



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências

Extração e determinação de atividades Antioxidantes de
extratos de algumas plantas usadas na Medicina
Tradicional de Angola

António Moisés Selua

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Química Medicinal

(2º ciclo de estudos)

Orientadora: Professora Doutora Maria Isabel Guerreiro da Costa Ismael

Co-orientador: Professor Doutor Jesus Miguel Lopez Rodilla

Covilhã, janeiro de 2019

Agradecimentos

À Deus todo poderoso, pelo modo como se cumpre os meus propósitos.

À minha orientadora, Professora Doutora Maria Isabel Guerreiro da Costa Ismael pelo conhecimento transmitido durante a formação, pelas dúvidas tiradas e correções nas aplicações das metodologias nos trabalhos, por toda a simplicidade demonstrada durante o trabalho. Ao meu coorientador, Professor Doutor Jesus M. L. Rodilla, pela disponibilidade e sobretudo ajuda na realização do trabalho laboratorial além do conhecimento dado durante o curso.

À Professora Doutora Ana Carreira Lopes, Departamento de Química Industrial, pela recepção inesquecível e disponibilidade mostrada ao grupo além da formação dada. Aos Professores do curso de Química Medicinal e a todos professores e funcionários da Universidade da Beira Interior UBI, pela vossa disponibilidade, ajuda e simpatia demonstrada durante a formação.

Aos meus colegas de curso, pelo apoio, amizade, companheirismo e dúvidas tiradas ao longo da formação; aos meus colegas do laboratório MSc: Maia Gomes, Mariana Lucas, Nelu Mpazo, Elias K. Ch. Watengãla, Cidália A. F. W. Dala; aos doutorandos: Nsevolo Samba, Paulo Kanansevel, por toda a entreaajuda demonstrada.

Ao Governo angolano, sobretudo à Direcção do INAGB Luanda, pela bolsa disponibilizada onde sou o beneficiário, agradecer ainda ao Sector dos estudantes da Embaxada de angolanos em Lisboa/Portugal, pela recepção, tratamento e todo cuidado. À Direcção da Escola Superior Politécnica do Moxico, pela confiança que tiveram em mim, a todos colegas da Direcção provincial da Indústria, Geologia e Mina do Moxico, pela disponibilidade e apoio moral.

À minha esposa Yesse Fanguia, pelo amor, apoio e companheirismo; aos meus filhos, pelo amor, paciência e imenso apoio que destes durante a formação, à minha irmã Carla Selua, pelo cuidado e apoio prestado aos meus filhos, aos meus primos Job Makondo Andre, Uhenha Evaristo e Nanda Evaristo, aos irmãos Ezequiel Marquês Selua, Ernesto Selua, à sobrinha Linda, pelo vosso apoio material, moral e imenso esforço implementado na minha vinda, agradecer ainda à toda família alargada, pelo apoio espiritual, material e moral.

A todos irmãos da igreja evangélica dos irmãos em Angola do Aço, ao irmão Mupupeno Kangolo e ao meu grupo de professores e alunos da escola dominical do Aço, pelo todo apoio, acompanhamento espiritual e moral ao longo do curso. Aos meus amigos.

Aos meus pais, Toze Selua e Felisa Muongueno, pela educação, em cima de tudo, pelo vosso amor e DNA que carregou. Que Deus vos tenha na sua Santa gloria.

A todos, o meu profundo agradecimento, pela conclusão de uma etapa da minha vida. O meu muito obrigado.

Resumo

As plantas naturais foram tradicionalmente usadas na medicina tradicional para tratar várias doenças, mas nos últimos tempos o uso de produtos naturais proveniente das plantas tem vindo a aumentar, ainda assim, o estudo das diferentes partes destas plantas é limitado. Neste trabalho foram estudadas cinco plantas: *Vitex doniana*, *Diospyros batocana*, *Securidaca Longipedunculata*, *Sansevieria liberica geroma e labroy* e *Aloe*, todas usadas na medicina tradicional de Angola/Moxico. Os materiais vegetais recolhidos como folhas, raízes e cascas, foram previamente secos e partidos, posteriormente foram extraídos por extrator Soxhlet e por maceração, utilizando solventes de polaridades crescentes: n-hexano, acetona e etanol, que permitiu obter diferentes extratos orgânicos.

Os ensaios de atividade antioxidante dos extratos de etanol e acetona, foram feitos utilizando o método do radical (DPPH) 2-2-difenil-1-picrilhidrazil, apresentaram uma atividade sequestradora de radical DPPH muito forte, isto é, nos extratos de etanol das folhas e raízes de *Diospyros batocanae*, e o extrato bruto de acetona das cascas da *Vitex doniana*, e o extrato de etanol das folhas de *Aloe*, exibiu uma capacidade sequestrador forte moderada. Enquanto que os restantes resultados para o extrato de acetona das folhas de *Aloe*, extrato de etanol das Raízes de *Securidaca Longipedunculata* e o extrato de etanol de Raízes de *Sansevieria liberica geroma e labroy*, exibiram uma capacidade sequestrador muito baixo classificada de pobre. Fracionou-se os extratos brutos de n-hexano e acetona das cascas de *Vitex doniana*, utilizando o sistema de eluentes por ordem de menos polares para mais polares, a fase móvel começou com o eluente correspondente aumentando gradualmente a polaridade. As frações puras, foram analisadas por RMN e posteriormente por GC-MS. Os resultados obtidos a partir das análises por GC-MS apresentaram compostos aparentemente semelhantes tanto nas estruturas moleculares como na constituição, com pequenas diferenças nas massas, também, a fração 36 apresentou aspecto de ser composto novo, tanto a análise feita por RMN como as comparações por GM-MS. Na fração 36 o composto abundante foi estigmasta-5,22-dien-3 β -ol e 24 β -metilcolesterol e na fração 51-65 o composto maioritário é 24 β -etilcolesterol e Estigmasta-5,22-dien-3 β -ol. A análise do extrato de acetona da parte solúvel em n-hexano apresentou diferentes compostos como muitas misturas.

Palavras chave

Compostos bioativos, Extração de compostos bioativos, Ensaio de atividades antioxidante por DPPH

Abstract

Natural plants have traditionally been used in traditional medicine to treat various diseases, but in recent times the use of natural products from plants has been increasing, yet the study of the different parts of these plants is limited. In this work five plants were studied: *Vitex doniana*, *Diospyros batocana*, *Securidaca Longipedunculata*, *Sansevieria liberica geroma* and *labroy* and *Aloe*, all used in traditional medicine in Angola / Moxico. The collected plant material such as leaves, roots and bark have previously been dried and broken, were then Soxhlet extractor and extracted by maceration using increasingly polar solvents: n-hexane, acetone, and ethanol, which yielded different organic extracts.

The antioxidant activity assays of the ethanol and acetone extracts were made using the radical (DPPH) 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical method, exhibited very strong DPPH radical sequestering activity, ie ethanol extracts of leaves and roots of *Diospyros batocanae*, and the crude acetone extract from *Vitex doniana* peels, and the ethanol extract from *Aloe* leaves, exhibited moderate strong sequestering ability. While the remaining results for the acetone extract of the leaves of *Aloe*, ethanol extract of the *Securidaca Longipedunculata* roots and the ethanol extract of roots of *Sansevieria liberica geroma* and *labroy*, exhibited a very low sequestering capacity classified as poor. The crude extracts of n-hexane and acetone from the *Vitex doniana* shells were fractionated using the eluant system in order of polar to less polar, the mobile phase began with the corresponding eluent gradually increasing the polarity. The pure fractions were analyzed by NMR and then GC-MS. The obtained results from the GC-MS analyzes showed apparently similar compounds both in molecular structures and in the constitution, with small differences in the masses. Also, fraction 36 presented an aspect of being a new compound, both NMR analysis and comparisons by GM-MS. In fraction 36 the ambivalent compound was stigmasta-5,22-dien-3 β -ol and 24 β -methylcholesterol in fraction 51-65 the major compound is 24 β -ethylcholesterol and Stigmasta-5,22-dien-3 β -ol.

Analysis of the acetone extract of the n-hexane soluble part showed different compounds as many mixtures.

Keywords

Bioactive Compounds, Extraction of Bioactive Compounds, Antioxidant Activity, Testing by DPPH

Índice

1. Introdução	1
1.1. Metabolitos secundários	2
1.1.2. Definição de compostos bioativos	2
1.1.3. Localização dos compostos bioativos	2
1.1.4. Funções dos compostos bioativos nas plantas	3
1.1.5. Classificação de compostos bioativos	3
1.1.6. Extração de compostos bioativos das plantas	3
1.2. Solvente para extração dos compostos bioativos de plantas	6
1.2.1. Limitações	7
1.3. Caracterização das plantas estudadas	7
1.3.1. A espécie do género <i>Aloe</i>	7
1.3.2. <i>Securidaca longipedunculata</i>	9
1.3.3. <i>Diospyros batocana</i>	10
1.3.4. <i>Sansevieria liberica</i> género e <i>Labroy (Slgl)</i>	12
1.3.5. <i>Vitex doniana</i>	14
1.4. Reação de oxidação-redução	15
1.4.1. Radicais livres	16
1.4.2. Oxidação lipídica	16
1.4.3. Atividades antioxidantes	17
1.4.4. Antioxidantes naturais	18
1.5. Métodos para determinar atividades antioxidantes	22
1.5.1. Métodos de radical (DPPH)	22
1.6. Isolamento, identificação	24
1.6.1. Isolamento e identificação	24
1.6.2. Isolar e purificação das moléculas bioativos por TLC	24
1.6.3. Espectroscopia UV-visível	25
1.6.4. Espectroscopia infravermelho	25
1.6.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	25
1.6.6. Espectrometria Massa (MS)	25
1.7. Objectivo	26
2. Descrição experimental	27
2.1. Descrição da origem das plantas (Moxico)	27
2.1.1. Seleção das plantas	27
2.1.2. Colheita	28
2.1.2.1. <i>Securidaca longipedunculata</i> e <i>Vitex boniana</i>	28
2.1.2.2. <i>Aloe</i> , <i>Diospyros batocana</i> e <i>Sansevieria liberica</i> gerome e <i>Labroy</i>	28

2.1.3. <i>Preparação do material vegetal</i>	28
2.2. <i>Materiais e métodos</i>	28
2.2.1. <i>Métodos gerais</i>	28
2.2.2. <i>Trabalho experimental</i>	30
2.2.3. <i>Extração dos componentes do material vegetal</i>	31
2.2.3.1. <i>Extração com Extrator soxhlet</i>	31
2.2.3.2. <i>Extração por maceração</i>	33
2.2.3.2.1. <i>Extração com acetona</i>	33
2.2.3.2.2. <i>Extração com etanol</i>	34
2.3. <i>Determinação da atividade antioxidante</i>	35
2.3.1. <i>Considerações gerais</i>	35
2.3.2. <i>Avaliação de atividade antioxidante</i>	35
2.4. <i>Isolamento e purificação</i>	38
2.4.1. <i>Isolamento e purificação de extrato n-hexano</i>	38
2.4.2. <i>Isolamento e purificação de extrato de acetona</i>	39
2.5. <i>Infravermelho (IV)</i>	40
2.6. <i>Espetrofotómetros de RMN 1H e 13C</i>	40
3. <i>Resultado e discussão</i>	41
3.1. <i>Preparação de extratos</i>	41
3.1.1. <i>Resultado das extrações</i>	41
3.1.2. <i>Redimento da extração</i>	43
3.1.2.1. <i>Aloe</i>	43
3.1.2.2. <i>Diospyro batocana</i>	43
3.1.2.3. <i>Sansevieria liberica geroma & labroy</i>	43
3.1.2.4. <i>Securidaca longipendiculata</i>	44
3.1.2.5. <i>Vitex doniana</i>	44
3.2. <i>Resultados atividade antioxidante</i>	44
3.2.1. <i>Extratos de etanol da Db</i>	46
3.2.2. <i>Resultada das cromatografias</i>	50
3.2.3. <i>Resultado da técnica de espectroscopia IV</i>	52
3.2.4. <i>Resultados de RMN</i>	52
4. <i>Conclusões</i>	55
<i>Referências bibliográficas</i>	58
<i>Comunicação em poster</i>	66
<i>Resumo (Abstrat)</i>	67
<i>Anexo nº1: Declaração nº04/2017, da Camara Profissional dos Terapeutas da Medicina Tradicional e Natural em Angola na Província do Moxico.</i>	68
<i>Anexo nº 2: Preparação do material vegetal</i>	69
<i>Anexo 3: Evaporador rotativo</i>	70

Anexo nº4: Espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific™ evolution 160 UV-Vis	71
Anexo 5: Atividade antioxidante – Método do DPPH.....	72
Anexo nº 6: Cromatografia em coluna (CC), e cromatografia em camada fina (CCF)	90
Anexo 7: Coluna nº1, frações obtidas por CC do extrato de n-hexano das cascas de Vd. Massa do extrato: 6.8g; Massa cromatografada 3g. Eluentes: n-hexano e Acetato de etilo.....	91
Anexo nº8: Espectroscópios de IV e RMN de ¹H, ¹³C e MS	94

Lista de Figuras

Figura 1. Fluxograma de fases das metodologias envolvidas em estudo fitofarmacológico, adaptado. ⁷	4
Figura 2. Esquema e montagem do extrator com o extrator Soxhlet. ⁴³	6
Figura 3. Fluxograma do processo de extração convencional (maceração, decocção refluxo, soxhlet) em solventes de polaridade crescente. ⁷	7
Figura 4. Imagem da espécie de planta do género AL, fotografada por António M. Selua, em Agosto 2017, no Município do Leua, aldeia do Soba-Kapalu, Moxico/Angola.....	8
Figura 5. Imagem da pequena planta Securidaca Longipedunculata, fotografada por António M. Selua em Agosto 2017, no Município do Moxico, aldeia de Altu-Campo, Moxico/Angola	9
Figura 6. Alguns compostos isolados em Securidaca Longipedunculata. ⁵³	10
Figura 7. Imagem da pequena planta Diospyros batocana, fotografada por António M. Selua, em agosto 2017, no Município do Leua, aldeia de Soba-Kapalu, Moxico/Angola	11
Figura 8. B-dihydrodiospyrin, composto maioritário insolando Db. ⁵⁶	12
Figura 9. Imagem da pequena planta SLGL, fotografada por António M. Selua, em Agosto 2017, no Município do Leua, aldeia de Soba-Kapalu, Moxico/Angola	13
Figura 10. Imagem da Vd., tirada pelo autor em agosto 2017, fotografada por António M. Selua, em Agosto 2017, Município do Moxico, aldeia de Sakassagem; Moxico/Angola,.....	14
Figura 11. Alfa-tocoferol vitamina E ⁷⁸	19
Figura 12. Ácido ascorbico vitamina E. ⁷⁸	19
Figura 13. Carotenoides: B-Carotene e Licopeno ⁷⁸	20
Figura 14. Estruturas de maior classe dos flavonoides ⁸¹	21
Figura 15. Principais estruturas de ácido fenólico. ⁸¹	21
Figura 16. Coloração do Radical DPPH (1) e mudança da coloração do radical DPPH ⁷³	23
Figura 17. Equação da reação entre o radical livre DPPH e o composto antioxidante (AH). ⁸⁴	23
Figura 18. Imagem do mapa de Angola, a localização do Moxico, zona originária das plantas. ¹⁰²	27
Figura 19. Fluxograma de extração	30
Figura 20. Material vegetal no cartucho poroso em extração por Soxhlet e a imagem a esquerda, ilustra a mudança da cor do solvente numa solução soluto solvente. (sem cor para cor).....	32
Figura 21. Material vegetal num recipiente de vidro em extração por maceração.....	33
Figura 22. Curva de calibração do DPPH para determinação da atividade antioxidante, obtida a partir da média das leituras das absorvâncias em triplicado. ⁹⁰	36
Figura 23. Extração do extrato bruto de acetona a partir de n-hexano e clorofórmio.	39
Figura 24. Gráficos de rendimento das extrações em %, por cada solvente	43

Figura 25. Mudança de coloração de violeta para amarela da solução metanólica de DPPH vs amostra do extrato de acetona das cascas de Vd, depois de 90 min. de reação no escuro. Da esquerda a direita comportamento de diminuição da concentração de DPPH na presença da amostra do extrato das cascas de Vd, (tirada por Antônio Moisés Selua 2018.	45
Figura 26. Foto 1 coloração da solução DPPH-amostra do extrato cetônico das cascas de Vd, aos 6 a 8 min. após ensaio e Foto 2, Coloração da solução aproximadamente aos 12 min (tiradas por Selua 2018).	45
Figura 27. Grafico com avaliação da % Inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800mM.....	46
Figura 28. Estruturas dos compostos comparativamente determinados por GC-MS na análise dos Picos 1,2 da cromatograma da parte solúvel em n-hexano do extrato de acetona das cascas de Vd.	52
Figura 29. Estruturas dos compostos comparativamente determinados por GC-MS na análise dos Picos 1,2 e 3 da cromatograma das fração 51-65 do extrato de acetona das cascas de Vd.....	54
Figura 30. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão rutina na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.	72
Figura 31. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão rutina na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.	73
Figura 32. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão rutina na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.	73
Figura 33. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão trolox na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.	74
Figura 34. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão trolox na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.	75
Figura 35. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão trolox na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.	76
Figura 36. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão ácido gálico na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.	77
Figura 37. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão ácido gálico na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.	77
Figura 38. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão ácido gálico na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.	78
Figura 39. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800m.....	79
Figura 40.- Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] = 0,1242 mM	79
Figura 41.- grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db ($\mu\text{g/ml}$), para a .	80
Figura 42. Grafico com avaliação da % Inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800mM.....	80
Figura 43. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800mM.....	81
Figura 44. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,2000mM.....	81

Figura 45. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de acetona das folhas de Db ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800mM.....	82
Figura 46. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de acetona das folhas de Vd ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,1242mM.....	82
Figura 47. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de acetona das folhas de Vd ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,2000mM.....	83
Figura 48. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de Acetona das folhas de Al ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800mM.....	83
Figura 49. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de Acetona das folhas de Al ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,1242 mM.....	84
Figura 50. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de acetona das folhas de Al ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,2000mM.....	84
Figura 51. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Al ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800mM.....	85
Figura 52. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Al ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,1242mM.....	85
Figura 53. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Al ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,2000mM.....	86
Figura 54. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de Slgl ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800mM.....	86
Figura 55. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de Slgl ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,1242mM.....	87
Figura 56. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de Slgl ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,2000mM.....	87
Figura 57. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de Sl ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800mM.....	88
Figura 58. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de Sl ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,1242mM.....	88
Figura 59. Grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de Sl ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,2000mM.....	89

1.1. Lista de Tabelas

Tabela 1. Massa registadas por material vegetal	31
Tabela 2. Quantidades iniciais (de folhas, cascas e raízes) e de extratos obtidas em cada extração com n-hexano.....	32
Tabela 3. Quantidades iniciais (de folhas, cascas e raízes) e de extratos obtidas em cada extração com n-hexano.....	34
Tabela 4. Apresenta as quantidades de extratos (folhas, cascas e raízes) obtidas em todas extrações com etanol.....	34
Tabela 5. Concentrações das soluções metanólicas de DPPH utilizadas na construção da curva de calibração. ⁹⁰	35
Tabela 6. Classificação de uma amostra quanto ao tipo de atividade antioxidante demonstrado.....	37
Tabela 7. Ensaio de atividade antioxidante por solvente, R.(realizado) e NR (não realizado)	38
Tabela 8. % resultados obtidos em todas extrações com n-hexano.	41
Tabela 9. % rendimentos de extratos (folhas, raízes e cascas) obtidas em todas extrações com acetona.	42
Tabela 10. % rendimentos de extratos (folhas, raízes e cascas) obtidas em todas extrações com etanol	42
Tabela 11. Valores dos parâmetros IC ₅₀ e AAI de ensaios	46
Tabela 12. Valores dos parâmetros IC ₅₀ e AAI de ensaios	47
Tabela 13. Valores dos parâmetros IC ₅₀ e AAI de ensaios	47
Tabela 14. Valores dos parâmetros IC ₅₀ e AAI de ensaios.....	47
Tabela 15. Valores dos parâmetros IC ₅₀ e AAI de ensaios	48
Tabela 16. Valores dos parâmetros IC ₅₀ e AAI de ensaios	48
Tabela 17. Valores dos parâmetros IC ₅₀ e AAI de ensaios	48
Tabela 18. Resultados do parâmetro IC ₅₀ obtidos a partir do cálculo da %I do radical DPPH em função do efeito antioxidante para cada extratos tendo é conta a média do compostos-padrão Trolox (IC ₅₀ = 7,83 ± 2,45); ácido gálico (IC ₅₀ = 2,01 ± 0,57) e Rutina (IC ₅₀ = 8,14 ± 2,14) classificação fortes redutores.	49
Tabela 19. Médias de AAI por extratos, classificadas de acordo com o efeito das amostras, tendo é conta a média do composto padrão Trolox (AAI = 6,45 ± 2,45); Rutina (AA=8,14± 2,14) e ácido gálico (IAA = 2,01±0.57) classificados como muito fortes.	50
Tabela 20. A massa inicial, frações e massa total recolhida por extrato.....	51
Tabela 21. Produtos aparentemente puros, selecionados após o processo de fraccionamento com CC e estão organizados por eluente e a proporção, frações, massa e o tratamento dado.....	51
Tabela 22. Produtos aparentemente puros, selecionados após o processo de fraccionamento com CC e estão organizados por eluente e a proporção, frações, massa e o tratamento dado.	51
Tabela 23. Produtos aparentemente puros, selecionados após o processo de fraccionamento com CC e estão organizados por eluente e a proporção, frações, massa e o tratamento dado.	52

Tabela 24. Compostos determinados por GC-MS, da parte solúvel em n-hexano do extrato de acetona das cascas de Vd, com respectivos tempos de retenção (Tr), massa e abundância relativa (%).	52
Tabela 27 Parâmetros IC ₅₀ e AAI da rutina, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.	72
Tabela 28 Parâmetros IC ₅₀ e AAI da rutina, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.	73
Tabela 30 Resumo dos parâmetros IC ₅₀ e AAI e classificação da atividade antioxidante da rutina.	74
Tabela 31 Parâmetros IC ₅₀ e AAI do trolox, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.	74
Tabela 32 Parâmetros IC ₅₀ e AAI do trolox, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.	75
Tabela 33 Parâmetros IC ₅₀ e AAI do trolox, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.	76
Tabela 34 Resumo dos parâmetros IC ₅₀ e AAI e classificação da atividade antioxidante do trolox.	76
Tabela 35 Parâmetros IC ₅₀ e AAI do ácido gálico, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.	77
Tabela 36 Parâmetros IC ₅₀ e AAI do ácido gálico, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.	78
Tabela 37 Parâmetros IC ₅₀ e AAI do ácido gálico, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.	78
Tabela 38 Resumo dos parâmetros IC ₅₀ e AAI e classificação da atividade antioxidante do ácido gálico.	78

Lista de Acrónimos

δ	Desvio químico em RMN
AAI	Índice de Atividade antioxidante
Ab ₅₀	Absorvância do controlo aos 90 minutos
Ab ₅₁	Absorvância da amostra aos 90 minutos
Ác.	Ácido
Ac.	Acetona
Al	Aloe
APX	Escorbato dismutase
Assist.	Assistida
ATP	Adenosina trifosfato
RTA	Refletância total atenuada
CAT	Catalase
CC	Cromatografia em coluna
CCF (Inglês-TLC)	Cromatografia em Camada Fina
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
((CH ₃) ₂ -d ₆)	Acetona deuterada
Clor.	Clorofórmio
Conc.	Concentração
COSY	(Inglês-Correlation spectroscopy) espectroscopia de correlação total
Db	Diospyros batocana
DEPT	Distorção por transferência de polarização
Dm	Desvio médio
DNA	ácido desoxirribonucleico
DPPH*	2,2-difenil-pecrilhidrazilo
DPPH-H	2,2-difenil-1- picrilhidrazina

DPPH ----- Radical 1,1- difenil -1,2-picrilhidrazil
EAM-----Extração assistida por micro-onda
EAU-----Extração assistida por ultra-violeta
EFS-----Extração com fluido supercrítico
ELP-----Extração líquida pressurizada
Ext.-----Extração
FRAP----- (Inglês-Ferric reducing antioxidante power assay)
FTIR-----Espectroscopia de infravermelho de transformação de Fourier
GC-MS-----Cromatografia Gasosa- acoplada a MS
GPx-----glutathione peroxidase
GSH-----Glutathione
Hex. -----Hexano
HIV-----Vírus da imunodeficiência humano
HMBC-----Correlação heteronuclear a múltipla ligação (Inglês-heteronuclear multiple Bond correlation)
HPLC-----Cromatografia líquida de alta eficiência
HSQC----- Correlação heteronuclear a uma ligação (Inglês-Heteronuclear single Quantum correlation)
%I-----Porcentagem de efeito inibidora
IC₅₀-----Concentração de inibição
IST-----Infecções transmitidas sexualmente
IV-----Infravermelho
L-----Radical alilo
LH-----ácido gordo insaturado
LOOH-----Hidroperóxido lipídico
MS-----Espectroscopia de massa
NOESY----- (Inglês-Nuclear Overhauser effect spectroscopy)
OMS-----Organização Mundial da Saúde

ORAC-----Ensaio da capacidade de absorção do radical Oxigênio
ppm-----Parte por milhão
R” -----Radical livre oxidativa inicial
R-----Radical oxidante
ROS-----Espécies oxidativa de Oxigenio
RMN(I)nglê-NMR)-----Ressonância magnética nuclear
SIDA-----Síndrome da imunodeficiência adquirida
SI -----Securidaca longipendunculata
Sgl-----Sansevieria liberica g e l.
SNC-----Sistema nervoso central
SOD-----Superóxido Dismutase
TOCSY----- (Inglês- total correlation spectroscopy)
Tr-----Tempo de retenção
UV-----Ultravioleta
Vd-----Vitex doniana

1. Introdução

Desde a antiguidade as plantas foram utilizadas em diferentes partes do mundo como medicamento tradicional para tratamento de diversas doenças, de acordo com a sua eficácia terapêutica.¹

Atualmente existem diversos compostos químicos sintéticos, que são dispendiosos e apresentam um nível elevado de efeitos colaterais cada vez mais persistentes, porém, o pensamento de procurar compostos potentes e com baixo índice de toxicidade para combater várias patologias, é cada vez mais desafiante. Consensualmente, a ideia de utilizar substâncias de origem vegetal é uma necessidade observada como via alternativa que pode também garantir a saúde humana. Do mesmo modo, os fitoquímicos ou moléculas bioativas, também se estão tornando opções alternativas contra várias epidemias.

Os fitoquímicos são compostos químicos extraídos de plantas.^{2,3} Estes compostos ganharam considerações significativas devidos vários benefícios associados à saúde, razão pela qual tornaram de tal interesse de que eles podem reduzir o risco de muitas doenças, como cardiovascular e alguns tipos de câncer.⁴ Isso é possível devido às suas composições químicas, (fibras, metabolitos secundários) ou algumas combinações de substâncias vegetais.^{5,6}

Por outro lado, a ampla gama das espécies de plantas com substâncias e potencial terapêutico, proporciona oportunidade experimental ilimitada explorada na medicina tradicional. Também, estas espécies podem servir como recurso real para inovação e o desenvolvimento econômico das sociedades, bem como aproveitamento da abundância do potencial ativo dos fitoquímicos das diferentes espécies de plantas, servir como uma ferramenta viável de recursos para indústrias farmacêutica para produzir diferentes drogas.^{7,8} Por exemplo, a descoberta da artemisinina, droga antimalárico com a biocompatibilidade muito potente, isolada de *Artemisia annua*^{9,10}, é um dos resultados de grande sucesso na pesquisa de produtos naturais.

Atualmente, os produtos naturais não só oferecem alta biocompatibilidade com efeitos colaterais menos acentuados¹, como também contribuem grandemente para o desenvolvimento de muitos medicamentos aprovados no mercado.^{10,11,12} De acordo com a organização mundial da saúde (OMS), mais de 80% da população mundial depende da medicina tradicional para resolução das suas necessidades primárias de saúde.^{6,13}

Por exemplo, na Ásia e na África, as necessidades primárias de cuidados de saúde através do consumo de medicamentos tradicionais a base de produtos naturais são bastante satisfatórias, como o uso de ervas entre a maioria da população, devido a falta de modernas instalações de saúde e elevados custos em despesas médicas.^{14,15}

Porém, verifica-se que a maioria das plantas utilizadas na medicina tradicional em diversas comunidades está sem a devida justificação científica, para um uso eficiente.¹³ Contudo, vários estudos etnofarmacológicos relataram a descoberta de novos fitoquímicos, de bioatividades,

bem como aplicações biológicas, fatores nutricionais e potenciais mecanismos moleculares de compostos bioativos descobertos em muitas espécies de plantas. Também, foi relatado a presença de metabolitos secundários como responsáveis pelos diversos efeitos terapêuticos apresentados nas substâncias das plantas.^{16,17,18,19,20}

1.1. Metabolitos secundários

Os organismos vivos, ou seja, muitas células constituintes das plantas biossintetizam diversos compostos químicos necessários para o seu desenvolvimento e sobrevivência.²¹ Estes compostos podem ser divididos em duas categorias como metabolitos primários e secundários. Os primeiros, são substâncias químicas responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento, como hidratos de carbono, aminoácidos, proteínas e os lípidos, enquanto que os metabolitos secundários, são um conjunto de compostos responsável pela capacidade global de sobrevivência e para sua interação com a vizinhança²², como terpenoides, alcaloides e compostos fenólicos.^{23,24}

Muitas vezes, estes metabolitos secundários são produzidos numa fase subsequente ao crescimento, sem desempenhar funções no crescimento embora ajudem a sobrevivência, apresentam estruturas químicas invulgares, por vezes são formados como misturas ou como derivados de uma determinada família de compostos). Pois que, a produção destes metabolitos é regulada pelas necessidades específicas de cada espécie, como por exemplo a produção de compostos voláteis pelas flores para atrair insetos polinizadores e a síntese de compostos tóxicos para afugentar patogêneses, herbívoros e para diminuir o desenvolvimento de plantas vizinhas.^{25,26} Estes compostos bioativos das espécies de plantas podem possuir diferentes efeitos sobre os sistemas biológicos humanos.²⁷

1.1.2. Definição de compostos bioativos

Segundo Boots e outros²⁸, considera-se compostos bioativos alguns metabolitos secundários que possuem efeitos sobre o sistema biológico. Assim, uma definição simples para compostos bioativos provenientes das plantas, segundo o Bernhoft A.²⁹; compostos bioativos ou metabolitos secundários são compostos químicos que exercem efeitos farmacológicos ou toxicológicos em humanos ou animais.

1.1.3. Localização dos compostos bioativos

Os compostos bioativos, permanecem juntos com outros compostos presentes nas plantas e podem ser identificados em várias partes da planta como frutas, folhas, cascas, raízes e caules.²²

1.1.4. Funções dos compostos bioativos nas plantas

Os compostos bioativos exercem inúmeras funções de defesas nas plantas, combatem os herbívoros e patógenos, estes mecanismos envolvem diferentes técnicas desde barreiras físicas como, camada de cera, espinhos, produção de resina até a resistência química, atribuída aos metabólitos secundários.²² Estes compostos bioativos exercem proteção contra macro e microrganismos nas plantas. Além de serem defensores contra stresses bióticos, os compostos fenólicos defendem as células e tecidos das plantas contra os danos oxidativos provocados por stresses abióticos, atuando como antioxidantes.^{23,30,31} Contudo, os compostos fenólicos apresentam muitas propriedades como estas nas plantas, razão pela qual podem também ser utilizados em humanos, para prevenção e controle de algumas doenças.³⁰

1.1.5. Classificação de compostos bioativos

Os compostos bioativos podem ser classificados por diferentes categorias, de acordo com a conveniência da classificação, por exemplo, as classificações biossintéticas podem ser feitas recorrendo na origem natural dos compostos e não depender dos seus efeitos farmacológicos.^{22,23} Assim, os compostos bioativos de plantas podem ser divididos em três categorias principais como terpenoides, alcaloides e compostos fenólicos.^{23,24}

A maioria dos compostos bioativos pertence a uma destas três famílias, agrupadas segundo com as suas características estruturais particulares, conforme são sintetizados naturalmente.³¹ Porém, os grandes desafios consistem no processo de obtenção dos compostos bioativos responsáveis pelos potenciais efeitos terapêuticos a partir das plantas, para logo serem atribuídos identidades, uma vez que, são necessários passos adicionais como seleção e colheita, extração, estudo de atividade biológica, isolamento, análises e a caracterização.^{13,32} Considerando os seus importantes efeitos para a saúde, os métodos eficientes de extração de compostos bioativos naturais, as avaliações adequadas da atividade antioxidante, bem como os principais recursos de plantas medicinais, atraem grande atenção na ciência.²³

1.1.6. Extração de compostos bioativos das plantas

Em geral, a extração é um dos primeiros passos indispensáveis em qualquer estudo de compostos bioativos a partir das plantas medicinais⁷, dada a importância do papel que desempenha no processo, influencia o resultado final. A diversidade de compostos químicos em diversas espécies de plantas, permite implementar as aproximações referenciais de modo a retirar das plantas as substâncias desejadas.^{27,33,34}

No entanto, a utilização de um método eficiente e rápido para uma extração fitoquímica a partir de materiais de plantas, permanece como um desafio, devido às limitações inerentes a vários métodos de extração.^{35,36} Assim sendo, motiva os investigadores a exploração de técnicas de extração mais eficientes e económico baseada numa abordagem qualitativa e quantitativa da extração.⁴ Porém, inicialmente são necessários cumprir abordagens que descrevem

seqüências (Figura1) relativas ao conhecimento botânico da planta medicinal em estudo, desde o nome até a utilização na medicina tradicional.³² Seguidamente consideram-se passos subsequentes que caracterizam os materiais vegetais da planta em causa e escolher um método de extração adequado.³² De seguida, caracterizar o perfil fitoquímico dos extratos, no que respeita aos compostos bioativos, fase seguinte fazer análise de atividades *biológicas in vitro* dos extratos brutos ou purificados para se aferir a potencial atividade biológica.²² Posteriormente, fazer separação e/ou isolamento, análise de caracterização e classificação ou identificação dos compostos bioativos.

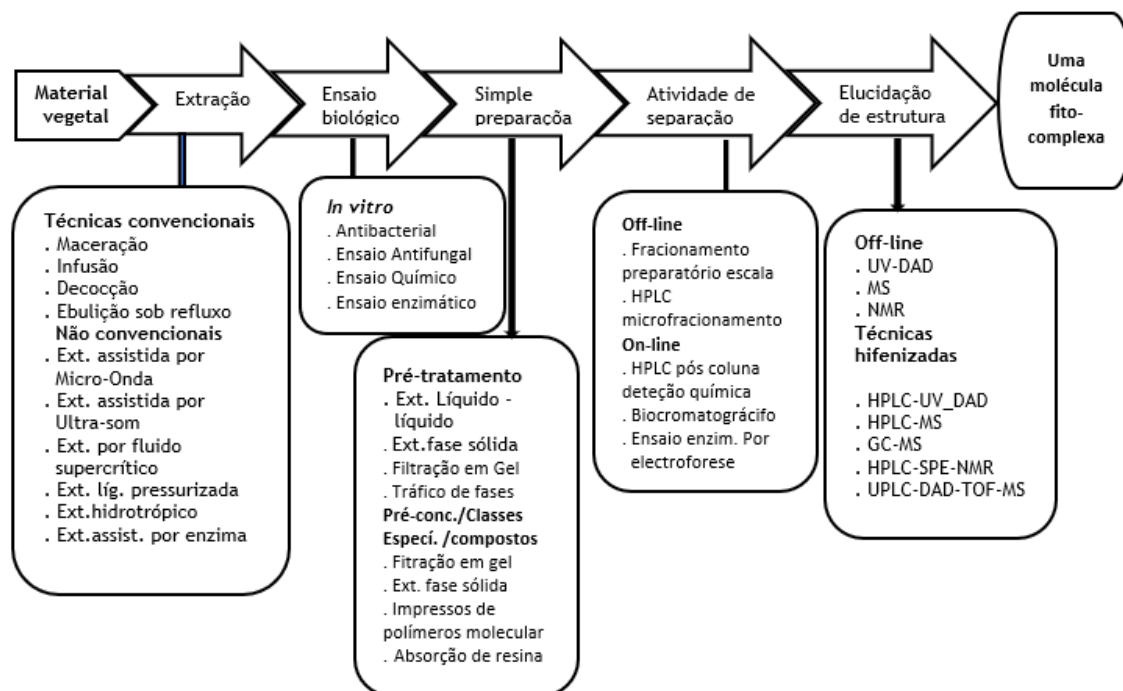


Figura 1. Floxograma de fases das metodologias envolvidas em estudo fitofarmacológico, adaptado.⁷

No entanto, a eficácia dos resultados muitas vezes depende em grande medida do método escolhido.¹³ Porém, existem diversas técnicas para a extração dos compostos bioativo nas plantas medicinais, apenas algumas delas pode serem utilizadas, embora todos possuem a finalidade de extração dos compostos bioativos nas plantas, como melhor sensibilidade, aumento da concentração de composto de interesse, aumentar a seletividade e eficiência dos métodos na extração.²²

Segundo Smith³⁷, os compostos bioativos podem ser extraídos por técnicas de extração que se baseiam no caráter estrutural dos materiais vegetais e capacidades de extração dos solventes utilizados. Afinidade molecular entre solvente e soluto, transferência de massa, segurança ambiental, toxicidade humana e viabilidade financeira, também são tidos em consideração na escolha de solvente para uma extração de compostos bioativos.²²

Diversos procedimentos de extração, incluindo métodos de extração tradicionais e métodos de extração não-tradicionais, pode serem escolhidos para extração de compostos bioativos a partir das plantas medicinais.³⁸ Os métodos de extração convencionais são principalmente extração

de Soxhlet, maceração, infusão, filtração e ebulição sob refluxo. Alguns destes métodos consomem muito tempo e quantidade relativamente elevada de solventes orgânicos, o que reduz os rendimentos de acordo com as condições de extração, além disso, o processo de aquecimento longo, como extração de Soxhlet, que pode levar a degradação dos compostos.

Os métodos de extração não convencionais são extração assistida por micro-ondas (EAM), extração assistida por ultra-som (EAU), extração com fluido supercrítico (EFS) e extração líquida pressurizada (ELP)³⁹. No entanto, todas estas técnicas são utilizadas para a extração e podem ser selecionadas de acordo com os compostos alvo.⁴⁰ Entretanto, como os compostos alvos podem ser não polares ou polares e termicamente lábeis, a adequação dos métodos de extração é importante.¹³

Quando nada ou pouco se sabe sobre a natureza dos metabolitos secundários, como a abordagem etnofarmacológica (somente se tem uma hipótese sobre a atividade biológica), todos os extratos são potencialmente de interesse biológico, logo, a opção do método de extração mais produtivo deve imitar as drogas à base de plantas, conforme descrito nos procedimentos tradicionais.^{7,41}

Para a extração dos compostos bioativos das plantas utilizando procedimentos metodológicos convencionais como a extração de Soxhlet, e maceração, a extração deve basear-se em solventes por polaridades crescentes para uma separação preliminar assegurada nas propriedades hidro/lipofílicas dos compostos biologicamente ativos.^{40,42}

A extração com Soxhlet (Figura 2), em geral uma quantidade de amostra seca é posta a um extrator e por sua vez, o extrator é enfiado num balão de destilação que contém solvente escolhido, dada a temperatura a solução transborda até ao nível da porta do extrator e é aspirada por um sifão. O sifão por sua vez descarrega a solução de volta no balão de destilação. A solução transporta o soluto extraído para o líquido. O soluto fica no balão de destilação e o solvente penetra de novo ao material em extração. O movimento é efetuado repetidas vezes até a conclusão da extração.⁴³

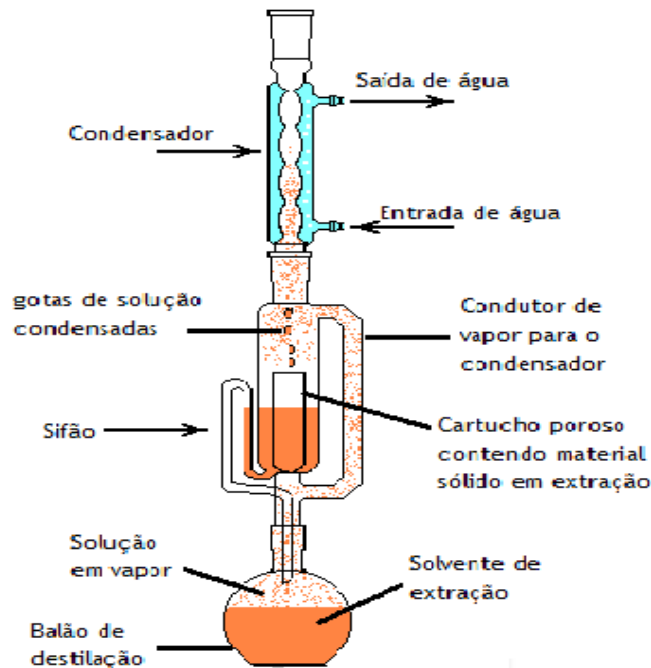


Figura 2. Esquema e montagem do extrator com o extrator Soxhlet.⁴³

Maceração é uma maneira fácil e barata de se extrair os compostos ativos a partir das plantas, é usada para extrações em pequenas quantidades.⁴² A maceração é feita em várias etapas, onde, em primeiro lugar faz-se a moagem de materiais, reduzindo-as em grãos para aumentar a área de superfície e uma mistura adequada com o solvente. A seguir, adiciona-se o solvente num recipiente fechado à temperatura ambiente. O líquido é coado, o bagaço é prensado para recuperar grande quantidade de soluto. O obtido é filtrado para separar as impurezas. A temperatura ambiente diminui a possibilidade de degradação de metabolitos termolábeis e a agitação em geral facilita o processo de extração, aumenta a difusão e permite contacto repetitivo de solvente com amostra para aumentar o rendimento de extração.⁴²

1.2. Solvente para extração dos compostos bioativos de plantas

O crescente interesse em metabolitos secundários derivados de plantas, motiva a procurar técnicas para extração com menores custos e redução de consumo do solvente para suprir as limitações no rendimento do processo. Para uma extração vantajosa de compostos bioativos é necessário ter em consideração alguns fatores na escolha de solvente como afinidade molecular entre solvente e soluto, transferência de massa, segurança ambiental, toxicidade humana e viabilidade financeira. Foi estudado o impacto de diferentes tipos de solventes como n-hexano, acetona, etanol, metanol álcool etílico entre outros, para fins de extração e analisaram vários solventes de diferentes polaridades que devem ser usados em várias partes das plantas como

frutas, flores, folhas, cascas, raízes e sementes, para extrair diferentes compostos bioativos de plantas, com alto grau de precisão.²⁷

No entanto, a seleção do solvente depende muito da natureza específica do composto bioativo de interesse.⁴⁴ Onde, solvente de polaridade semelhante ao soluto, dissolverá adequadamente o soluto semelhante. Assim, vários solventes podem ser usados sequencialmente, desde o menos polar até à mais polar (Figura 3), como n-hexano, clorofórmio, acetato de etilacetato, diclorometano, metanol e água.²⁷

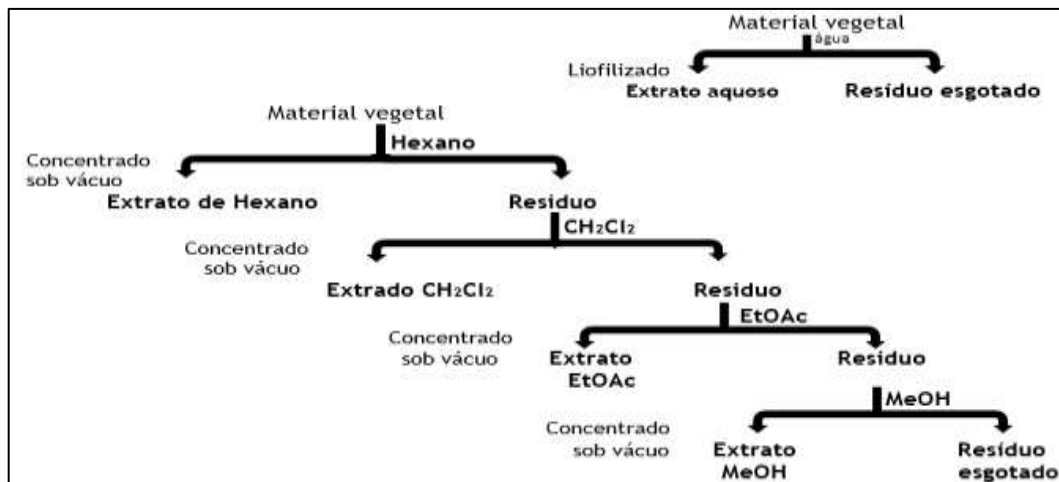


Figura 3. Fluxograma do processo de extração convencional (maceração, decocção refluxo, soxhlet) em solventes de polaridade crescente.⁷

1.2.1. Limitações

Apesar destas técnicas continuarem a ser mais utilizadas na extração de compostos bioativos, contudo, apresentam algumas desvantagens, como tempo de extração elevado e necessidade de grande quantidade de solventes, baixa seletividade de extração e em alguns casos a decomposição térmica de compostos.^{45,46} Mas, todos estes métodos de extração fazem uso de mesmo conjunto básico de conceitos para concentrar o analito seletivamente em uma fase. As taxas de extração são baseadas na cinética de migração, que são controladas pela temperatura e pelas taxas de difusão nas duas fases. Porém, um equilíbrio deve ser obtido entre a extração completa de todos os compostos orgânicos solúveis e a extração seletiva apenas dos compostos de interesse.³⁷

1.3. Caracterização das plantas estudadas

1.3.1. A espécie do género *Aloe*

Neste trabalho a planta *Aloe*, foi caracterizada utilizando os dados disponível sobre o género da planta *Aloe* espalhado no mundo, pelo fato de não ser encontrar dados que especifica a espécie em que pertence esta planta do género *Aloe* recolhida em Angola/Moxico.

Aloe (Al) (Figura 4), é um género de planta que contém mais de 530 espécies de plantas suculentas floridas⁴⁷, são cultivadas para diversos fins tais como farmacêuticos, pertence à família *Asphodelaceae* ou *Lilliaceae* (família de lírios). Originária principalmente da África Tropical e do Sul, Madagáscar, Jordânia, Penínsulas Arábicas e muitas Ilhas do Oceano Indico, algumas espécies também surgem noutras regiões do Mediterrâneo, na Austrália, na América de Norte e do Sul. Geralmente encontradas em terrenos áridos, pelo que necessitam de pouca água, fixando uma grande quantidade nas suas folhas para posterior uso.⁴⁸ Vulgarmente é conhecida pelas etnias no Moxico, com o nome vernáculo de Tchilombo.



Figura 4. Imagem da espécie de planta do género *Al*, fotografada por António M. Selua, em Agosto 2017, no Município do Leua, aldeia do Soba-Kapalu, Moxico/Angola.

A nível botânica *Al*, é considerada perene, a maioria das espécies de *Al* possuem uma roseta de folhas grandes e grossas de cor cinza verde-claro, e margens arrumadas com dentes. As flores de *Al* são tubulares frequentemente amarelas, laranja, rosa ou vermelhas, agrupadas e pendentes, suportadas no ápice do caule sem folhas. Muitas espécies de *Al* aparece sem haste com a roseta crescente diretamente ao nível do solo, caule ramificada ou não, onde sai as folhas carnudas.⁴⁹

Al vera é cultivada como planta ornamental tanto em jardins como em vasos. É usada tanto interna como externa em seres humanos como medicamentos ou alternativa.⁴⁹ O gel líquido das folhas das espécies *Al*, é útil para tratamento em queimadura, feridas, erupções cutâneas e

como laxante.⁵⁰ As espécies de *Al* possuem abundantes metabolitos secundários úteis em folhas e raízes.⁵⁰ As espécies do Género *Al*, foram relatados possuir inúmeras atividades, incluindo antioxidantes, anticancerígenas, antiúlceras, antialérgicos, antiinflamatórios, imunomoduladores, hepatoprotectores, antiúlceras, e antidiabéticos.⁵¹

Segundo Hamman⁵², defende que a maioria dos benefícios para a saúde associados ao género *Al*, são atribuídos aos polissacáridos presente no gel foliares. Estas espécies da planta *Al*, possui a principal característica de elevado teor de água, com a variação de 99,5%.^{50,52} O resto do material sólido ronda a 0,5-1,0%, a planta apresenta mais de 75 diferentes compostos potencialmente ativos, incluindo vitaminas, minerais, enzimas, polissacáridos simples e complexos, fenólicos, ácidos orgânicos, solúveis em águas e gorduras.⁵¹ Exemplo dos compostos quinólicas da família fenólicos.⁴⁹

1.3.2. *Securidaca longipedunculata*

Securidaca longipedunculata (Figura 5), é uma planta pertencente ao género *Securidaca* da família *Polygalaceae*, cientificamente é conhecida como *Securidaca longipedunculata* (Sl), compreende cerca de 80 espécies, normalmente é reconhecido com o nome vernáculo de Mutchatcha no Moxico ou Mutata. Em outros países africanos, as espécies são chamadas em vários nomes vernáculos diferentes de acordo com grupos culturais e étnicos, como por exemplo: violeta fibrosa ou violeta da Rodésia, Sotho, Tswana, amárico, mupapi, lilo, mufufu shotora entre outros. A planta é muito utilizada na medicina tradicional para o tratamento de várias doenças em muitos países africano incluindo Angola, Benin, Botsuana, Burundi, África do Sul, Sudão, República Democrática do Congo, Moçambique, Zambia, entre outros.⁵³



Figura 5. Imagem da pequena planta *Securidaca Longipedunculata*, fotografada por António M. Selua em Agosto 2017, no Município do Moxico, aldeia de Altu-Campo, Moxico/Angola

A nível botânica a Sl, é bastante interessante, é uma árvore de pequena a médio porte tendo uma altura geralmente entre 6 a 12 metros. As suas folhas alternadas mais ou menos sem pelos que varia no tamanho e forma. Possui galhos cobertos de pelos finos. Produz flores, aglomeradas, e são pequenas com cor rosa a lilás ou púrpura, adocicadas e produzidas no verão. Casca lisa palico e oblongo. Frutos noz redondas, muito venosas.⁵³

O principal uso etnomedicinal da Sl em diferentes países, é comumente utilizada raízes, cascas e folhas, para o tratamento de várias doenças. Também foram relatadas atividades antimicrobiana, propriedades farmacológicas, citotoxicidade, fitoquímica, anti-inflamatória, antioxidante, antidiabética, antimalárica, antiparasitária, anti-helmíntica, anticonvulsivante e inseticida.

Na medicina tradicional Sl, é considerada multifuncional sendo de longa história em uso tradicional africana no tratamento de várias infeções como bálsamo natural, doenças transmissíveis sexualmente, hérnias, tosse, febre, constipação, dores de cabeça, reumatismo, dor de estomago, malária, tuberculose, epilepsia e convulsões, infeções da pele, inseticida, pesticida e também é usada como afrodisíaco para espécies masculinas. As folhas frescas juntamente com a casca de *Gardinia erubescens*, moídas e aplicadas externamente duas vezes por dias durante 60 dias para tratar cancro de pele e outras infeções cutaneas, também as folhas secas moídas em pó e colocadas no fogo o fumo resultante é inalado e trata dor de cabeça, enquanto for cozida e tomada por via oral para fins anticoncepcionais.⁵³

Compostos químicos isolados de Sl., são relatados os óleos voláteis das raízes em grandes quantidades de Salicilato de metilo na casca de raiz, 90% de metil-2-hidroxibenzoato. Além disso, de *Securinina presenegenina* foram isolados ésteres de metil-2-hidroxi-6-metoxibenzoato (Figuar 6) e seus derivados. A planta é também relatada contendo glicósidos, alcalóides, antraquinonas, óleos voláteis, flavonoides, saponinas, terpenoides e xantonas, esteroides.^{53,54}

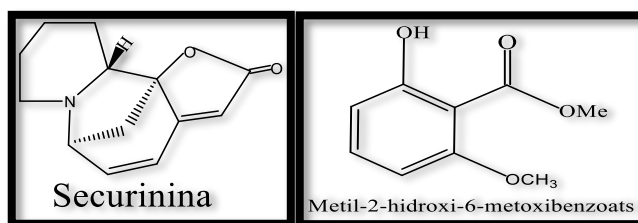


Figura 6. Alguns compostos isolados em *Securidaca Longipedunculata*.⁵³

1.3.3. *Diospyros batocana*

Diospyros batocana (Figura 7), é uma planta lenhosa do género *Diospyro*, que pertence a família *Ebenaceae* de espécie batocana, faz parte da subfamília *Ebenoideae pantropical* de 500-600 espécies⁵⁵, a planta é designada cientificamente como *Diospyro batocana* (Db.), com sinónimos *D. odorato* e *D. xanthocarpa* e na Província do Moxico/Angola, é denotada vulgarmente com o nome vernáculo de Mulima. A planta é utilizada na medicina tradicional em muitos países de oeste africano, como Zâmbia, Angola, Zimbabwe e República Democrática do Congo.^{55,56}



Figura 7. Imagem da pequena planta *Diospyros batocana*, fotografada por António M. Selua, em agosto 2017, no Município do Leua, aldeia de Soba-Kapalu, Moxico/Angola

O género da planta é bastante interessante. Existem poucos relatos sobre a espécie *Db*. Mas os relatos frequentes são do género *Diospyros*, utilizados em muitas práticas da medicina tradicional Africana. Por exemplo no Moxico, as partes de *Db*, mais usadas são as folhas, casca de haste e raízes. De acordo com a informação dada pelo Daniel Camisa, coordenador provincial da Câmara Profissional dos Terapeutas da Medicina Tradicional e Natural em Angola da Província, as folhas verdes são moídas e postas na água, coado, o líquido resultante é tomado duas vezes ao dia, durante 7 a 8 dias, trata febre tifóide, tosse, dores de estômagos, diarreia, dor de cabeça.

Também as folhas são moídas com água, a massa resultante é esfregada no corpo para tratar sarampo e outras doenças da pele. O mesmo processo pode ser realizado com as cascas da haste. As raízes são utilizadas principalmente como produtos para branquear os dentes, as raízes são utilizadas em casos específicos devido ao poder agressivo, por exemplo se estiver em contacto com a pele pode provocar feridas com características de queimaduras, segundo disseram os anciãos: Soba Kapalu, Evaristo Samanhundo, Abraão Mwakanduli, Gabriele Munuga e Daniel Camisa.

A nível botânica a *Db*, é considerada árvore ou arbusto verde perene, alta até uma altura geralmente de 12m, com suas folhas de couro, verde brilhante acima, cinza-verde brilhante abaixo. A planta produz flores pequenas, brancas-creme, as vezes de tom violeta, aparece fofo na madeira velha. Das flores desenvolvem frutas alaranjadas comestíveis, arredondadas, ovais, carnosas e maduras com um sabor amargo.

A planta apresenta alguns fitoquímicos como: Triterpenos, Naftoquinonas, Cumarinas e flavonoides.^{56,57} As cascas de raiz da Db, examinadas foi notada a presença de 1-metijuglona, 2-metilnaflazaína, rotundiquinona, mamegakinona, diospirina, diospirotona, isodiospirina e batocanona. O composto batocanona provou ser O(-)-enantiomero de isodiospirina-2;2-epóxido, é também provável a existência de β -dihydrodiospirina (Figura 8). Pouco relato encontrado sobre a atividades biológicas e a composição química da espécie batocana, assim como outros dados.⁵⁶

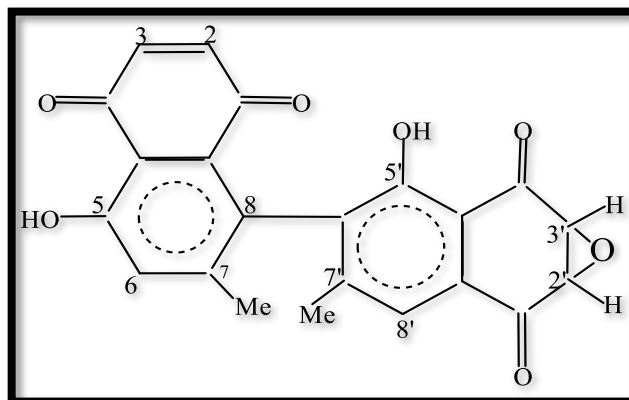


Figura 8. β -dihydrodiospyrin, composto maioritário insolando Db. ⁵⁶

1.3.4. *Sansevieria liberica* género e. *Labroy* (Slgl)

Sansevieria liberica género e. *labroy* (Slgl) (Figura 9), é uma planta que pertence a família *Asparagaceae* de género *Sansevieria*, com nome científico *Sansevieria l, g e labroy* (Slgl) e vulgarmente é denotada com o nome vernáculo de Mucumbatulo, na região Leste de Angola, particularmente Moxico. Pode ter vários nomes de acordo com a constatação cultural da região, exemplo; na Nigéria e denominada como mooda, ebube, agu, okonno e oja ikoko, também outros povos atribuem nomes comuns que incluem língua da sogra, corda de arco africana e lírio de leopardo. Pode ser encontrada em vários países do mundo.

A planta é utilizada para muitos fins assim como a medicina tradicional na maioria dos países particularmente os países africanos.⁵⁷ A nível botânica a Slgl, é considerada perene e rizomas. Com folhas rígidas fibrosas de margem vermelhas, tendo uma altura de 2 pés decorrente da planta rastejante. Com a raiz de caule acima do solo e não se torna madeira, é longo com fibras, cresce rápido e ramificada: Inflorescência mais longo 50 a 80 cm de comprimento do que as folhas. As flores apresentam uma coloração branca são cultivadas como plantas ornamentais. A planta é usada na medicina tradicional para o tratamento de várias doenças.⁵⁸

A planta é característica de algumas espécies (fitoquímica): Óleos, Açúcares redutores, Alcaloides, Saponinas, Taninos e Antraquinona, Flavonoide, terpeno, Óleos rápidos, glicósidos, proteínas, esteroides.^{57,59}



Figura 9. Imagem da pequena planta SLGL, fotografada por António M. Selua, em Agosto 2017, no Município do Leua, aldeia de Soba-Kapalu, Moxico/Angola

Sigl, é utilizada no tratamento de infeções oculares, inflamação (suco foliar); dor de dentes (suco de fruta juntamente com fluido de caracóis); febre, dor de cabeça e frio (fumaça de folhas ardentes inaladas); tosse, dor, inflamação, infeções, convulsão, diarreia e como tónico estimulante (coação de raiz), uso das preparações de folhas e raízes da planta no tratamento de hemorroidas; problemas no ouvido e nos olhos; varíola e sarampo; doenças venéreas; desnutrição; paralisia, epilepsia, convulsões e espasmos; problemas pulmonares; e como vermífugo.⁶⁰

Também relataram o uso da planta como remédio para infeções parasitárias. Relata-se também sobre a planta a existência de atividades biológicas da espécie, assim como: anti-inflamatório⁵⁹, antidiarreicas⁵⁷, hepatoprotectores, depressores do SNC e anticonvulsantes⁶¹, analgésicos⁶² anti-espontâneo e antileishmanial e antiplasmodial.⁶⁰

1.3.5. *Vitex doniana*

Vitex doniana (Vd) (Figura 10), é uma árvore caducifólia de pequena a médio porte, cresce até 18 a 25 m de altura, com fuste sem ramificações até 11 m. O diâmetro do fuste pode crescer a 90 cm. A espécie Vd. consiste em mais de 270 espécies, pertence a família *lamiaceae* do género *Vitex* L. Quando adulta, a superfície da casca é fissurada, escamosa e é de cor branca acinzentada.



Figura 10. Imagem da Vd., tirada pelo autor em agosto 2017, fotografada por António M. Selua, em Agosto 2017, Município do Moxico, aldeia de Sakassagem; Moxico/Angola,

As folhas são opostas digitalmente compostas com, em geral, 5 folhetos. As flores são brancas, excepto no lobo maior que é roxo, bissexuais, zigomorfa. A fruta é arroxeadada, carnudas de 4 células de madeira até 4 sementes, geralmente hermafroditismo.^{63,64,65,66}

A espécie Vd, vulgarmente é denotada na região do Moxico/Angola, com o nome vernáculo Tchikamba ou Xikamba.⁶⁷ Pode ter vários nomes de acordo com a constatação cultural em diferentes regiões, por exemplo Ameixa negra ou azeitona Africana, carvalho africana, Dinya, Galbihi, oori-nla entre outros. Cresce na Africa, é uma árvore bem-adaptada em região de clima tropical como Angola, Zâmbia, Tanzânia, Uganda, Nigéria, Africa de Sul, Etiópia entre outros.^{64,66,68}

Vd, é uma árvore bastante interessante e curiosa, útil e multifuncional. Várias partes da planta são usadas fornecendo diversos aproveitamentos tanto para fins alimentares, madeiras terapêuticas, no tratamento de doenças comumente causadas por microrganismos patogênicos regulares que incluem *Bacilos Sublilis Esccherichia Coli* entre outros.⁶⁸ A fruta seca e fresca além de ser alimento, pode ser consumida como remédio de diarreia, aumentar vitamina A e B no organismo, também, a fruta, é tradicionalmente usada para melhorar a fertilidade, tratar doenças como raquitismo, distúrbio gastrointestinais e icterícia.

O suco das folhas jovens espremidas, pode ser usado para tratar conjuntivite e outras queixas oculares, também degolação folear aplicada externamente, melhora o fluxo do leite materno, e trata dores de cabeça, rigidez, sarampo, erupção cutânea, febre, doenças respiratórias. Também a preparação das cascas de caule em pó é tomada para tratar cólicas, e em algumas comunidades usam para controlar sangramento pois parto, problemas de estômagos e rins, doenças de fígado, gastroenterite, desintéria. Na África ocidental e austral, é usada para tratar ITS, gestão de HIV/SIDA, cicatrização de feridas, doenças da pele, diarreia como consequência de imunidade^{66,68,69}, Vd, é uma planta com altos valores socioeconômicos.⁶⁴ Alguns estudos relatam algumas atividades biológicas como: anti-hipertensiva no extrato das cascas, tripanocida, *in vitro*, atividades antioxidante, hepatocurativa, anti-HIV.^{70,71,72}

Também, os compostos como alcaloides, aldeídos, ácidos, esterres, cetonas, saponinas, taninos flavonoides, hidratos de carbono, esteróides, terpenos e os fenóis, foram identificadas nos extratos de folhas, frutas e cascas de raízes.^{65,68} Análises fitoquímicas comprovaram uma dominância de metabolitos secundários polares, que aumenta a capacidade dos extratos inibir o desenvolvimento dos patógenos que pode ser como resultado da presença de substâncias bioativas, como alcaloides saponinas, taninas, flavonoides, esteroides entre outros.⁶⁸ É uma planta com ricas bioativas que pode contrapor os efeitos nocivos a saúde, como os resultados das reações oxidativas ocorrentes no organismo humano.

1.4. Reação de oxidação-redução

Considera-se reações de oxidação-redução, as reações caracterizadas pela transferência de elétrons, isto é diferente das reações ácido-base, onde acontece a transferência de prótons. Portanto, o termo oxidação surgiu em princípio para mostrar a combinação de um elemento com o Oxigênio. Contudo, nos tempos atuais, possui um sentido muito vasto onde pode abranger reações sem a participação de oxigênio. Assim, quando numa reação onde há envolvimento de perda de elétrons denomina-se reação de oxidação, enquanto que uma reação que envolve o ganho de elétrons, denomina-se reação de redução. Neste caso, quando um elemento é oxidado (doa), este age como agente redutor (quer dizer que doou elétrons a outro, provocando-lhe a redução), ao passo que, quando um elemento se reduz (recebeu), este age como agente oxidante, (quer dizer que recebeu elétrons causando a oxidação do outro).^{73,74,75}

1.4.1. Radicais livres

O oxigénio (O_2) é necessário para os seres vivos da Terra, especialmente os humanos, mas ao mesmo tempo é prejudicial. Aos humanos é essencial nas reações de oxidação para rotação de adenosina-trifosfato (ATP) e biossíntese. No entanto, ao receber um único eletrão, transforma-se em radicais de oxigénio que são muito reativos e que danificam lípidos, proteínas, e DNA celular, o que pode contribuir para a morte celular e diversas doenças.^{75,76}

Radical é uma espécie composta com um eletrão na orbital mais externa.⁷⁷ Assim, Oxigénio é uma molécula com dois radicais, esta apresenta dois eletrões desemparelhados com spin paralelo em orbitais diferentes.^{78,79} Por inúmeros processos enzimáticos e não-enzimáticos processados constantemente nas células, o oxigénio recebe um eletrão o que lhe transforma espécies reativas de oxigénio (ROS, e inglês *reactive oxygen specie*). Através da qual reduz-se as ROS como radical *superóxido* (O_2^-), o não-reativo peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e o radical hidroxil (OH^*) são radicais de oxigénio altamente reativos nas células.⁸⁰ Contudo, a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS), a partir do oxigénio molecular (O_2), nas células é uma ocorrência diária natural no organismo.⁷⁵

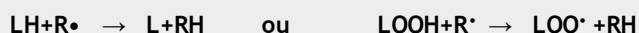
O radical hidroxilo, é altamente reativo⁸¹, causa danos oxidativos a proteínas e ao DNA, e é formado por um processo não enzimático a partir do superóxido na presença de Fe^{2+} ou Cu^+ , também forma peróxido lipídicos.⁷⁸ Em alguns casos as consequentes lesões por radicais livres, representa motivo de danos dos tecidos em vários processos patológicos neurodegenerativas, como doenças inflamatórias, certos cancros, cataratas, declínio do sistema imunitário, diabetes tipo 1, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, e danos celulares.

1.4.2. Oxidação lipídica

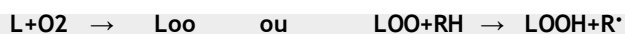
A oxidação lipídica pode ser provocada por radicais livre ou espécies reativas de oxigénio, que ocorrem em numerosas reações de grande relevância no organismo ⁷⁵. A peroxidação lipídica pode acontecer por três vias, a primeira denomina-se por via clássica, é uma reação em cadeia não-enzimática promovida por radicais livres, a segunda não enzimática, com a ausência dos radicais livres, via foto-oxidação, e a terceira, ocorre pela via enzimática.⁸²

Na peroxidação lipídica pela via clássica através de radicais livres, o processo pode originar-se a partir da influência de vários fatores físicos ou químicos, incluindo aquecimento, radiações, calor, espécies reativas de oxigénio, ou por catalisadores de iões metálicos ou metaloproteínas. Acontece em uma reação em cadeia de radicais livres, que pode ser ilustrado em três processos (Equação 1): de iniciação, de propagação e de terminação.

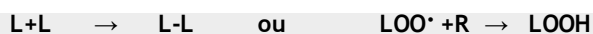
1) Iniciação:



2) Propagação:



3) Terminação:



Equação 1. Reação em cadeia de radicais livres pela via clássica adaptado.^{27,82}

(1) Geralmente isso pode ocorrer num grupo metílico alílico de um ácido gordo insaturado (LH) ou um hidroperóxido lipídico (LOOH). No início o LH é o substrato, pode ser um lípido, e (R[•]) um radical oxidante inicial, a oxidação gera um radical alilo (L[•]) rapidamente reagem com o oxigénio (O₂) originando o radical peróxido (LOO[•]). Este produto pode reagir diretamente com outra molécula lipídica para produzir um hidroperóxido lipídico (LOOH) e um radical livre de lípidos (R[•]). Isso faz com que aconteça continuamente reações em cadeia até a conjugação dos radicais livres, para a formação de produtos não radicalares (Radicais livres neutralizados por outros radicais livres). (2) A fase de terminação, existem dois radicais convertidos em produtos de radicais livres, terminará assim o modo de cascata da reação em cadeia segundo a equação (3). A cadeia de reação pode ser realizada também por alguns antioxidantes ou sequestradores de radicais livres.^{27,82}

1.4.3. Atividades antioxidantes

As substâncias com atividades antioxidantes possuem um papel fundamental, devido ao efeito modulador dos processos oxidativos que ocorrem nos organismos humanos. Segundo Halliwell,⁸³ Antolovich⁸², Amorati e outros⁸⁴; antioxidante refere-se a qualquer composto que em pequena concentração, comparado com o substrato oxidável, retarda a velocidade de oxidação ou inibem a oxidação do substrato oxidável.

No entanto, os antioxidantes devem ser divididos de acordo com as suas propriedades em diferentes etapas no processo de oxidação, sendo que agem por diversos mecanismos, podem ser divididos em dois tipos de antioxidantes: antioxidantes primários e secundários. Os antioxidantes primários inibem ou retardam a oxidação, por doação de átomos de hidrogénio ou elétrons aos radicais livres, estabilizando-os. Este tipo de antioxidantes age como agente redutor por doação. Os antioxidantes secundários atuam quando se ligam aos iões metálicos importantes na formação de ROS; por remoção de oxigénio das espécies reativas ou dos seus precursores; por transformação de hidroperóxidos em espécies não radicalares e por absorção de radicais na zona ultravioleta.⁸⁰

Portanto, ao nível celular, a actividade contra a toxicidade no organismo pode ser classificada por enzimática e não-enzimática, e de acordo com a procedência, são endógenos os produzidos pelas células, exógenas quando provenientes da dieta.⁸⁰ Os protetores enzimáticos envolvem principalmente as enzimas glutathione peroxidase (GPX), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), tioredoxina reductase e ascorbato peroxidase (APX), atuam em compartimentalização celular, confinamento de metais e reparação dos componentes celulares danificados.⁸⁴ Estes antioxidantes reagem com as ROS e com os produtos celulares das reações em cadeia de radicais livres, conseguem neutralizá-los e convertê-los em produtos não-toxicos.

No caso de antioxidante não-enzimático, estes incluem ácido ascórbico (vitamina C) alfa-tocofenol (vitamina E), Glutathione (GSH), carotenoides, flavonoides, polifenóis, alguns metais como selénio, magnésio, zinco e cobre.^{75,78,85} Porém, tanto os enzimáticos como os não enzimáticos, ambos atuam para garantir o equilíbrio redox das células. Também, uma vez que é insuficiente os antioxidantes endógenos e sintético para aumentar a defesa das células contra radicais livres, torna-se importante recorrer aos antioxidantes exógenas provenientes de outras fontes.⁸⁴

Assim sendo, várias estratégias protetoras dos tecidos e órgãos contra os danos oxidativos por radicais livres foram experimentadas, uma das quais inclui a utilização de antioxidantes originários de produtos naturais. No entanto, muitos estudos realizados a com plantas, mostraram que as plantas serem maior fonte de antioxidantes naturais. Os antioxidantes sintéticos estão identificados como a causa de alguns problemas de saúde, como danos ao fígado, devido à sua toxicidade e carcinogenicidade.²⁷ Mas também, a substituição desses sintéticos, passa por desenvolvimento de outros sistemas de antioxidante a partir de fontes mais seguras, uma vez que o uso de plantas na medicina tradicionais têm sido uma boa fonte de medicamentos ao tratar diversas doenças. Pois, muitas dessas plantas medicinais utilizadas como potencial fonte de compostos naturais (fitoquímicos) proporciona alta atividade antioxidante.⁸⁶

1.4.4. Antioxidantes naturais

Alem de sistemas biológicos proporcionarem a proteção contra danos provocados pelos radicais livres, também outros antioxidantes como compostos naturais oriundos das plantas podem ser utilizados; a vitamina E, nutriente essencial com atividades antioxidantes que pode funcionar como quebra de reação de cadeia, prevenindo a propagação de reações sucessivas com radicais livres em células do corpo humano. A vitamina C também faz parte do mecanismo normal de proteção dos antioxidantes. Outras substâncias antioxidantes não-enzimáticas incluem os carotenoides, flavonoides, polifenóis, entre outros. Estes desempenham um papel fundamental na defesa e eliminação de radicais livres.⁷⁸

A Vitamina E, (Figura 11), (alfa-tocoferol), é uma vitamina antioxidante lipossolúvel atua principalmente na proteção contra a peroxidação lipídica nas membranas. Portanto, grande

número de tocoferóis difere no seu padrão de metilação, constituídas por dois anéis com uma cadeia lateral de hidrocarboneto, são conhecidas como α , β , γ e δ de acordo com o grupo metilo ou protão ligado ao seu anel benzeno. Entre esses, o alfa-tocoferol é o antioxidante mais potente e presente em maior quantidade, antioxidante não-enzimático de reação em cadeia de radicais livres. O grupo hidroxilo livre no anel aromático é responsável pelas propriedades antioxidantes. Quando a vitamina E doa um elétron a um radical peróxi-lipídico, converte-se numa forma de radical livre estabilizada, por ressonância pode atuar como um pro-oxidante e abstrair um elétron de um lipídeo polinsaturado.⁷⁸

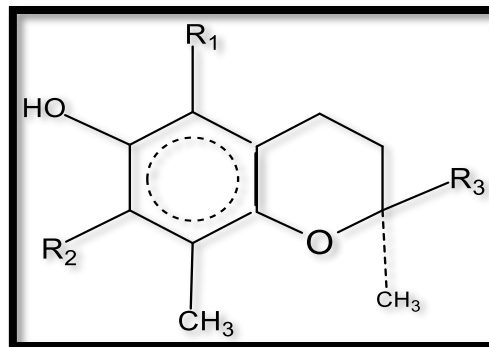


Figura 11. Alfa-tocoferol vitamina E⁷⁸

O ascorbato (Figura 12). (vitamina C), é abundante nos tecidos vegetais, as folhas verdes possuem a mesma quantidade de ascorbato do que de clorofila, e é importante para o crescimento diferencial e o metabolismo de plantas. Apesar de ser uma coenzima de oxirredução de outras reações, possui também atividades defensoras contra radicais livres. Ascorbato pode limpar diretamente os radicais de oxigênio com e sem catalizador de enzimas, pode indiretamente eliminá-los, pois, no estado reduzido pode regenerar a forma reduzida da vitamina E numa doação de elétrons num ciclo redox. Sendo hidrossolúvel, circula sem se ligar ao sangue e pelo líquido extracelular e na região de acesso à vitamina E que é lipossolúvel, e encontra-se nas membranas e nas partículas de lipoproteínas. Reagem com o oxigênio ativado mais prontamente do que qualquer outro componente aquoso, o ascorbato protege as macromoléculas críticas do dano oxidativo e pode limpar diretamente os radicais livres.⁷⁸

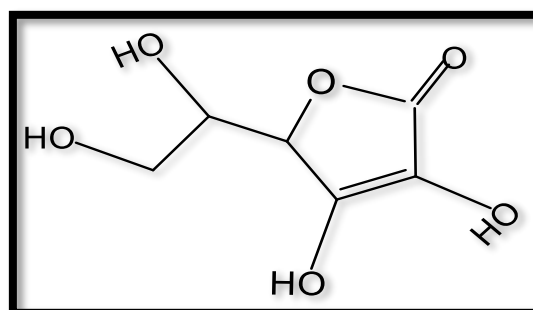


Figura 12. Acido ascorbico vitamina E.⁷⁸

Carotenoides (Figura13), é um termo aplicado ao beta-caroteno (precursor da vitamina A) e aos compostos semelhantes com substituintes contendo átomos de oxigênio nos anéis, por exemplo o zeaxantina e luteína. No entanto, os carotenoides podem exercer efeitos antioxidantes a espécie de oxigênio altamente reativa. Os carotenoides são divididos em duas classes, carotenoides que contém apenas átomos de carbonos e de hidrogênio e oxocarotenoides que têm um átomo de oxigênio. Os carotenoides podem proteger os fotossistemas de quatro maneiras: reagindo com produtos de peroxidação lipídica para terminar reações em cadeia, por limpeza de oxigênio singlete e dissipar a energia como calor; reagindo com cloromolécula para prevenir a formação de oxigênio singleto. Portanto, a maior parte de carotenoide contém um sistema de ligação dupla conjugada que é responsável pela sua atividade antioxidante.⁷⁸

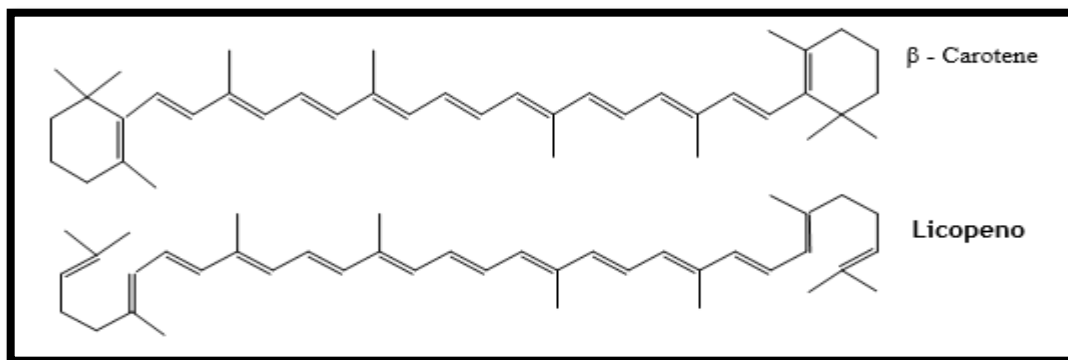


Figura 13. Carotenoides: β-Carotene e Licopeno⁷⁸

Os flavonoides (Figura 14), são um grupo de compostos de estruturas idênticas, porém diferem nos substituintes do anel (=O, -OH e OCH₃), contêm dois anéis aromáticos espacialmente separados (A; B) e um anel (C) heterocíclico que contém um átomo de oxigênio, também, compartilham esqueleto estrutural básico C6-C3-C6, e são encontrados nas matérias vegetais. Pois que, tem sido considerado como contribuintes da defesa contra radicais livre por vários mecanismos. Alguns flavonoides representam ações inibidora das enzimas responsáveis pela produção de aniões superóxido, uma vez que, podem agir como captadores de radicais livres ao doarem elétrons no superóxido e aos radicais peroxi-lipídicos, ou por estabilizarem os radicais livres formando assim complexos com estes. É difícil determinar os flavonoides que podem contribuir para o sistema de defesa contra radicais livres, mas eles possuem uma alta atividade pro-oxidante.⁷⁸

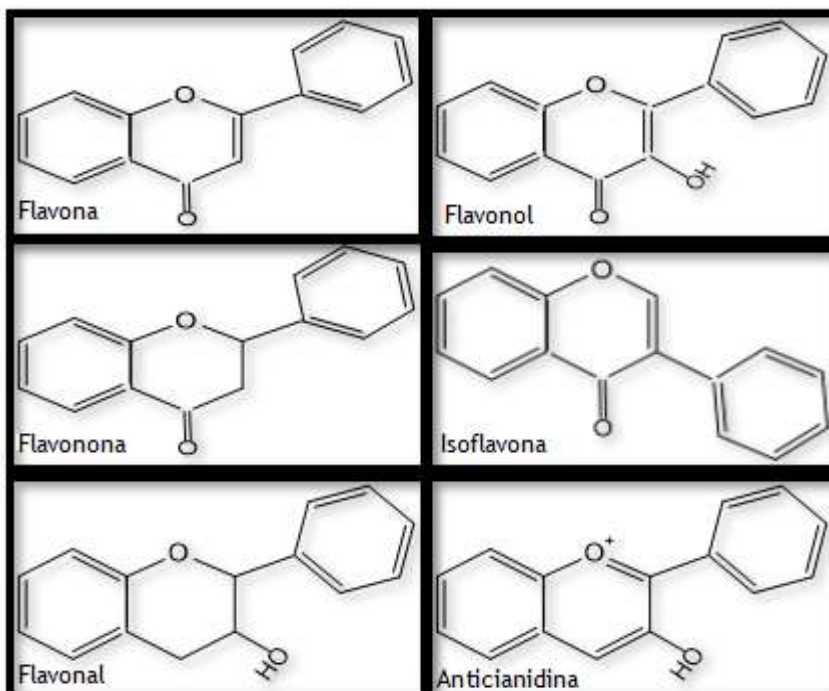


Figura 14. Estruturas de maior classe dos flavonoides.⁸¹

Estima-se que as plantas possuem alto nível de metabolitos secundários, e que o carbono fixado pela fotossíntese é canalizado para a via fenilpropanoide, produzindo assim a maior parte dos compostos fenólicos naturais, tais como os flavonoides e os estilbenos. Os fenóis são caracterizados por ter pelo menos um anel contendo um ou mais grupos hidroxilo (Figura 15), os compostos fenólicos são capazes de atuar como antioxidantes de várias formas.⁸⁷ Como por exemplo, os grupos hidroxilo dos fenóis são bons doadores de átomos de hidrogênio ou elétrons, podendo reagir com ROS e RNS, nas reações de terminação que quebram o ciclo de produção de novos radicais.⁷⁸

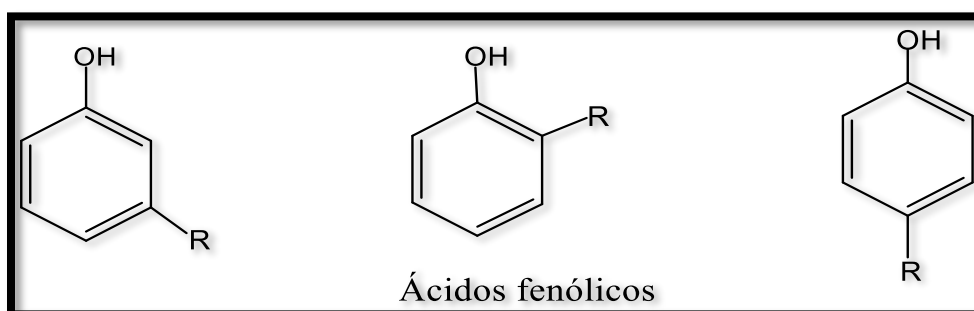


Figura 15. Principais estruturas de ácido fenólico.⁸¹

1.5. Métodos para determinar atividades antioxidantes

A determinação da potencial capacidade antioxidante da amostra proveniente dos produtos naturais tem sido vista como caminho incontornável para classificar as plantas que possuem as potenciais atividades antioxidante e serem selecionadas e recomendadas para o bem-estar humano.

Existem vários métodos utilizados para determinar a capacidade antioxidante nos extratos vegetais que contem diferentes compostos com potencial atividade antioxidante⁷⁵, como FRAP poder antioxidante férrico de redução, ensaios ORAC (oxigénio), radicais DPPH³¹ entre outros. Um dos problemas para a determinação da atividade antioxidante a partir da amostra, passa pelos métodos a utilizar, uma vez que o mecanismo de atividade antioxidante em diversas matrizes biológicas é muito complexo e muitos outros fatores podem interferirem nos mecanismos.³¹

Porem, esta complexidade leva a escolher método para determinar atividades antioxidantes. Segundo Lus,³¹ pois, o método que usa o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•) de cor violeta e estável, pode servir para a avaliação da capacidade antioxidante de produtos naturais a partir das plantas e compostos puros e o método baseia-se no estudo da atividade sequestradora de eletrão livre do radical DPPH.⁸⁸

1.5.1. Métodos de radical (DPPH)

O DPPH é um radical livre não natural considerado estável, que resultado da deslocalização do eletrão desemparelhado e livre sobre parte da molécula. Cujas propriedades diferem com os dos radicais de oxigénio muitos reativos como os ROS. Essa deslocalização é responsável pela coloração violeta intensa. O anião (DPPH-) também pode ser oxidado o radical DPPH. Quando colocado a um antioxidante o átomo de azoto do DPPH recebe um átomo de hidrogénio do agente oxidante, logo, ocorre a redução do DPPH.⁸⁹ Na sua forma reduzida (2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH-H), apresenta uma coloração amarela-laranja Figura 16, o que leva ao desaparecimento da absorção, podem a mesma ser monitorizada pela deslocalização da absorvência.⁸⁸

Este radical DPPH•, é caracterizado por possuir um espectro de UV-visível, com máxima de absorção, no intervalo entre 517 nm. Dado que o radical DPPH• pode ser armazenado, não dimeriza nem reage com o oxigénio, apesar de sofrer alguma degradação, é importante na investigação, em particular na determinação de propriedades antioxidante de amins, fenóis.

O radical DPPH possui a capacidade de abstrair hidrogénios, originando o produto DPPH-H, com a perda da cor violeta (Figura 16). Deste modo, a adição de um antioxidante, resulta numa diminuição de absorvência proporcional à concentração e atividade do composto antioxidante.^{84,90}



Figura 16. Coloração do Radical DPPH (1) e mudança da coloração do radical DPPH⁷³

A reação de sequestro de elétron está representada na equação da (Figura 17).

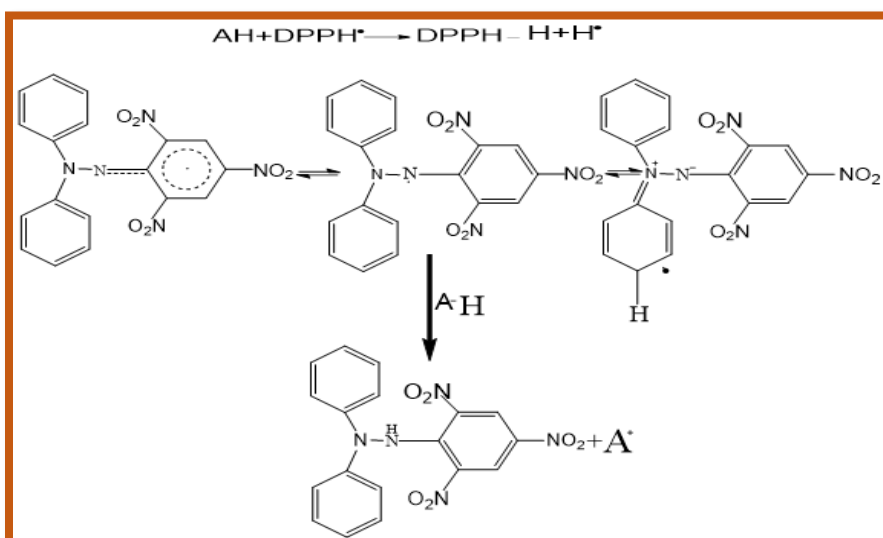


Figura 17. Equação da reação entre o radical livre DPPH e o composto antioxidante (AH).⁸⁴

A estrutura (1) apresenta comportamento inicial da molécula; a estrutura (2) é o DPPH com elétron desemparelhado no átomo de azoto, deslocalizado é fornecedor da cor violeta, o redutor antioxidante (A-H), reduz o DPPH em DPPH-H, formando 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (3) caracterizada pela coloração amarela, também é formado o produto de A[•] estável, A estrutura (3) representada com um elétron deslocalizado o estabiliza o radical.

A potencial sequestradora do radical DPPH é o centro do método e esta é expressa por meio da percentagem de Inibição (%I), que é a percentagem de radicais de DPPH que foram eliminados ou seja, que foram sequestrados ou a percentagem de DPPH e é calculado a base da seguinte fórmula $I\% = [Abs_0 - abs / Abs_0] \times 100$.⁹¹ (1)

Os resultados obtidos possibilitam calcular a concentração inibitória (IC₅₀). Esta percentagem de atividade antioxidante corresponde à quantidade de DPPH consumido pelo antioxidante, sendo que, a quantidade de antioxidante necessário para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50% denominada por concentração inibitória 50% (IC₅₀).⁹²

Logo, quando maior o consumo de DPPH de uma amostra, menor será o seu IC₅₀ e maior será a sua atividade antioxidante. Mas também, existe várias formas para expressar os resultados de potencial atividade antioxidante a partir do método de DPPH. A mais comum é o Índice de Atividade Antioxidante (IAA ou AAI), que pode ser classificado por pobre, moderada, forte ou muito forte em comparação com o valor padrão.⁸⁸

1.6. Isolamento, identificação

Visto que, os extratos das plantas em geral existirem como uma combinação de vários tipos de compostos bioativos ou fitoquímicos com diferentes polaridades, para serem separados obrigam um enorme desafio, para posteriormente proceder a devida identificação e caracterização. Por isso que, as técnicas de purificação e isolamento de compostos bioativos de plantas, nos últimos dias observaram um enorme desenvolvimento de aplicabilidade. Portanto, a modernização das técnicas consiste em possuir a capacidade de paralelizar o desenvolvimento e a disponibilidade dos meios técnicos materiais com o nível de resultados, por outro, fornece a facilidade técnicas precisas, como de isolamento, separação e purificação de compostos bioativos.

1.6.1. Isolamento e identificação

Existem fatores que podem implicar a escolha dos procedimentos ou protocolos finais para isolar e caracterizar as moléculas bioativas das plantas. Isto pode ser, devido às diferentes partes, ou seja, tecidos de uma planta, possuem compostos bastante diferentes, além das diversidades estruturais químicas e propriedades físicas-químicas dos fitoquímicos bioativos.

A seleção e a colheita de materiais vegetais exigem consideração de etapas primárias para a eficiência dos processos de isolar e caracterizar os compostos fitoquímicos bioativos. Estes passos envolverão a recuperação de informação etnobotânicas para discernir possíveis compostos bioativos extraídos.⁹³ As análises devem ser feitas utilizando vários solventes que possibilita isolar e purificar os compostos ativos responsáveis pela bioatividade na espécie da planta. Neste caso, é aplicada uma série de etapas com solventes (eluentes) de polaridade crescente, em vez de utilizar um único passo de eluentes, para promover o fracionamento preliminar de extratos das plantas.

Este processo obriga a utilização de uma série de diferentes técnicas como: a cromatografia de camada fina (TLC), cromatografia em coluna, cromatografia flash, cromatografia Sephadex e (HPLC), que devem ser usadas no ato (analisar) os compostos bioativos. Também, outras técnicas cromatográficas adicionais são utilizadas como espectroscopia de infravermelho de transformação de Fourier (FTIR).^{13,44,94}

1.6.2. Isolar e purificação das moléculas bioativos por TLC

Isolar e purificar diversos compostos bioativos, utiliza-se principalmente os métodos como cromatografia em coluna de sílica em gel e Cromatografia em camada fina (TLC). Para aumentar a polaridade usa-se várias fases fixas e móveis úteis, para uma alta qualidade dos produtos, durante o processo de separação.²⁷

1.6.3. Espectroscopias UV-visível

A espectroscopia UV-visível pode ser utilizada para análises qualitativas e para identificação de algumas classes de compostos em misturas, puras e biológicas. Em geral, a espectroscopia UV-visível pode ser usada para análise quantitativa, uma vez que as moléculas aromáticas são cromóforos poderosas na faixa UV-visível.^{95,96}

1.6.4. Espectroscopia infravermelho

A espectroscopia de (IV), normalmente as frequências são absorvidas quando a luz infravermelha incidida passar através de uma amostra de um composto orgânico; esta absorção no IV é relacionada às mudanças vibracionais que pode ocorrer dentro de uma molécula quando é exposta a radiação IV. Neste caso, a espectroscopia de IV pode essencialmente ser descrita como uma espectroscopia vibracional. Pois que, diferentes ligações (C-C, C=C, C#C, C-O, C=O, O-H e N-H) expõem diferentes frequências vibracionais. Se tais tipos de ligações estar presentes em uma molécula orgânica, podem ser reconhecidos pela detecção da banda característica de absorção de frequência no espectro IV. Assim, a espectroscopia por IV com transformada de Fourier (FTIR) torna ferramenta analítica de alta resolução para identificar integrantes químicos e esclarecer os constituídos estruturais e oferecer uma investigação rápida.^{97,98,99}

1.6.5. Espectroscopia de de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A técnica de ressonância Magnética Nuclear (RMN) é fundamentada principalmente em propriedades magnéticas de certos núcleos atômicos, isto é. Através da capacidade de detenção a absorção de radiofrequências por certos núcleos numa molécula, notavelmente o núcleo do átomo de hidrogénio, o protão, o carbono e um isótopo de carbono. Portanto, a absorção radiofrequências, uma vez que os com massa atômica e número atômica par, (I)=0 não emite.

A espectroscopia de RMN permite os pesquisadores estudarem moléculas registrando as diferenças entre os vários núcleos magnéticos e, assim dar uma imagem clara das posições desses núcleos na molécula. Além disso, permite demonstrar os átomos presentes nos grupos vizinhos. O que possibilita concluir a quantos dos átomos presentes na estrutura molecular analisada.^{96,98,100,101}

1.6.6. Espectrometria Massa (MS).

As moléculas orgânicas são bombardeadas com elétrões ou lasers em espectrometria de massa e convertidas em iões carregados, que são altamente energéticos. Um espectro de massa é um gráfico da abundância relativa de um ião fragmentado em relação à proporção de massa/ carga desses iões.⁴⁴ Usando massa da espectrometria, massa molecular relativa (peso molecular) pode ser determinada com alta precisão e uma fórmula molecular exata pode ser determinada com o conhecimento de locais onde a molécula foi fragmentada.

Além disso, as moléculas podem ser hidrolisadas e os seus derivados caracterizados. A espectrometria de massa fornece informação abundante que permite a elucidação da estrutura dos compostos quando a espectrometria de massa (MS) é aplicada. Portanto, a combinação de HPLC e MS ou GC-MS facilita a identificação rápida e precisa de compostos químicos em ervas medicinais, especialmente quando um padrão puro não disponível.⁹⁶ Atualmente, LC/MS também tem sido amplamente utilizado para a análise de compostos fenólicos.

1.7. Objectivo

Objetivos: Com esta dissertação pretende-se efetuar extrações de compostos. Testar as atividades antioxidantes dos extratos das plantas, fracionar e isolar caracterizar os componentes químicos responsáveis pela ação farmacológica de algumas plantas naturais utilizadas na medicina tradicional de Angola. Focalizando-se aos materiais vegetais de cinco plantas: Cascas de *Vitex doniana*, raízes e folhas de *Diospyros batocana*, raízes e cascas de *Aloe*, raízes de *Securidaca longipedunculata* e de *Sansevieria liberica* gerome e labroy, recolhidas em África em particular em Angola.

2. Descrição experimental

2.1. Descrição da origem das plantas (Moxico)

Moxico, é uma província localizada ao Leste de Angola, (Figura 18), cuja capital é Luena. É a maior província do país. Tem uma altitude, com uma área de 201 873 Km² e sua população aproximada é de 727 594 habitantes. A província compreende os municípios de Alto Zambeze, Bundas Camanongue, Leua, Luacano, Luau, Luchazes, Lumeje e Moxico.¹⁰² O clima da Província é tropical de altitude, com uma média de temperatura que varia entre os 22 °C e os 24 °C. De acordo com a distribuição da população em zonas do território do Moxico, os idiomas mais falados: Tchokwe, Luvale, Nganguela, Mbunda, Luchaji e Runda-Ndembo,¹⁰² e o português é língua especial que consiste unir o povo em grande mosaico de idiomas nacionais, distribuídos em todo território do país.



Figura 18. Imagem do mapa de Angola, a localização do Moxico, zona originária das plantas.¹⁰²

2.1.1. Seleção das plantas

A seleção de uma planta para a colheita de materiais vegetais, é a etapas primária para um estudo fitoquímico. No entanto, as 5 plantas foram selecionadas com apoio de Daniel Camisa, coordenador provincial da Camara Profissional dos Terapeutas da Medicina Tradicional e Natural em Angola da Província (Declaração nº04/2017; Anexo nº1). A seleção baseou-se em divulgações tradicionais das plantas, de acordo com a utilização medicinal e do valor

terapêutico dado ao longo dos anos pela população daquela parcela do território angolano, na cura de diferentes doenças.

2.1.2. Colheita

2.1.2.1. *Securidaca longipedunculata e Vitex boniana*

As raízes de *Securidaca longipedunculata* (Sl), foram recolhidas em agosto de 2017, na aldeia de Alto-campo e as cascas de *Vitex boniana* (Vd), foram recolhidas também em agosto do mesmo ano, na aldeia de Sacassagem, ambas no Município do Moxico, foram secadas em temperatura ambiente e guardadas de acordo com a orientação da Câmara Profissional dos Terapeutas da Medicina Tradicional e Natural em Angola, do Moxico, e em setembro de 2017, foram transportadas para a Universidade da Beira Interior-Portugal.

2.1.2.2. *Aloe, Diospyros batocana e Sansevieria liberica gerome e Labroy*

As raízes e folhas do género *Aloe* (AL), e de *Diospyros batocana* (Db) e raízes de *Sansevieria liberica gerome & labroy* (Slgl), ambas foram recolhidas em agosto de 2017 na aldeia do Soba Kapalo (Soba é a autoridade máxima da aldeia), Município do Leua, todas foram secadas em temperatura ambiente e guardadas de acordo com a orientação da Câmara Profissional dos Terapeutas da Medicina Tradicional e Natural em Angola do Moxico, e logo, foram trazidas para a Universidade da Beira Interior-Portugal, em Setembro do mesmo ano.

2.1.3. Preparação do material vegetal

Após a colheita as folhas, raízes de género Al, as cascas de Vd, as folhas, raízes de Db, raízes de Sl e raízes, folhas de Slgl, foram secas separadamente ao ar e à temperatura ambiente (-25°C). Seguidamente foram cortadas, com uma faca e colocadas em extração (**Anexo 2**).

2.2. Materiais e métodos

2.2.1. Métodos gerais

Os reagentes e solventes utilizados foram adquiridos à Fisher, Merck, Aldrich ou Acros Organics e eram analiticamente puros.

As leituras das absorvâncias para caracterização química quantitativa foram realizadas num espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific™ evolution 160 UV-Vis.

O processo de fracionamento dos extratos foi realizado por cromatografia em coluna (CC), utilizando como fase estacionária sílica gel 60 Å (70-200 µm). A fase móvel utilizada é descrita em cada caso. Sempre que possível as colunas foram realizadas a pressão moderada utilizando uma bomba apropriada. Nos casos em que não foi possível, foram feitas à pressão ambiente. As

frações orgânicas obtidas, em cada coluna cromatográfica, foram concentradas em evaporadores rotativos do tipo Büchi Rotavapor R-114.

As cromatografias em camada fina (CCF) foram realizadas em placas de alumínio de 0,2 mm revestidas com sílica-gel da Macherey-Nagel (60 G/UV₂₅₄). Os eluentes e a respetiva proporção volumétrica, no caso dos eluentes mistos, são referidos em cada caso. Após eluição, as placas foram visualizadas com luz UV ($\lambda = 254$ nm) e de seguida foram imersas numa solução reveladora. A escolha da solução reveladora foi influenciada pela melhor visualização dos compostos presentes, sendo utilizado uma solução reveladora de ácido fosfomolibdico, na qual se adicionaram 100 ml de etanol a 5,0 g de ácido fosfomolibdico. Depois de imersas, os cromatogramas foram aquecidos a 250°C, durante alguns segundos, com o objetivo de revelar os produtos.

Os espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos por refletância total atenuada (ATR) num espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific Nicolet iS10: smart iTR e *software* Omnic 8.2, com um *background* com 64 *scans* e as amostras com 32 *scans* e resolução de 4 cm⁻¹, entre 4000 cm⁻¹ e 600 cm⁻¹.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de protão (¹H) e carbono (¹³C) foram efetuados num espectrómetro Brüker Avance III, onde os espectros de RMN de ¹H foram adquiridos a 400,13 MHz e os espectros de RMN de ¹³C a 100,62 MHz. O processamento foi realizado no *software* Topspin 3.1. e os solventes utilizados foram o clorofórmio deuterado (CDCl₃) ou a acetona deuterado ((CH₃)₂-d₆), sendo também utilizados como padrão interno (CDCl₃: $\delta = 7,26$ ppm e 77,16 ppm ou ((CH₃)₂-d₆): $\delta = 2,05$ ppm e 29,8 e 205,7 ppm, para RMN de ¹H e ¹³C, respetivamente). Quando necessário também foi realizada a técnica de intensificação do sinal sem distorção por transferência de polarização (DEPT) e os espectros de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) e de correlação heteronuclear a múltiplas ligações (HMBC). Os desvios químicos (δ) estão expressos em ppm.

Nas análises por cromatografia gasosa com espectrometria de massa (GC-MS), a cromatografia gasosa foi efetuada num cromatógrafo Agilent® Technologies 7890A GC-system equipado com uma coluna capilar DB5-MS com 30 m de comprimento, 0,25 diâmetro interno e um filme de polimetilsiloxano (módulo de coluna LTM J&W) de espessura 0,25 μ m. Inicialmente, a coluna foi programada para atingir uma temperatura de 60°C, mantendo-a durante alguns minutos. De seguida, a temperatura aumentou até aos 200°C, numa rampa de crescimento de 4°C por minuto, permanecendo a esta temperatura durante alguns minutos. Posteriormente, iniciou uma nova rampa aumentando a temperatura de 200°C para 280°C, numa rampa de crescimento de 10°C por minuto. A temperatura final manteve-se constante durante algum tempo. A temperatura do injetor foi de 250°C e a do detetor foi de 180°C. O gás suporte utilizado foi hélio com um caudal de 1mL por minuto com volume de injeção de amostra de 1 μ L. Quanto à espectroscopia de massa foi realizada num Agilent® Technologies 5975C, Inert XL MSD com detetor triple-Axis, que se encontra acoplado ao cromatógrafo descrito acima. As condições de

operação foram as acima referidas com uma voltagem de ionização de 70 eV e com uma temperatura de 230°C na fonte iónica. A análise dos espectros foi efetuada no *software* Chemstation para análise das áreas obtidas e dos vários constituintes. Esta análise foi ainda auxiliada pelo *software* NIST mass spectral. O solvente utilizado na dissolução dos produtos para análise por GC-MS foi diclorometano seco.

2.2.2. Trabalho experimental

Foram usados como solventes n-hexano, acetona, acetato de etilo, etanol, diclorometano, metanol. E os materiais vegetais foram colhidas de 5 espécies de plantas, do género (*Al*), (*SL*), (*Db*), (*Slgl*) e (*Vd*), ambas as plantas usadas na medicina tradicional em Angola, na Província do Moxico.

Foram realizadas diversas extrações apresentadas na (Figua 19), através de métodos contínuos solido-líquido a quente e a frio, de todos materiais vegetais colhidos (folhas, raízes e cascas). Os extratos brutos de acetona e etanol obtidos, foram submetidos a testes, que permitiram a avaliação da capacidade antioxidante das amostras através da utilização do método de radical livre DPPH.

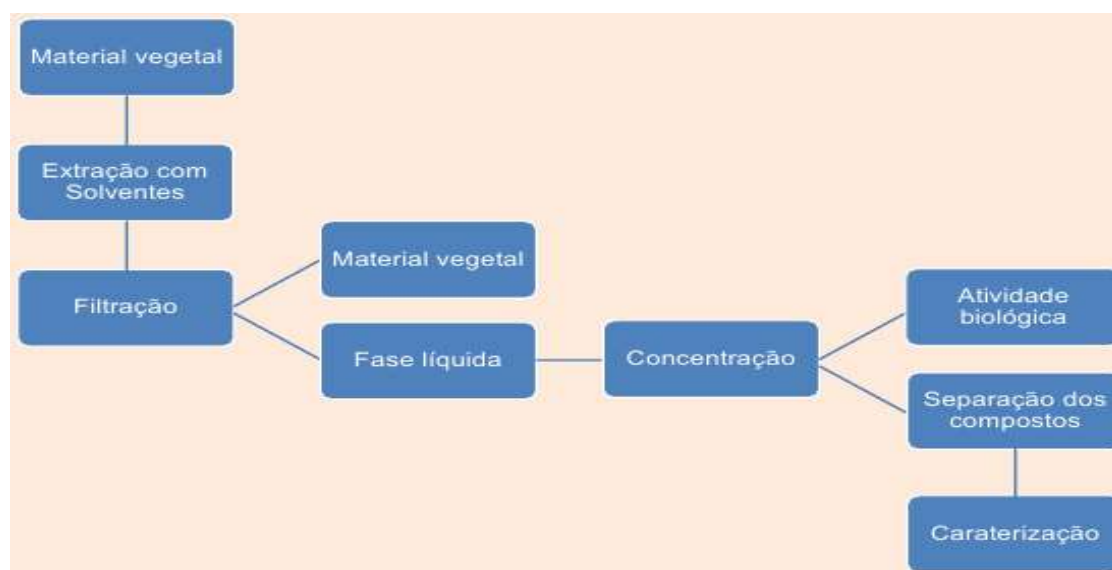


Figura 19. Fluxograma de extração

Posteriormente, foram realizadas separações e purificações dos extratos brutos de n-hexano e acetona das cascas da *Vd* e *Db*, de maneira a se obter alguns compostos mais puros. A separação foi realizada através de técnicas de cromatografia em coluna em sílica gel, utilizando pressão moderada e a cromatografia de camada fina foi utilizada para análise dos produtos isolados. Os eluentes foram selecionados de acordo com a ordem de polaridades, n-hexano < acetato de etilo < metanol.

Os produtos isolados foram sujeitos ao processo de caraterização da estrutura através das técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de protão ($^1\text{H-RMN}$), e de

ressonância magnética nuclear de carbono (^{13}C -RMN), utilizando técnicas de DEPT e bidimensional (RMN-2D) e espectroscopia de infravermelha espectrometria de massa (GC-MS).

2.2.3. Extração dos componentes do material vegetal

Neste estudo as folhas e raízes de género *Al*, as cascas de *Vd*, as folhas e raízes de *Db*, raízes de *Sl* e as raízes e folhas de *Slgl*, foram extraídas, de acordo com a literatura consultada e as técnicas aplicadas por vários investigadores, utilizando metodologia extração contínua com extractor Soxhlet a quente e maceração a frio.^{40,42,43}

Os procedimentos experimentais seguidos em todas extrações foram semelhantes. Os materiais vegetais foram previamente preparados, e pesados e as quantidades registadas, ver a (Tabela 1). Posteriormente os materiais foram extraídos durante um período de 24h em cada extração com solvente n-hexano a quente, enquanto que cada extração a frio com acetona e etanol, foi feita em um período de 30 dias.

Tabela 1. Massa registadas por material vegetal

Planta	Material vegetal	Massa pesada/g
<i>Al</i>	Folhas	94
	raízes	104
<i>Db</i>	Folhas	40
	Raízes	1204
<i>Slgl</i>	Folhas	67
	Raízes	303
<i>Sl</i>	Raízes	346
<i>Vd</i>	Cascas	1268

2.2.3.1. Extração com Extrator soxhlet

Para cada extração o material vegetal previamente preparado (seco e cortado) foi colocado em papel de filtro (dedo de extração) e introduzido no extrator, este foi encaixado num balão de destilação. Em todas extrações com extrator Soxhlet foi utilizado único tipo de solvente orgânico, o n-hexano. A extração estava completa quando o solvente em contacto com o material em extração muda-se de cor para incolor (Figura 20).



Figura 20.Material vegetal no cartucho poroso em extração por Soxhlet e a imagem a esquerda, ilustra a mudança da cor do solvente numa solução soluto solvente. (sem cor para cor)

Terminada a extração, evaporou-se o solvente, usando evaporador rotativo (**Anexo 3**) e o solvente foi recuperado para a reutilização, o material seco obtido foi pesado, (Tabela 2). O material vegetal foi preparado para o passo seguinte de extração com acetona. Os extratos foram conservados na *hotte* para posterior utilização.

Tabela 2.Quantidades iniciais (de folhas, cascas e raízes) e de extratos obtidas em cada extração com n-hexano.

Planta	Solvente	Material vegetal	Massa inicial/g	Massa após extrações/mg
<i>Al</i>	n-Hexano	Folhas	94	0,259
		raízes	104	1,048
<i>Db</i>	n-Hexano	Folhas	40	1,34
		Raízes	1204	21,611
<i>Slgl</i>	n-Hexano	Folhas	67	1,084
		Raízes	303	1,118
<i>Sl</i>	n-hexano	Raízes	346	2,936
<i>Vd</i>	n-hexano	Cascas	1268	38,401

2.2.3.2. Extração por maceração

Além das extrações contínuas com extrator soxhlet, todos os materiais vegetais, separadamente, foram também sujeitos a duas fases de extrações contínuas a frio por maceração (Figura 21), utilizando como solvente acetona seguido de etanol.



Figura 21. Material vegetal num recipiente de vidro em extração por maceração.

2.2.3.2.1. Extração com acetona

As folhas, cascas e raízes das plantas em estudos, foram submetidas a extração contínua a frio por maceração com a acetona. Após a extração, o material vegetal foi separado por filtração através de papel de filtro. Terminada a filtração, a parte líquida foi evaporada usando o evaporador rotativo para a recuperação do solvente e a parte seca do extrato de acetona foi pesada, (Tabela 3). Os materiais vegetais foram reservados para o passo seguinte de extração com etanol.

Tabela 3.Quantidades iniciais (de folhas, cascas e raízes) e de extratos obtidas em cada extração com n-hexano

Planta	Solvente	Material vegetal	Massa inicial/g	Massa após extração/mg
Al	Acetona	Folhas	94	0,083
		raízes	104	2,053
Db	acetona	Folhas	40	2,67
		Raízes	1204	80,545
Slgl	acetona	Folhas	67	1,366
		Raízes	303	1,069
Sl	acetona	Raízes	346	20,841
Vd	acetona	Raízes	1268	215,55

2.2.3.2.2. Extração com etanol

Da mesma forma, os materiais vegetais resultantes das folhas, cascas e raízes das plantas em estudos, foram submetidas a extração a frio por maceração com etanol. Após a extração, o material vegetal foi separado por filtração, através de papel de filtro. Terminada a filtração, a parte líquida foi evaporada usando o evaporador rotativo, e a parte seca do extrato de etanol foi pesada, (Tabela 4).

Tabela 4. Apresenta as quantidades de extratos (folhas, cascas e raízes) obtidas em todas extrações com etanol.

Planta	Solvente	Material vegetal	Massa inic /g	Massa após extra /mg
Al	etanol	Raízes	104	2,187
		folhas	94	1,048
Db	etanol	Raízes	1204	51,455
		folhas	40	2,788
Slgl	etanol	Raízes	303	2,474
		folhas	67	1,118
Sl	etanol	Raízes	346	23,437
Vd	etanol	cascas	1268	131,081

2.3. Determinação da atividade antioxidante

2.3.1. Considerações gerais

A atividade de sequestrar o radical DPPH é a base deste método, o valor de IC₅₀ é um parâmetro muito empregue para determinar potencial atividade antioxidante de um determinado composto seja puro isolado ou um extrato bruto, o resultado a obter permitirá prever a maneira como os compostos operariam no organismo face ao radical.

2.3.2. Avaliação de atividade antioxidante

A avaliação de potencial atividade antioxidante foi realizada pelo método colorimétrico com DPPH foi construída uma curva de calibração. Para tal preparou-se uma solução mãe de DPPH em metanol, com concentração 0,216 mM ou 85 mg/L. A partir desta solução prepararam-se diferentes diluições com concentrações definidas, que se encontram na (Tabela 5).^{88,90}

Tabela 5. Concentrações das soluções metanólicas de DPPH utilizadas na construção da curva de calibração.⁹⁰

[DPPH] em mM	[DPPH] em mg/L
0,0108	4,25
0,0216	8,50
0,0432	17,00
0,0648	25,50
0,0864	34,00
0,1080	42,50
0,1296	51,00
0,1512	59,50
0,1739	68,43
0,1955	76,93
0,2160	85,00

Após a preparação das soluções acima indicadas, foi efetuada a leitura das absorvâncias destas a 517 nm num espectrofótopmetro UV (Anexo 4) contra um branco constituído apenas por metanol. As leituras das absorvâncias foram feitas em triplicado. A curva de calibração foi construída com as concentrações de DPPH, em mg/L, no eixo das abcissas enquanto que as absorvâncias lidas foram colocadas no eixo das ordenadas (Figura 22).⁹⁰

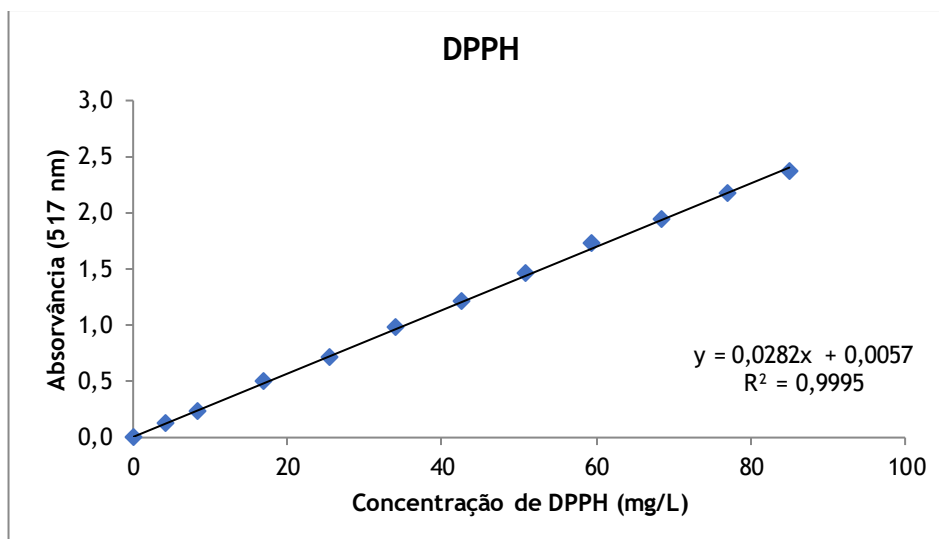


Figura 22. Curva de calibração do DPPH para determinação da atividade antioxidante, obtida a partir da média das leituras das absorvâncias em triplicado.⁹⁰

Para determinação da atividade antioxidante do extrato, por este método, prepararam-se três soluções de DPPH, em metanol, com concentração 0,2000, 0,1242 e 0,0800 mM. Todas as soluções de DPPH utilizadas foram preparadas diariamente, deixadas estabilizar e protegidas da luz, devido à sensibilidade do DPPH. Quanto ao extrato, prepararam-se diluições deste em metanol, com concentrações de 25, 50, 100, 150, 200 e 250 µg/mL.^{88,90}

Para cada solução de DPPH preparada e para cada concentração do extrato, efetuou-se o seguinte procedimento experimental: a 0,1 mL de amostra adicionaram-se 3,9 mL de solução de DPPH. Deixou-se incubar no escuro, à temperatura ambiente, durante 90 minutos e após estes leram-se as absorvâncias a 517 nm.^{88,90}

Para cada solução de DPPH foi preparado um controlo constituído por 0,1 mL de metanol e 3,9 mL de solução de DPPH, o qual foi submetido às mesmas condições das amostras em estudo. O branco continha apenas metanol. Os ensaios foram realizados em triplicado.^{88,90}

Após a determinação das absorvâncias calculou-se a percentagem de inibição, para cada amostra, com base na fórmula seguinte (2).⁸⁸

$$\% I = \frac{Abs_0 - Abs_1}{Abs_0} \times 100 \quad (2)$$

Onde Abs_0 é a absorvância do controlo aos 90 minutos e Abs_1 é a absorvância da amostra aos 90 minutos.

Após a determinação da % I calculou-se a IC_{50} , que é calculada a partir da linearidade obtida na representação gráfica da % I em função da concentração de amostra na célula do espectrofotómetro. Pela reta de calibração obtém-se a concentração de DPPH no controlo aos 90 minutos e a partir desta e da IC_{50} é calculado o AAI (3).^{88,90} Os gráficos correspondentes a esta determinação encontram-se discutidos no tópico dos resultados e discussão e no (Anexo5).

$$AAI = \frac{\text{concentração de DPPH no controlo aos 90 minutos } (\mu\text{g/mL})}{IC_{50} (\mu\text{g/mL})} \quad (3)$$

O valor de AAI obtido permite classificar a atividade antioxidante do extrato de acordo com as categorias da (Tabela 6).^{88,90}

Tabela 6. Classificação de uma amostra quanto ao tipo de atividade antioxidante demonstrado.

Atividade Antioxidante	AAI
Pobre	AAI < 0,5
Moderada	0,5 < AAI < 1,0
Forte	1,0 < AAI < 2,0
Muito Forte	AAI > 2,0

Como o valor de AAI é calculado pelo quociente entre a concentração de DPPH no controlo aos 90 minutos e a IC_{50} , este apenas depende da massa de composto testada no ensaio e da massa de DPPH. Assim, o AAI é constante para cada composto, uma vez que é independente da concentração de DPPH e da amostra utilizada.^{88,90}

Para controlo positivo e como forma de comparação do AAI do extrato utilizaram-se compostos antioxidantes como padrão. Prepararam-se soluções metanólicas dos padrões:

rutina, com as concentrações 50, 100, 200, 300, 400 e 500 mg/mL;

trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-3,4-dihidrocromeno-2-carboxílico), com as concentrações 5, 10, 25, 50, 75 e 100 mg/mL;

ácido gálico, com as concentrações 10, 25, 50, 75, 100 e 150 mg/mL.

O procedimento experimental utilizado para os padrões foi igual ao descrito anteriormente.^{88,90}

Neste trabalho, determinou-se a atividade antioxidante dos extratos brutos de acetona das Raízes de Db, das cascas de Vd; e das folhas de Al; ambos extraídos a frio por maceração.

Também, foi determinada a atividade antioxidante dos extratos brutos de etanol das folhas de Db, e das folhas de Al; assim como das Raízes de Sl; e das raízes de Slgl, das extrações a frio por maceração.

Além dos extratos de acetona e etanol avaliados atividade antioxidante, nesta fase outros extratos de acetona e etanol não foram avaliados. Também, todos os extratos da extração com n-hexano a quente não foram avaliados (Tabela 7) a potencial atividade antioxidante, uma vez que o método não foi adequado, devido ao solvente utilizado na preparação das soluções.

Tabela 7.Ensaio de atividade antioxidante por solvente, R.(realizado) e NR (não realizado)

Tipo de material vegetal	Extrato de n-hexano	Ensaio de atividade antiox.	Extrato de acetona	Ensaio de atividade antiox.	Extrato de etanol	Ensaio de atividade antiox.
Raízes de Db		NR		NR		R
Folhas de Db		NR		NR		R
Casca de Vd		NR		R		NR
Folha de Al		NR		R		R
Raízes de Slgl		NR		NR		R
Folhas de Slgl		NR		NR		NR
Raízes de Sl		NR		NR		R

2.4. Isolamento e purificação

O extrato de n-hexano da extração a quente contínua de extrator soxhlet e o extrato de acetona da extração contínua a frio, ambos das cascas de Vd, foram submetidos a cromatografia em coluna (CC) a pressão moderada e analisados a partir de CCF (Anexo 6). A fase móvel foi constituída em proporções e em polaridades crescentes. Com objectivo de isolar e purificar compostos presentes nos extratos de n-hexano e Acetona das amostras para permitir uma análise com precisão.

A mudança do eluente sempre foi feita em paralelo com a mudança da fase móvel, exceto no caso em que foi necessário manter o eluente. A revelação foi realizada através de uma solução metanólica com revelador ácido fosfomorbídico. Desta feita, foram obtidas muitas frações e em paralelo foram feitas placas de CCF, permitindo assim o controlo de troca de polaridade e no fim facilitar junção das frações de acordo com a posição dos pontos de resolução cromatográfica

Após a revelação as frações foram agrupadas (Anexo7) e evaporados os solventes através do evaporador rotativo, o produto seco foi pesado, e as amostras dos produtos foram preparados para RMN ¹H, HMN ¹³C e IV. Os espectros obtidos foram devidamente analisados.

2.4.1. Isolamento e purificação de extrato n-hexano

O extrato bruto de n-hexano foi fracionado por CC. A coluna foi eixida a seco e compactada a vaco. Em um Gobelé de V25 colocou-se 3g de extrato bruto dissolvido em n-hexano foi entornada na coluna. Inicialmente foi usada a fase móvel com n-hexano 100 e possuiu-se a n-hexano/acetato de etilo nas proporções, respectivamente, 95/5 ,90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50, em seguida acetato de etilo/ n-hexano, nas proporções diferentes de modo a se obter frações em ordem crescente. Desta feita, as frações recolhidas foram analisadas por CCF, utilizando os eluentes n-hexano/acetato de etilo em proporção de 95/5, 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50, e acetato de etilo/n-hexano.

2.4.2. Isolamento e purificação de extrato de acetona

Uma quantidade de 215,55g de extrato de acetona a frio, foi submetida a segunda extração de hexano a quente 40°C, com o objetivo de separar parte insolúvel em hexano da parte solúvel. A massa adquirida da parte solúvel em hexano foi cerca de 0,216g e a massa pesada da parte insolúvel foi de 211.334g. Por outro lado, a parte insolúvel (**resto**) em hexano foi submetida a outra extração com clorofórmio também a quente 40°C, para separar a parte insolúvel em clorofórmio e da parte solúvel, a massa obtida da parte solúvel em clorofórmio foi cerca de 107g e da parte insolúvel foi de 200,952g (Figura 23).

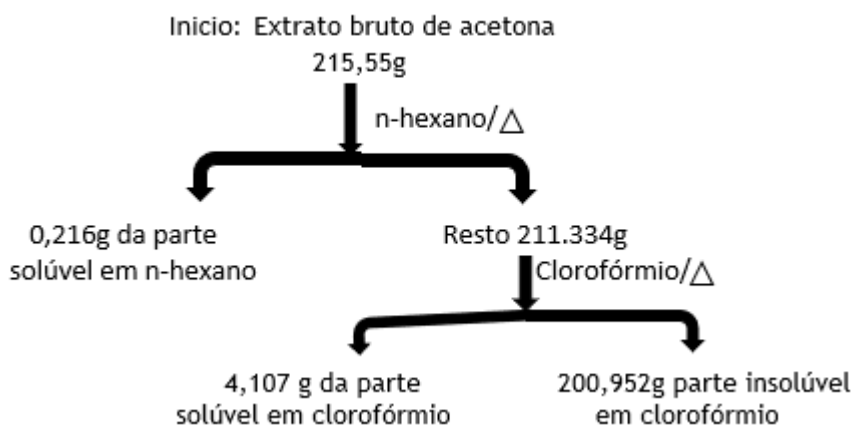


Figura 23.Extração do extrato bruto de acetona a partir de n-hexano e clorofórmio.

A massa da parte solúvel em n-hexano, por ser uma quantidade inferior, foi preparada e foi submetida somente a análise de espectroscopia de IV, o espectro obtido foi devidamente estudado.

A parte solúvel em clorofórmio foi fracionada por CC, a pressão moderada, usando os passos descritos anteriormente, 3g de extrato bruto, dissolveu-se em clorofórmio. A fase móvel inicial foi de clorofórmio 100%, apreciou-se uma fraca eluição e passou-se logo, a polaridade de clorofórmio/metanol nas proporções, respectivamente, 95/5, 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50, em seguida metanol. As frações recolhidas foram analisadas por CCF, utilizando os eluentes clorofórmio/metanol em proporção de 95/5, 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50, e metanol/clorofórmio.

Da mesma forma a parte insolúvel em clorofórmio foi fracionada por CC, a pressão moderada, usando os procedimentos acima detalhados. 3g de extrato da parte insolúvel dissolveu-se em Metanol do mesmo jeito também foi entornada na coluna. A fase móvel foi constituída por clorofórmio/metanol nas proporções, a cima descrita em seguida metanol. Também, as frações recolhidas foram analisadas por CCF, utilizando os eluentes clorofórmio/metanol e metanol/clorofórmio.

2.5. Infravermelho (IV)

Foram realizadas as leituras dos espectros de infravermelho num espectrofotômetro *Genesis*® II ATR (*anexo 8*). Inicialmente controlou-se e limpou-se o equipamento, as amostras foram colocadas sobre o diamante. O espectro foi realizado utilizando o *software* (OMNIC).

2.6. Espectrofotômetros de RMN 1H e 13C

Espectrofotômetro *Bruker*® *Avance* 400, a 400 MHz e 100 MHz, de ^1H e ^{13}C . os desvios químicos (δ) expressos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (j) em Hertz (Hz). Foi usado Clorofórmio deuterado (CDCl_3), como solvente, o sinal residual deste para o ^1H é de 7,26 ppm e para o ^{13}C é de 77,2 ppm.

3. Resultado e discussão

3.1. Preparação de extratos

Para obtenção dos extratos realizaram-se a seleção de plantas. A recolha foi fundamentada em normas físicos-químicos uniformes. A seleção das plantas obedeceu princípios baseados a eficácia terapêutica provável dos remédios tradicionais validados pelo conhecimento tradicional relativo à sua utilização nesta medicina, assim como nome tradicional, local, parte da planta mais usada, modo de preparação e utilização das plantas (Al, Sl, Db, Slgl e Vd).

Após a seleção e recolha das plantas seguiu-se secagem ao ar e temperatura ambiente, logo, foi a redução de tamanhos dos materiais vegetais. Esta etapa permite dar maior facilidade de extração, diminuição do tempo, melhoria da sensibilidade, seletividade e aumento da área de contacto.

3.1.1. Resultado das extrações

Neste contexto, os rendimentos das extrações dos materiais vegetais estão presentes nas tabelas 8, 9, 10 e gráfico 24, as extrações foram efetuadas em três etapas de acordo com as polaridades dos solventes: hexano<acetona<etanol. Os rendimentos obtidos foram narrados em percentagem.

Tabela 8. % resultados obtidos em todas extrações com n-hexano.

Tipo de Planta	Solvente	Material Vegetal	Massa inicial/g	Massa após Extraídos/mg	%
Al	n-Hexano	Folhas	94	0,259	0,28
		raízes	104	1,048	1
Db.	n-Hexano	Folhas	40	1,34	3,4
		Raízes	1204	21,611	1,8
Slgl	n-Hexano	Folhas	67	1,084	1,62
		Raízes	303	1,118	0,37
Sl	n-hexano	Raízes	346	2,936	0,85
Vd	n-hexano	Cascas	1268	38,401	3,03

Tabela 9. % rendimentos de extratos (folhas, raízes e cascas) obtidas em todas extrações com acetona.

Tipo de Planta	Solvente	Material Vegetal	Massa inicial/g	Massa após Extraídos/mg	%
Al	Acetona	Folhas	94	0,083	0,09
		raízes	104	2,053	1,97
Db.	acetona	Folhas	40	2,67	6,7
		Raízes	1204	80,545	6,7
Sgl	acetona	Folhas	67	1,366	2
		Raízes	303	1,069	0,35
S.l.	n-hexano	Raízes	346	20,841	6
Vd	n-hexano	Cascas	1268	215,55	17

Tabela 10. % rendimentos de extratos (folhas, raízes e cascas) obtidas em todas extrações com etanol

Solvente	Tipo de Planta	Material Vegetal	Massa inicial/g	Massa após Extraídos/mg	%
Etanol	Al	Raízes	104	2,187	2,1
		folhas	94	1,048	1,1
Etanol	Db	Raízes	1204	51,455	4,3
		folhas	40	2,788	7
Etanol	Sgl	Raízes	303	2,474	0,82
		folhas	67	1,118	1,7
Etanol	Sl	Raízes	346	23,437	6,8
Etanol	Vitex d.	cascas	1268	131,081	10

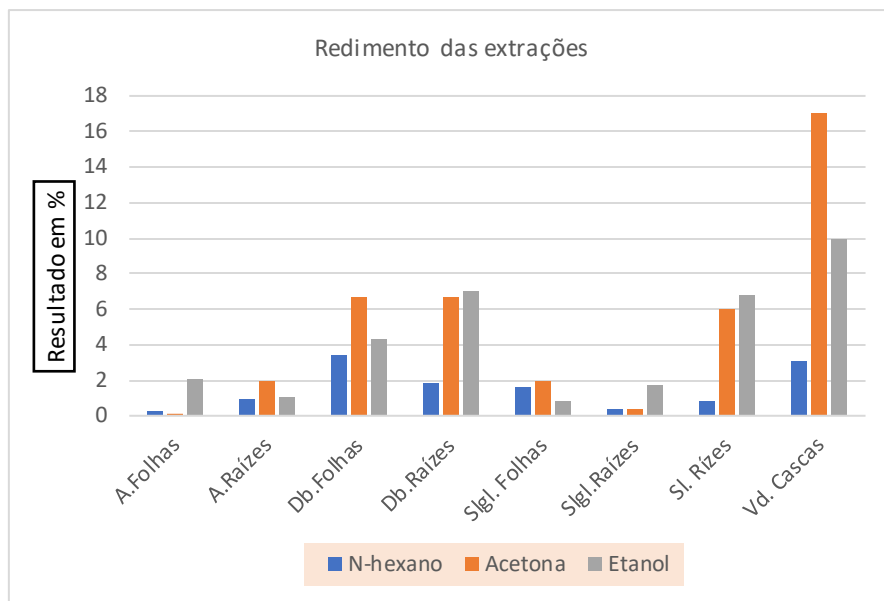


Figura 24. Gráficos de rendimento das extrações em %, por cada solvente

3.1.2. Redimento da extração

3.1.2.1. *Aloe*

As folhas de *Al*, estraidas com etanol a frio por maceração, apresentaram maior rendimento de extração 2,1%, e a extração com n-hexano a quente por extrator de soxhlet, teve um ligeiro rendimento 0,28%, enquanto que a extração com acetona por maceração foi a mais baixa 0,09%. A extração das raízes de *Al*, com Acetona a frio por maceração teve um resultado de 1,97% seguido da extração com acetona extraída a frio por maceração com 1,1% e a extração com n-hexano a quente por maceração foi baixo a 0,28%.

3.1.2.2. *Diospyro batocana*

As folhas de *Db*, apresentaram maior resultados, na extração com acetona a frio por maceração 6,7% e 4,3% a extração com etanol a frio por maceração e 3,4% de extração com n-hexano a quente por Soxhlet. A extração de raízes com etanol a frio por maceração apresentou um resultado com o máximo de 7%, a seguir a 6,7% da extração com acetona a frio por maceração e 1,8%, extração com n-hexano a quente por Soxhlet, é a mais baixa.

3.1.2.3. *Sansevieria liberica geroma & labroy*

Os resultados da extração das folhas de *Slgl*, foram alta na extração de acetona a frio por maceração 2% e 1,62% extração com n-hexano feita a quente por Soxhlet, 0,82% resultado da extração com etanol a frio por maceração. A extração das raízes da *Slgl* redevu 1,7% a extração com etanol a frio por maceração, 0,37% resultado extração com n-hexano a quente por Soxhlet, 0,35% extração com acetona a frio por maceração o que mostrou resultados semelhantes.

3.1.2.4. *Securidaca longipendicunlata*

O rendimento da extração das raízes de Sl, foram 6,8% a extração com etanol a frio por maceração e 6% extração a frio por maceração e a baixa foi de 0,85 extração a quente por Soxhlet.

3.1.2.5. *Vitex doniana*

Vd, apresentou bons rendimentos de 17% a extração com acetona a frio por maceração e 10% a extração com etanol a frio por maceração e com um baixo rendimento de 3,03% a extração com n-hexano a quente por Soxhlet.

A partir dos resultados das extrações dos materiais folheares tabelas 2,3 e 4, pode observar-se que o método de extração realizada a frio apresentou os melhores resultados de extração relativamente as extrações realizadas com o extrator soxhlet, estes resultados podem sujeitar pelo fato de alguns materiais vegetais como raízes e cascas não serem reduzido em tamanhos muito inferior, grau da polaridade dos solventes e a constante temperatura, também o maior grau de conservação de água em raízes como de Slgl, assim como raízes e folhas de Al.

E o resultado da extração com etanol a frio por maceração das folhas de Slgl, apresentou uma ligeira redução em relação as extrações com acetona a frio por maceração.

Da mesma forma, os resultados de extração das raízes, observaram-se também os bons resultados de extrações contínuas realizadas a frio, em comparação com extrações realizadas com o extrator soxhlet que exibiram baixa remoções de produtos.

3.2. Resultados atividade antioxidante

A determinação de atividade antioxidante dos extratos brutos foi realizada através do método do radical DPPH, na qual avaliou-se o consumo do radical DPPH pela amostra, a partir da redução de absorvância das soluções de diferentes concentrações. O método permitiu controlar o sequestro do radical DPPH^{*} e as absorvâncias foram medidas a 517 nm após de uma reação de solução metanólica DPPH e amostra terminar aos 90min, utilizando como referência os compostos padrões antioxidante.

Para a determinação de parâmetros %I e IC₅₀, os compostos foram levados a série linear graficamente em função das concentrações de amostras na célula do espectrofotômetro, para cada uma das concentrações de DPPH utilizado, o que permitiu medir as absorvâncias. Após a medição foi necessário calcular a %I, e a base dos resultados obtidos calculou-se IC₅₀, a baixo está os resultados de cada extrato ensaiado. Os gráficos espelham resultados referentes ao %I verso concentração do extrato, do mesmo modo, nas tabelas encontra-se valores dos parâmetros AAI, e IC₅₀. As análises foram baseadas aos valores dos compostos padrão antioxidantes antes calculados nomeadamente (Trolóx, Rutina e Ácido gálicos). Também, foi observada uma variação na coloração de soluções metanólica DPPH-amostras no ensaio do

extrato de acetona das cascas de Vd, após a reação de solução metanólica DPPH e amostra aos 90min (Figura 25).



Figura 25. Mudança de coloração de violeta para amarela da solução metanólica de DPPH vs amostra do extrato de acetona das cascas de Vd, depois de 90 min. de reação no escuro. Da esquerda a direita comportamento de diminuição da concentração de DPPH na presença da amostra do extrato das cascas de Vd, (tirada por Antônio Moisés Selua 2018).

No fim de ensaio o mesmo comportamento foi observado nas sobras da solução metanólica DPPH-amostra de acetona das cascas de Vd, contralada num único recipiente, com o objetivo de recuperar o solvente. Logo, num intervalo de 8 a 12 min, observou-se, um comportamento de mudança da coloração e ao completar aproximadamente 12 min a solução atingiu toda ela uma coloração amarela (Figuras 26).

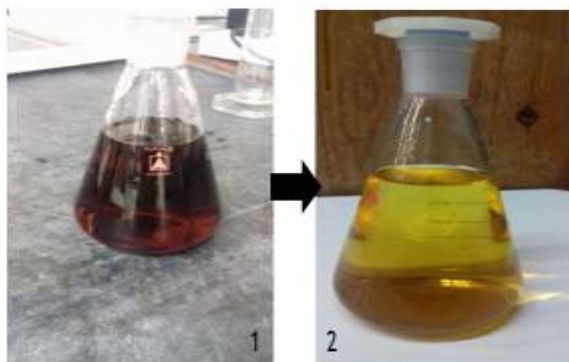


Figura 26. Foto 1 coloração da solução DPPH-amostra do extrato cetônico das cascas de Vd, aos 6 a 8 min. após ensaio e Foto 2, Coloração da solução aproximadamente aos 12 min (tiradas por Selua 2018).

Nos graficos seguintes apresentamos os resultados dos diferentes parâmetros da avaliação da atividade antioxidante dos extratos de acetona e etanol de Db, Vd, Al, Slgl e Sl.

3.2.1. Extratos de etanol da Db

Resultados das atividades antioxidantes (Figura 27) dos extratos de etanol das folhas de Db, cada concentração está representada em triplicado conforme foram efetuados por Linear (1), (2) e (3).

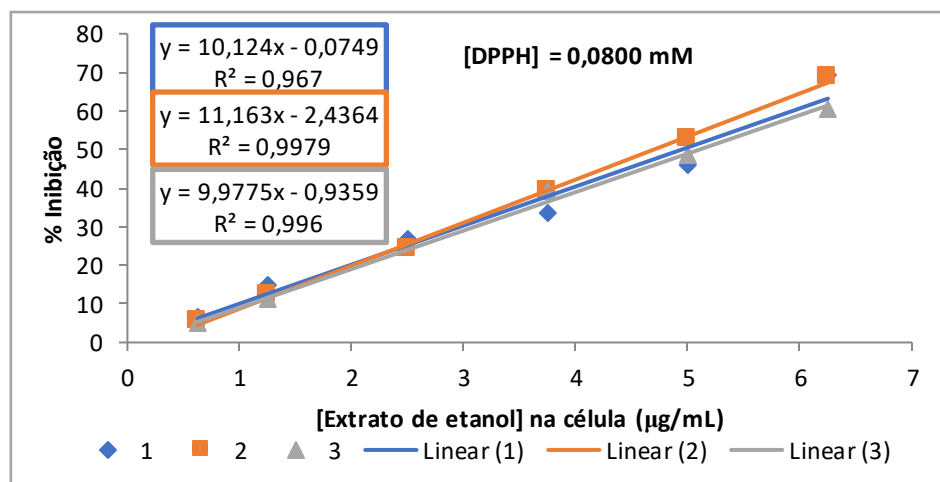


Figura 27. Gráfico com avaliação da % Inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db (µg/ml), para a [DPPH] 0,0800mM.

Na tabela 11 estão representados valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI por cada concentração de DPPH, do extrato de etanol das folhas de Db.

Tabela 11. Valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI de ensaios

[DPPH] = 0,0800 mM	Abs1	Abs2	Abs3	Média ± Desvio padrão
IC50	4.95	4.70	5.11	4.91 ± 0.207
IAA	5.97	6.29	5.79	6.02 ± 0.253
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	6.94	6.62	6.52	6.70 ± 0,216
IAA	6.59	6.83	6.98	6.80 ± 0.110
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	10.97	13.30	10.944	11.74 ± 1.35
IAA	6.81	5.54	6.78	6.378 ± 0,727

Na tabela 12 estão representados valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI por cada concentração de DPPH, do extrato de etanol das raízes de Db.

Tabela 12. Valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI de ensaios

[DPPH] = 0,0800 mM	Abs1	Abs2	Abs3	Média ± Desvio padrão
IC50	7.56	7.50	7.40	7.49 ± 0.075
IAA	4.14	4.18	4.20	4.18 ± 0.033
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	50.93	50.54	50.50	50.66 ± 0.655
IAA	4.10	4.47	4.48	4.35 ± 0.217
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	17.76	15.67	15.38	71.26 ± 1.30
IAA	3.99	4.55	4.68	4.40 ± 0.365

Na **tabela 13** estão representados valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI por cada concentração de DPPH, do extrato de acetona das cascas de *Vd.*

Tabela 13. Valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI de ensaios

[DPPH] = 0,0800 mM	Abs1	Abs2	Abs3	Média ± Desvio padrão
IC50	3.31	3.36	3.31	3.32 ± 0.027
IAA	8.79	8.53	8.59	8.64 ± 0.136
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	5.38	4.71	5.20	5.09 ± 0,345
IAA	8.24	9.29	8.39	8.64 ± 0.568
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	7.81	8.22	7.60	7.88± 0.317
IAA	9.68	9.23	9.96	9.62 ± 0.369

Na **tabela 14** estão representados valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI por cada concentração de DPPH, do extrato de acetona das folhas de *Al.*

Tabela 14. Valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI de ensaios

[DPPH] = 0,0800 mM	Abs1	Abs2	Abs3	Média ± Desvio padrão
IC50	79.24	77.82	75.34	77.47 ± 1.972
IAA	0,38	0.40	0.40	0.390 ± 0.006
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	86.27	93.60	87.92	89.26 ± 3.83
IAA	0.541	0.500	0.531	0.524 ± 0.020
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	15.01	18.48	13.82	15.77 ± 24.18
IAA	0.496	0.405	0.539	0.480 ± 0.069

Na **tabela 15** estão representados valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI por cada concentração de DPPH, do extrato de etanol das folhas de *Al.*

Tabela 15. Valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI de ensaios

[DPPH] = 0,0800 mM	Abs1	Abs2	Abs3	Média ± Desvio padrão
IC50	23.31	5.88	46.08	23.32 ± 22.74
IAA	0.13	5.16	0.067	1.79 ± 2.92
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	33.74	29.40	30.81	122.5 ± 156.4
IAA	0.136	0.156	0.015	0.106 ± 0.076
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	5.65	7.64	5.84	6.38 ± 1.09
IAA	13.40	10.03	13.15	12.20 ± 1.88

Na tabela 16 estão representados valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI por cada concentração de DPPH, do extrato de etanol das raízes de Sgl.

Tabela 16. Valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI de ensaios

[DPPH] = 0,0800 mM	Abs1	Abs2	Abs3	Média ± Desvio padrão
IC50	82.68	28.31	42.51	51.17 ± 28.19
IAA	0.037	0.112	0.071	0.073 ± 0.037
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	681.5	207.8	99.84	329.7 ± 309.4
IAA	0.028	0.093	0.195	0.105 ± 0.083
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	1815,8	527,9	281,9	875.1 ± 823.9
IAA	0.028	0.097	0.184	0.103± 0,078

Na tabela 17 estão representados valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI por cada concentração de DPPH, do extrato de etanol das raízes de Sl.

Tabela 17.Valores dos parâmetros IC₅₀ e AAI de ensaios

[DPPH] = 0,0800 mM	Abs1	Abs2	Abs3	Média ± Desvio padrão
IC50	43.48	38.60	41.70	41.28 ± 2.47
IAA	0.667	0.743	0.691	0.700 ± 0.040
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	54.77	21.28	1073	61.13 ± 43.38
IAA	0.819	2.110	0.380	1.103 ± 0.899
[DPPH] = 0,0800 mM				
IC50	54.77	21.28	107.3	61.13 ± 43.38
IAA	1.30	3.47	0.688	1.82 ± 1.46

Na **tabela 18** abaixo, está representado resumos do parâmetro IC₅₀ em respectivos solventes e na **tabela 19** está o resumo do parâmetro AAI da Classificação de atividade antioxidante de cada extrato, comparado com os valores de compostos-padrão.

Tabela 18. Resultados do parâmetro IC₅₀ obtidos a partir do cálculo da %I do radical DPPH em função do efeito antioxidante para cada extrato tendo em conta a média do composto-padrão Trolox (IC₅₀ = 7,83 ± 2,45); ácido gálico (IC₅₀ = 2,01 ± 0,57) e Rutina (IC₅₀ = 8,14 ± 2,14) classificação fortes redutores.

Material vegetal		IC ₅₀		Solvente
		Média ±	Dm	
Vd	Casca	5,434	1,638	Acetona
Db	folhas	7,775	2,623	Etanol
	Raízes	11,808	2,974	Etanol
Al	folhas	108,16	33,051	Acetona
	folha	423,38	339,82	Etanol
SlgL	Raízes	1428,8	1039,6	Etanol
SL	Raízes	60,753	12,991	Etanol

Estes resultados mostram que para reduzir em 50% a concentração inicial de [DPPH] é necessária uma concentração de 5,434 µg/mL de extrato de acetona das cascas de Vd, apresentando um valor inferior aos dos compostos padrão Rutina e Trolox e superior ao Ác. gálico que são fortes redutores. Assim sendo extrato tem uma capacidade redutora muito forte do que Trolox e Rutina e inferior de Ácido gálico.

Em relação as amostras das folhas e raízes de Db, que para reduzir em 50% a concentração inicial de [DPPH] é necessária uma concentração 7,775 µg/mL de extratos de etanol e 11,808, µg/mL dos extratos de etanol. Conclui-se que o extrato de etanol possui capacidade redutor muito forte, sendo que é superior de valor da Rutina e inferior de Ác. gálico, e com valores iguais ao Trolox.

Os resultados de amostra das folhas de Al, mostraram que é necessário 108,16, µg/mL do extrato de acetona e 423,38 µg/mL do extrato de etanol para reduzirem 50% a concentração inicial de [DPPH]. Assim sendo, extrato tem a fraca capacidade redutora, por apresentar valores muito superior aos valores do composto padrão, Trolox, Rutina e Ác. gálico.

Em relação a mostra de Slgl, para reduzir em 50% a concentração inicial de [DPPH] é necessária uma concentração de 1428.8 µg/mL de extrato de etanol, e para amostra das raízes de Sl mostrou que é necessária uma concentração de 60,753 do extrato de etanol. Assim, conclui-se que tanto o extrato Slgl como de Sl ambos de etanol possui a capacidade redutor muito pobre e relação aos valores do composto padrão, Trolox, Rutina e Ác. gálico. Mas o extrato de Sl apresenta uma capacidade pobre moderada em relação Slgl.

Tabela 19. Médias de AAI por extratos, classificadas de acordo com o efeito das amostras, tendo em conta a média do composto padrão Trolox (AAI = 6,45 ± 2,45); Rutina (AA=8,14± 2,14) e ácido gálico (IAA = 2,01±0.57) classificados como muito fortes.

	Material	AAI		Classificação
		Média ±	Dm	
Vd	Casca	8,967	0,437	Muito forte
Db	folhas	6,403	0,264	Muito forte
	Raízes	4,312	0,090	Muito forte
Al	folhas	0,465	0,049	Pobre
	folha	1,583	2,231	Forte
Slgl	Raízes	0,065	0,045	Pobre
Sl	Raízes	0,917	0,144	moderada

De acordo com os IAA de compostos-padrão: observa-se que o resultado do extrato de acetona das cascas de Vd, apresenta o AAI classificado como antioxidante muito forte do que trolóx, ácido gálico e uma ligeira superioridade a Rutina, que são antioxidantes muito fortes.

Também, os resultados dos extratos de etanol das folhas e raízes de Db, mostraram que IAA, da amostra das folhas, é classificado superior ao IAA de ácido gálico, igual ao IAA de trolóx e inferior ao IAA da Rotina, por isso é um antioxidante muito forte. Em relação a amostra de raízes, classifica-se superior ao IAA de ácido gálico, inferior ao IAA de trolóx e Rotina, mas todos os extratos são antioxidantes muito forte. Sendo o extrato de etanol das folhas é aquele com superior capacidade em relação ao extrato de raízes.

Os resultados de IAA dos extratos de acetona e etanol das folhas de Al, ambos mostraram resultados inferiores, embora o IAA do extrato de etanol apresentou um resultado aproximado ao valor do ácido gálico. Portanto a capacidade de antioxidante de ambos é inferior. Em relação ao IAA das amostras de Slgl, e Sl ambas de extratos de etanol, os resultados são inferiores em relação aos compostos-padrão, embora, o IAA classificado moderado.

Sendo que a determinação da atividade antioxidante utilizando uma única metodologia pode ser insuficiente, uma vez que dependendo do método, com a mesma amostra pode obter-se resultados diferentes como resultado da complexidade do mecanismo antioxidante nas matrizes biológicas e um conjunto de factores que pode desempenhar diferentes papéis. Leva-nos a pensar um outro método para determinação suficiente que leva a uma conclusão definitiva do resultado, a pesar do método de radical DPPH utilizado a apresentar alguns resultados muito bom neste trabalho.

3.2.2. Resultada das cromatografias

A purificação dos extratos brutos foi feita com a finalidade de isolar os compostos puros presentes nas amostras, de maneira a se obter produtos puros. Com vista a sua concretização, e tendo por base o pressuposto de que os compostos presentes no extrato n-hexano são

relativamente menos polares e os compostos presentes no extrato de acetona são relativamente polares, conclui-se que para o n-hexano a fase móvel começaria com o eluente correspondente, para acetona com clorofórmio e a parte solúvel em clorofórmio começaria também com clorofórmio, aumentando-se gradualmente a polaridade, cuja misturas e as proporções descrevemos a seguir, as frações obtidas encontram-se tabeladas no anexo.

Cada processo de fracionamento foi iniciada com, aproximadamente 3g, as frações recolhidas foram combinadas pesadas e controladas a massa até perfazer um total da massa aproximada a de extrato bruto inicial. A massa total das frações recolhidas extrato ver (Tabela 20).

Tabela 20. A massa inicial, frações e massa total recolhida por extrato

Extrato de:	Massa inicial	Total de	Total da massa
	em/g	frações	recolhida/g
n-hexano	3	23	2,798
Acetona Parte solúvel/Clor.	3	23	2,824
Acetona parte insolúvel/Clor	3	41	2,824

Depois a purificação dos extratos de n-hexano coluna 1 e acetona coluna2 e três a partir da CC, os compostos puros e com pesos suficientes obtidos, estão representados nas tabelas abaixo, por conseguinte, foram preparados e submetidos a análise de estrutura por espectroscópicas de RMN, respetivamente. (Tabela 21), CC nº I^a, extrato de n-hexano, (Tabela 22) extrato de acetona, (Tabla 23), extrato de Acetona, parte não solúvel em Clorofórmio das cascas de Vd.

Tabela 21. Produtos aparentemente puros, selecionados após o processo de fraccionamento com CC e estão organizados por eluente e a proporção, frações, massa e o tratamento dado.

Eluente	Proporções	frações	massa	tratamento
Hex/Ac	95%5	36	0,012	RMN
Hex/Ac	95%5	37	0,014	RMN
Hex/Ac	90%10	51-65	0,139	RMN
Hex/Ac	80%20	72-82	0,373	RMN
Hex/Ac	70%30	91-95	0,077	RMN
Hex/Ac	70%30	96-103	0,071	RMN

CC II^a; Extrato de Acetona, casca de Vd, Parte solúvel em Clorofórmio.

Tabela 22. Produtos aparentemente puros, selecionados após o processo de fraccionamento com CC e estão organizados por eluente e a proporção, frações, massa e o tratamento dado.

Eluente	Proporções	frações	massa	tratamento
Cloroformio	100%	1-3	0,029	RMN
Cloroformio	100%	6-12	0,024	RMN
Clor. /Met	95%5	27-35	0,035	RMN
Clor. /Met	90%10	41-46	0,038	RMN
Clor. /Met	80%0	52-60	0,116	RMN

CC III^a Extrato de Acetona da casca/ Vd, Parte não solúvel em Clorofórmio.

Tabela 23. Produtos aparentemente puros, selecionados após o processo de fracionamento com CC e estão organizados por eluente e a proporção, frações, massa e o tratamento dado.

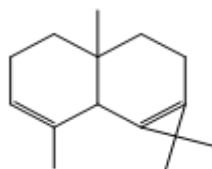
Eluente	Proporções	frações	massa	tratamento
Clor. /Met	70%30	46-49	0,083	RMN
Clor. /Met	70%30	53-55	0,173	RMN
Clor. /Met	60%40	56-62	0,069	RMN
Clor. /Met	60%40	63-67	0,138	RMN
Met./Clor	70%30	99-104	0,027	RMN

3.2.3. Resultado da técnica de espectroscopia IV

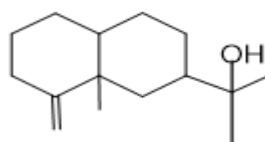
O extrato de Acetona das cascas de Vd, parte solúvel em n-hexano, foi preparado e foi submetido a análise de espectroscopia de IV, como forma de controlo no sentido de se realizar uma análise preliminar da composição do mesmo antes de ser injetado no GC-MS. O estudo por IV, permitiu avaliar se o extrato avançaria diretamente para análise por GC-MS. Consequentemente, o extrato seguiu para análise por GC-MS, os cromatogramas obtidos foram comparados, tendo em conta os seus nomes, tempos de retenção massa e a sua abundância relativa (Tabela 24), de seguida apresetamos as estruturas dos compostos correspondentes (Figura 28).

Tabela 24. Compostos determinados por GC-MS, da parte solúvel em n-hexano do extrato de acetona das cascas de Vd, com respetivos tempos de retenção (Tr), massa e abundância relativa (%).

Pico	Nome do composto	Tempo de retenção	Massa	Abundância relativa
1	Cadineno	21:16	M+ 204	8,9%
2	B-eudesmol	21:31	M+204	9,8%
3	mistura	27:16	M+ 30	Não dada
4	mistura	29:42	M+298	Não dada



Cadineno



B-eudesmol

Figura 28. Estruturas dos compostos comparativamente determinados por GC-MS na análise dos Picos 1,2 da cromatograma da parte solúvel em n-hexano do extrato de acetona das cascas de Vd.

3.2.4. Resultados de RMN

Os produtos das frações selecionadas e acima referidas em tabelas 21 e 22 referênte às colunas um e dois, foram analisados por RMN em CDCl₃, enquanto que os produtos das frações

selecionadas e acima referidas em tabelas 23 referente a coluna três, foram analisados por RMN em ((CH₃)₂-d₆), por não dissolverem em CDCl₃. Contudo, a análise por RMN, serviu como forma de controlo no sentido de se realizar uma análise preliminar da composição dos produtos antes de serem injetados no GC-MS. Por sua vez, o estudo por RMN, permitiu também, avaliar quais as frações que avançariam diretamente para análise por GC-MS. No entanto, os espectros foram analisados e quatro frações foram selecionadas entre elas a fração 36 aparente ser um composto novo, mas com dificuldades de ser identificado a sua estruturas por apresentar um ligeiro grau de mistura, dos quais se encontram referidos de seguida.

Consequentemente, estas frações seguiram para análise por GC-MS, enquanto que outras não avançaram para análises por GC-MS, por representarem graus de impurezas elevados.

Portanto, as frações que seguiram para análise por GS-MS foram os seguintes: frações 36, 51-65 e 91-95 CC n^o I^a e frações 53-55 CC n^o III^a. A fração 91-95, os resultados das análises por GC-MS, não foram obtidas, pelo facto a fração não se dissolveu no solvente usado em análises com GC-MS. Nas tabelas 25 e 26 a baixo, encontram-se os compostos determinados por GC-MS em cada fração analisada, a sua abundância relativa e os tempos de retenção de acordo com os espectros obtidos (os espectros das cromatogramas ver Anexo 8).

Para além disso, também são indicadas as abundâncias de compostos identificados e de compostos não identificados.

A fração 36 (Tabela 25), apresentou o pico máximo pertencente ao composto maioritário com massa 286, embora assim a estrutura não foi identificada por ter impureza, mas presume-se que pode ser um diterpeno que pode apresentar um esqueleto podocarpano ou pimerano. Por outro, a estrutura sugerida por GC-MS, não correspondeu com as informações de espectro de RMN obtido. Assim sendo, não foi identificada uma estrutura comparativa do composto pertencente embora sendo o composto maioritário. o que obriga posterior passos adicionais para purificá-lo e para a posterior análise

Tabela 25. Compostos determinados na fração 36 por GC-MS com respetivos tempos de retenção (Tr), massa e abundância relativa (%).

pico	Nome do composto	Tempo de retenção	Massa	Abundância relativa
1	Não detetado	26:04	M+286	132 5%
2	24β-metilcolesterol	26,18	M+400	32%
3	Estigmasta-2,22-dien-3β-ol	28:00	M+ 412	42%
4	B-sitosterol	30:17	M+ 414	72%

A fração 51-65 (Tabela 26), apresentou o pico máximo pertencente ao composto maioritário 24 β-etilcolesterol com massa e tempo de retenção ver tabela abaixo, a estrutura ver (figura 29) e no Anexo 8 está as cromatogramas correspondentes. Por outro, a fração apresentou dois picos de compostos de pouca abundância.

Tabela 26. Compostos determinados na fração 51-65 por GC-MS com respectivos tempos de retenção (Tr), massa e abundância relativa (%).

Pico	Nome do composto	Tempo de retenção	Massa	Abundância relativa
1	24B-metilcolesterol	26:54	M+ 400	19,3%
2	Estigmasta-5,22-dien-3B-ol	27,56	M+412	34%
3	24 B -etilcolesterol	30:14	M+ 414	65%

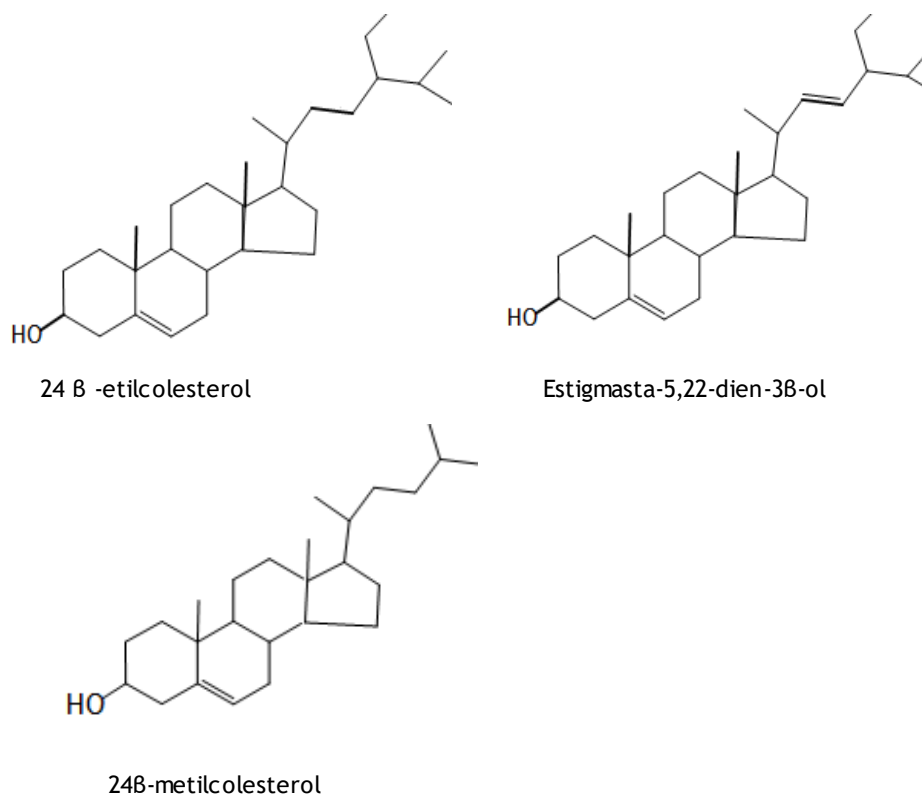


Figura 29. Estruturas dos compostos comparativamente determinados por GC-MS na análise dos Picos 1,2 e 3 da cromatograma das frações 51-65 do extrato de acetona das cascas de Vd.

Em todos os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C analisados, não foi possível interpretar com precisão as informações de todas as frações analisadas neste método, por conter numerosas impurezas.

Dos resultados obtidos a partir das análises por GC-MS das frações 36, 51-65 e do extrato de Acetona da parte solúvel em n-hexano, pode concluir-se que as frações 36, 51-65 apresentam os compostos aparentemente semelhantes tanto na estrutura molecular como na constituição dos anéis e com pequenas diferenças de massas, embora a fração 36 tenha a abundância dos compostos como Estigmasta-2,22-dien-3B-ol e 24B-metilcolesterol em relação à fração 51-65 apresenta a abundância do composto 24 B -etilcolesterol e Estigmasta-5,22-dien-3B-ol. E o extrato de Acetona da parte solúvel em n-hexano apresentou compostos diferentes, mas com muita mistura.

4. Conclusões

Desde muito tempo as plantas naturais vieram a ser tradicionalmente usadas na medicina tradicional para cura de várias doenças, atualmente o uso de produtos naturais proveniente das plantas no campo medicinal, têm vindo a aumentar, o desafio consiste em utilização de plantas com um grau de eficiência e toxicidade conhecido, uma vez que muitas destas plantas o conhecimento científico em relação os efeitos dos fitoquímicos ainda não está estudado. Por outro, a descoberta das espécies com potencial terapêutico, pode servir como recurso para revolucionar a inovação e o desenvolvimento económico das sociedades, bem como aproveitar a abundância dos compostos bioativos em diferentes espécies das plantas, para servir como fonte de recursos para a indústria farmacêutica produzir medicamentos. Portanto, são necessários métodos apropriados para extrair os compostos bioativos das plantas, uma vez que estes bioativos podem ser encontrados em qualquer parte da planta.

Com este trabalho, pretendia-se extrair e testar as atividades antioxidantes dos extratos das plantas, fracionar, isolar e caracterizar os componentes químicos de algumas plantas naturais utilizadas na medicina tradicional de Angola. Com foco em materiais vegetais de cinco plantas, cascas de *Vd*, raízes e folhas de *Db*, raízes e cascas de *Al*, raízes de *Sl* e de *Slgl*, recolhidas em Angola na Província do Moxico no mês de agosto de 2017 e transportadas para Portugal na Universidade de Beira de Interior no mesmo ano.

As extrações seguiram métodos sólido-líquido contínuo por extrator de soxhlet, e por maceração, usando sistema de solventes com polaridade escalonada de n-hexano, acetona até etanol. Como as plantas contem metabolitos primárias e secundárias com polaridades diferentes e como não se encontraram estudos semelhantes, referente a estas plantas recolhidas naquela região do território angolano.

As extrações por extrator soxhlet a quente com n-hexano como solvente pouco polar, não exibira resultado de extração esperado em relação a extração realizada a frio por maceração, onde se utilizaram acetona e etanol como solvente polares.

Este resultados das extração a quente, podem ser que no caso das raízes e cascas, o tamanho de materiais corteados foi grosso, a resistência à secagem no caso das raízes e folhas de *Al* e raízes de *Slgl*, pode diminuir o contacto soluto/solvente, o fator tempo/calor do sistema permanecer relativamente elevado pode degradar os metabolitos termolábeis, e, por outro lado, a temperatura ambiente, a alta polaridade dos solvente (acetona e etanol) usados na extração a frio, possibilitaram extrair maior quantidades de extrato a partir das plantas embora o resultado não ser linear.

A determinação de atividade antioxidante, o extrato de n-hexano não foi avaliado, uma vez que o método não foi adequado, devido ao solvente utilizado na preparação das soluções. Assim sendo a procura de uma metodologia que possa determinar a atividade antioxidante do extrato de n-hexano, de forma eficiente, pode ser importante.

A determinação de atividade antioxidante a partir dos extratos bruto de acetona e etanol usando método clorométrico do radical livre não natural 2,2-difenil -1-picrilhidrazil (DPPH), onde os extratos de e acetona das cascas de Vd, mostraram um elevado poder antioxidante, uma vez que a concentração necessária para promover 50 % de inibição obtida foi 5,434 µg/mL a qual é inferior ao IC₅₀ dos compostos padrão Rutina e trolóx e superior ao Ác. gálico que são fortes redutores. Pelo AAI o extrato foi classificado como muito forte, quanto a sua atividade antioxidante.

No caso dos extratos de etanol das folhas e raízes de Db, mostraram um elevado poder antioxidante, uma vez que as concentrações necessárias para promover 50 % de inibição obtidas foram 7,775 µg/mL de extrato das folhas e 11,808, µg/mL de extrato das raízes. a qual é inferior ao IC₅₀ do composto padrão Ác. gálico, superior da Rutina e igual ao trolóxio. Pelo AAI os extratos foram classificados como muito fortes, quanto as suas atividades antioxidante. Em relação os extratos das folhas de Al, mostraram um baixo poder antioxidante, uma vez que as concentrações necessárias para promover 50 % de inibição obtidas foram 108,16µg/mL de extrato de acetona e 423,38, µg/mL de extrato de etanol. A qual é superior ao IC₅₀ do composto padrão gálico, Rutina e trolóxio. Pelo AAI os extratos foram classificados como muito fortes, quanto as suas atividades antioxidantes.

Para a amostra do extrato de Etanol das raízes de Sl. Mostrou um baixo poder antioxidante, uma vez que as concentrações necessárias para promover 50 % de inibição obtidas foram 1428,8 µg/mL. A qual é superior ao IC₅₀ do composto padrão gálico, Rutina e trolóxio. Pelo AAI o extrato foi classificado como pobre, quanto a sua atividade antioxidante. O extrato de Etanol das raízes de Slgl. mostrou um baixo poder antioxidante, uma vez que as concentrações necessárias para promover 50 % de inibição obtidas foram 60,753 µg/mL, que é superior ao IC₅₀ do composto padrão gálico, Rutina e trolóx. Pelo AAI o extrato foi classificado como pobre, quanto à sua atividade antioxidante.

A atividade antioxidante das frações obtidas por CC, não foi determinada. Também outros extratos não foram estudados e nem se determinou a atividade antioxidante. Neste caso passaram para as próximas fases desse estudo. Assim, seria importante ser avaliados, sobretudo no que diz respeito aos extratos de acetona das raízes e folhas de Db, raízes de Slgl, folha de Slgl e raízes de Sl e aos extratos de etanol das cascas de Vd, raízes de Slgl, folha de Slgl e raízes de Sl, uma vez que era importante conhecer o poder antioxidante dos mesmos extratos.

As frações referente às colunas um e dois, foram analisadas por RMN em CDCl₃, enquanto que as frações selecionadas referentes a coluna três, foram analisados por RMN em ((CH₃)₂-d₆), por não dissolverem em CDCl₃. sendo o primeiro solvente escolhido. A análise por RMN, serviu como controle que permitiu realizar uma análise preliminar da composição dos produtos antes de serem injetados no GC-MS. Por sua vez, o estudo por RMN, permitiu também, avaliar frações que foram diretamente para análise por GC-MS. Portanto, das quatro frações selecionadas entre elas a fração 36 apresentou ser um composto novo, mas com dificuldades de ser identificado a sua estruturas por apresentar um ligeiro grau de mistura. Dos resultados obtidos a partir das análises por GC-MS das frações 36, 51-65 e do extrato de Acetona da parte solúvel em n-hexano,

pode concluir-se que as frações 36, 51-65 apresentam os compostos aparentemente semelhantes nas estruturas moleculares como na sua constituição com pequenas diferenças de massas, na fração 36 os compostos mais abundantes foram estigmasta-2,22-dien-3 β -ol e 24 β -metilcolesterol na fração 51-65 foram o 24 β -etilcolesterol e Estigmasta-5,22-dien-3 β -ol. E o extrato de Acetona da parte solúvel em n-hexano apresentou compostos diferentes, mas com muita mistura.

Trabalhos futuros

Considerando que não existem estudos sobre estas plantas recolhidas naquela parcela do território angolano, seria muito importante a continuação desta investigação. Assim, poderia ser incluído outros métodos para extração e para avaliação de atividades biológica, bem como, avançar para testes *in vitro* com os compostos isolados. Também será importante a continuação da investigação, incluído Métodos para a caracterização dos compostos químicos maioritários e a consequente determinação das estruturas.

Referências bibliográficas

- 1- Kamarudin M.N.A., Sarker Md.M.R., Kadir H. A., Ming L. Ch., (2017). Ethnopharmacological uses, phytochemistry activities, and therapeutic applications of *Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau: A comprehensive review. *Journal of Ethnopharmacology*, 206, 245-266.
- 2- Chan N., Li S., Perez E. (2016). Chapter 61-Interactions between Chinese nutraceuticals and western. *Medicines: Nat.*875-882.
- 3- George Akshara (2018). Simple and eficiente method for functional RNA extraction from tropical medicinal plants rich in secondy metobalites na international jornal.5, 19.08-13.
- 4- Ameer K, SH., Shahbaz H.M.and Kwon J. (2017) Green extraction Methods for ply polyphenols from plant matrices and Their byproducts: A review. In food ecience and food sosety. vol 16. Ed 2. Pg 295-315. *Comprehensive revirws*. DOI:10.1111/1541-4337.12263.
- 5- Cosa P., Vlietinck A.J., Berghe D. V., Maes L., (2006). Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro proof-of-concept.J. *Ethnopharmacol*, 106:290-302.
- 6- Duraipandiyan V. Ayyanar M., and Ignacimuthu S., (2006). Antimicrobial activitv of some ethnomedicinal plants used by paliyar tribe from Tamil Nadu, India: *BMC Cmplementary and Alternative Medicine*. DOI:10.1186/1472-6882-6-35
- 7- Brusotti G., Cesari I., Dentamaro A., Cacialanza G., Massolini G. (2014). Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. *Journal of pharmaceutical and Biomedical analysis* 87, 218-228.
- 8- Soliman S., Alnajdy D., EL_Keblawy A.A. Mosa K.A., Khoder G., Noreddin A. M., (2017). Plants'. *Natural products as Alternative Promising ant-Candida Drugs.Pharmacogn.rev.*11. 104-22.DOI: 10.4103/phrev.phrev-8-17.
- 9- Kopetzki D., Levesque F. and Seeberger P. H. (2013). A continuous-flow process for the synthesis of Artemisinin: *Chemistry A European jornal*.DOI: 10.1002/chem.201204558.
- 10- Sahu N. Meen S., Shukla V., Chaturvedi P., Brijish K., D atta D., Aryaa K.R. (2018). Extraction, fractionation and re-fractionation of artemisia nilagirica for anticancer acticity and HPLC-ESI-QTOF-MS/MS detemination: *Jour. Of Ethnopharmacology*.vol. 213, Pg.72-80.
- 11- Bubalo M.C., Vidovic S., Redovnikovic I. R., Jakic St. (2018). New perspectiva in extraction of plant biologically active compounds by greens solventes. *Food and Bioproducts processing* 109,52-73.
- 12-Newman D. J., Gragg G.M., (2016). *Natural products as sources of new drugs from 1981-79*, 629-661.

- 13- Sasidharan S, Chen Y., Saravanan D, Sundram K.M, Latha L Y. (2011). Extraction, Isolation and characterization of Bioactive Compounds from plants extracts:8, 19, 1-10.
- 14- Boer H.J., Cotingting C., (2014). Medicinal plants for wome's healthcare in southeast asia: a meta-analysis of their traditional use, chemical constituents, and pharmacology. *J ethnopharmacol.*151, 747-767.
- 15- Mahomoodally M.F., (2013). Traditional medicines in africa: Na appraisalof tem potente african medicinal plants *J. evid. Based Complement.Altern Med.*
- 16- Aburjai T., Natsheh F.M. (2003). Plants ussd in cosmetics. *Fytherapy reseach* 17, 987-100.
- 17- Jennifer C., Stephe C, M., Abhishri S.B. and Shalini B.U. (2012). Review on skin whitening property of plant extracts. *International Journal of pHarma and Bio Sciences.*2,332-347.
- 18- Maregesi S.M., Kagashe G.A., Flix F. (2014). Documentation and phytochemical screening of traditional beauty products used in missenyi district of Tanzania. *Journal of cosmetics dermatological Sciences and Applications.* 4, 355-364.
- 19- Ribeiro A.S., Estangueiro M., Oliveira M.B., and Lobo J.M.S., (2015). Main benefits and applicability of plant extracts in skin care products. *Jornal cosmetics* 2, 48-65.
- 20- Fongnzossie E.F., Tize Z., Nd P. J.F., Biyegue C.F.N., Ntsama I.S.B., Dibong S.D., Nkongneck B. A., (2017). Ethnobotany and pharmcognostic perspective of plant specie used as traditional cosmetics and cosmeceutical among the gbava ethnic group in Eastern cameroon. *south African jornal of batony* 112, 29-39.
- 21-Suffredinu I.B., Sader H.S., Gonçalves A.G., Reis A. O., Gales A.C., Varelha A.D., Younes R.N., (2004). Screening of antibacterial extracts from plants native to the Brazilian Amazon Rain forest and atlantic forest. *Brazilian Journal of medical and Biological research* 37:379-389.
- 22- Azmir J., Zaidul M.S.I., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Juhurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N., Omar A.K.M., (2013). Techiques for extraction of bioactive compounds from plant material: A review. *Journal of food engineeing* 117, 426-436.
- 23- Pagare S., Bhatia M., Triapatli N., Pagare S., Bansal Y. K., (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current trends in Biotechnology and Pharmacy.* Vol 9(3) 293-304.
- 24- Jakubowski W., Bartoszs G. (1997). Estimation of oxidative stress in succharomyces cerevisaewith Fluorescent probes. *Ininternational jornal of Biochemistry and cell biology.*29; 1297-13001. DOI: 10.1016/s1357-2725(9)00056-3.
- 25- Harborne J.R., (1993). Introduction to ecological biochemistry,4th edition. *Acadeic press, Elsevier, London.* Biochemical Systematics and ecology.vol.22, 7, 1994 Pp765.

- 26- Dudareva N. Pichersky E. (2000). Biochemical and Molecular Genetic Aspects of floral Scents. *Plant Physiology*, vol. 122Pp 627-633.
- 27- Altemimi A., Lakhssassi N., Baharlouei A. Watson D.G., and Lightfoot D. A., (2017). Phytochemicals: extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds plant Extracts (Experiência com DPPH- google-http://www.rbfarma.org.br/files/rbf-2011-92-4-14-327-332.pdf).
- 28- Boots A.W. Haenem R.M.M.G., Aat B., (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology* 585, 325-337.
- 29- Bernhoft Aksel. (2010). Bioactive compounds in plants benefits and risks for man and animals.
- 30- Patil B.S., Jayaprakasha G.K. Murthy K.Ch., Vikram A., (2008). Bioactive compounds: Historical perspectives, opportunities, and challenges. *J. agric. food chem.* 57, 8142-8160. DOI:10.1021/jf9000132.
- 31- Luis A.F.S., Luis., (2014). Pesquisa e Identificação de compostos bioativos em plantas florestais. Universidade da Beira Interior. Tese para obtenção o grau de doutor em Bioquímica.
- 32- Cunha Apropença, (2009). Farmacognosia e fitoquímica. 2ª ed. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian. Serviço de educação e balsas.
- 33- Tia M., Yan H., Row K. H. (2008). Simultaneous extraction and separation of liquiritin, glycyrrhizic acid, and glabridin from licorice root with analytical and preparative chromatography. *Biotechnology and bioprocess engineering.* 13:671-676.
- 34- Minglei T., (2015). Current extraction methods and purification materials for bioactive compounds from natural plants. *Asian Journal of Chemistry*, vol 27 nº 6, 1961-1966.
- 35- Chemat, F., Vian M.A., Cravotto G., (2012). Green extraction of natural products: concept and principles. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 8615-8627.
- 36- Krakowska A., Rafinska K., Walczak J., Kowalkowski T., buszewski B., (2017). Comparison of various extraction Techniques of medicago sativa: Yield, antioxidant activity and content of phenolchemical constituents. Krakowska et Al., *Journal of AOAC International*. Vol. 100, 6, 1681.
- 37- Smith R.M. (2003). Before the injection-modern methods sample preparation for separation techniques. *Review: Journal of Chromatography A*, 1000, 3-27.
- 38- Heng M.Y., Thio B. J. R., Ong E. Sh., (2016). Surfactant Assisted pressurized liquid extraction at room temperature for radix glycyrrhizae by a new class of surfactants. *Journal of chromatographic science* vol. 54, 5, 864-870.

- 39- Xu D.P., Li Y., Meng X., Zhou T., Zhou Y., Zheng J., Zhang J.J., Li H.B., (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. *Review international journal of molecular sciences*.
- 40- Mitra P., Ghosh T. Mitra P. K., (2016). Effect of solvents on extraction of Bioactive mass present in Titeypati (*Artemisia vulgaris* Linn) leaves responsible for body weight reduction in albino rats. *International journal of phytopharmacology* 7 (3), 115-119.
- 41- Fabricant D.S. Farnsworth N.R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environ. Health perspect.* 109,69-75.
- 42- Jovanovic A.A., Dordovic V.B., Zdunic G.M., Pljerljakusic D.S., Savikin K.P., Godevac D.M., Bugarski B., (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration heat and ultrasound assisted techniques. *Journal homepage. Separation and purification technology* 179, 369-380.
- 43- Bhutada P. R., Jadhav A.J., Pinjari D. V., Nimade P. R., Jain R. D., (2016). Solvent assisted extraction of Oil from *moringa oleifera* hom. Seeds. *Journal homepage. Industrial crops and products*. 82, 74-84.
- 44- Raju K.S.R., Kadian N., Wahajuddin I.T.M., (2015). Phytochemical analysis of isoflavonoids using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry *phytochem. Rev.*14:469-498.
- 45-Hernandez Y., Lobo M. G. Gonzalez M. (2009). Factors affecting sample extraction in the liquid chromatographic determination of organic acids in papaya and pineapple. *food chemistry* 114, 734-741.
- 46-Gravotto G., Binello A. Orio L. (2011). Green extraction techniques for high-quality natural products. *Peerreviewed scientific article.Vol. 22-n°6*
- 47- Khodaei Z. Wyk B.E.V., Wink M. (2018). Divergence time estimation of aloes and Allies (*Xanthorrhoeaceae*) Based on three Marker genes diversity.364,69120.
- 48-Klopper R.R., van-wyk A. E., Smith G.F., (2010). Phylogenetic relationships in the family *Asphodelaceae* (Asparagales).
- 49- Hee Ch.M., Young Ch.S., Hyung J.T., Ho K. K., won K.K., shik k.Y., Kil L.Ch., ki L.S., Hill P.J., In P.Y., Wha S.B., Ki S.Ch., Youl R.J., (2006). *New perspectives on Aloe*, ed. Young inpark seung ki lee. ISBN-10:0-387-31799-6.
- 50- Lee y.S., Park h.M., kim M-H., Waminal N.E., kim Y. J., Lim k-B., Baek J.H., Kim H.H., Yang T.J., (2011). Phylogenetic relationship of 40 species of genus *Aloe* L. and the origin of an allodiploid species revealed by nucleotide sequence variation in chloroplast intergenic space and cytogenetic in situ hybridization. *Genet resour group evol.* 63:235-242.

- 51-Radha M.h., Laxmipriya N.P., (2015). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloe vera: A systematic. Review journal of traditional and complementary medicine 5 21-26.
- 52-Hamman J. (2008). Composition and applications of Aloe vera leaf gel. *Molecules*, 13, 1599-1616.
- 53- Mongalo N.I, McGaw L. J., Finnie.F., Van Staden J. (2015). *Securidaca longipedunculata* Fresen (Polygalaceae): A review of its ethnomedicinal.
- 54- Gordona. S.C., M.D. Sonja, M.C. Jasna, T.T. Vesna, (2004) Antioxidant proprieties of marigold extracts, *Food Res. Int.* 37 643-650.
- 55- Geeraerts A. Raeymaekers J.A.M., Vinckier, Pletsers A., Smets E., Huysmans S., (2009). Systematic palynology in ebenaceae with focus on ebenoideae: morphological diversity and character evolution. *Review of palaeobotany and palynology.* 153, 336-353.
- 56- Alves A.C., Costa M.A.C., Paul M.I. (1983), Naphthaquinonas, of *Diospyros batocana*. *Journal of medicinal plant research.* Vol 47. Ed. 2. Pg 121-124.
- 57-Adeyemi O. O., Akindele A.J., Ogunleye E.A., (2009). Evaluation of the antidiarrhoeal effect of *sanseviéria liberica* gerome & labroy (Agovaceae) root extract. *Journal of ethnopharmacology* 123, 459-463.
- 58-Rezaei A., Fardfard A., Amirahmadi A., Alemi M., Khademi M. (2015). Diabetes melletus and its management with medicinal plants: A perspective based on Iranian research. *Journal of Ethnopharmacology.* 175, 567-616.
- 59-Ez Ch. Ch., Ifeoma In-Ag. St., Obodoike Ez.Ch.m Chhukwumeka. (2011). Evaluation of anti-inflammatory property of the leaves of *sanseviéria liberica* Gerome e Labr. (fam: dracaenaceae): *Asian pacific journal of Tropica Medicine.* 9791-795.
- 60-Akindele A.J., Wani Z.A., Sharma S. Mahajan G., Satti N. K., Adeyemi O.O., Mondhe D. M. and Soxena A.K., (2015). In Vitro and in vivo anticancer activity of root extracts of *sanseviéria liberica* gerome and labroy (agravaceae). Hindawi publishing corporation. Vol. 2015. Article ID 560404,11
- 61-Hernandez, J.C., Leon, F., Estevez, F., Quintana, J., Bermejo, J., (2015.) A homoisoflavonoid and a cytotoxic saponin from *Dracaena draco*. *Chem.Biodivers.* 3, 62-68.
- 62- Tcheegnitegni T., Teponno R.B., Tanaka Ch., Gabriel Ad. F., Trapondjou L. A., Miyamoto T., (2015). Sappanin-type homoisoflavonoids from *Sansevieria trifasciata* prain Billy: *Phytochemistry letters* 12, 262-266.
- 63- Dako E.G.A, Danikous S. Tchokponhoue D.A., Kamlan F.A., Larwanou M.L., Vodouhe R.S., Ahanchede A., (2014). Sustainable use and conservation of *vitex doniana* sweet: Unlicking the

propagation ability using stem cuttings. Journal of Agriculture and Environment for international development. 08, 43-62.

64-Hounkpèvi A., Azinhou A.F., Kouassi E.K., Porembski S., Kakai R. G., (2016). Climate induced morphological variation of black plum (*Vitex doniana*) in Benin, West Africa. *Genet Resour grup evol* 63:1073-1084.

65- Lasekan O. (2017). Identification of the aroma compounds in *Vitex doniana* sweet: free and bound odorants. *Chemistry central journal*. DOI 10.1186/13065-017.0247.7.

66- Missionarie C. (2018). *Nature & people: Vitex doniana*

67- Decreto-Lei nº 171/18 D.R. Angola. Iª Série nº 107 (23-08-18) 3937.

68- Chukwunonye U.Ch.E., Nampon L. Obisike Ch. V., Obodike E. (2016). Phytochemical screening and antimicrobial activity of methanol extracts and fractions of the LEAF and stem bark of *Vitex doniana* sweet lamiaceae. DOI:4, 491-496.

69--Tietjen I, Gatonye T., Ngwenya B.N., Namushe A., Simonambanga S., Muzila Mb. Mwimanzi Ph., Xiao J. Fedida D. Brumme Z.I., Brockman M. A., Marobela K. A., (2016). *Croton megalobobrys* Mull. Aeg and *Vitex doniana* (Seet): Traditional medicinal plants in a three-step treatment regimen that inhibit in vitro replication of HIV-1. *Journal of ethnopharmacology* 191, 331-340.

70- Bolanle D. J., Adetoro K. O., Balarabe S. A., Adeyemi O.O. (2014). Hepatoprotective potential of *Vitex doniana* root bark, stem bark and leaves extracts against CCL4-induced liver damage in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 4.480-485.

71- James D.B Sheneni V.D. Antowodi S.E., (2014). Antioxidant activity of *Vitex doniana* ethanol extracts in poloxamer-407 induced hyperlipidemic rats. *Comp clin polhol* 24. 1045-1050.

72- Ibrahim M.A., Koorbanally N. A., Islam MD.SH., (2016). Anti-oxidative, α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity of *Vitex doniana*: Possible exploitation in the management of type 2 diabetes. *Acta poloniae farmaceutica-drug research*, vol 73.5pp 1235-1247.

73-Nicolau P.M.D. (2013). Atividade antioxidante de extratos de plantas. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Bioquímica UBI/2013.

74- Sem V. d., Fikhonov I.V., Boradin L.I., Pliss E.M., Golubev V.A., Syroeshkin M.A., and Rusakov A. I., (2014). Kinetics and thermodynamics of reversible disproportionation-comproportionation in redox triad oxoammonium cations-nitroxyl radical-hydroxylamines. *Journal of physical organic Chemistry*. DOI: 10.1002/poc.3392.

75- Meng D., Zhang P. Zhang L. Wang H., Ho Ch. T., Li Sh., Shahidi F., Zhao H., (2017). Detection of cellular redox reactions and antioxidant activity assays. *Journal of functional foods* 37, 467-479.

- 76-Jowko E., Sacharuk.J., Balasinska B. Ostaszewskip., Charmas M., Charms R., (2007). Studies in physical culture and Tourism Vol.14, supplement.
- 77- Durairaj B., Thiruselvi M., (2018). Free radical scavenging activity from hydroethanolic extracts of artocarpus heterophyllus seeds. Research article. Vol 10.
- 78- Beltagi H.S.El., Mohamed H.I., (2013). Reactive oxigen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanismo. Not boc horti agrobi 41 (1), 44-57.
- 79- Bhatnagar Sh., Kumar A., Ameta S.C., (2011). Phatooxidation of some pharmaceutical drugs by singlet molecular oxigen. Asian Journal Biol.res ISSN:2231-2218.
- 80- Galano A. (2015). Free radicals induced oxidative stress at a molecular level: The current status, challanges and perspectives of comutational chemistry basedprotocols.J.mex.Chem. Soc 5984, 231-262.
- 81-Boots A.W., Haenen G. R.M.M., Bast A., (2008). Health effects of quercetin: from antioxidante to nutraceutical. European journal of pharmacology 585 325-337.
- 82-Antolovich M., Prenzler D.P., Patsalides e., McDnald S., Robards K., (2001). Methods for testing antioxidante activity. View. jornal homepage. Analgst 127, 183-198.
- 83- Halliwell B., Murcia M. A., Chirico S., Aruoma O.I., (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. Crit. Ver.Food Sci.nutr.35, 7-20.
- 84- Amorati R., Foti M. C., Valgimigli, L. (2013). Antioxidant Activitv of essential Oils J., Agric. Food Chem.61, 10835-10847.
- 85--Peng Ch., Wang X., Chen J., jiao R., Wang L., Li Y.M., ZuoY., Liu Y., Lei L., Ma K. Y., Huang Y., Chen Zh-Y., (2014). Biology of Ageing and role of Dietary antioxidants. BioMed res. Int. 831841,13.
- 86- Negi P.S., Chauhan A.S., Sadia G.A., Rohinishree Y.S., Ramteke R.S, (2005). Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (hippophae rhamnoides l.) seed extracts. Food chem.92, 112-124.
- 87- Ribeiro A.S., Estanquiro M., Oliveira M.B., Lobo J. M.s., (2015). Main benefits and applicability of plant extracts in Skin care products. Cosmetics 2, 48-65.
- 88--Scherer R. Godoy H.T., (2009). Antioxidant activity índex (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Food chemistry.112, 654-658.
- 89- Ozcelik B., Lee J.H., Min D. B., (2003). Journal of food science. 68, 487-490.
- 90- Lucas M. F., (2017). Caraterização fitoquímica e determinação da atividade biológica de extratos de cascas de Salix salviifolia, Dissertação apresentada à Universidade da Beira interior para obtenção o grão de Mestre em Química Medicinal.

- 91- Guerrero J.L.G., Guirado C.M., Fuentes M.M.R., Perez A.C., (2006). Nutrient composition and antioxidant activity of 10 pepper varieties. *European food research and technology*, 224, 1-9.
- 92- Elzaawely A.A., Xuan T.D., Tawata Sh. (2007). Essential oils, Kava pyrones and phenolic compounds from leaves and rhizomes of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. and their antioxidant activity. *Food chemistry*, 103, 486-494.
- 93- Bajer T., Adam M., Galha L., Ventura K., (2001). Comparison of various extraction techniques for isolation and determination of isoflavonoids in plants. *J. Sep. Sc.*, 30, 122-127.
- 94- Bekele G., and S.T.H., (2017). Isolation and Characterization of bioactive compounds from medicinal plants of Ethiopia - a review. *vol.7*. DOI:10.19080/CTBEB.07.555721. *curr trends biomedical eng e biosci*. ISSN:2572-1151.
- 95- Urbano M., Castro M.D.L., Perez P., Garcia-Olma J., Gómez-nieto (2006). Ultraviolet-visible spectroscopy and pattern recognition methods of differentiation and classification of wines. *Food chemistry*, 97, 166-175.
- 96- Deborde C., Moing A., Roch L., Jacob D., Giraudeau P., (2017). Plant metabolism as studied by RMN spectroscopy. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*, 102-103, 61-97.
- 97- Yu J., Wang H., Zhan J., Huang W., (2017). Review of recent UV-vis and infrared spectroscopy researches on wine detection and discrimination. *Applied Spectroscopy* Ver. 0570-4928; 1520-569.
- 98- Leroy Cesar & Bryce D. L., (2018). Recent advances in solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy of exotic nuclei. *journal homepage. progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*. 109, 160-199.
- 99- Sisouane M., Cascant M.M. Tabiri S. Garrigues S., Krati M.E., Boutchich G.E.K., Cervera M.L., Guardia M. Dela. (2017). Prediction of organic carbon and total nitrogen contents in organic wastes and their composts by infrared spectroscopy and partial least square regression. *Talanta*. Vol 167, Pp 352-358.
- 100- Reddy G.N.M., Mannina L., Sobolev A.P., Calalarelli S., (2018). Polyphenols fingerprinting in olive oils through maximum-quantum RMN spectroscopy *food anal. methods*. 11:1012-1020.
- 101- Fon T.W.M., (1996). Metabolite Profiling by one- and two-dimensional NMR analysis of complex mixtures. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*, 28; 161-219.
- 102- Mendelsohn J. Weber B.M. (2015). *An atlas and profile of Moxico, Angola*. ISBN:978.99916-780-9-2.

Comunicação em poster



Extração e determinação da atividade antioxidante de extratos de plantas de Angola



A.M. Sales, M. Lucas, M. Gomes, J. A. Figueiredo, J. Rodas, M. J. Santos
FisQuTech, Departamento de Química, Universidade de Évora, 7001-801 Évora, Portugal

Introdução

As plantas medicinais são uma fonte de medicamentos em várias comunidades mundiais, em particular de algumas espécies protegidas(1). Porém, muitas delas, são utilizadas sem a devida caracterização dos seus compostos com efeitos medicinais(2). Com este trabalho pretende-se avaliar, entre o restante, os compostos presentes em algumas plantas utilizadas na medicina tradicional de Angola, bem como avaliar atividade biológica *in vitro* (Figura 1).

A extração dos componentes das plantas pode ser efetuado por diversos processos. A escolha do método é influenciada em acordo com os componentes que se pretendem obter(3). As extrações constituem subdividido a quente e a frio permitindo obter compostos orgânicos presentes nos tecidos, raízes e folhas das plantas. As extrações foram realizadas de acordo do menor poluidora para o meio ambiente. Posteriormente foi avaliada a atividade antioxidante dos extratos, através do método de DPPH, para avaliar as suas atividades biológicas.

Os extratos de raízes e alguns tecidos de acetosa foram submetidos a testes preliminares, que permitiram avaliar a sua potencial atividade antioxidante do radical livre, através de análise espectrofotométrica com o radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Figura 2).



Figura 2. Estrutura química do radical DPPH e sua ação sobre o radical DPPH (adaptado de 4,5).

Para determinar a atividade antioxidante, por esse método de DPPH, foram preparadas sete soluções de DPPH em metanol, com concentrações diferentes. Quando os extratos também foram preparados soluções em metanol, com diferentes concentrações(5,6).

Para a realização do ensaio, retirou-se 0,1 mL de extrato em tubos de ensaio e adicionou-se 3,9 mL de solução de DPPH. Este procedimento foi repetido para cada análise de DPPH preparada e para cada concentração do extrato. Para a preparação do controle substituiu-se os 0,1 mL de extrato por metanol. Os ensaios foram realizados em triplicata e diluídos e incubados no escuro, durante 90 minutos, à temperatura ambiente. O branco controla acetosa metanol. As leituras das absorbâncias foram realizadas a 517nm. Correlação positiva foram utilizadas os compostos antioxidantes naturais, como o ácido gálico como padrão(4,5).



Figura 1. Metodologia utilizada no trabalho.

Materiais e métodos

Neste trabalho foram selecionadas as plantas a do género *Aloe*, *Securidaca longipedunculata*, *Dioscorea baccata*, *Sesuvium portulacastrum* e *Vitex doakana* e também *Vitex doakana*, recolhidas na província de Bié, em Angola (Tabela 1). Foram recolhidas amostras de folhas, raízes e ramos das plantas referidas acima. As amostras foram submetidas a processos de extração com etanol, acetona e água.

Discussão de Resultados

Os resultados da atividade antioxidante encontraram-se expressa de acordo com o Índice de Atividade Antioxidante (AAI), do inglês *Antioxidant Activity Index* (Tabela 2). Os extratos com esta classificação, os compostos classificaram-se em pobres (AAI < 0,5), moderada (0,5 < AAI < 1,0), boa (1,0 < AAI < 2,0) e muito boa (AAI > 2,0)(8).

Tabela 1. Características das plantas.

Nome da planta	Parte da planta utilizada	Classificação da atividade antioxidante
<i>Dioscorea baccata</i>	Raiz / Folha / Ramo / Flor	Bastante / Bastante
<i>Vitex doakana</i>	Raiz / Folha / Ramo	Bastante
<i>Aloe</i> (planta do género)	Raiz / Folha	Pobre
<i>Securidaca longipedunculata</i>	Raiz / Folha	Bastante
<i>Sesuvium portulacastrum</i> e <i>Vitex doakana</i>	Raiz / Folha	Pobre

Conclusão

Os extratos de raízes obtidos a partir das folhas e ramos de *Dioscorea baccata* e o extrato de acetosa provenientes das partes de *Vitex doakana* apresentaram uma atividade antioxidante muito forte, sendo importante a conservação dos extratos. Os restantes extratos exibiram uma atividade antioxidante pobre ou moderada.

A próxima etapa será o isolamento e a caracterização dos compostos presentes no extrato de raízes a identificar os constituintes das plantas.

Referências

1. Bhandari S et al. *Asian J Biol Sci*, 2011, 4(4), 489-491. <http://dx.doi.org/10.3923/ajbs.2011.489.491>

2. Bhandari S, Jaisi Y, Bhandari S, Sharma S et al. 2010. *Phytochemical analysis and antioxidant activity of medicinal plants from India*. *Journal of Natural Products* 1(1): 1-10.

3. Rodas J. 2010. *Extratos de plantas medicinais e fitoterápicos para a prevenção de doenças crónicas*. *Acta Farmacológica* 1(1): 1-10.

4. Gomes M, Santos M, Gomes M, Santos M, Gomes M, Santos M. 2010. *Extratos de plantas medicinais e fitoterápicos para a prevenção de doenças crónicas*. *Acta Farmacológica* 1(1): 1-10.

5. Gomes M, Santos M, Gomes M, Santos M, Gomes M, Santos M. 2010. *Extratos de plantas medicinais e fitoterápicos para a prevenção de doenças crónicas*. *Acta Farmacológica* 1(1): 1-10.

6. Gomes M, Santos M, Gomes M, Santos M, Gomes M, Santos M. 2010. *Extratos de plantas medicinais e fitoterápicos para a prevenção de doenças crónicas*. *Acta Farmacológica* 1(1): 1-10.

Resumo (Abstrat)

Extração e determinação das atividades antioxidantes de extratos de plantas de Angola

A.M. Selua, M. Lucas, M. Gomes, J. A. Figueiredo, J. Rodilla, M. I. Ismael

FibEnTech, Departamento de Química, Universidade da Beira Interior, 6201-001 Covilhã, Portugal

As plantas medicinais são uma fonte de medicamentos em várias comunidades mundiais, no tratamento de numerosas infeções patogénicas, (1) porém, muitas delas são utilizadas sem a caracterização dos seus componentes (2).

Com este trabalho pretende-se caracterizar os compostos extraídos de plantas como *Aloe congolensis*, *Securidaca longipedunculata*, *Diospyro batocana*, *Sansevieria liberica* Gerome e Labroy e também *Vitex doniana*, utilizadas na medicina tradicional de Angola. Efetuaram-se extrações em soxhlet com *n*-hexano e extrações sólido-líquido a frio, com acetona e etanol (3). Foram utilizadas as cascas, as raízes e as folhas das plantas. As extrações foram realizadas do solvente de menor polaridade (*n*-hexano) para o de maior polaridade (etanol). Deste modo obtiveram-se diversos extratos que foram analisados.

As atividades antioxidantes das amostras dos extratos de plantas em etanol e acetona foram analisadas pelo método de DPPH (4, 5), tendo-se obtido atividades antioxidantes significativas em duas plantas (*Diospyros batocana* e *Vitex doniana*). De acordo com o Índice de Atividade Antioxidante (AAI), os extratos de etanol obtidos a partir das folhas e raízes de *Diospyros batocana* e o extrato de acetona proveniente das cascas de *Vitex doniana* apresentam uma atividade antioxidante muito forte. Os restantes extratos exibem uma atividade antioxidante pobre ou moderada.

Referências

- 1- Alfarizal, K. M. N., Rahman, S. Md. M., Abdul, K. H. Mingd, Chiau, L., Ethnopharmacological uses, phytochemistry, biological activities, and therapeutic applications of *Clinacanthus nutans* (*Burm. f.*) Lindau: A comprehensive review: *J. Ethnopharmacology* (2017), 206, 245–266.
- 2- Sasidharan S., Chen Y., Saravanan D., Sundram K.M., Latha L. Yoga, Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts, *Afr J Tradit Complement Altern Med.* (2011) 8, 1,1-10.
- 3-Tian Minglei, Current Extraction Methods and Purification Materials for Bioactive Compounds from Natural Plants, *Asian Journal of Chemistry*, (2015), 27, 6, 1961-1966
- 4-Scherer, R., Godoy, H., Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method, *Food Chemistry*, (2009), 112, 654-658,
- 5-Lucas, Mariana F. M., Caraterização fitoquímica e determinação da atividade biológica de extratos de cascas de *Salix salviifolia*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Química Medicinal, apresentada à Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal (2017).

Anexo nº1: Declaração nº04/2017, da Camara Profissional dos Terapeutas da Medicina Tradicional e Natural em Angola na Província do Moxico.



Anexo nº 2: Preparação do material vegetal

Após a colheita as folhas, raízes de género Al, as folhas, raízes de Db, raízes de Sl e raízes, folhas de Slgl, foram secas separadamente ao ar e à temperatura ambiente (~25°C). Seguidamente foram cortadas, com uma faca e colocadas em extração.



Raízes de Sl



Raízes de Slgl



Planta Slgl



Raízes de Db



Folhas de Db



Casca de Vd

Anexo 3: Evaporador rotativo



Evaporador rotativo

Anexo nº4; Espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific™ evolution

160 UV-Vis



Anexo 5: Atividade antioxidante - Método do DPPH

Anteriormente, apenas foram apresentados os cálculos dos parâmetros da atividade antioxidante para o extrato etanol/água e acetona. Os dados referentes aos padrões serão apresentados neste anexo.

I.I. Rutina

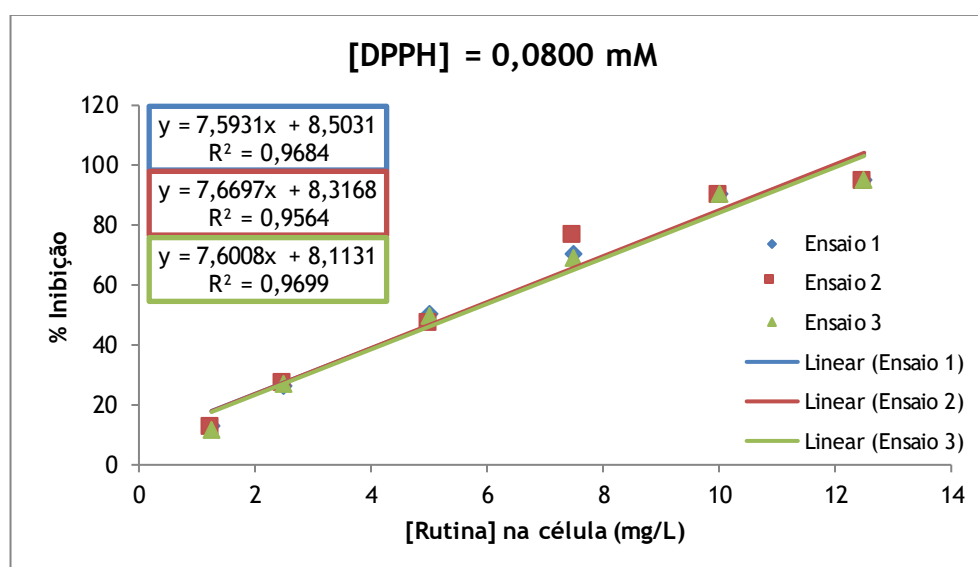


Figura 30. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão rutina na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.

Tabela 25 Parâmetros IC₅₀ e AAI da rutina, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média ± Desvio Padrão
IC ₅₀ (µg/mL)	5,5	5,4	5,5	5,5 ± 0,1
AAI	5,5	5,5	5,4	5,5 ± 0,1

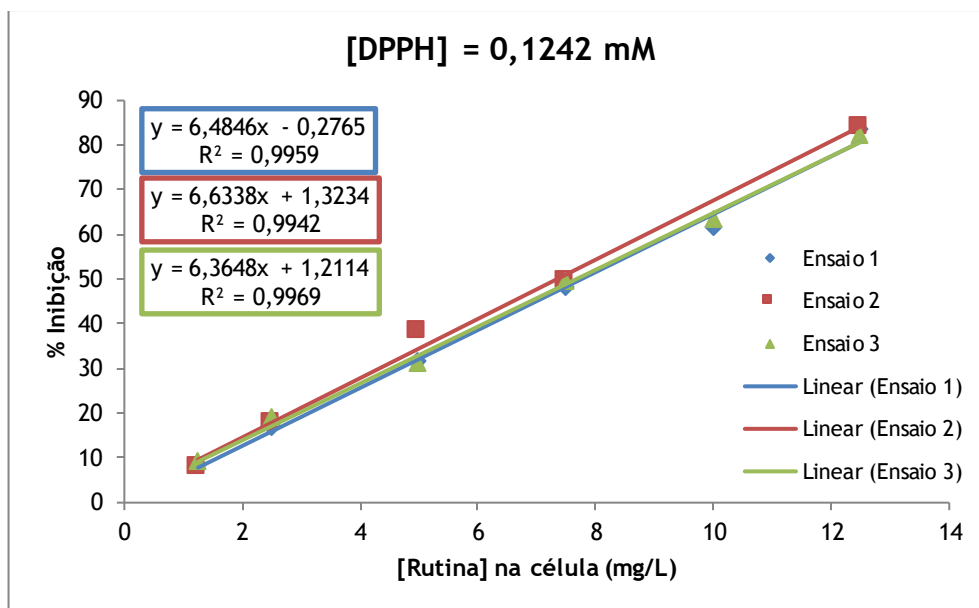


Figura 31. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão rutina na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.

Tabela 26 Parâmetros IC₅₀ e AAI da rutina, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média ± Desvio Padrão
IC ₅₀ (µg/mL)	7,8	7,3	7,7	7,6 ± 0,2
AAI	6,0	6,3	6,1	6,1 ± 0,2

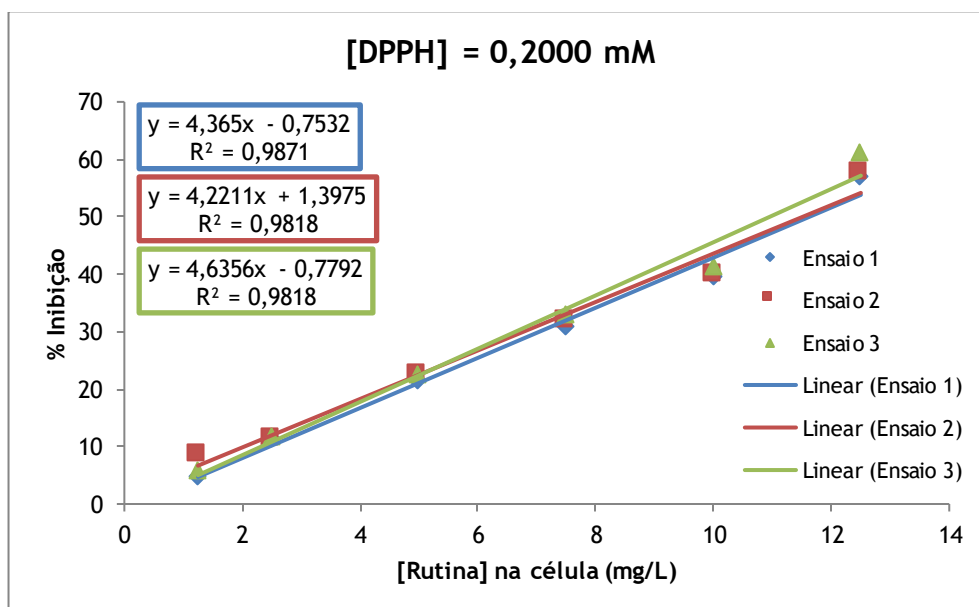


Figura 32. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão rutina na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.

Tabela 29 Parâmetros IC₅₀ e AAI da rutina, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média ± Desvio Padrão
IC ₅₀ (µg/mL)	11,6	11,5	11,0	11,4 ± 0,4
AAI	6,4	6,4	6,8	6,5 ± 0,2

Tabela 27 Resumo dos parâmetros IC₅₀ e AAI e classificação da atividade antioxidante da rutina.

	Média ± Desvio Médio	Atividade antioxidante
IC ₅₀ (µg/mL)	8,1 ± 2,1	Muito Forte
AAI	6,0 ± 0,4	

Para promover 50% de inibição é necessária uma concentração de 8,1 µg/mL de rutina. A rutina apresenta uma capacidade antioxidante muito forte, segundo o AAI.

I.II. Trolox

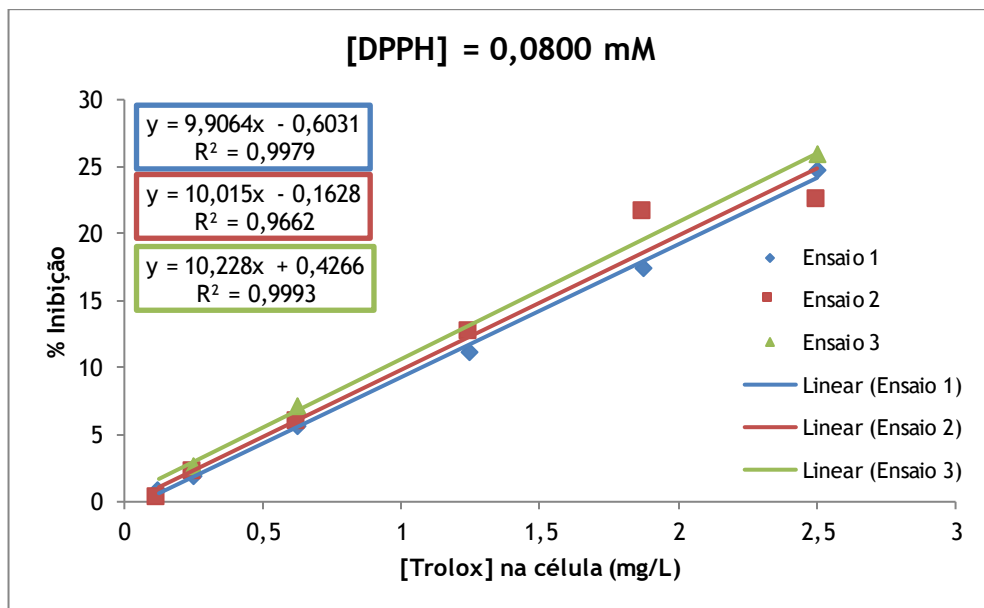


Figura 33. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão trolox na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.

Tabela 28 Parâmetros IC₅₀ e AAI do trolox, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média ± Desvio Padrão
IC ₅₀ (µg/mL)	5,1	5,0	4,8	5,0 ± 0,1
AAI	5,8	6,0	6,2	6,0 ± 0,2

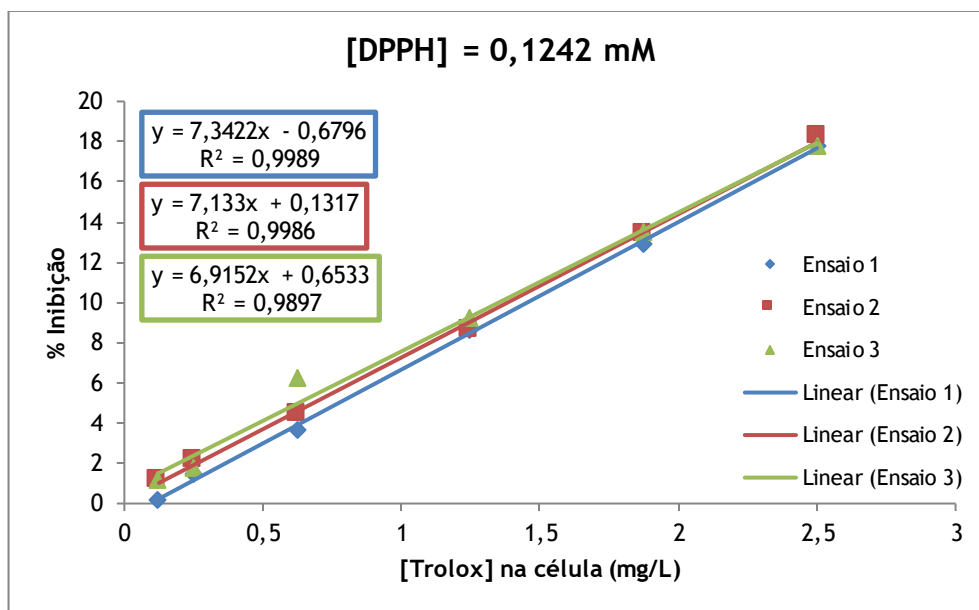


Figura 34. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão trolox na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.

Tabela 29 Parâmetros IC₅₀ e AAI do trolox, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média ± Desvio Padrão
IC ₅₀ (µg/mL)	6,9	7,0	7,1	7,0 ± 0,1
AAI	6,6	6,6	6,4	6,6 ± 0,1

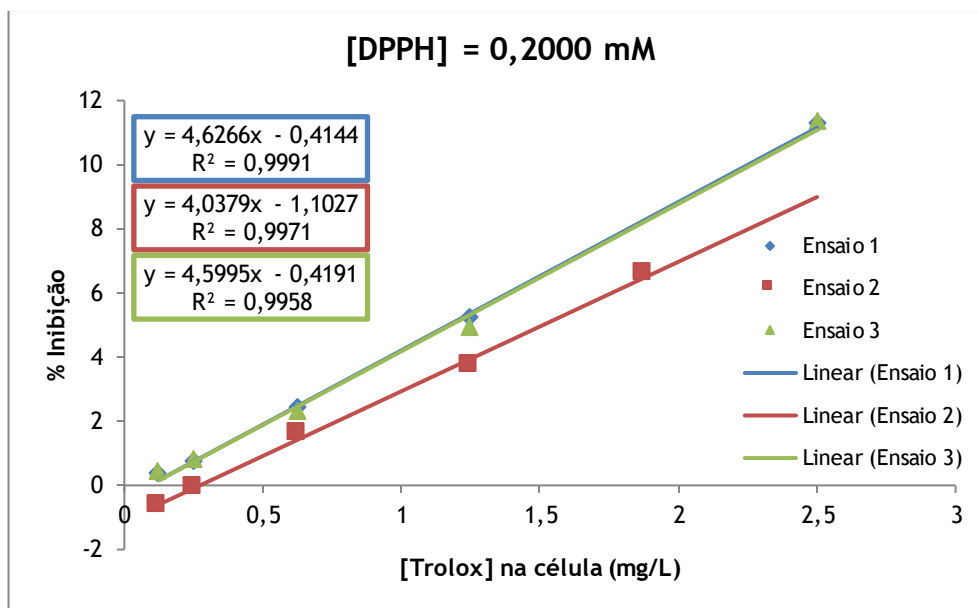


Figura 35. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão trolox na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.

Tabela 30 Parâmetros IC₅₀ e AAI do trolox, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média ± Desvio Padrão
IC ₅₀ (µg/mL)	11,6	11,5	11,0	11,4 ± 0,4
AAI	6,4	6,4	6,8	6,5 ± 0,2

Tabela 31 Resumo dos parâmetros IC₅₀ e AAI e classificação da atividade antioxidante do trolox.

	Média ± Desvio Médio	Atividade antioxidante
IC ₅₀ (µg/mL)	7,8 ± 2,4	Muito Forte
AAI	6,3 ± 0,2	

Para promover 50% de inibição é necessária uma concentração de 7,8 µg/mL de trolox. O trolox apresenta uma capacidade antioxidante muito forte, segundo o AAI.

I.III. Ácido Gálico

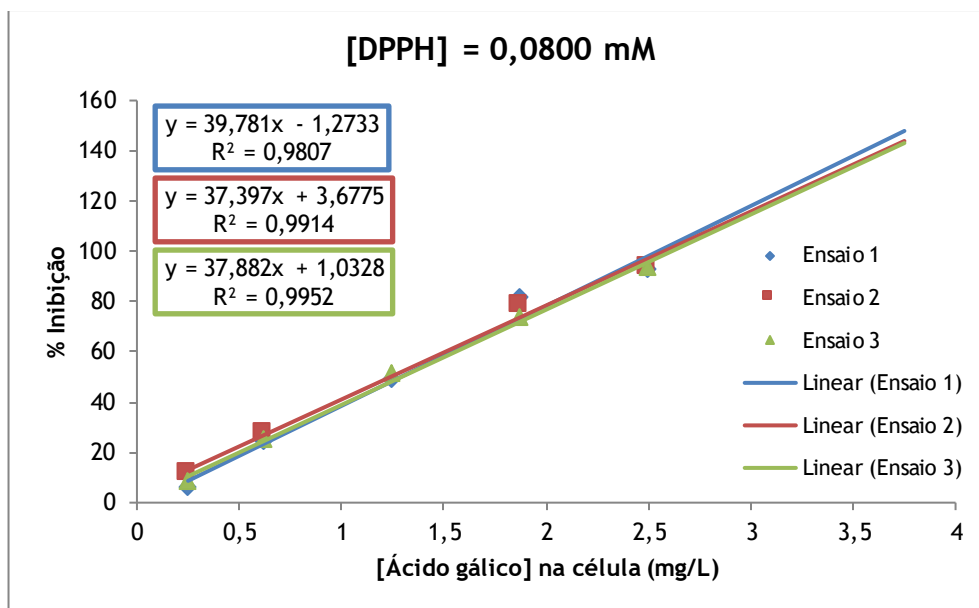


Figura 36. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão ácido gálico na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.

Tabela 32 Parâmetros IC₅₀ e AAI do ácido gálico, para a concentração de DPPH de 0,0800 mM.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média ± Desvio Padrão
IC ₅₀ (µg/mL)	1,3	1,2	1,3	1,3 ± 0,1
AAI	21,7	23,4	20,4	21,8 ± 1,5

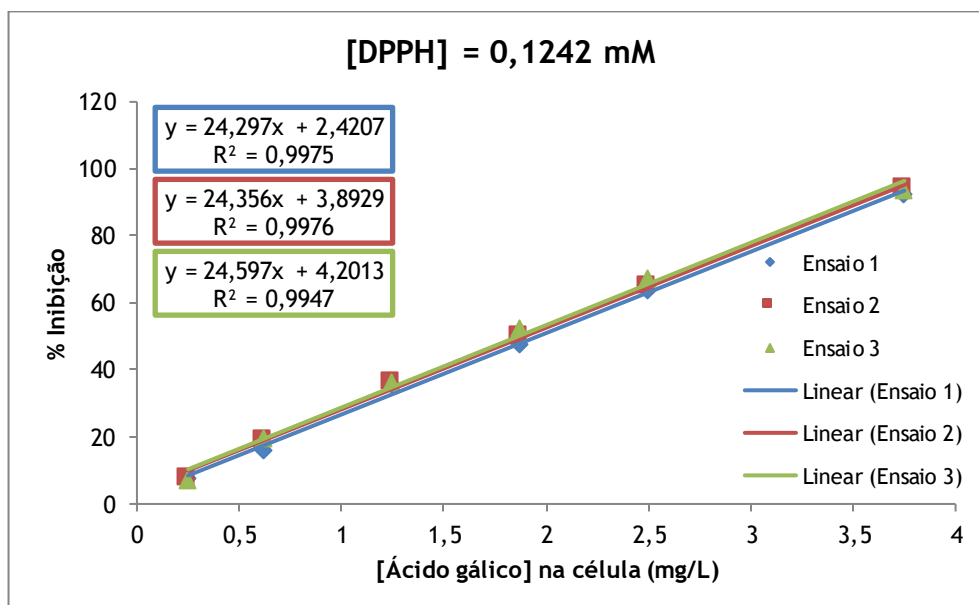


Figura 37. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão ácido gálico na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.

Tabela 33 Parâmetros IC₅₀ e AAI do ácido gálico, para a concentração de DPPH de 0,1242 mM.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média ± Desvio Padrão
IC ₅₀ (µg/mL)	2,0	1,9	1,9	1,9 ± 0,1
AAI	23,7	24,6	25,0	24,4 ± 0,7

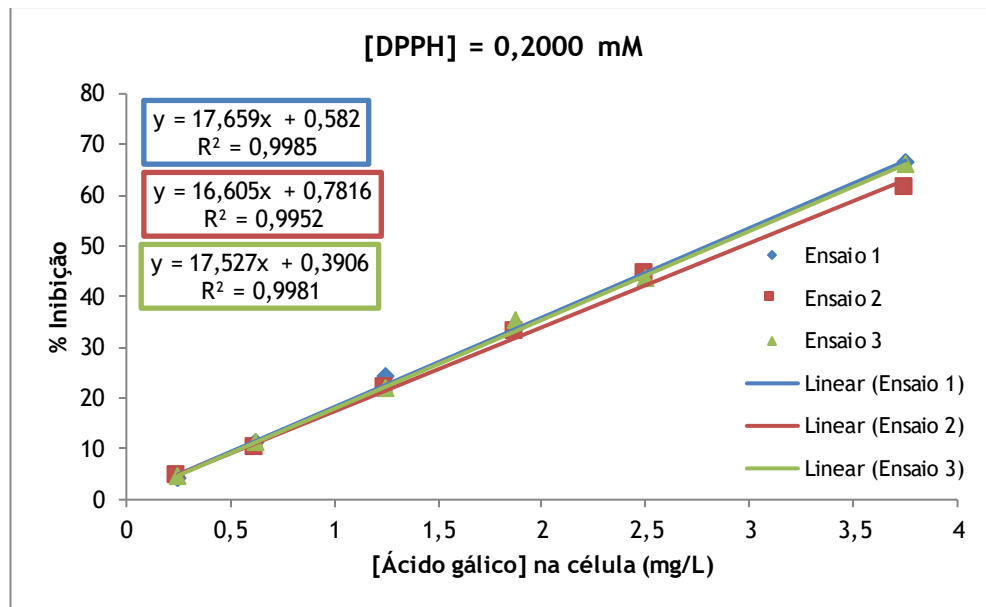


Figura 38. Representação gráfica da % I em função da concentração do padrão ácido gálico na célula do espectrofotômetro, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.

Tabela 34 Parâmetros IC₅₀ e AAI do ácido gálico, para a concentração de DPPH de 0,2000 mM.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Média ± Desvio Padrão
IC ₅₀ (µg/mL)	2,8	3,0	2,8	2,9 ± 0,1
AAI	26,2	24,2	25,9	25,4 ± 1,1

Tabela 35 Resumo dos parâmetros IC₅₀ e AAI e classificação da atividade antioxidante do ácido gálico.

	Média ± Desvio Médio	Atividade antioxidante
IC ₅₀ (µg/mL)	2,0 ± 0,6	Muito Forte
AAI	23,9 ± 1,4	

Para promover 50% de inibição é necessária uma concentração de 2,0 µg/mL de ácido gálico. O ácido gálico apresenta uma capacidade antioxidante muito forte, segundo o AAI.

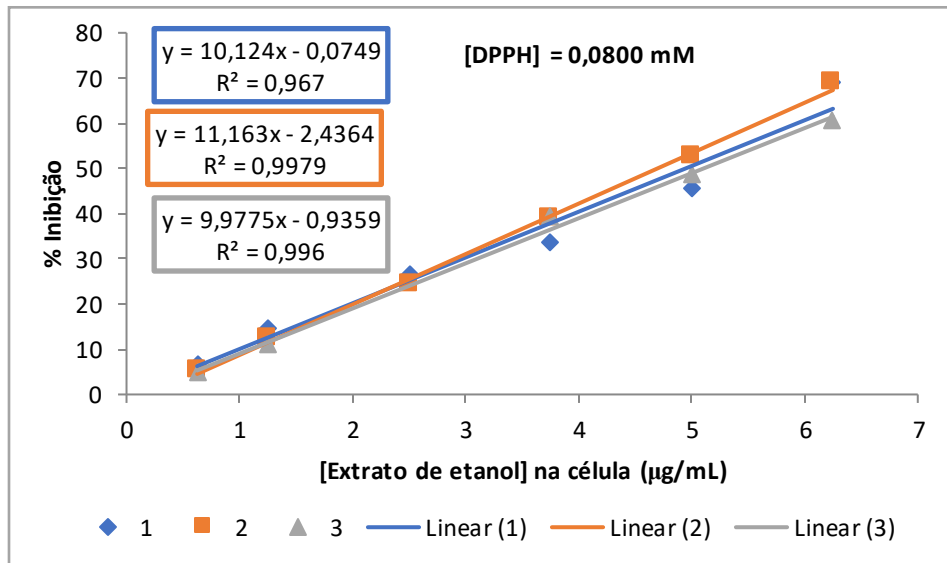


Figura 39. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db (µg/ml), para a [DPPH] 0,0800m

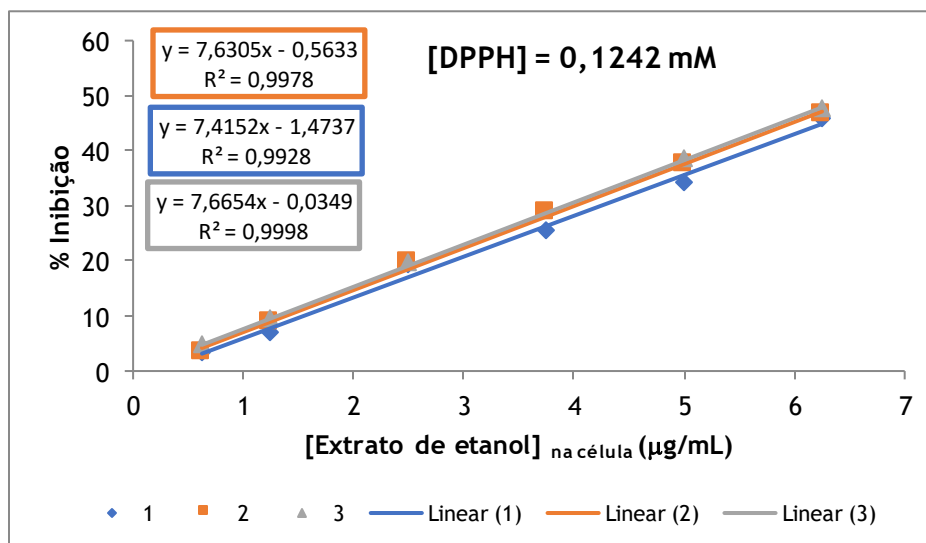


Figura 40.- Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db (µg/ml), para a [DPPH] = 0,1242 mM

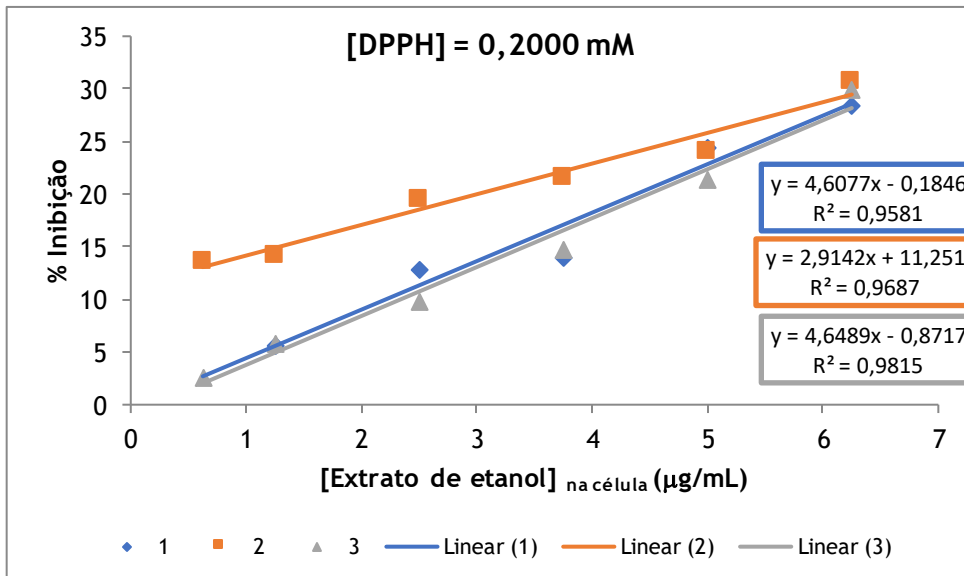


Figura 41.- grafico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db (µg/ml), para a

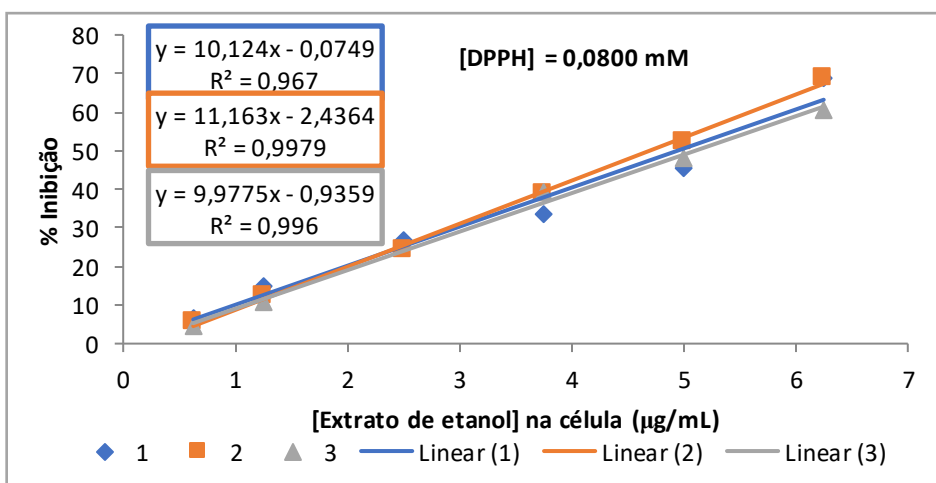


Figura 42. Grafico com avaliação da % Inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db (µg/ml), para a [DPPH] 0,0800mM.

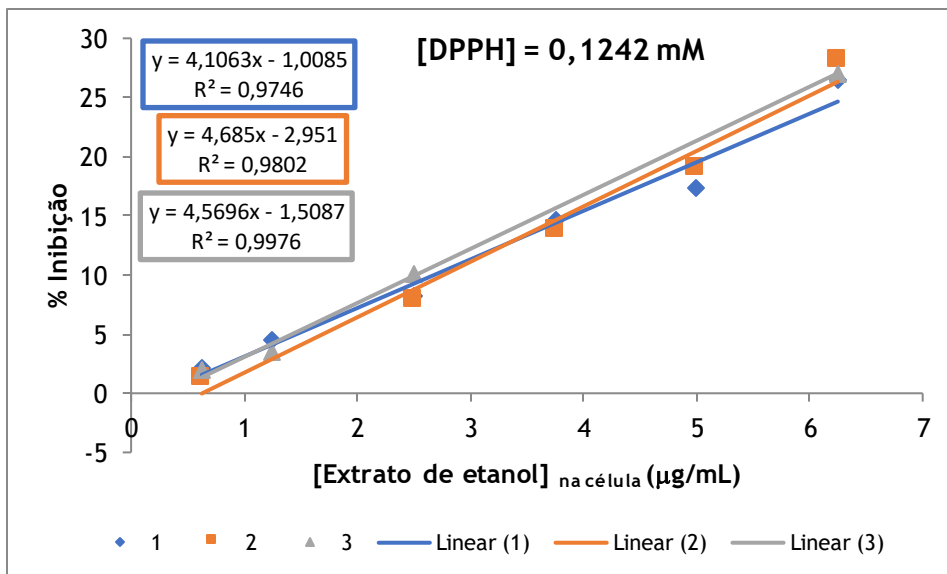


Figura 43.Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db (µg/ml), para a [DPPH] 0,0800mM.

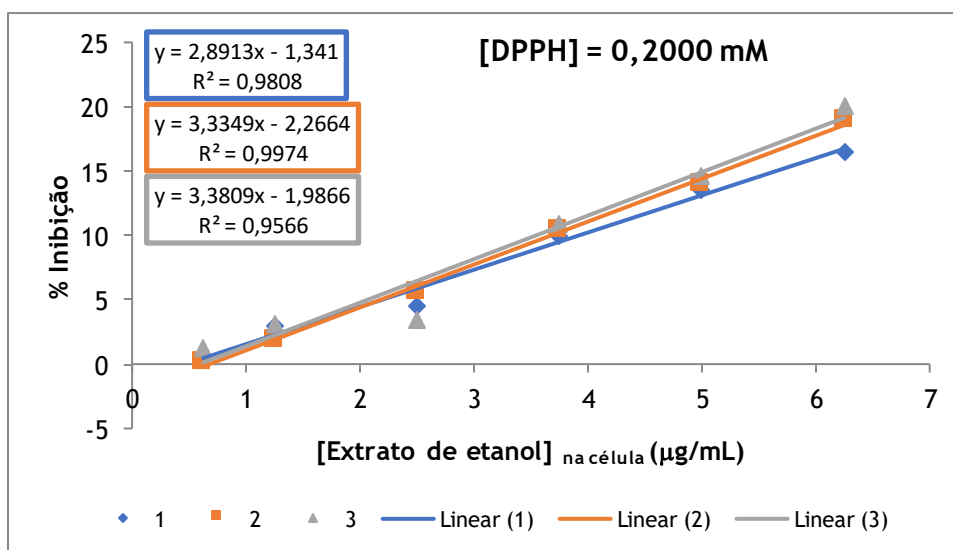


Figura 44.Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Db (µg/ml), para a [DPPH] 0,2000mM.

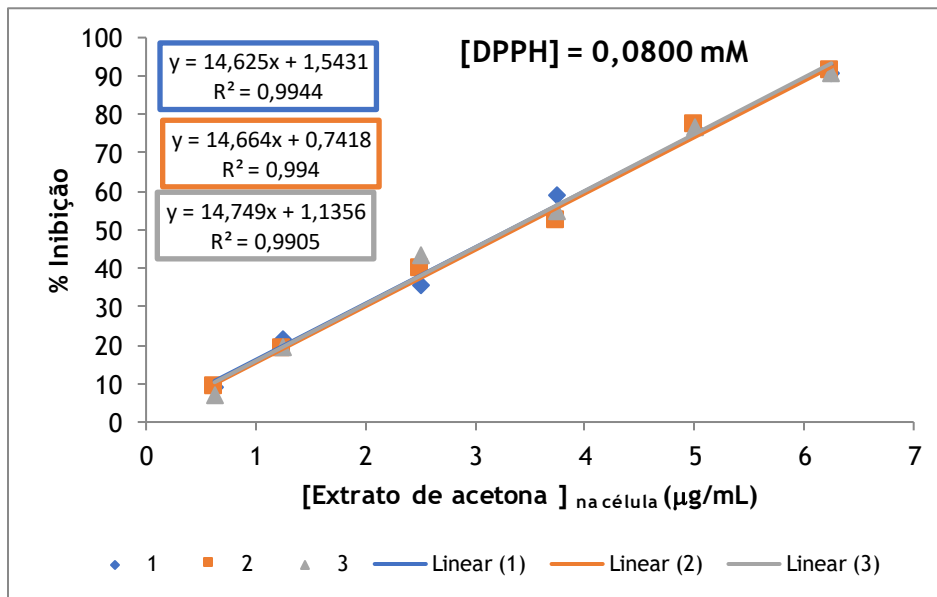


Figura 45. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de acetona das folhas de Db ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,0800mM.

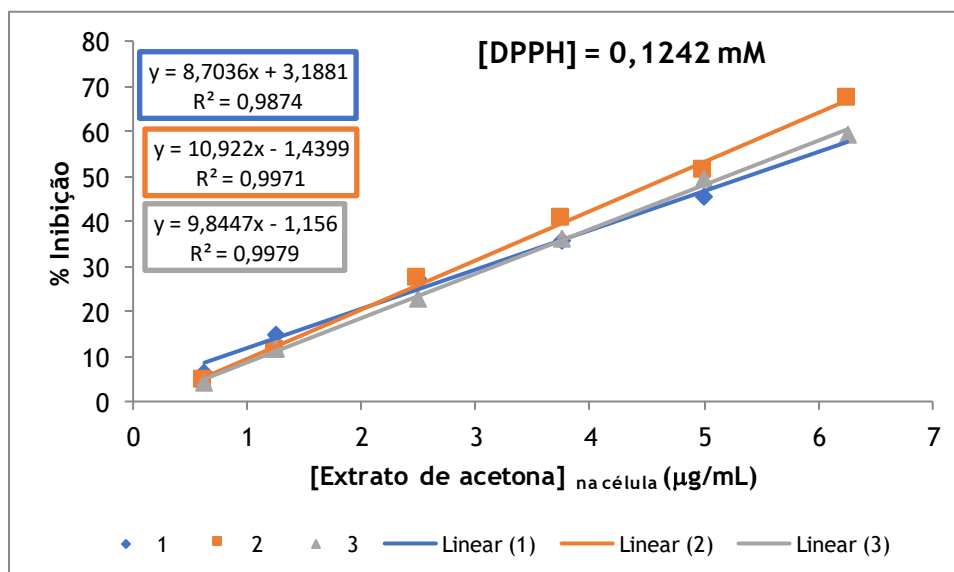


Figura 46. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de acetona das folhas de Vd ($\mu\text{g/ml}$), para a [DPPH] 0,1242mM.

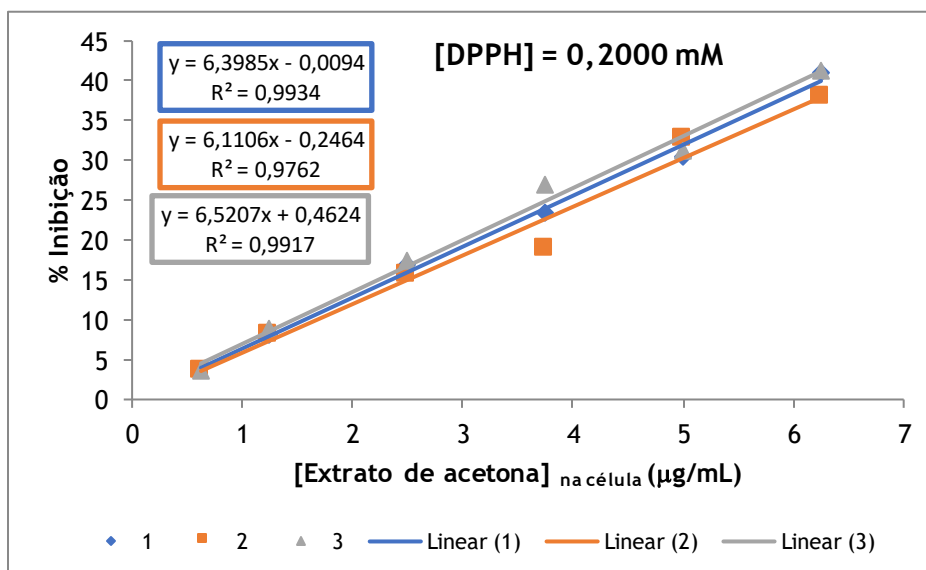


Figura 47. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de acetona das folhas de Vd (µg/ml), para a [DPPH] 0,2000mM.

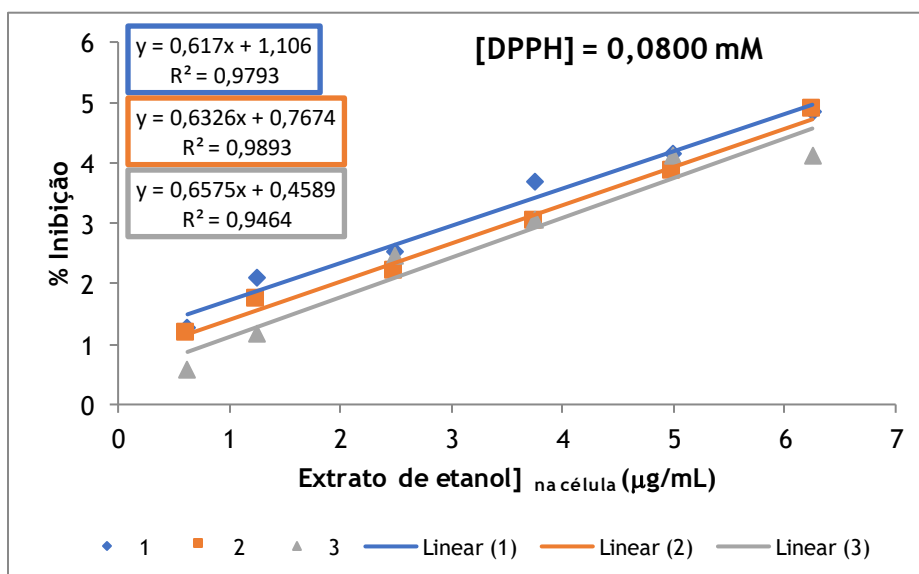


Figura 48. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de Acetona das folhas de Al (µg/ml), para a [DPPH] 0,0800mM.

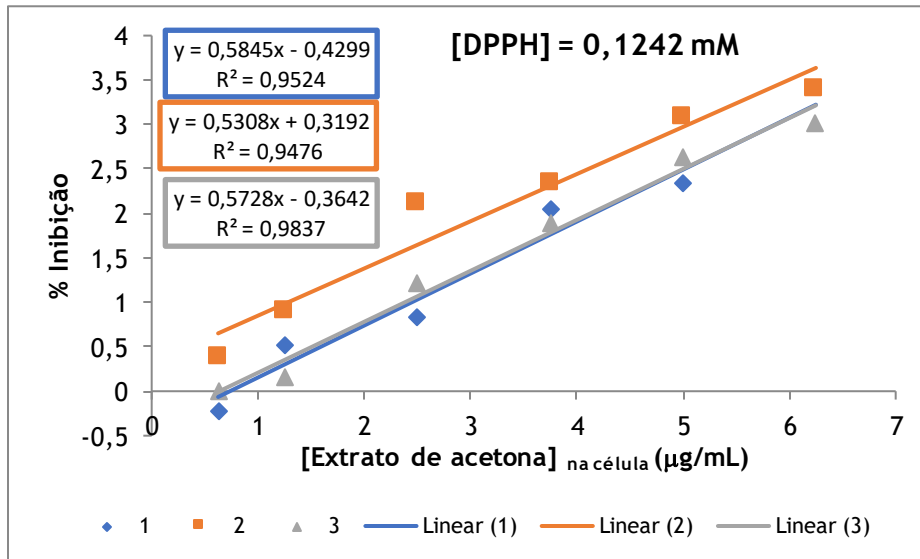


Figura 49. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de Acetona das folhas de Al (µg/ml), para a [DPPH] 0,1242 mM.

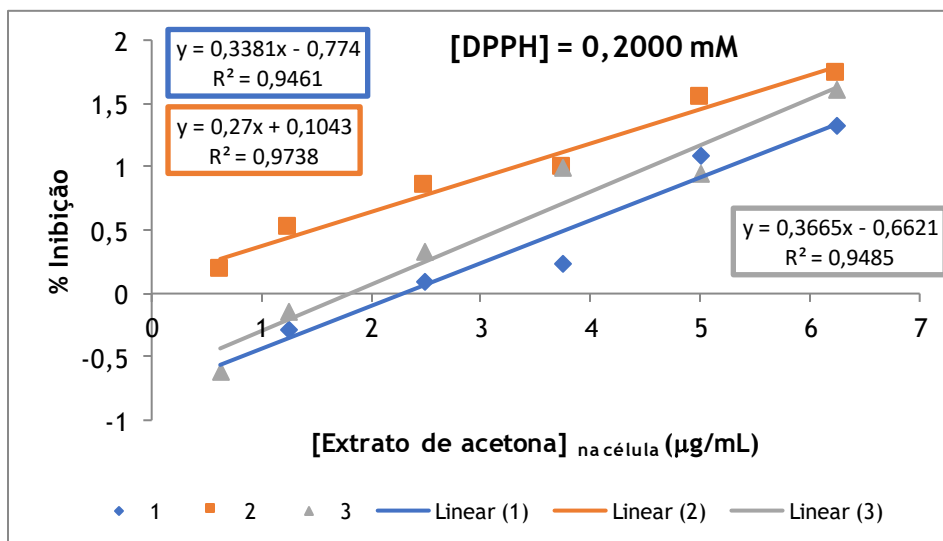


Figura 50. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de acetona das folhas de Al (µg/ml), para a [DPPH] 0,2000mM.

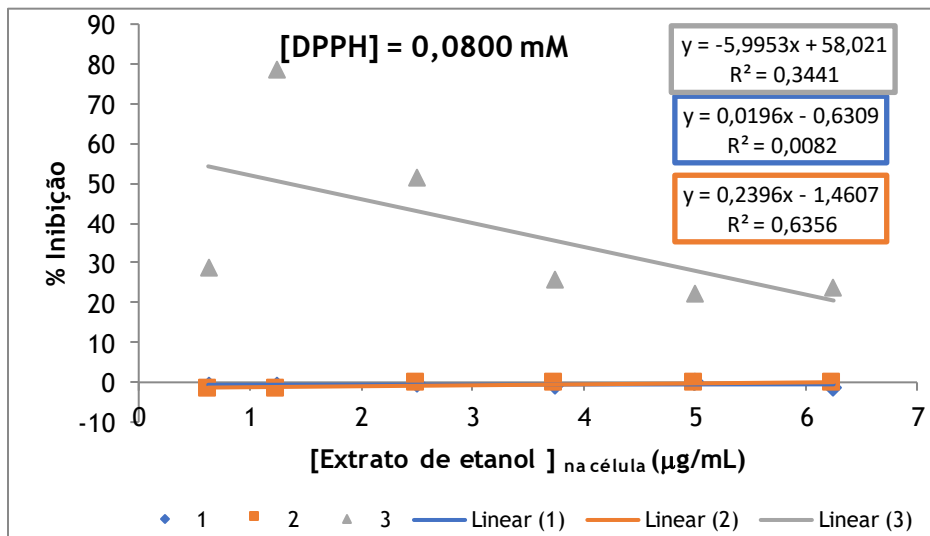


Figura 51. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Al (µg/ml), para a [DPPH] 0,0800mM.

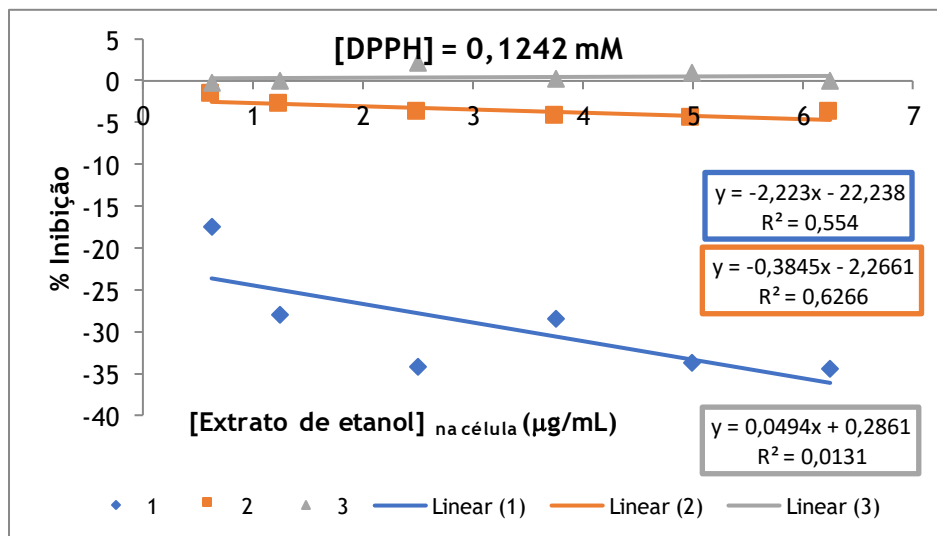


Figura 52. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Al (µg/ml), para a [DPPH] 0,1242mM.

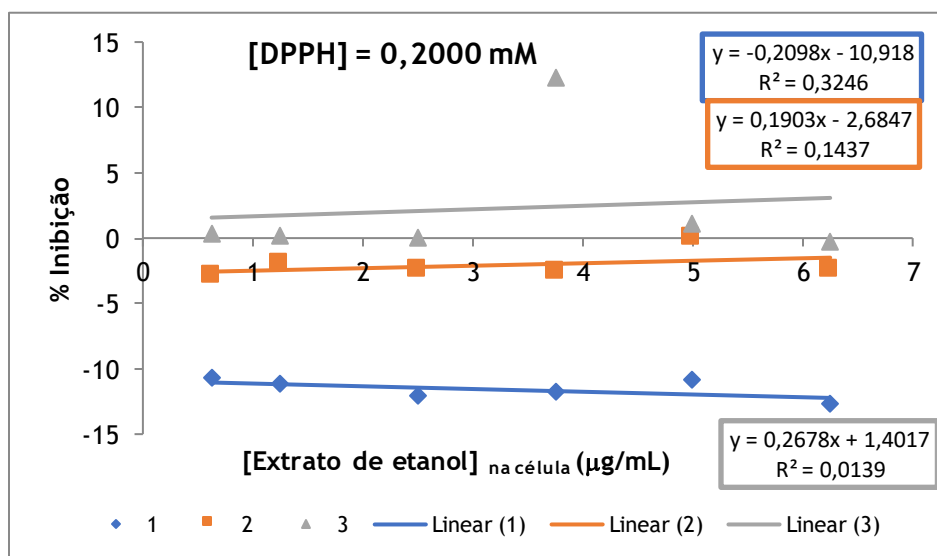


Figura 53. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das folhas de Al (µg/mL), para a [DPPH] 0,2000mM.

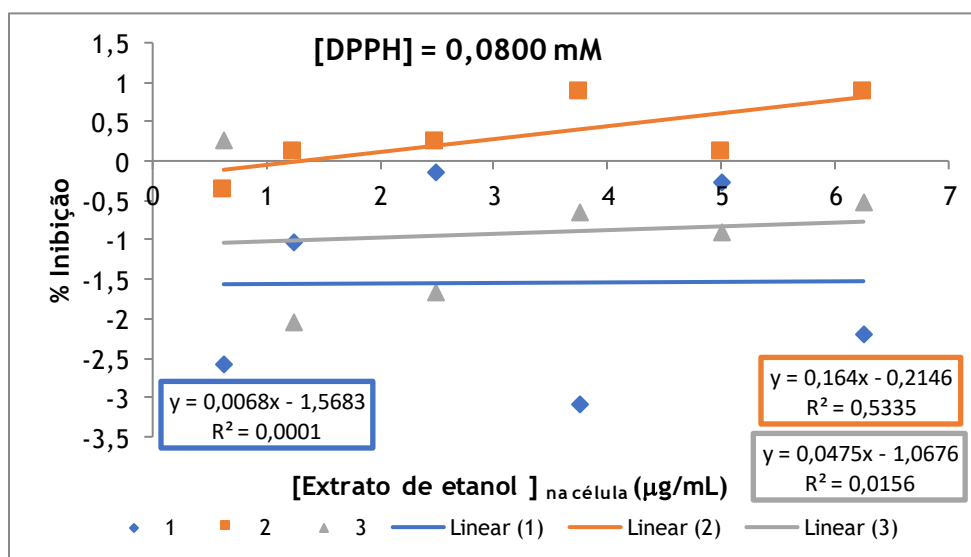


Figura 54. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de Sgl (µg/mL), para a [DPPH] 0,0800mM.

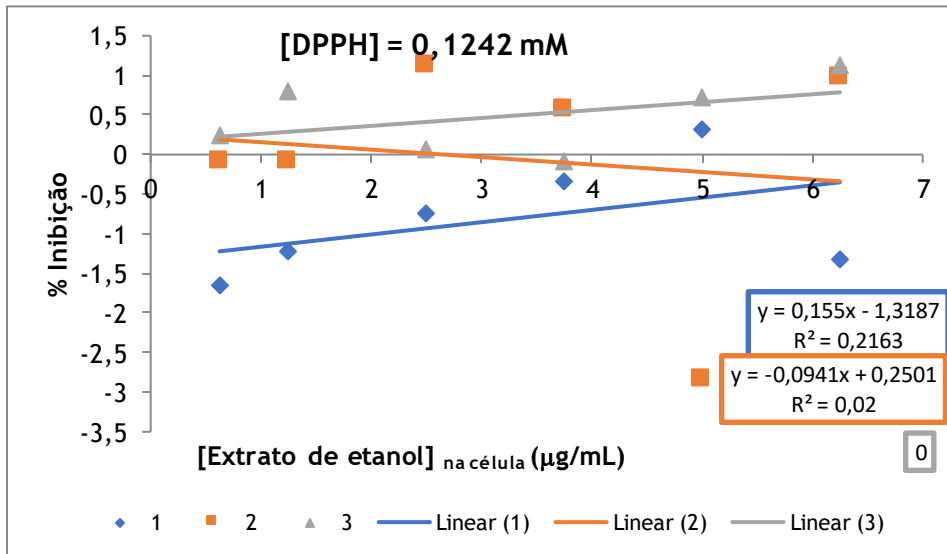


Figura 55. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de Sgl (µg/ml), para a [DPPH] 0,1242mM.

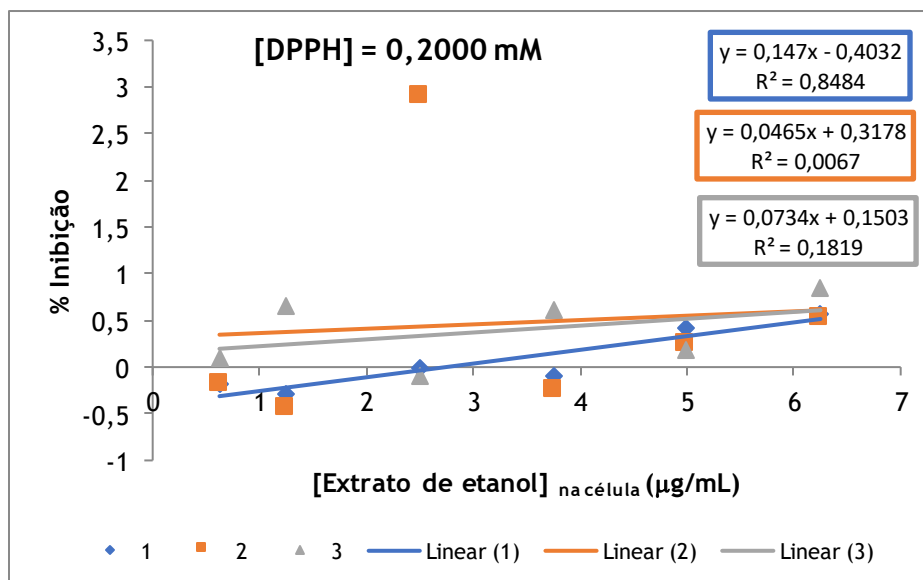


Figura 56. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de Sgl (µg/ml), para a [DPPH] 0,2000mM.

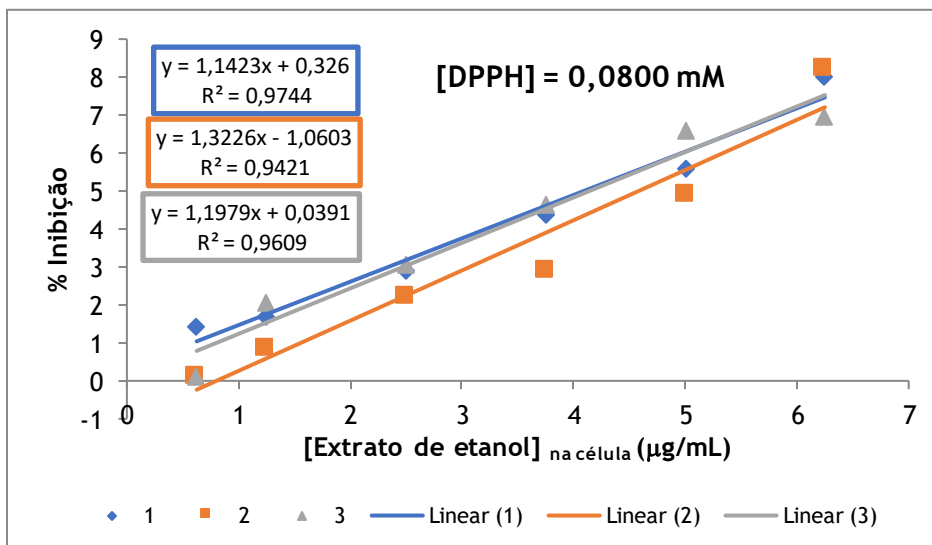


Figura 57. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de SI (µg/ml), para a [DPPH] 0,0800mM.

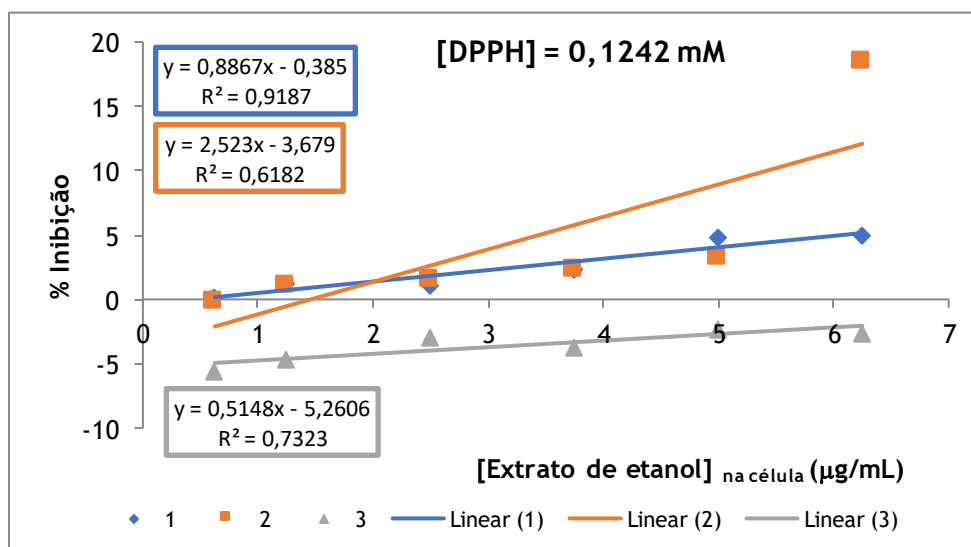


Figura 58. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de SI (µg/ml), para a [DPPH] 0,1242mM.

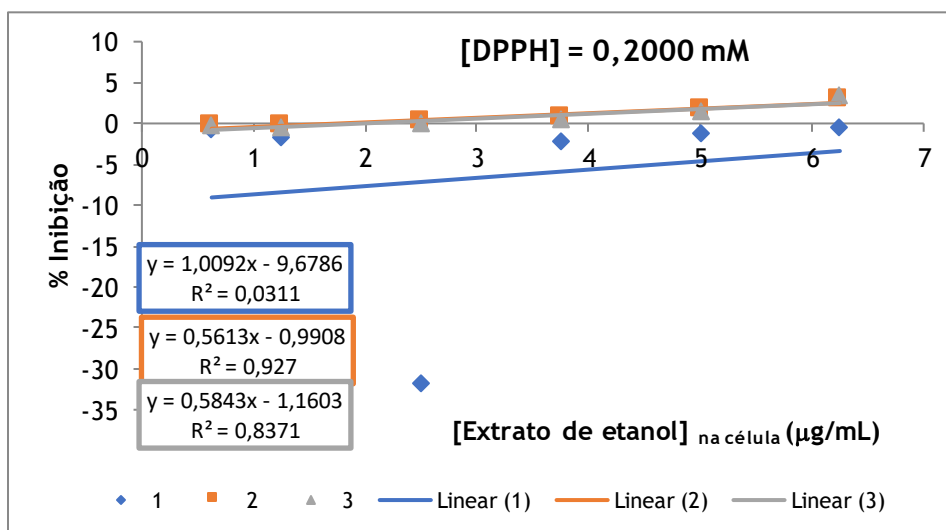


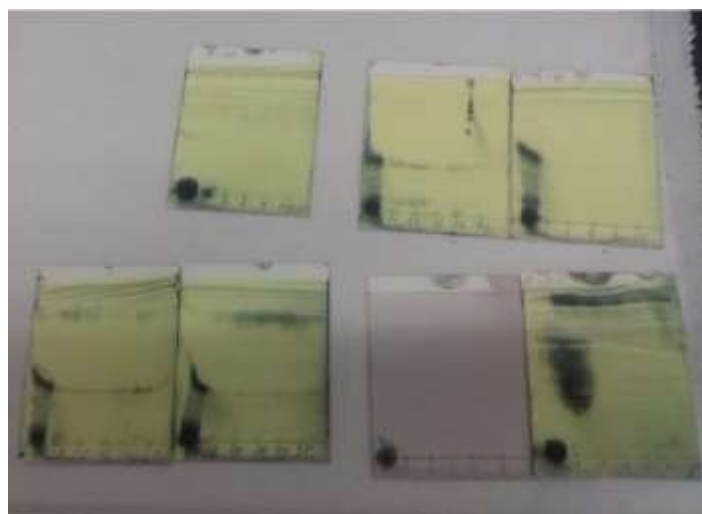
Figura 59. Gráfico com avaliação da % inibição vs Extrato de etanol das raízes de SI (µg/ml), para a [DPPH] 0,2000mM.

Anexo nº 6: Cromatografia em coluna (CC), e cromatografia em camada fina (CCF)



Cromatografia em coluna e a Bomba de pressão

Cromatografias em camada fina (CCF)



Anexo 7: Coluna nº I, frações obtidas por CC do extrato de n-hexano das cascas de Vd. Massa do extrato: 6.8g; Massa cromatografada 3g. Eluentes: n-hexano e Acetato de etilo.

Nº	Eluente em %	Fração	Massa de produto/g	Massa/ produto mg
1	95/5	1---15	0,017	1,17
2	95/5	16---25	0,075	7,5
3	95/5	26---35	0,005	5,0
4	95/5	36	0,012	1,2
5	Hexano	37	0,014	1,4
6	Vs	38---40	0,328	32,8
7	Acetato de etilo	41---50	0,013	1,3
8		51---65	0,139	13,9
9		66---71	0,027	2,7
10		72---82	0,373	37,3
11		83---90	0,331	33,1
12		91---95	0,077	7,7
13		96---103	0,071	7,1
14		104---113	0,129	12,9
15		114---123	0,104	10,4
16		124---143	0,468	46,8
17	Acet. Etl.	100	0,428	42,8
18		95/5	0,045	4,5
19	Acetato de etilo	174---178	0,054	5,4
20		179---183	0,019	1,9
21	vs	184---193	0,004	5,0
22	Metanol	194---199	0,018	1,8
23		200---207	0,047	4,7
Total da massa recolhida			2,798	279,9

Nota: A polaridade inicial foi 95% de n-Hexano e 5% de Acetato de etilo e depois a eluição foi invertida, para o acetato de etilo vs metanol mudando solvente durante a eluição nº1.

Coluna nº IIª. Frações obtidas por CC do extrato de Acetona da casca de Vd, parte solúvel em Clorofórmio. Massa do extrato: 4.107g; Massa cromatografada 3g.

Nº	Eluente em %	Fração	Massa de produto /g	Massa de produto /mg
1	Clorofórmio 100%	3	0,029	2,9
2	100%	4---5	0,008	8,0
3	100%	6--12	0,24	2,4
4	95/5	13--21	0,007	7,0
5	Clorofórmio	22--23	0,002	2,0
6	vs	24	0,233	23,3
7	Metanol	25--26	0,014	1,4
8	95/5	27--35	0,035	3,5
9	90/10	36--39	0,011	1,1
10	90/10	40---46	0,038	3,8

11		80/20	47---51	0,035	3,5
12		80/20	52--60	0,116	11,6
13		70/30	61--70	0,123	12,3
14		70/30	71--82	0,271	27,1
15		60/40	83--87	0,384	38,4
16		60/40	88--95	0,172	17,2
17	Cloro./Met.	50/50	96--107	0,151	15,1
18	Metanol	100%	101--109	0,021	2,1
19		100%	110---118	0,168	16,8
20		100%	119---123	0,694	69,4
21		100%	124--130	0,036	3,6
22		100%	131--135	0,027	2,7
23		100%	136--140	0,009	9,0
Total da massa recolhida				2,824	282,4

Coluna nº III^a; Cromatografia do extrato de Acetona da casca de ximénia americana. Parte restante do extrato de Acetona, a não solúvel em Clorofórmio. Massa geral do extrato: 4.107g; Massa de partida a coluna 3g.

Coluna nº III^a. Frações obtidas por CC do extrato de acetona da casca de Vd, parte não solúvel em Clorofórmio. Massa do extrato: 200,952g g; Massa cromatografada 3g.

Nº	Eluente em %		Fração (ões) mg.	Massa de produto /g.	Massa de produtos / mg
1	Clorofórmio	95/5	1-5	0,014	1,4
2	Metanol	95/5	6--8	0,007	7,0
3		95/5	9	0,075	7,5
4		95/5	10	0,002	2,0
5	Clorofórmio vs Metanol	95/5	11-12	0,004	4,0
6		90/10	13-15	0,001	1,0
7		90/10	16-23	0,032	3,2
8		80/20	24	0,002	2,0
9		80/20	25-27	0,027	2,7
10		80/20	28	0,008	8,0
11		80/20	29	0,014	1,4
12		80/20	30-31	0,025	2,5
13		80/20	32-33	0,011	1,1
14		80/20	34-38	0,024	2,4
15		80/20	39-40	0,006	6,0
16		70/30	41-42	0,034	3,4

17	Cloro. /Met.	70/30	43-45	0,054	5,4
18		70/30	46-49	0,083	8,3
19	Metanol	70/30	50-52	0,054	5,4
20		70/30	53-55	0,175	17,5
21		60/40	56-62	0,069	6,9
22		60/40	63-67	0,138	13,8
23		60/40	68-71	0,065	6,5
24		60/40	72-74	0,023	2,3
25		50/50	75	0,011	1,1
26		50/50	76-77	0,105	10,5
27		50/50	78-79	0,042	4,2
28		50/50	80-84	0,096	9,6
29		50/50	85	0,031	3,1
30		40/60	86	0,022	2,2
31			87/90	0,215	21,5
32			91-94	0,116	11,5
33		30/70	95-98	0,084	8,5
34			99/104	0,027	2,7
35		30/70	105/106	0,019	1,9
36		20/80	107-111	0,05	5,0
37			112-113	0,019	1,9
38			113-114	0,07	7,0
39			115-117	0,011	1,1
40			118-119	0,116	11,
41			20-23	0,052	5,2
Total da massa recolhida				2,824	282,4

Anexo nº8: Espectroscópios de IV e RMN de ^1H , ^{13}C e MS

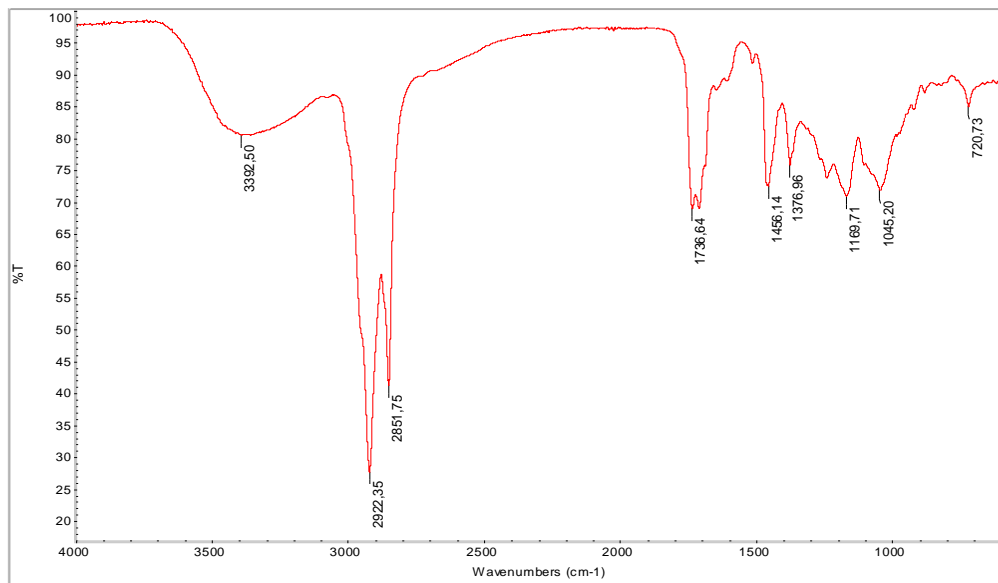
IV



GC-MS



Espectroscópios de IV

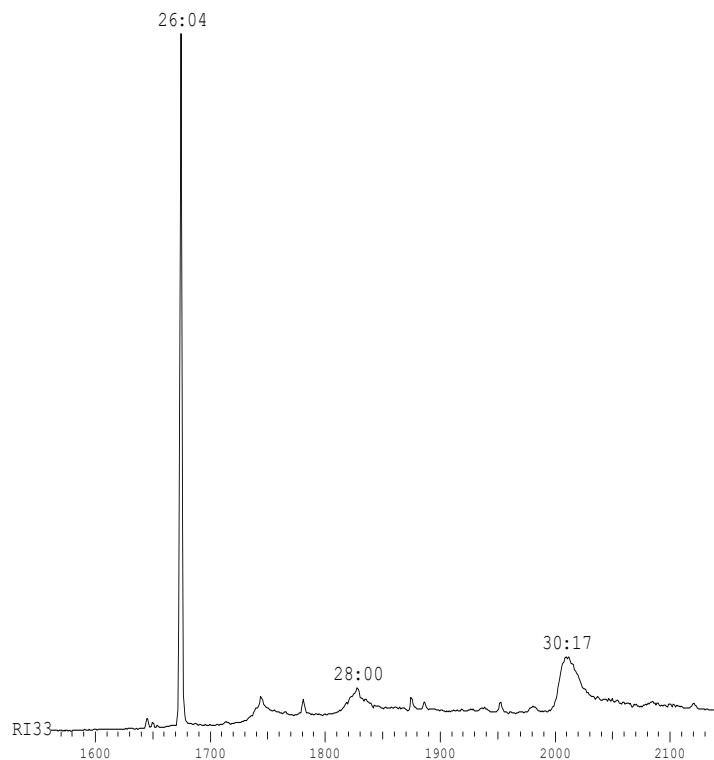


Espectro da parte solúvel em hexano do extrato de Acetona da casca de *Vitex doniana*.

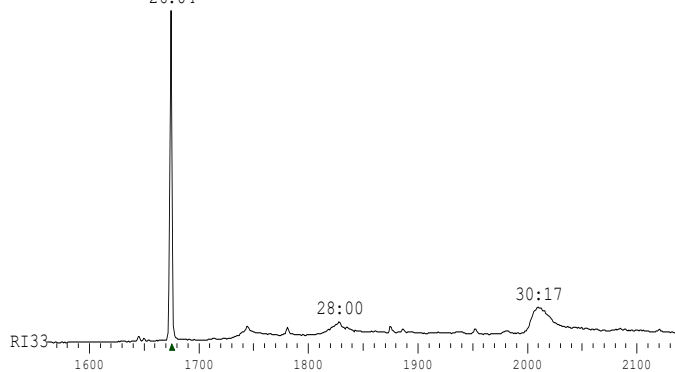
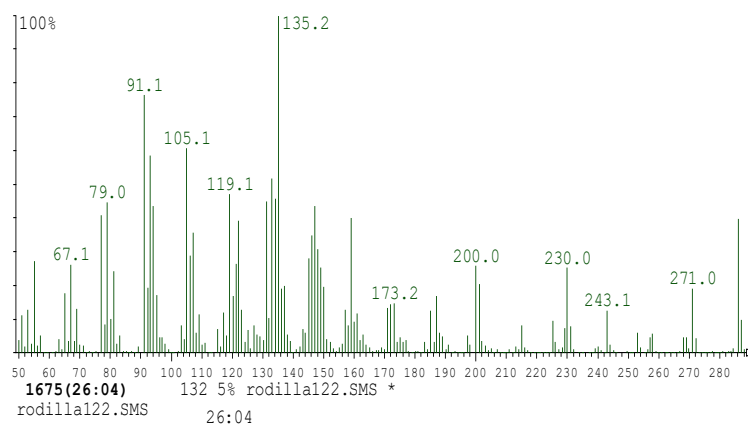
Grupos funcionais pois o espectro de IR apresenta as bandas a $3392,50\text{ cm}^{-1}$ correspondente a um álcool, as bandas a $2922,35$ e $2851,75\text{ cm}^{-1}$ ambos correspondem ao carbono Sp^3 , na região $1736,64\text{ cm}^{-1}$ correspondem a um éster e representa um carbono de ligação dupla na região $1456,14$ e $1376,96\text{ cm}^{-1}$.

Fração C1 - 36: Cromatograma, pico analisado

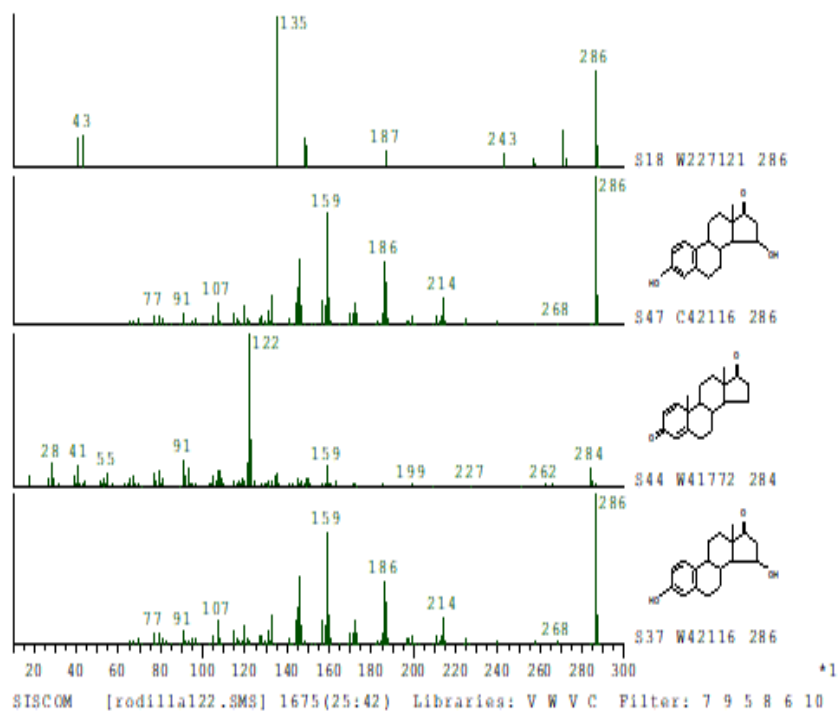
rodilla122.SMS *
MaxEl SumE2
RI 24868 61885



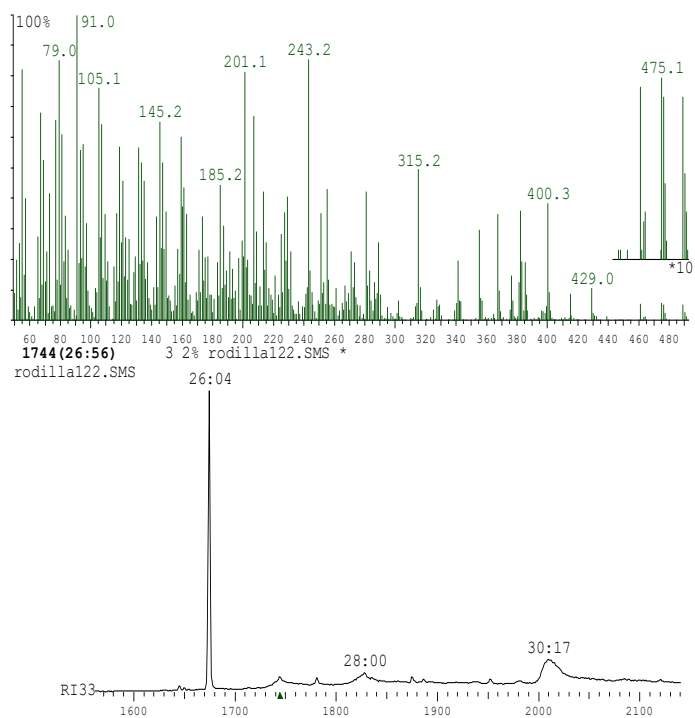
Fração C1-36. Pico nº 1. NS 1675 Tr: 25:16 (26:04); M⁺ 286 Não Identificado



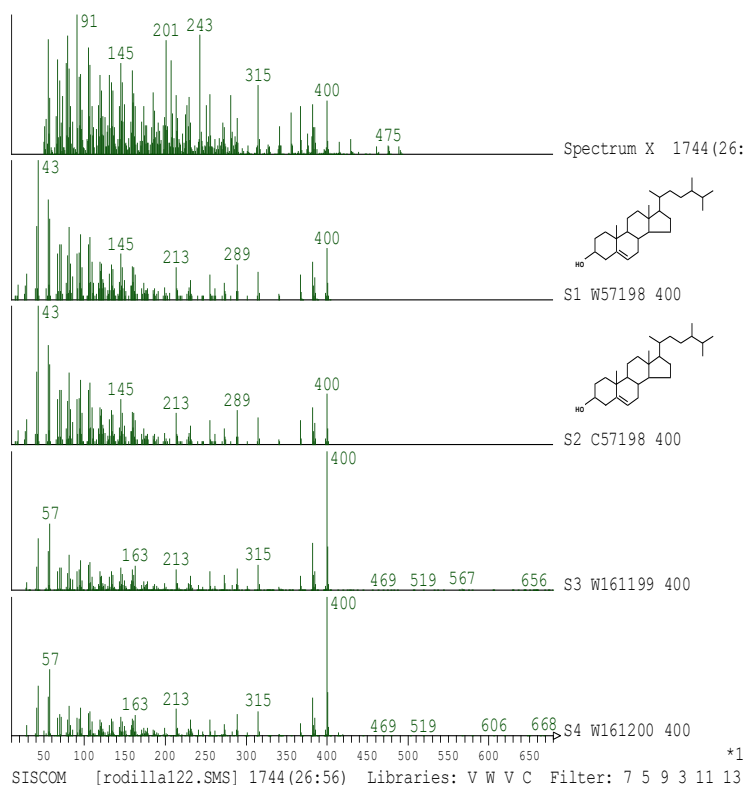
Fração 36- C1. Pico nº 1 Estruturas dos compostos aparentes identificados.



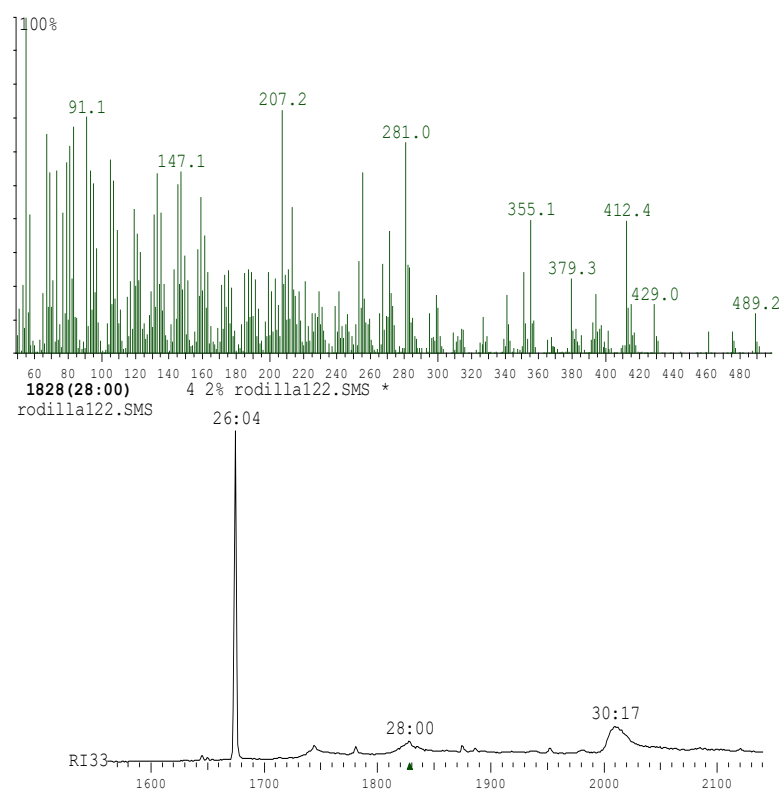
Fração 36- C1. Pico nº 2. NS 1744 Tr: 26:18 (26:56); M⁺ 400; 24β-metilcolesterol



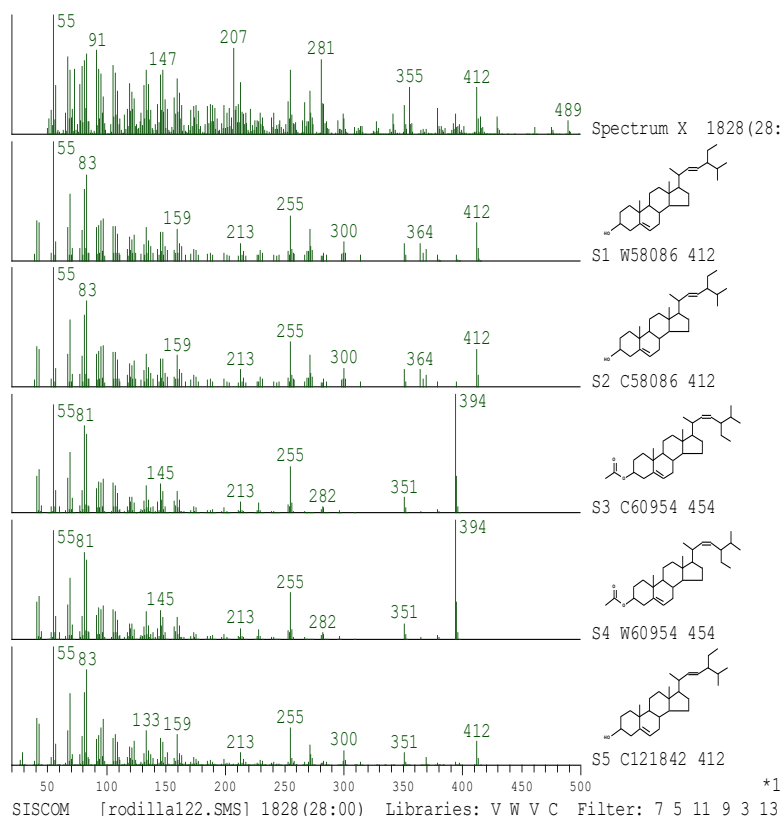
Fração 36- C1. Pico nº 2. Estruturas dos compostos aparentes identificados



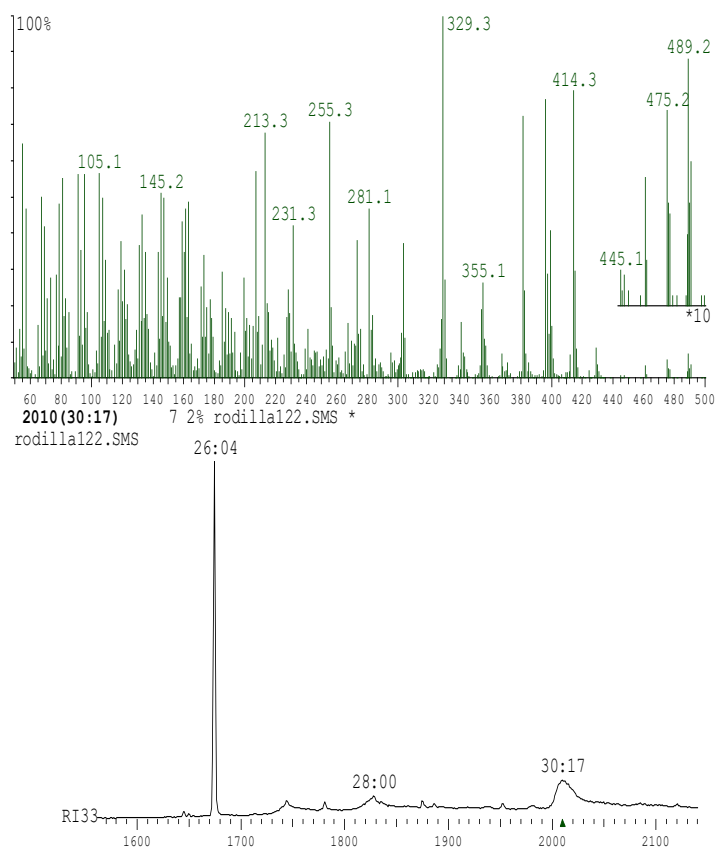
Fração 36-C1. Pico nº 3. NS 1828. Tr: 27:46 (28:00); M⁺ 412; estigmasta-5,22-dien-3β-ol



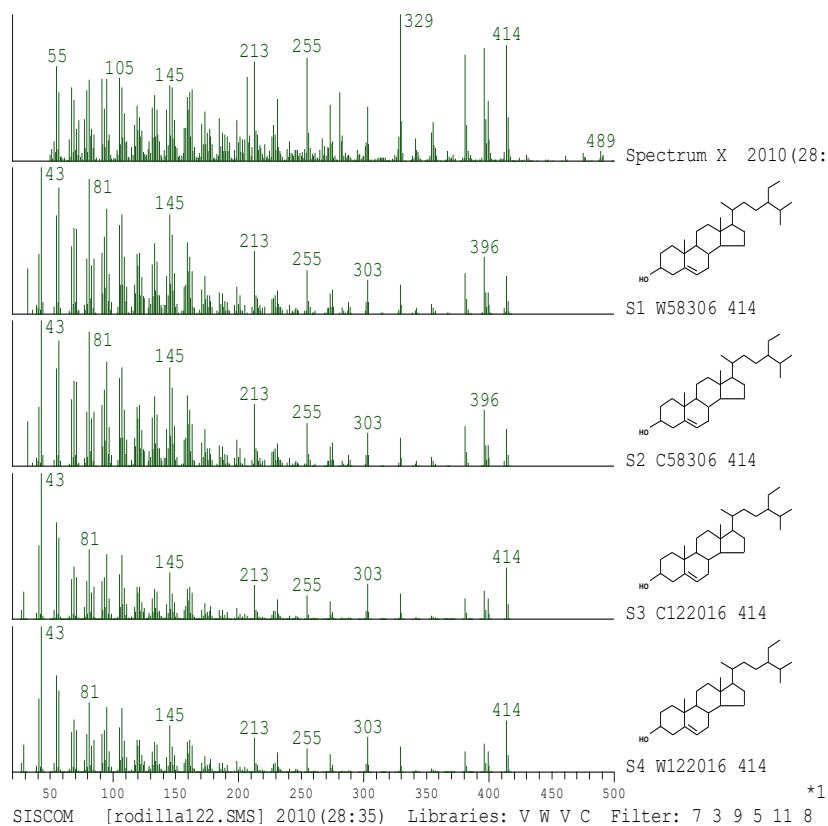
Fração 36- C1. Pico nº 3. Estruturas dos compostos aparentes identificados.



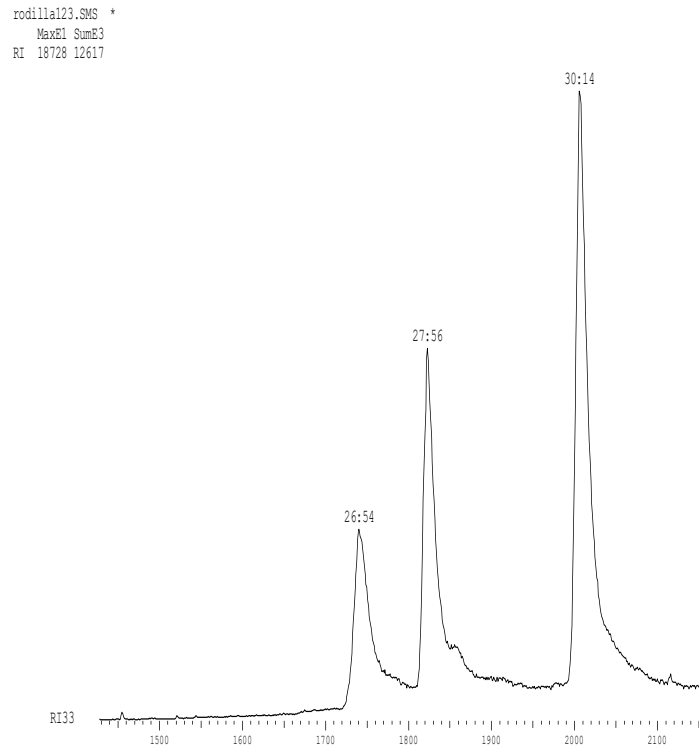
Fração 36- C1. Pico nº 4. NS 2010, Tr: 29:93 (30:17); M⁺ 414; B: sitosterol



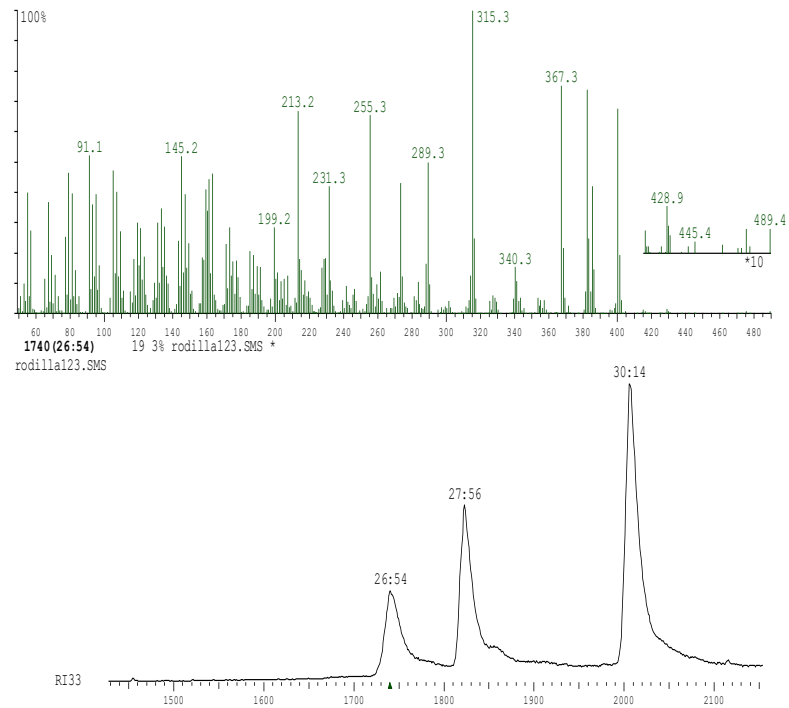
Fração 36- C1. Pico nº 4. Estruturas dos compostos aparentes identificados.



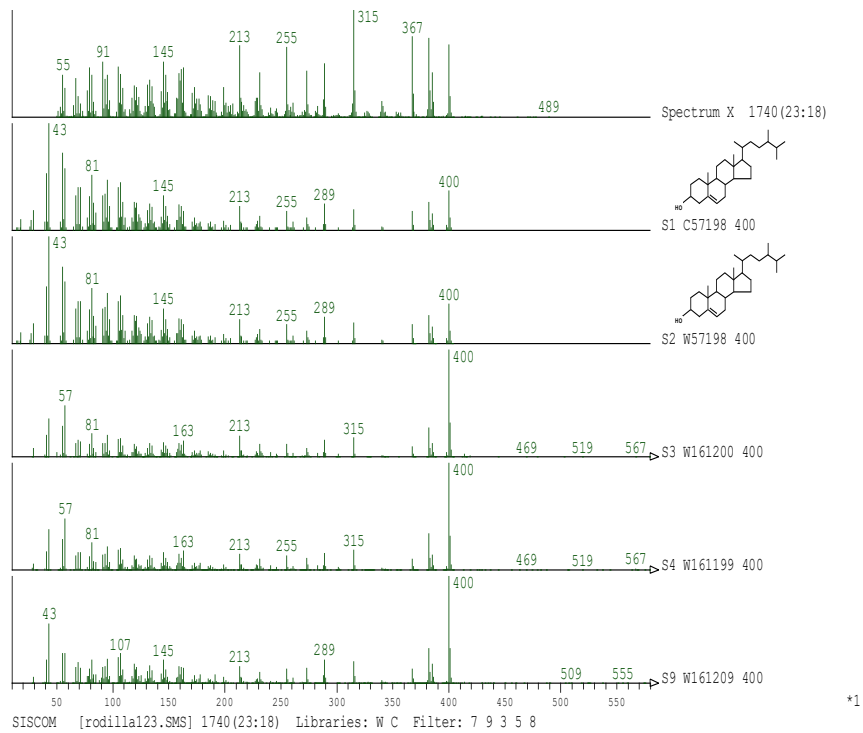
C1, Fração 51/65: Cromatograma pito analisado



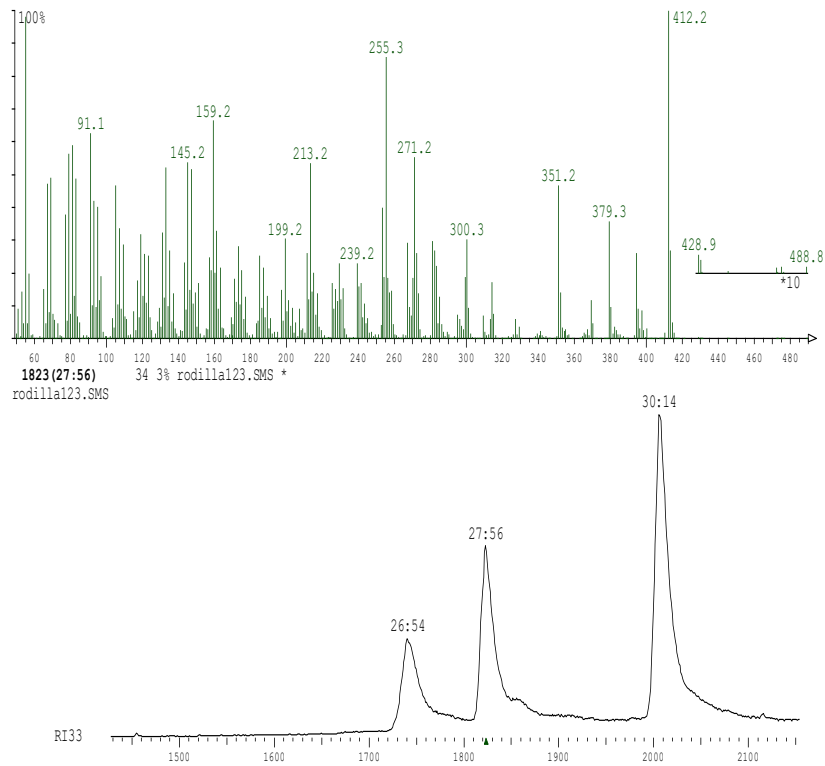
C1, Fração 51/65. Pico nº 1. NS 1740. Tr: 26:12 (26:54); M⁺ 400; 24B-metilcolesterol



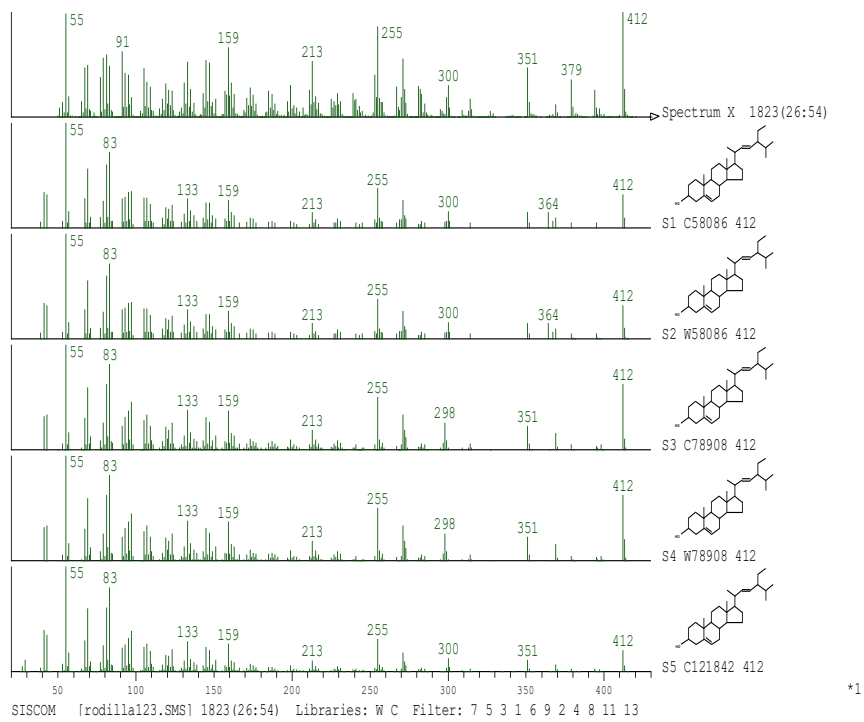
Fração 51/65 Pico nº 1. Estruturas dos compostos aparentes identificados.



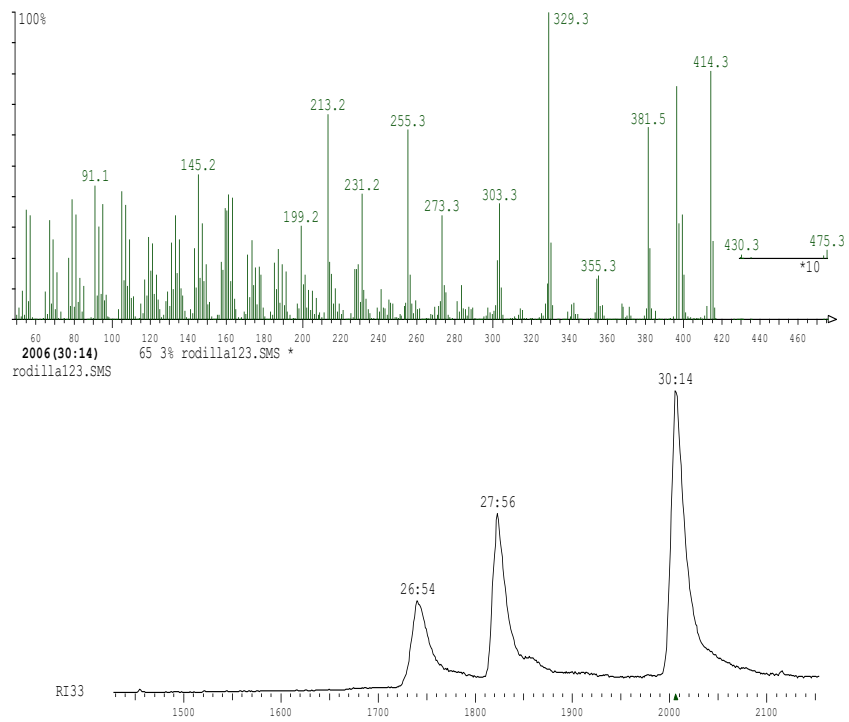
Fração 51/65; Pico nº 2. NS 1823. Tr: 27:29 (27:56); M^+ 412; estigmasta-5,22-dien-3 β -ol



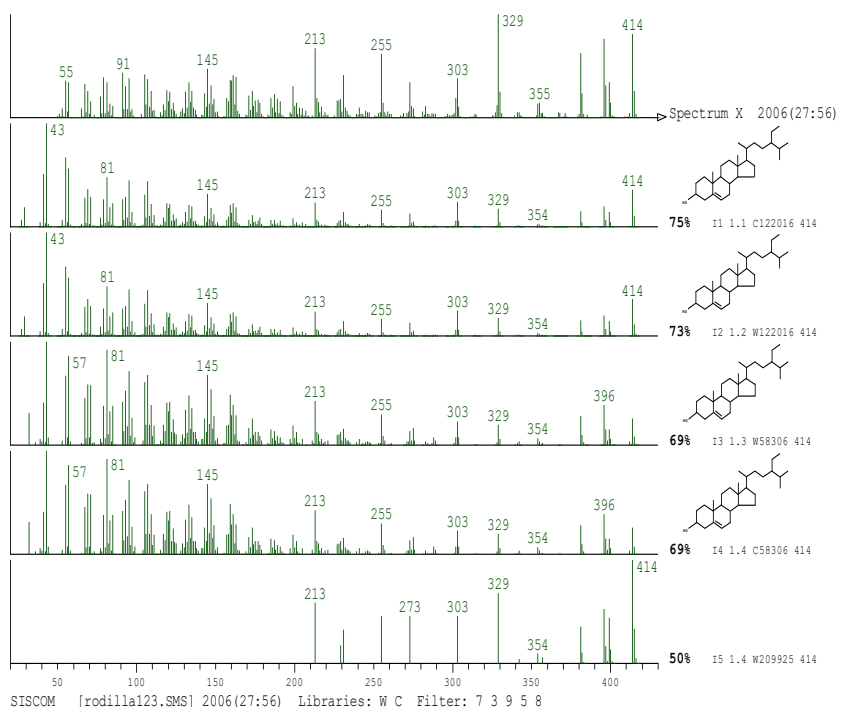
Fração 51/65 Pico nº 2 Estruturas dos compostos aparentes identificados.



Fração 51/65. Pico nº 3. NS 2006, Tr: 29:89 (30:14); M⁺ 414; 248-etilcolesterol

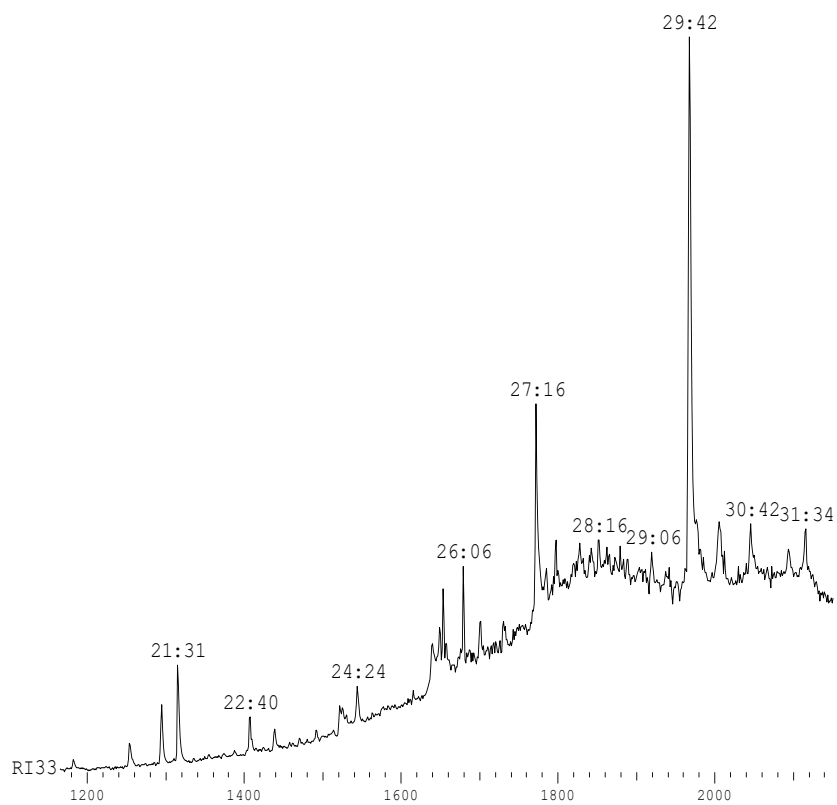


Fração 51/65 Pico nº 3. Estruturas dos compostos aparentes identificados.

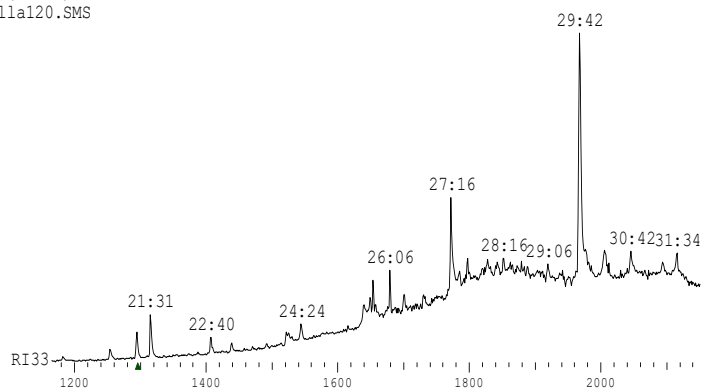
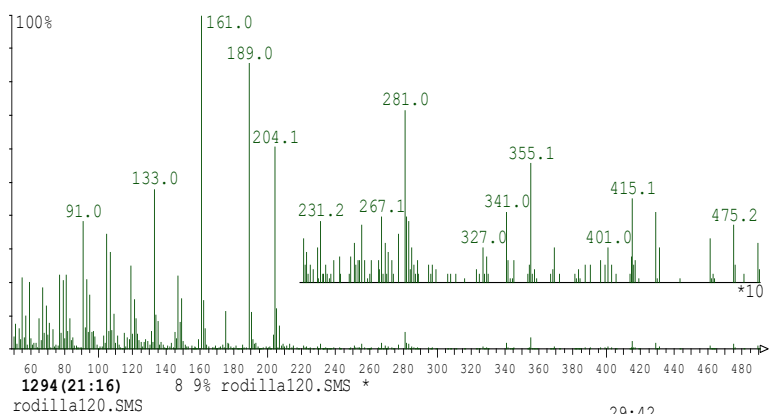


Amostra acetona: C1 Parte Soluvel em hexano Cromatograma analisado

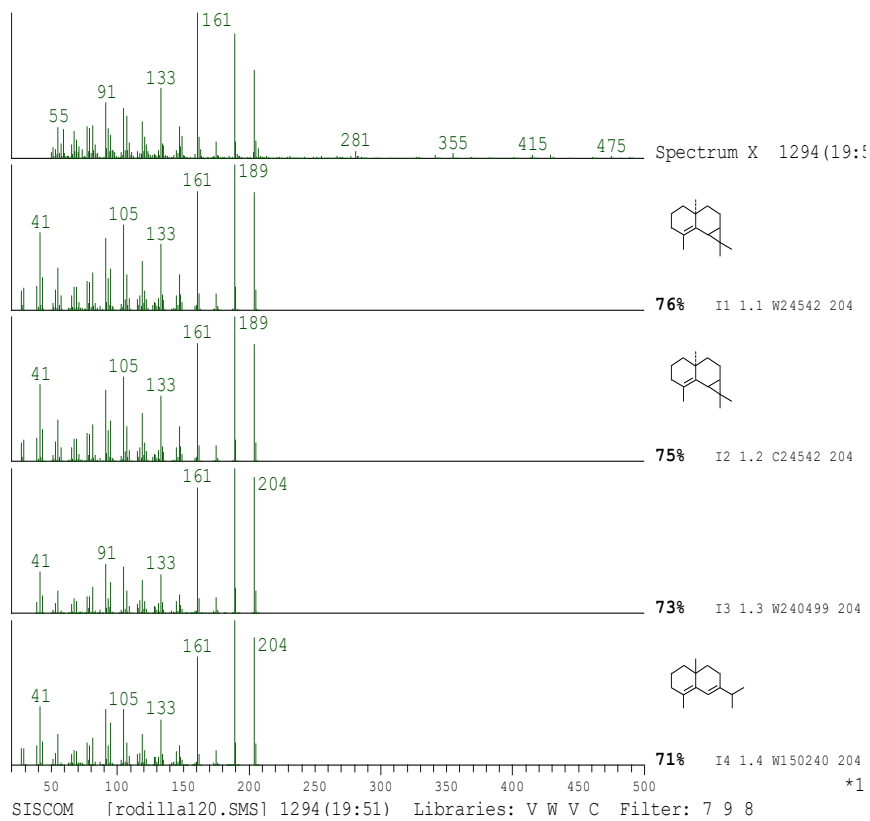
rodilla120.SMS *
 MaxEO SumE3
 RI 72440 12566



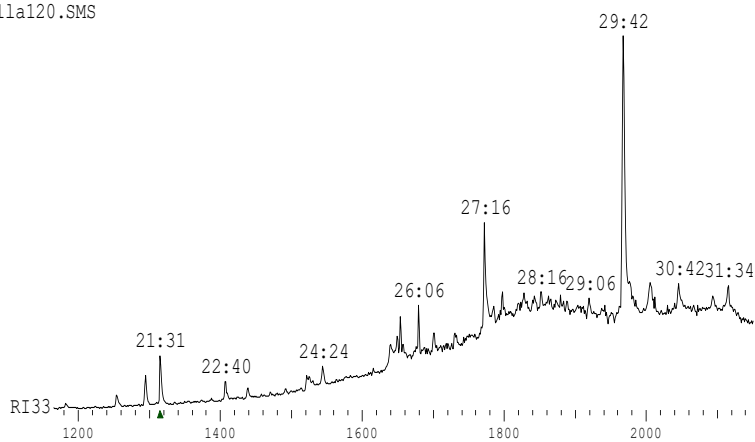
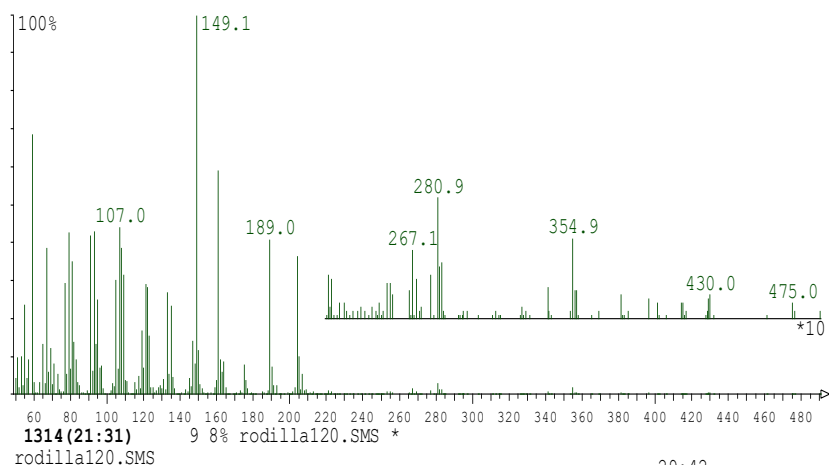
Pico nº 1, NS 1294, Tempo de retenção 19:05 (21:16); M⁺ 204; cadineno



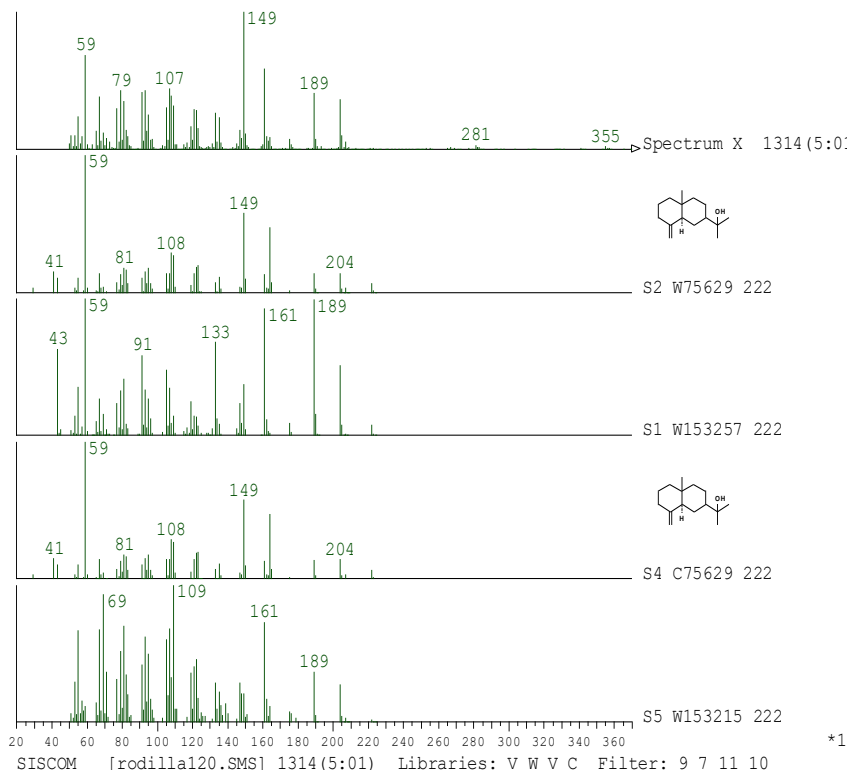
Pico nº 1, NS. Estruturas dos compostos aparentes identificados



Pico nº 2 NS 1314 Tempo de retenção: 19:90 (21:31); M⁺ 204; β-eudesmol

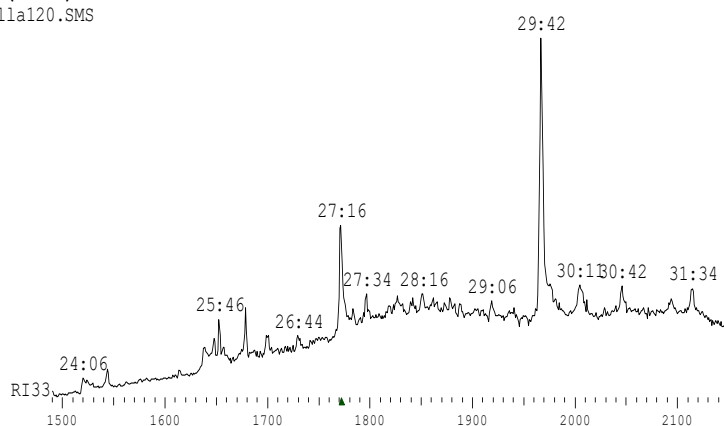
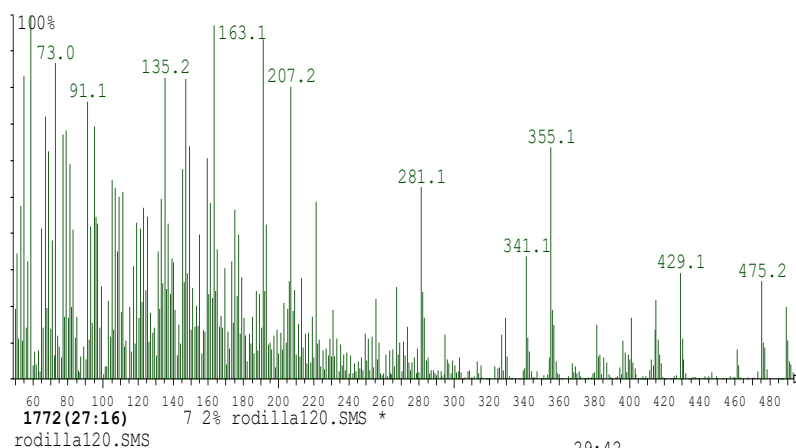


Pico nº 2. Estruturas dos compostos aparentes identificados

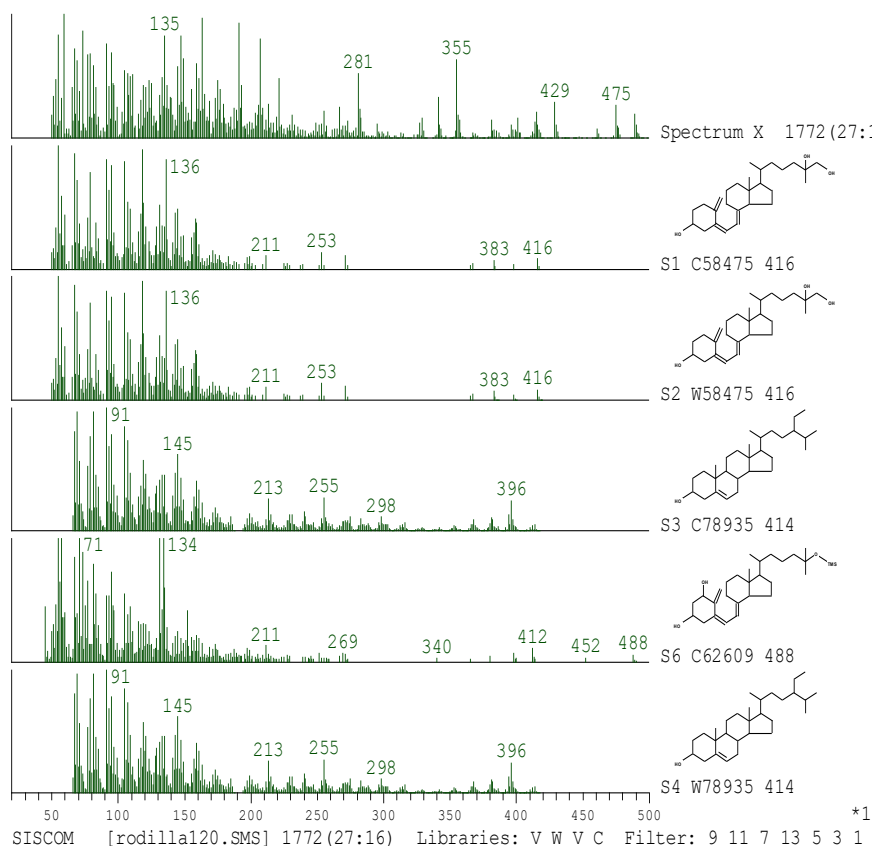


*1

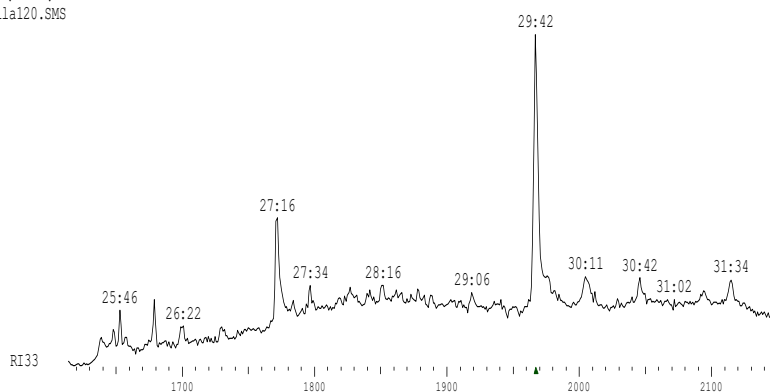
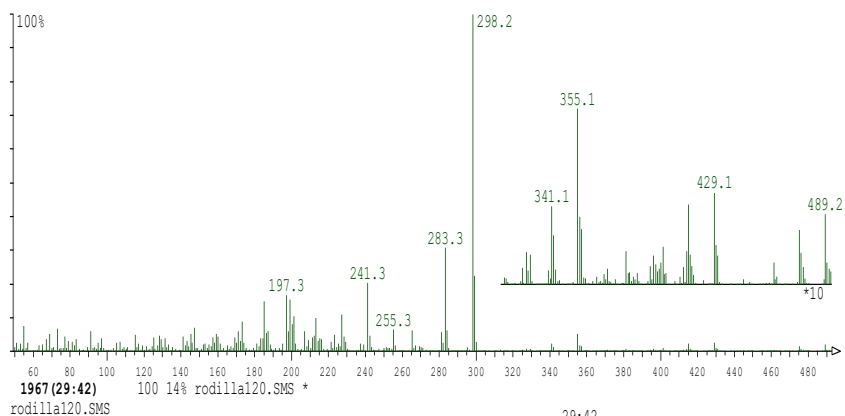
Pico nº 3 NS 1772 Tr: 26:70 (27:16) M⁺ 430, mistura



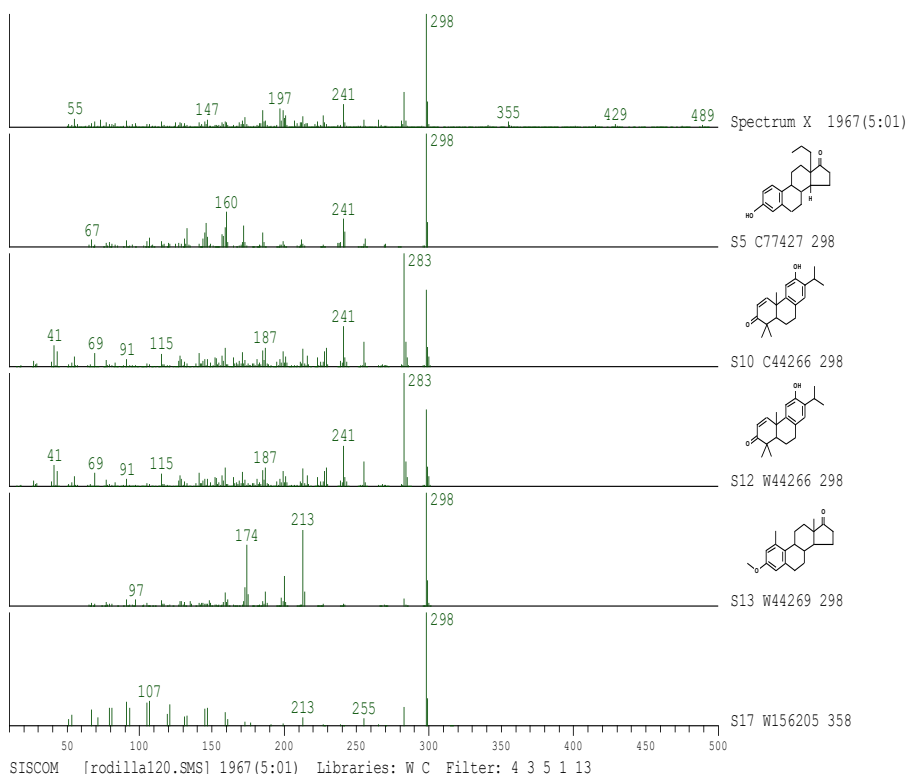
Pico nº 3. Estruturas dos compostos aparentes identificados



Pico nº 4, NS 1967 Tr: 29:31 (29:42); M⁺ 298; Não Identificado



Pico nº 4. Estruturas dos compostos aparentes identificados



*1