,864	64,107	63,945	63,972
1500	78,901	78,011	79,386	78,766
2000	94,584	93,614	92,967	93,722
IC₅₀	939,505	945,291	940,161	941,652

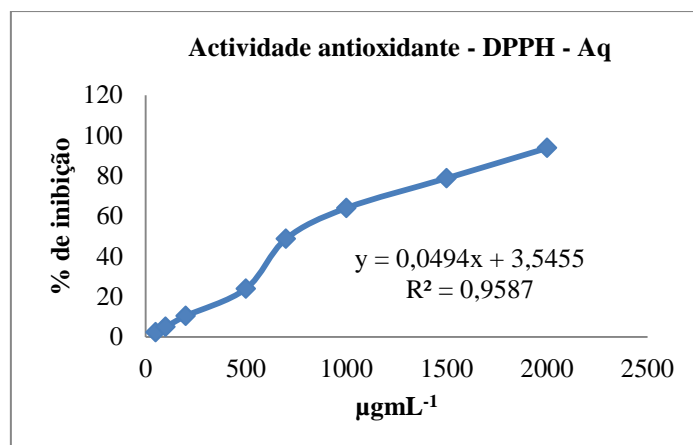


Figura C6: Gráfico da curva de inibição da fracção do resíduo aquoso remanescente da folha (Aq) pelo método DPPH.

Tabela C12: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção do resíduo aquoso da folha (Aq).

Réplica	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	939,505			
2	945,291	941,652	3,168	0,336
3	940,161			

Casca de caule

Extracto bruto

Tabela C13: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH no extracto bruto da casca de caule (EB).

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
50	2,570	3,814	3,897	3,427
100	5,887	7,960	8,126	7,324
200	13,013	14,262	14,096	13,790
500	33,997	33,582	29,768	32,449
700	42,040	43,449	44,610	43,366
1000	59,536	61,360	59,204	60,033
1500	75,041	75,207	75,871	75,373
2000	89,967	89,469	91,211	90,216
IC₅₀	970,513	953,768	957,610	960,630

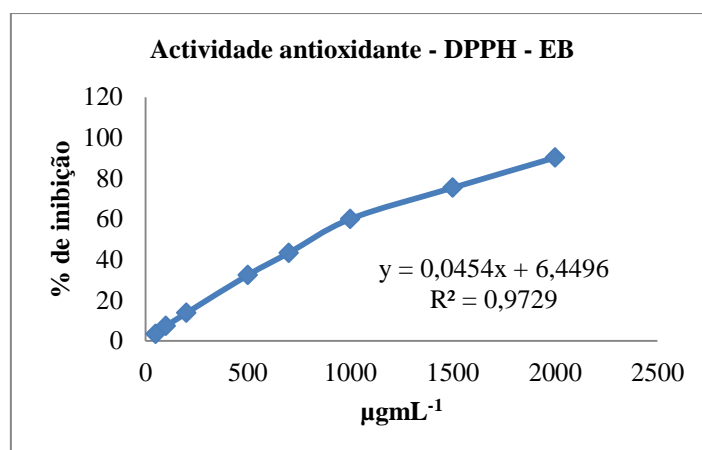


Figura C7: Gráfico da curva de inibição do extracto bruto da casca de caule (EB) pelo método DPPH.

Tabela C14: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH no extracto bruto da casca de caule (EB).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	970,513			
2	953,768	960,630	8,772	0,913
3	957,610			

Fracção clorofórmica

Tabela C15: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção clorofórmica da casca de caule.

Conç. µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			% Média
	1	2	3	
50	4,277	4,199	4,588	4,355
100	8,398	7,543	7,387	7,776
200	14,386	14,93	14,386	14,567
500	29,316	30,715	30,171	30,067
700	38,958	40,747	40,435	40,047
1000	50,622	51,166	50,622	50,803
1500	69,829	70,84	71,151	70,607
2000	88,258	88,414	87,481	88,051
IC₅₀	1038,352	1022,692	1030,356	1030,467

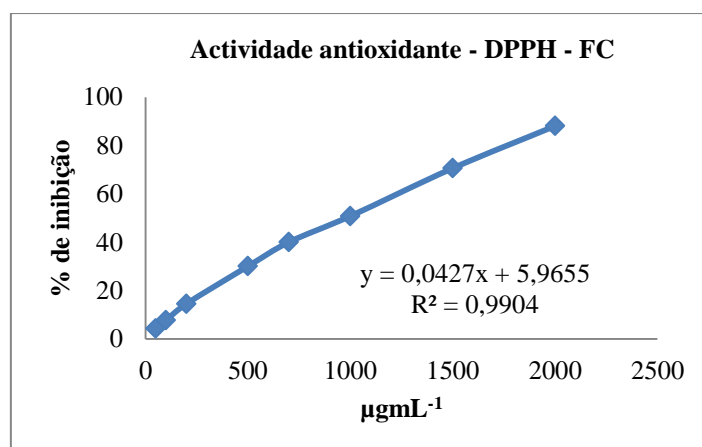


Figura C8: Gráfico da curva de inibição da fracção clorofórmica da casca de caule (FC) pelo método DPPH.

Tabela C16: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção clorofórmica da casca de caule (FC).

Réplica	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	1038,352			
2	1022,692	1030,467	7,831	0,760
3	1030,356			

Fracção de acetato de etilo

Tabela C17: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção de acetato de etilo da casca de caule (AE).

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplica)			%
	1	2	3	Média
12,5	3,416	3,261	3,028	3,235
50	9,239	9,317	8,851	9,136
100	17,469	18,478	17,469	17,805
200	26,087	28,416	27,562	27,355
300	36,413	37,578	37,112	37,034
500	50,932	52,407	51,320	51,553
700	65,450	67,780	67,624	66,951
1000	85,171	85,248	85,093	85,171
IC₅₀	520,822	507,450	513,448	513,907

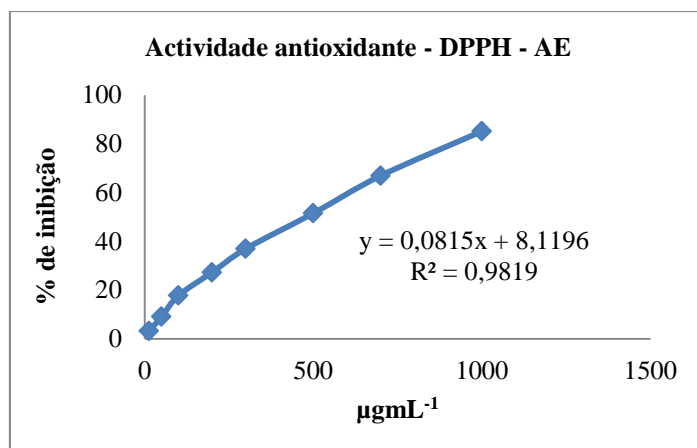


Figura C9: Gráfico da curva de inibição da fracção de acetato de etilo da casca de caule (AE) pelo método DPPH.

Tabela C18: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção acetato de etilo da casca de caule (AE).

Réplica	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	520,822			
2	507,450	513,788	6,713	1,307
3	513,093			

Fracção de n-Butanol

Tabela C19: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção n-butanólica da casca de caule.

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
50	1,161	3,151	2,488	2,267
100	4,892	6,219	5,721	5,611
200	11,111	13,433	13,101	12,548
500	30,846	31,426	30,431	30,901
700	39,221	38,060	40,713	39,331
1000	50,415	51,410	50,166	50,664
1500	68,410	68,242	69,486	68,712
2000	83,333	83,499	84,080	83,637
IC₅₀	1082,239	1072,559	1065,083	1073,294

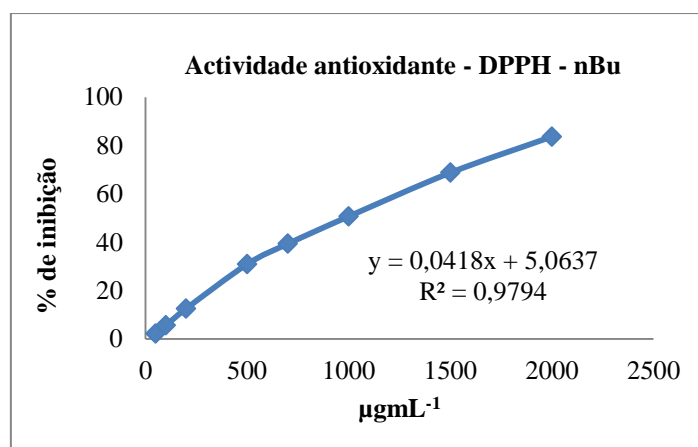


Figura C10: Gráfico da curva de inibição da fracção n-butanólica da casca de caule (nBu) pelo método DPPH.

Tabela C20: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção n-butanólica da casca de caule (nBu).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	1082,239			
2	1072,559	1073,294	8,602	0,801
3	1065,083			

Fracção de resíduo aquoso

Tabela C21: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção do resíduo aquoso remanescente da casca de caule (Aq).

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplica)			%
	1	2	3	Média
50	0,941	1,027	0,855	0,941
100	1,112	1,796	1,796	1,568
200	4,876	6,245	4,962	5,361
500	12,233	13,687	12,917	12,946
1000	25,290	26,946	27,203	26,480
2000	58,426	54,833	53,721	55,660
3000	78,529	78,871	79,299	78,900
4000	83,661	84,431	84,944	84,345
IC₅₀	2086,628	2083,246	2081,398	2083,757

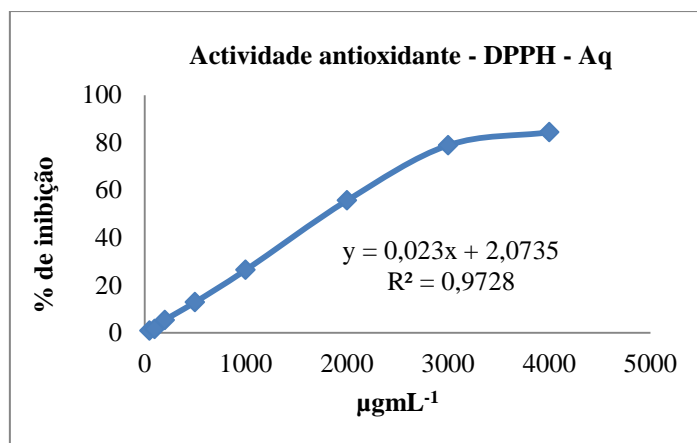


Figura C11: Gráfico da curva de inibição da fracção do resíduo aquoso remanescente da casca de caule (Aq) pelo método DPPH.

Tabela C22: Média dos IC_{50} obtidos pelo método DPPH na fracção do resíduo aquoso remanescente da casca de caule (Aq).

Réplicas	IC_{50}	Média	DP	CV (%)
1	2086,628			
2	2083,246	2083,757	2,652	0,127
3	2081,398			

Casca da raiz

Extracto bruto

Tabela C23: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH no extracto bruto da casca de raiz (EB).

μgmL^{-1}	% de inib. (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
50	1,322	1,736	1,157	1,405
100	3,058	2,810	2,397	2,755
200	4,876	3,967	5,863	4,902
500	15,041	15,041	14,959	15,014
1000	28,017	27,365	29,091	28,158
2000	62,066	60,909	60,083	61,019
3000	79,008	79,174	79,421	79,201
4000	85,372	86,281	87,190	86,281
IC_{50}	2008,875	2010,692	1998,355	2005,974

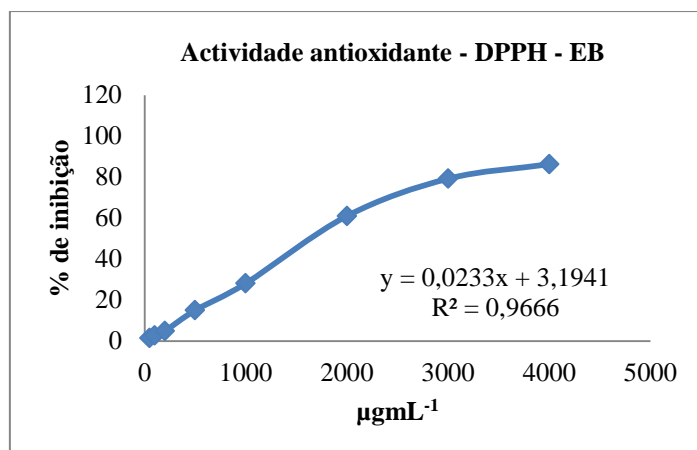


Figura C12: Gráfico da curva de inibição do extracto bruto da casca de raiz (EB) pelo método DPPH.

Tabela C24: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH no extracto bruto da casca de raiz (EB).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	2008,875			
2	2010,692	2005,974	6,660	0,332
3	1998,355			

Fracção de n-Butanol

Tabela C25: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção n-butanólica da casca de raiz

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
50	0,590	0,590	0,506	0,562
100	2,108	1,939	2,192	2,080
200	4,469	4,637	5,481	4,862
500	13,575	12,648	13,238	13,154
1000	24,283	24,199	24,452	24,311
2000	52,951	51,771	51,012	51,911
3000	69,730	70,405	71,164	70,433
4000	83,052	82,462	82,799	82,771
IC₅₀	2210,454	2221,064	2218,147	2216,555

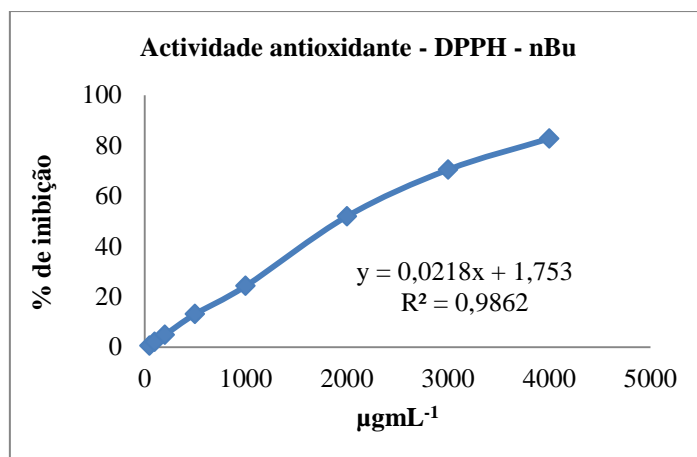


Figura C13: Gráfico da curva de inibição da fracção n-butanólica da casca de raiz (nBu) pelo método DPPH.

Tabela C26: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção n-butanólica da casca de raiz (nBu).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	2210,454			
2	2221,064	2216,555	5,481	0,247
3	2218,147			

Fracção de acetato de etilo

Tabela C27: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção de acetato de etilo da casca de raiz (AE).

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
12,5	0,776	0,854	0,699	0,776
50	4,503	5,357	5,435	5,098
100	9,394	10,870	10,637	10,300
200	19,332	19,720	21,661	20,238
300	29,270	30,512	30,512	30,098
500	44,099	46,972	45,652	45,574
700	56,522	57,220	58,152	57,298
1000	76,863	78,106	77,484	77,484
IC₅₀	615,817	599,495	600,531	605,281

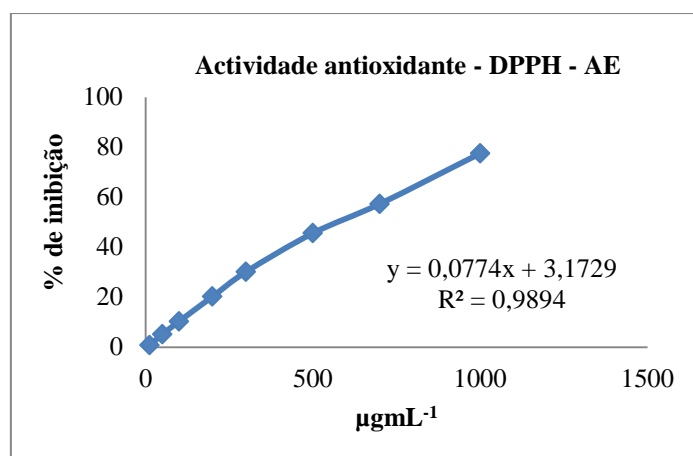


Figura C14: Gráfico da curva de inibição da fracção acetato de etilo da casca de raiz (AE) pelo método DPPH.

Tabela C28: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção acetato de etilo da casca de raiz (AE).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	615,817			
2	599,495	605,281	9,139	1,510
3	600,531			

Fracção de clorofórmio

Tabela C29: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção clorofórmica da casca de raiz.

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
50	1,339	1,423	1,339	1,367
100	2,343	3,013	2,176	2,511
200	3,933	4,184	3,682	3,933
500	14,561	15,397	14,812	14,923
1000	26,276	27,364	25,941	26,527
2000	57,406	53,054	55,481	55,314
3000	76,485	78,996	78,159	77,880
4000	84,351	85,272	84,268	84,630
IC₅₀	2084,132	2078,522	2086,044	2082,899

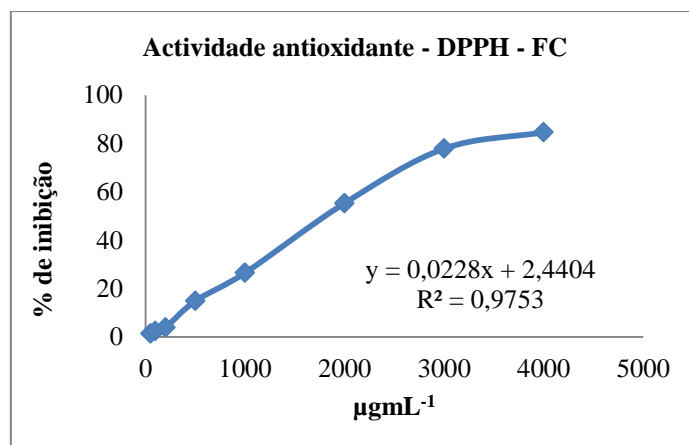


Figura C15: Gráfico da curva de inibição da fracção clorofórmica da casca de raiz (FC) pelo método DPPH.

Tabela C30: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fracção clorofórmica da casca de raiz (FC).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	2084,132			
2	2078,522	2082,899	3,910	0,188
3	2086,044			

Fracção do resíduo aquoso

Tabela C31: Resultados da actividade antioxidante pelo método DPPH na fracção do resíduo aquoso remanescente da casca de raiz (Aq).

µg mL ⁻¹	% de inibição (Réplicas)			%
	1	2	3	Média
50	0,253	0,337	0,422	0,337
100	1,096	1,096	1,096	1,096
200	3,879	2,108	1,686	2,558
500	4,834	5,734	4,384	4,984
1000	9,359	9,949	10,624	9,977
2000	19,983	20,911	22,007	20,967
4000	50,084	49,241	50,759	50,028
6000	63,491	63,659	62,479	63,210
IC₅₀	4509,144	4508,919	4505,910	4507,991

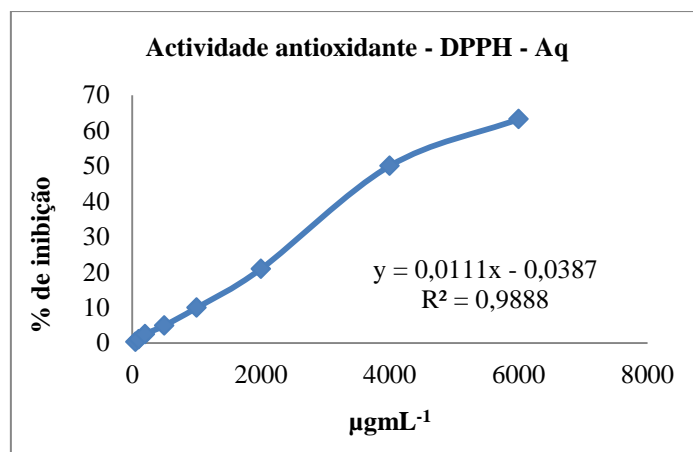


Figura C16: Gráfico da curva de inibição da fração do resíduo aquoso remanescente da casca de raiz (Aq) pelo método DPPH.

Tabela C32: Média dos IC₅₀ obtidos pelo método DPPH na fração do resíduo aquoso da casca de raiz (Aq).

Réplicas	IC ₅₀	Média	DP	CV (%)
1	4509,144			
2	4508,919	4507,991	1,806	0,040
3	4505,910			

Método fosfomolibdénio

Actividade antioxidante do padrão ácido ascórbico

$$\text{AAR (\%)} = \frac{\text{Abs.padrão} - \text{Abs.branco}}{\text{Abs.padrão}} \times 100$$

Tabela C33: Resultados da actividade antioxidante do padrão ácido ascórbico pelo método fosfomolibdénio

$\mu\text{g mL}^{-1}$	Abs. Padrão (695 nm)	Abs. Branco (695 nm)	Diferença (Abs. P – Abs. B)	Inibição (%)	Média	DP	CV (%)
6,25							
1	0,142	0,101	0,041	28,873			
2	0,146	0,103	0,043	29,452	29,543	0,740	2,505
3	0,145	0,101	0,044	30,303			
12,5							
1	0,175	0,100	0,075	42,86			
2	0,179	0,100	0,079	44,134	43,605	0,664	1,522
3	0,178	0,100	0,078	43,820			
50							
1	0,241	0,104	0,137	56,846			
2	0,235	0,103	0,132	56,170	55,721	1,404	2,519
3	0,229	0,105	0,124	54,148			
100							
1	0,339	0,097	0,242	71,386			
2	0,342	0,101	0,241	70,468	71,316	0,815	1,142
3	0,344	0,096	0,248	72,093			
200							
1	1,236	0,078	1,158	93,700			
2	1,235	0,078	1,157	93,684	93,740	0,084	0,089
3	1,233	0,076	1,157	93,836			

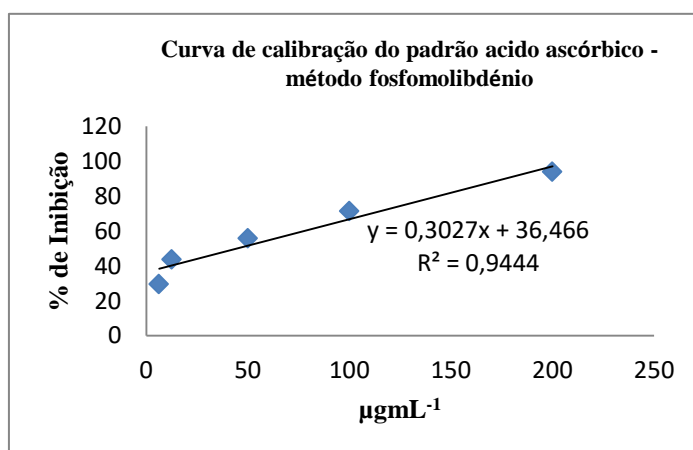


Figura C17: Gráfico da curva de inibição do padrão ácido ascórbico pelo método fosfomolibdénio

Actividade antioxidante das amostras

$$AA (\%) = \frac{\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco}}{\text{Abs. padrão} - \text{Abs. branco}} \times 100$$

Absorvância do padrão – Absorvância do branco a $200 \mu\text{g mL}^{-1} = 1,157 \text{ nm}$

Casca da raiz

Tabela C34: Resultados da actividade antioxidante dos extractos da casca da raiz pelo método fosfomolibdénio

Amostras ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$)	Abs. (695 nm) Amostra	Abs. (695 nm) Branco	Diferença (Abs. A – Abs. B)	Inibição (%)	Média	DP	CV (%)
EB							
1	0,207	0,089	0,118	10,199			
2	0,197	0,09	0,107	9,421	10,170	0,735	7,226
3	0,214	0,088	0,126	10,89			
FC							
1	0,287	0,089	0,198	17,113			
2	0,278	0,089	0,189	16,335	16,998	0,613	3,607
3	0,292	0,089	0,203	17,545			
AE							
1	0,326	0,088	0,238	20,57			
2	0,329	0,088	0,241	20,83	20,916	0,396	1,894
3	0,335	0,088	0,247	21,348			
nBu							
1	0,161	0,089	0,072	6,223			
2	0,174	0,088	0,086	7,433	6,799	0,607	8,928
3	0,168	0,09	0,078	6,742			
Aq							
1	0,145	0,091	0,054	4,667			
2	0,139	0,092	0,047	4,062	4,638	0,563	12,128
3	0,151	0,091	0,06	5,186			

Casca de caule

Tabela C35: Resultados da actividade antioxidante dos extractos da casca de caule pelo método fosfomolibdénio

Amostras (200 µg mL ⁻¹)	Abs. (695 nm) Amostra	Abs. (695 nm) Branco	Diferença (Abs. A – Abs. B)	Inibição (%)	Média	DP	CV (%)
EB							
1	0,217	0,091	0,126	10,89			
2	0,257	0,091	0,166	14,347	12,878	1,786	13,868
3	0,245	0,09	0,155	13,397			
FC							
1	0,321	0,089	0,232	20,052			
2	0,314	0,09	0,224	19,36	19,994	0,607	3,036
3	0,329	0,091	0,238	20,57			
AE							
1	0,351	0,09	0,261	22,558			
2	0,354	0,09	0,264	22,818	22,962	0,492	2,141
3	0,362	0,09	0,272	23,509			
nBu							
1	0,182	0,088	0,094	8,124			
2	0,193	0,089	0,104	8,989	8,931	0,780	8,729
3	0,201	0,089	0,112	9,680			
Aq							
1	0,157	0,091	0,066	5,704			
2	0,147	0,092	0,055	4,754	5,676	0,908	15,995
3	0,168	0,092	0,076	6,569			

Folha

Tabela C36: Resultados da actividade antioxidante dos extractos da folha pelo método fosfomolibdénio

Amostras (200 µg mL ⁻¹)	Abs. (695 nm) Amostra	Abs. (695 nm) Branco	Diferença (Abs. A – Abs. B)	Inibição (%)	Média	DP	CV (%)
EB							
1	0,261	0,09	0,171	14,78			
2	0,258	0,09	0,168	14,52	14,780	0,260	1,756
3	0,264	0,09	0,174	15,039			
FC							
1	0,404	0,091	0,313	27,053			
2	0,446	0,094	0,352	30,424	29,617	2,271	7,667
3	0,459	0,096	0,363	31,374			
AE							
1	0,496	0,091	0,405	35,004			
2	0,499	0,091	0,408	35,264	35,091	0,150	0,428
3	0,496	0,091	0,405	35,004			
nBu							
1	0,226	0,092	0,134	11,582			
2	0,212	0,091	0,121	10,458	10,948	0,576	5,258
3	0,217	0,092	0,125	10,804			
Aq							
1	0,181	0,093	0,088	7,606			
2	0,177	0,094	0,083	7,174	7,087	0,567	8,000
3	0,171	0,096	0,075	6,482			

Método FRAP

Padrão sulfato ferroso

Tabela C37: Resultados das absorvâncias do padrão sulfato ferroso

μM	Abs. (595 nm) Padrão	Abs. (595 nm) Branco	Diferença (Abs. P – Abs. B)	Média	DP	CV (%)
500						
1	0,544	0,231	0,313			
2	0,563	0,230	0,333	0,322	0,010	3,123
3	0,552	0,231	0,321			
1000						
1	0,835	0,231	0,604			
2	0,812	0,231	0,581	0,594	0,012	1,967
3	0,827	0,231	0,596			
1500						
1	1,224	0,230	0,994			
2	1,176	0,232	0,944	0,944	0,050	5,242
3	1,126	0,231	0,895			
2000						
1	1,416	0,229	1,187			
2	1,41	0,231	1,179	1,182	0,004	0,369
3	1,412	0,232	1,180			

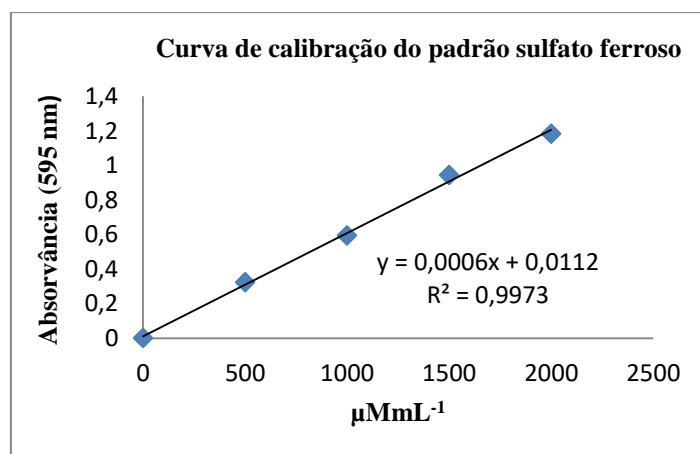


Figura C18: Gráfico da curva de calibração do padrão sulfato ferroso

Actividade antioxiidade das amostras

Casca da raiz

Tabela C38: Resultados da actividade antioxidante dos extractos e fracções da casca da raiz pelo método FRAP

Amostras (1mgmL ⁻¹)	Abs. (595 nm) Amostra	Abs. (595 nm) Branco	Diferença (Abs. P – Abs. B)	Inibição ($\mu\text{MFe}^{+2}\text{g}^{-1}$)	Média	DP	CV (%)
EB							
1	0,256	0,126	0,130	17,820			
2	0,289	0,131	0,158	22,020	20,370	2,240	10,996
3	0,281	0,128	0,153	21,270			
FC							
1	0,382	0,127	0,255	36,570			
2	0,374	0,127	0,247	35,370	36,920	1,751	4,744
3	0,398	0,128	0,270	38,820			
AE							
1	0,551	0,128	0,423	61,770			
2	0,549	0,129	0,420	61,320	62,370	1,447	2,319
3	0,567	0,129	0,438	64,020			
nBu							
1	0,196	0,126	0,070	8,820			
2	0,185	0,126	0,059	7,170	7,870	0,853	10,838
3	0,19	0,128	0,062	7,620			
Aq							
1	0,167	0,126	0,041	4,470			
2	0,154	0,126	0,028	2,520	4,020	1,333	33,165
3	0,171	0,126	0,045	5,070			

Casca de caule

Tabela C39: Resultados da actividade antioxidante dos extractos e fracções da casca de caule pelo método FRAP

Amostras (1mg/mL)	Abs. (595 nm) Amostra	Abs. (595 nm) Branco	Diferença (Abs. P – Abs. B)	Inibição ($\mu\text{MFe}^{+2}\text{g}^{-1}$)	Média	DP	CV (%)
EB							
1	0,656	0,127	0,529	77,670	77,520	1,580	2,039
2	0,665	0,127	0,538	79,020			
3	0,645	0,128	0,517	75,870			
FC							
1	0,794	0,129	0,665	98,070	101,920	3,435	3,370
2	0,829	0,131	0,698	103,020			
3	0,843	0,134	0,709	104,670			
AE							
1	1,342	0,134	1,208	179,520	183,520	3,467	1,889
2	1,385	0,136	1,249	185,670			
3	1,382	0,135	1,247	185,370			
nBu							
1	0,417	0,127	0,290	41,820	46,170	3,786	8,200
2	0,463	0,127	0,336	48,720			
3	0,458	0,127	0,331	47,970			
Aq							
1	0,364	0,129	0,235	33,570	34,120	1,790	5,245
2	0,381	0,129	0,252	36,120			
3	0,358	0,129	0,229	32,670			

Folha

Tabela C40: Resultados da actividade antioxidante dos extractos e fracções da folha pelo método FRAP

Amostras (1mgmL ⁻¹)	Abs. (595 nm) Amostra	Abs. (595 nm) Branco	Diferença (Abs. P – Abs. B)	Inibição ($\mu\text{MFe}^{+2}\text{g}^{-1}$)	Média	DP	CV (%)
EB							
1	1,15	0,128	1,022	151,620	151,320	2,563	1,694
2	1,163	0,127	1,036	153,720			
3	1,131	0,129	1,002	148,620			
FC							
1	1,216	0,128	1,088	161,520	161,970	0,779	0,481
2	1,226	0,129	1,097	162,870			
3	1,219	0,131	1,088	161,520			
AE							
1	2,314	0,133	2,181	325,470	322,070	3,375	1,048
2	2,291	0,133	2,158	322,020			
3	2,27	0,134	2,136	318,720			
nBu							
1	0,695	0,129	0,566	83,220	86,120	3,274	3,801
2	0,738	0,129	0,609	89,670			
3	0,712	0,131	0,581	85,470			
Aq							
1	0,572	0,131	0,441	64,470	67,370	3,005	4,460
2	0,59	0,131	0,459	67,170			
3	0,613	0,132	0,481	70,470			

Anexo D – Actividade antimicrobiana

Tabela D1: Resultados dos testes da CIM da actividade antimicrobiana do extracto bruto da casca de raiz (R-EB) pelo método de difusão em disco para diferentes concentrações em mgmL^{-1}

Microorganismos	Médias dos diâmetros dos halos de inibição em mm \pm DP				
	250	125	62,5	31,25	15,625
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-

Tabela D2: Resultados dos testes da CIM da actividade antimicrobiana do extracto bruto da casca de caule (C-EB) pelo método de difusão em disco para diferentes concentrações em mgmL^{-1}

Microorganismos	Médias dos diâmetros dos halos de inibição em mm \pm DP				
	250	125	62,5	31,25	15,625
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	13,5 \pm 1,0	10,7 \pm 0,3	0,0	0,0	0,0
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-

Tabela D3: Resultados dos testes da CIM da actividade antimicrobiana do extracto bruto da folha (F-EB) pelo método de difusão em disco para diferentes concentrações em mgmL^{-1}

Microorganismos	Médias dos diâmetros dos halos de inibição em mm \pm DP				
	250	125	62,5	31,25	15,625
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-

Tabela D4: Resultados dos testes da CIM da actividade antimicrobiana da fracção de acetato de etilo da casca de raiz (R-AE) pelo método de difusão em disco para diferentes concentrações em mgmL^{-1}

Microorganismos	Médias dos diâmetros dos halos de inibição em mm \pm DP				
	250	125	62,5	31,25	15,625
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	10,2 \pm 0,3	8,0 \pm 0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	8,7 \pm 0,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	9,7 \pm 1,5	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela D5: Resultados dos testes da CIM da actividade antimicrobiana da fracção de acetato de etilo da casca de caule (C-AE) pelo método de difusão em disco para diferentes concentrações em mgmL^{-1}

Microorganismos	Médias dos diâmetros dos halos de inibição em mm \pm DP				
	250	125	62,5	31,25	15,625
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	12,5 \pm 1,0	10,5 \pm 0,0	9,0 \pm 0,5	8,2 \pm 0,3	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	8,3 \pm 0,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	13,8 \pm 1,8	11,7 \pm 0,6	8,0 \pm 0,5	0,0	0,0

Tabela D6: Resultados dos testes da CIM da actividade antimicrobiana da fracção de acetato de etilo da folha (F-AE) pelo método de difusão em disco para diferentes concentrações em mgmL^{-1}

Microorganismos	Médias dos diâmetros dos halos de inibição em mm \pm DP				
	250	125	62,5	31,25	15,625
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10,8 \pm 1,8	8,5 \pm 0,5	0,0	0,0	0,0
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	12,0 \pm 1,7	9,7 \pm 0,3	8,0 \pm 0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	10,3 \pm 1,5	8,0 \pm 0,0	0,0	0,0	0,0
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	10,8 \pm 0,8	8,5 \pm 0,9	0,0	0,0	0,0
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	9,5 \pm 1,8	8,2 \pm 0,3	0,0	0,0	0,0