



**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**



**CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

**TRABALHO DE LICENCIATURA**

**Tema:**

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE ALGUMAS PLANTAS  
MEDICINAIS USADAS NA PROVÍNCIA DE MAPUTO**



**Autor: VIRGÍLIO, Viriato**

**Maputo, Maio de 2013**



**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**



**CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

**TRABALHO DE LICENCIATURA**

**Tema:**

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE ALGUMAS PLANTAS  
MEDICINAIS USADAS NA PROVÍNCIA DE MAPUTO**



**Autor: VIRGÍLIO, Viriato**

**Supervisora**

**Prof.<sup>a</sup> Doutora Amália Alexandre Uamusse**

**Co-Supervisor**

**dr. Julião Monjane**

**Maputo, Maio de 2013**

*Dedicatória*

Dedico este trabalho aos meus filhos,  
Deogracius e Ricardina e aos meus pais Virgílio  
de Castro Mentor e Maria Teresa Sabão pelo  
amor incondicional , apoio e compreensão  
durante esta caminhada estudantil.

## *Agradecimentos*

Agradeço em primeiro lugar a Deus pelo Dom da Vida, da Sabedoria e da Paciência que em cada segundo da minha caminhada me tem concedido. Pela força que me tem dado para superar e ultrapassar as dificuldades da vida.

Um especial e grandioso agradecimento aos meus supervisores Prof.<sup>a</sup> Doutora Amália Alexandre Uamusse e dr. Julião Monjane pela confiança, paciência e apoio que facultaram para que este trabalho se tornasse uma realidade.

Aos meus pais Virgílio de Castro Mentor e Maria Teresa Sabão pelo amor e companhia incansável deste o primeiro dia da minha vida até este momento. Pela confiança que depositaram em mim e o encorajamento que fez e me faz lutar cada dia que passa para alcançar os objectivos da vida.

Um outro especial agradecimento vai para os meus filhos *Deogracious* e *Ricardina* por serem o maior tesouro que Deus me deu nesta vida e a razão da minha luta!

Agradeço imensamente à minha namorada Elisa José Mantivire pelo amor, apoio e compreensão que tem dado durante estes anos de batalha.

Aos professores: Engenheiro Fernando Alide (Escola Secundária de Pemba), Armindo Lucílio, Floriano Bombeni, Chaibo África, Enrecua Atibo, Anselmo Celestino e Augusto Oreste (Escola Secundária de Chiúre) pelo encorajamento que me deram para que fossem possíveis os meus sonhos, muito obrigado.

Aos meus irmãos, Maria Albertina, Afonso, Inácio (memória), Norberto, Juliana, António, Nelson e Benedito e aos meus tios, Zaina Sabão, José Sabão, Lurdes Sabão e Mário Sabão e a toda a família pelo apoio moral, material e financeiro, vai o meu muito obrigado.

Agradeço imensamente ao meu colega Osório Alfeu Mucanze que me acolheu e me tratou como um irmão durante os 4 anos, algo muito difícil no nosso quotidiano, KIHOSHUKURO!

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

Aos Docentes, Prof. Doutor François Munyemana, Professor Doutor Victor Skripets, Prof. Doutor Carvalho Madivate e Professor Doutor Nilo Casteñedo, pelo apoio moral e pelo conselho que me têm dado para que eu possa crescer na vida académica, admiro-os!

Aos meus amigos dr. Bartolomeu Alexandre, Faruk R. Teruma, Barbosa Vahissa, Amisse Abel, Arsénio do Rosário, Pascoal F. Nhamue, Juma Henriques, Rodriques Angalias, João Torres, Chidumba Hilario, dr. Isac Abdulgani, dr. Hercílio Zimila, dr. Angelino Lourenço e os demais amigos que sempre estiveram ao meu lado e me apoiaram imparcialmente.

À família Siteo (Bairro de Infulene) pelo amor e hospitalidade que me deram durante estes anos de batalha e especialmente a Luísa Siteo.

Aos meus colegas do quarto (Q.120) e companheiros da Faculdade, Germano Jorge, Camilo de Sousa, Edson Nhamcale e Hélder Luís pela companhia e ajuda fraterna que me deram durante todo o curso. Sem esquecer os companheiros da trincheira, a turma de Química de 2009. Obrigado!

À dra Celestina Jeque pela ajuda em financeira e material para que fosse possível a impressão deste trabalho.

Às técnicas do Laboratório de Produtos Naturais, principalmente à dr<sup>a</sup> Amélia Furvela e ao funcionário do registo académico do Departamento, senhor João Macuácuca pelo apoio moral que facultaram durante o curso.

E a todos aqueles que directa ou indirectamente me ajudaram de alguma forma a alcançar essa vitória!

Muito obrigado!

***Declaração de Honra***

Declaro por minha honra que este trabalho foi feito por mim com base no material referenciado  
ao longo do texto

---

**(Viriato Virgílio)**

**“O que fazemos pode parecer uma gota no oceano,  
mas o oceano sem esta gota seria menor”**

**(Madre Tereza de Calcutá)**

**“Há duas formas para viver a vida:**

**Uma é acreditar que no mundo não existe o milagre;**

**A outra é acreditar que todas as coisas no mundo são um milagre”**

**(Albert Einstein, 1879-1955)**

## RESUMO

Desde os tempos remotos que a humanidade utiliza as plantas para diversos fins. Elas são usadas medicinalmente como uma fonte primária no tratamento de certas doenças e infecções. Algumas plantas medicinais possuem metabólitos secundários com propriedades antidiarreicas, anti-inflamatórias, antibacterianas e uma diversidade estrutural química. Produtos naturais derivados de plantas podem ser usados como fármacos, e também como modelos para o desenvolvimento de novos compostos biologicamente activos.

O presente trabalho teve como objectivo principal o estudo fitoquímico das raízes e/ou folhas de plantas medicinais. Foram estudadas algumas plantas medicinais moçambicanas encontradas na Província de Maputo. Usando testes qualitativos foram analisadas fitoquimicamente as seguintes plantas: *Gymnosporia heterophylla*, *Salacia kraussii*, *Brachylaena discolor* e *Terminalia sericea*. Estas espécies são usadas em algumas regiões do país para o tratamento de várias doenças infecciosas, tais como: a Tuberculose, Malária, Diarreias e outras.

Os extractos brutos foram preparados por maceração sequencial usando solventes de polaridade crescente: *n*-Hexano, Diclorometano, Acetato de etilo e a mistura Hidroalcoólica (água e etanol). A análise qualitativa foi realizada com base em ensaios fitoquímicos clássicos e a Cromatografia em Camada Fina para detecção de diversos fitoconstituintes como: Alcalóides, Glicósidos, Esteróides (Fitosteróis), Compostos fenólicos, Flavonóides, Saponinas e Taninos. O rastreio fitoquímico revelou a presença de todos os constituintes químicos acima referidos, com excepção dos glicósidos. Entretanto, com base na Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear foi possível identificar a presença de algumas classes de metabólitos secundários incluindo glicósidos nos extractos brutos das folhas da *B. discolor*. Este estudo mostrou que estas plantas apresentam uma grande variedade de metabólitos secundários com largo espectro de actividades biológicas e farmacológicas necessárias para o combate de muitas doenças infecciosas.

Palavras-chave: *Plantas medicinais; Metabólitos secundários, Estudo fitoquímico, doenças infecciosas*



## **SIGNIFICADO DAS ABREVIATURAS**

$\delta$  – Deslocamento químico

CDCl<sub>3</sub> – Clorofórmio Deuterado

CD<sub>3</sub>OD- Metanol Deuterado

DCM- Diclorometano

DCM-d<sub>2</sub>- Diclorometano Deuterado

EtOAc - Acetato de etilo

HIV- Human Immunodeficiency Virus

HPLC – High Performance Liquid Chromatography

LC-MS- Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

MeOH- Metanol

MISAU- Ministério da Saúde

OMS- Organização Mundial para a Saúde

PARPA- Plano de Acção para a Redução da Pobreza Absoluta

PES- Plano Económico e Social

R.M.N <sup>1</sup>H- Ressonância Magnética Nuclear do protão.

S.N.C- Sistema Nervoso Central

TB- Tuberculose

T.L.C – Thin Layer Chromatography

U.V. - Ultra violeta

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Estruturas de Forscolina, Artemisina e Taxol isolados a partir de <i>C. barbatus</i> , <i>A. annua</i> e <i>T. brevifolia</i> .....	2
<b>Figura 2-</b> <i>Gimnosporia heterophylla</i> .....	7
<b>Figura 3-</b> 1 $\beta$ -acetoxi-9 $\alpha$ -benzoiloxi-2 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dinicotinoiloxi- $\beta$ -dihidroagarofurano .....	8
<b>Figura 4-</b> Ácido maytenfólico- ácido 3 $\alpha$ -hidroxi-2-oxofriedelano-20 $\alpha$ -carboxílico .....	8
<b>Figura 5-</b> <i>Brachylaena discolor</i> .....	9
<b>Figura 6-</b> Compostos isolados de <i>B. discolor</i> e <i>B. ramiflora</i> .....	10
<b>Figura 7-</b> <i>Terminalia sericea</i> .....	10
<b>Figura 8-</b> Estruturas de compostos isolados na espécie <i>T. sericea</i> . .....	12
<b>Figura 9-</b> <i>Salacia kraussii</i> .....	12
<b>Figura 10-</b> Estruturas de compostos isolados em <i>Salacia kraussii</i> .....	13
<b>Figura 11-</b> Estruturas de triterpenos pentacíclicos isolados nas folhas de <i>C. imberbe</i> .....	14
<b>Figura 12-</b> Estruturas de alcalóides isolados da casca de <i>Tabernaemontana angulata</i> .....	15
<b>Figura 13-</b> Estrutura básica de esteróides - ciclopentano-peridro-fenantreno .....	16
<b>Figura 14-</b> Estruturas de cortisol e cortisona .....	16
<b>Figura 15-</b> Exemplos de compostos fenólicos mais simples .....	17
<b>Figura 16-</b> Estruturas básicas de tipos de flavonóides .....	18
<b>Figura 17-</b> Estrutura de flavonóides isolados do género <i>Chromolaena</i> .....	18
<b>Figura 18-</b> Estrutura de solasonina. ....	19
<b>Figura 19-</b> Fluxograma experimental .....	32
<b>Figura 20-</b> Cromatogramas de extractos hidroalcoólicos .....	39
<b>Figura 21-</b> Espectro de RMN-1H do extracto de DCM de <i>B. discolor</i> .....	40
<b>Figura 22-</b> Espectro de RMN- <sup>1</sup> H do extracto de acetato de etilo de <i>B. discolor</i> .....	41
<b>Figura 23-</b> Espectro de RMN- <sup>1</sup> H do extracto hidroalcoólico de <i>B. discolor</i> .....	41
<b>Figura 24-</b> Espectro de RMN-1H do extracto hidroalcoólico pré-purificado das folhas da <i>B. discolor</i> .....	42
<b>Figura 25-</b> Estrutura de esqueleto de terpenos (Triterpeno) .....	46
<b>Figura 26-</b> Estrutura de uma aglicona de um flavonóide. ....	48

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1:</b> Reagentes e solventes.....	31
<b>Tabela 2:</b> Fases móveis e reagentes usados para a análise cromatográfica dos extractos. ....	34
<b>Tabela 3 :</b> Resultados da extração- massas e percentagem .....	35
<b>Tabela 4:</b> Resultados de testes fitoquímicos de extractos de <i>B. discolor</i> (Folhas) .....	36
<b>Tabela 5:</b> Resultados de testes fitoquímicos de extractos de <i>G. heterophylla</i> (Folhas).....	37
<b>Tabela 6:</b> Resultados de testes fitoquímicos de extractos de <i>T. sericea</i> (Folhas).....	37
<b>Tabela 7:</b> Resultados de testes fitoquímicos de extractos de <i>S. kraussii</i> (Folhas) .....	38
<b>Tabela 8:</b> Resultados de testes fitoquímicos de extractos de <i>S. kraussii</i> (Raízes) .....	38
<b>Tabela 9:</b> Factores de retenção dos extractos hidroalcoólicos das plantas (antes da revelação) .	39

**NOMES DE COMPOSTOS ENUMERADOS**

- 1 – Forscolina
- 2 – Artemisinina
- 3- Taxol
- 4 – 1 $\beta$ -acetoxi-9 $\alpha$ -benzoiloxi-2 $\beta$ , 6 $\alpha$ -dinicotinoiloxi- $\beta$ -dihidroagarofurano
- 5- Ácido maytenfólico
- 6 – Onopordocrina
- 7 – Palmitato de Cairatenilo
- 8 -  $\beta$ -sitosterol
- 9 -  $\beta$ -sitosterol-3-acetato
- 10 - Estigmasterol-3-ona
- 11 - Lupeol
- 12 - Termilignano B
- 13 - Ácido arjúnico
- 14 - 28-Nor-isoiquesterina-17-carbaldeido
- 15 - 28-Hidroisoiquesterina
- 16 - 17-Metoxicarbonil-28-nor-isoiquesterina
- 17 - Celastrol
- 18 – Pristimerina
- 19 - Ácido imbérbico
- 20 - 1 $\alpha$ , 3 $\beta$ , 23-trihidroxi-olean-12-en-29-oato-*O*- $\beta$ -*L*-acetilramnopiranosido
- 21 - Voacangina
- 22 - Coronaridina
- 23 - Ciclopentano-peridro-fenantreno

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

- 24** - Cortisol
- 25** - Cortisona
- 26** - Fenol
- 27** - Resorcinol
- 28** - Floroglucinol
- 29** - Cromano
- 30** - Cromona
- 31** - Flavona
- 32**- Isoflavona
- 33** - Quercetina
- 34** - 3-*O*-metil-Quercetina
- 35** - Solasonina
- 36** - Estrutura de esqueleto de terpenos (Triterpeno)
- 37** - Estrutura de uma aglicona de flavonóides

**LISTA DE ANEXOS**

<b>Anexo 1:</b> Cromatogramas de TLC .....	i
<b>Figura 1-</b> Cromatogramas de extracto de <i>n</i> -hexano.....	i
<b>Figura 2-</b> Cromatogramas de extracto de Diclorometano.....	i
<b>Figura 3-</b> Cromatogramas de extracto de acetato de etilo .....	ii
<b>Anexo 2:</b> Deslocamentos químicos aproximados dos protões .....	ii
<b>Figura 4-</b> Deslocamentos químicos aproximados dos protões.....	ii
<b>Anexo 3: Figura 5-</b> Espectro RMN- <sup>1</sup> H de um extracto obtido a partir de tomate transgénico ( <i>Lycopersicon esculentum</i> ). .....	iii
<b>Anexo 4:</b> Preparação das soluções para os testes fitoquímicos.....	iii

## *Índice*

<i>Dedicatória</i> .....	<b>III</b>
<i>Agradecimentos</i> .....	<b>IV</b>
<i>Declaração de Honra</i> .....	<b>VI</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>VIII</b>
<b>SIGNIFICADO DAS ABREVIATURAS</b> .....	<b>IX</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>X</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>XI</b>
<b>NOMES DE COMPOSTOS ENUMERADOS</b> .....	<b>XII</b>
<b>LISTA DE ANEXOS</b> .....	<b>XIV</b>
<b>I. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. JUSTIFICATIVA.....	3
1.2. OBJECTIVOS.....	4
1.2.1. Geral.....	4
1.2.2. Específicos .....	4
1.3. METODOLOGIA .....	5
1.3.1. Pesquisa bibliográfica .....	5
1.3.2. Recolha de dados .....	5
1.3.3. Parte experimental.....	5
<b>II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>6</b>
2.1. PLANTAS MEDICINAIS .....	6
2.2. DESCRIÇÃO DAS PLANTAS EM ESTUDO .....	7
2.2.1. <i>Gymnosporia heterophylla</i> .....	7
2.2.2. <i>Brachylaena discolor</i> .....	9
2.2.3. <i>Terminalia sericea</i> .....	10
2.2.4. <i>Salacia kraussii</i> .....	12
2.3. Metabólitos secundários e suas actividades biológicas.....	13

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

2.3.1.	Terpenóides ou Terpenos .....	13
2.3.1.1.	Actividade biológica .....	14
2.3.2.	Alcalóides .....	14
2.3.2.1.	Actividade biológica .....	15
2.3.3.	Esteróides (Fitosteróis) .....	15
2.3.3.1.	Actividade biológica .....	16
2.3.4.	Compostos fenólicos .....	17
2.3.4.1.	Actividade biológica .....	17
2.3.5.	Flavonóides .....	17
2.3.5.1.	Actividade biológica .....	18
2.3.6.	Saponinas .....	19
2.3.6.1.	Actividade biológica .....	19
2.3.7.	Glicósidos .....	20
2.3.7.1.	Actividade biológica .....	20
2.3.8.	Taninos.....	20
2.3.8.1.	Actividade biológica .....	20
2.4.	DOENÇAS INFECCIOSAS .....	20
2.4.1.	Tuberculose.....	21
2.4.2.	HIV/SIDA .....	21
2.4.3.	Malária.....	21
2.4.4.	Cólera.....	22
2.5.	MÉTODOS DE EXTRACÇÃO DE COMPOSTOS NATURAIS A PARTIR DE PLANTAS .....	22
2.6.	MÉTODOS DE SEPARAÇÃO .....	22
2.6.1.	Cromatografia .....	23
2.6.1.1.	Cromatografia em camada fina .....	23
2.7.	MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO QUALITATIVA DAS CLASSES DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	25
2.7.1.	Métodos Químicos .....	25
2.7.1.1.	Detecção de Alcalóides.....	25
2.7.1.2.	Detecção de Glicósidos.....	26
2.7.1.3.	Detecção de Saponinas.....	26



*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

2.7.1.4.	Detecção de Fitosteróis .....	26
2.7.1.5.	Detecção de Fenóis .....	27
2.7.1.6.	Detecção de Taninos .....	27
2.7.1.7.	Detecção de Flavonóides .....	27
2.7.2.	Métodos espectroscópicos.....	28
2.7.2.1.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear do protão (RMN <sup>1</sup> H) .....	28
<b>III.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>30</b>
3.1.	Colheita de Amostras .....	30
3.2.	Métodos gerais .....	30
3.3.	Reagentes e solventes.....	30
3.4.	Procedimentos .....	31
3.4.1.	Extracção por maceração sequencial .....	31
3.4.2.	Preparação das soluções para os testes fitoquímicos .....	33
3.4.3.	Cromatografia em camada fina .....	33
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
4.1.	EXTRACÇÃO DOS FITOCONSTITUINTES .....	35
4.2.	TESTES FITOQUÍMICOS.....	35
4.3.	RESULTADOS CROMATOGRÁFICOS.....	39
4.4.	ESPECTROS DE RMN- <sup>1</sup> H DE EXTRACTOS DE <i>B. discolor</i> .....	40
<b>V.</b>	<b>DISCUSSÃO E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.....</b>	<b>43</b>
5.1.	OBTENÇÃO DOS EXTRACTOS .....	43
5.2.	TESTES FITOQUÍMICOS .....	43
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>51</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>		<b>52</b>
<b>ANEXOS.....</b>		<b>i</b>

## I. INTRODUÇÃO

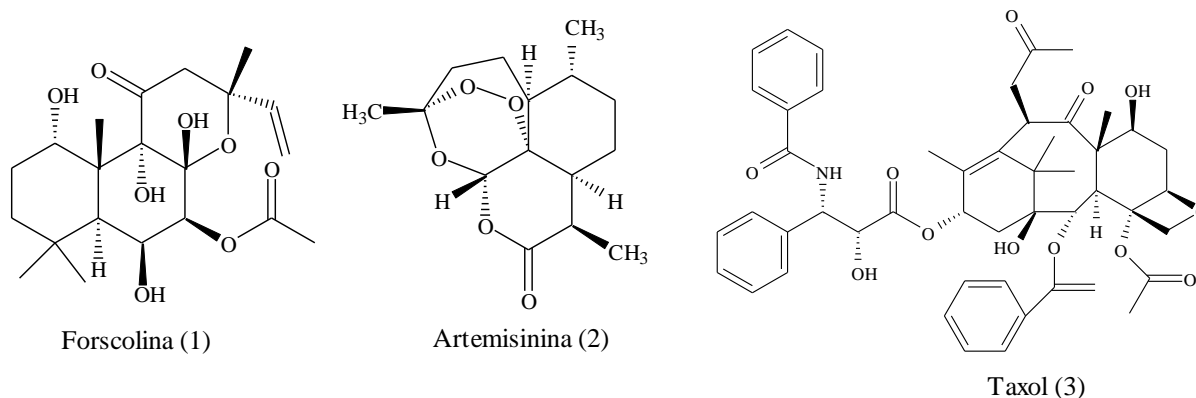
Desde os tempos longínquos que a civilização humana utiliza os vegetais não só como fonte alimentar, mas também medicinal. As mais diversas enfermidades são e têm sido tratadas com a preparação dos extractos a partir de plantas. Esses extractos têm sido preparados na forma de chás, sucos, tinturas, banhos (Almeida, 1993). Esta prática começou principalmente com os antigos povos da China, Egipto e Roma. Esses povos, que com base nos seus conhecimentos, classificaram as várias espécies vegetais de acordo com o seu uso medicinal. Mais tarde, os povos gregos estabeleceram o uso racional das plantas na medicina, seguidos pelos clínicos da Europa Ocidental. O conhecimento do uso medicinal dos recursos naturais pela humanidade, ao longo dos anos, sustentou a sua sobrevivência e tornou-se por parte das populações um objecto de especial cuidado (Ribeiro, 2008, Pinto *et al.*, 2005).

Sendo que as plantas medicinais são usadas pelas populações como uma alternativa para a cura de diversas doenças, elas actualmente têm contribuído como fonte principal na pesquisa de vários compostos bioactivos. Esses compostos proporcionam uma grande possibilidade de se obter uma molécula protótipo devido à sua diversidade na presença de constituintes químicos com uma complexidade estrutural e potência biológica (Yunes e Calixto, 2001, Clardy e Walsh, 2004). Isto torna-os uma fonte importante nas pesquisas para a preparação de medicamentos sintéticos (Clardy e Walsh, 2004).

Nas últimas décadas observou-se um grande interesse no estudo de plantas medicinais devido ao seu potencial uso terapêutico. Tal facto é comprovado pela evidência de que hoje, cerca de 25% dos medicamentos usados na medicina moderna são derivados de plantas (Cragg e Newman, 2005).

Dentre muitos compostos, pode-se citar alguns exemplos de produtos naturais derivados de plantas e que são usados na medicina moderna. Estes exemplos são: a *forscolina*, obtida de *Coleus barbatus*, que apresenta efeitos contra hipertensão, glaucoma, asma e certos tumores (De Sousa, 1993), a *artemisinina*, presente em *Artemisia annua*, possui uma potente actividade antimalárica (Qinghaosu, 1979) e o diterpeno anticancerígeno *taxol*, isolado da planta *Taxus*

*brevifolia* (Wani *et al.*, 1971). A figura 1 apresenta as estruturas químicas de alguns compostos usados na medicina derivados de plantas.



**Figura 1**-Estruturas de Forscolina, Artemisina e Taxol isolados a partir de *C. barbatus*, *A. annua* e *T. brevifolia*.

A África tropical e subtropical possuem entre 40.000 a 45.000 espécies de plantas com um potencial para o seu desenvolvimento e das quais apenas 5.000 espécies são usadas medicinalmente (Van Wyk, 2008). Como a maioria dos países africanos situados nas regiões tropicais e subtropicais, Moçambique tem uma rica diversidade em plantas medicinais. Das cerca de 5.500 espécies de plantas (Bandeira *et al.*, 2001), apenas 15% do total são usados para fins medicinais e desempenham um papel fundamental nos cuidados básicos de saúde (Krog *et al.*, 2006). Actualmente, existem algumas pesquisas relacionadas com a avaliação da actividade farmacológica e fitoquímica de algumas plantas, como são os casos de Luo *et al.*, (2013) e Mujovo *et al.*, (2008) que já isolaram alguns compostos bioactivos a partir de plantas moçambicanas. Entretanto, muitas referências apenas focalizam os aspectos etnobotânicos, como são os casos de Verzar e Petri (1987), Jansen e Mendes, (1983), (1990), (1991), Bandeira *et al.*, (2001), Jansen *et al.*, (2001), Ribeiro *et al.*, (2010), Bruschi *et al.*, (2011), só para citar alguns exemplos.

## **1.1. JUSTIFICATIVA**

Em Moçambique, o impacto de doenças infecciosas, como o HIV/Sida, a malária, a tuberculose e as doenças diarreicas, entre as quais, a cólera, é agravado pelos altos índices de desnutrição, como resultado da situação de extrema pobreza em que vive a maioria da população, e pela limitada capacidade de resposta do Serviço Nacional de Saúde (PES, 2011).

Actualmente, as doenças infecciosas constituem uma grande preocupação da sociedade moçambicana, visto que o número de casos diagnosticados e o índice de prevalência no país tem vindo a aumentar, causando problemas de saúde e, em casos mais graves, a morte (WHO, 2004).

Estudos feitos em Moçambique, revelam que o número de casos notificados de HIV/Sida aumentou na ordem de 80% de 2003-2006 (PARPA, 2006); casos de morte por TB cresceu cerca de 56% de 2003-2004 (Queiroz, 2006) e cerca de 30% de mortes registados em 2007, foram causados por malária (MISAU, 2008).

Devido à falta de condições financeiras e à fraca abrangência dos serviços de saúde no país, a população tem recorrido ao tratamento destas doenças por meios tradicionais, tendo como base as plantas medicinais. Todavia, o conhecimento da composição química e, portanto, dos compostos responsáveis por estas actividades tem sido parcial ou totalmente inexplorado.

Assim, a planificação racional de uma investigação sobre as plantas usadas na medicina tradicional bem como da sua fitoquímica pode contribuir significativamente para a manutenção da saúde humana (Filho, 2010), o que pode contribuir na redução dos índices de propagação destas doenças.

Tendo em conta os pontos anteriores e o alegado uso tradicional destas plantas, o estudo fitoquímico de uma planta é de extrema importância, pois pode contribuir significativamente no seu uso para a erradicação das doenças infecciosas na sociedade e pode também servir como meio de introdução de novos fármacos potencialmente activos contra os agentes causadores destas doenças.

## **1.2. OBJECTIVOS**

### **1.2.1. Geral**

- ➔ Estudar a composição fitoquímica das seguintes plantas medicinais: *G. heterophylla*, *S. kraussii*, *B. discolor* e *T. sericea*.

### **1.2.2. Específicos**

- ➔ Extrair os fitoconstituintes das quatro plantas pelo método de maceração sequencial por ordem crescente de polaridade dos solventes;
- ➔ Analisar qualitativamente as classes dos metabólitos secundários presentes nas quatro espécies de plantas através dos testes fitoquímicos clássicos;
- ➔ Comparar os resultados da composição fitoquímica da planta *B. discolor* obtidos pelos métodos fitoquímicos clássicos e instrumental (Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear);
- ➔ Comparar a fitoquímica das raízes e das folhas de *S. kraussii*.

### **1.3. METODOLOGIA**

#### **1.3.1. Pesquisa bibliográfica**

A pesquisa bibliográfica foi feita tendo como pano de fundo as plantas medicinais, seus usos, descrição botânica e a sua fitoquímica e com mais profundidade as plantas estudadas. Adicionalmente foi feita a recolha de informação no que tange à actividade biológica, métodos e técnicas de extracção, identificação das classes de metabólitos secundários.

#### **1.3.2. Recolha de dados**

A recolha de dados consistiu na selecção de algumas plantas segundo os seus usos medicinais. A selecção foi focalizada em plantas usadas para o tratamento de algumas doenças infecciosas tais como: a tuberculose, malária, diarreias, disenteria e outras. Neste contexto, as plantas foram recolhidas em alguns distritos da Província de Maputo. Com base na revisão bibliográfica feita, foi elaborada uma lista da qual foram seleccionadas as seguintes plantas: *Terminalia sericea* (Moamba), *Gymnosporia heterophylla* (Magude), *Salacia kraussii* (Matutuine) e *Brachylaena discolor* (Moamba). De salientar que estas plantas também abundam em outras regiões do país.

A confirmação botânica das espécies foi feita no IIAM- Instituto de Investigação Agrária de Moçambique.

#### **1.3.3. Parte experimental**

Esta parte consistiu principalmente na extracção e identificação das classes dos metabólitos secundários. A identificação de algumas classes de metabólitos presentes nos extractos de *B. discolor*, para além dos ensaios fitoquímicos clássicos, também foi feita com base na espectroscopia RMN-<sup>1</sup>H.

## **II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. PLANTAS MEDICINAIS**

O uso de plantas medicinais no tratamento de enfermidades é conhecido desde a mais remota antiguidade, assim, existem vários registos históricos sobre a utilização das plantas para tratamento de doenças desde 4.000 anos a.C. (Duarte, 2006). Hoje em dia, a maioria da população vivendo em países subdesenvolvidos, ainda utiliza as plantas medicinais como fonte principal para superar as suas necessidades medicamentosas. Mesmo nos países industrializados, uma grande percentagem dos produtos farmacêuticos comercializados provém de produtos naturais e essa proporção eleva-se nas regiões do mundo onde vive a maior parte da população mundial, tais como Ásia, África e América Latina (Pachú, 2007).

Entretanto, o reconhecimento de que as plantas curam ou previnem doenças porque contêm substâncias que são capazes de interagir com o nosso organismo, teve que aguardar a revolução científica, que trouxe consigo o método científico e tecnológico tal e qual o concebemos hoje em dia e com ele o desenvolvimento da química e das ciências biológicas em geral (Farnsworth *et al.*, 1975).

Das várias espécies de plantas medicinais moçambicanas com potencial terapêutico, este estudo, centralizou-se apenas em quatro (4) espécies que são descritas a seguir.

## 2.2. DESCRIÇÃO DAS PLANTAS EM ESTUDO

### 2.2.1. *Gymnosporia heterophylla*



**Figura 2-***Gymnosporia heterophylla*.

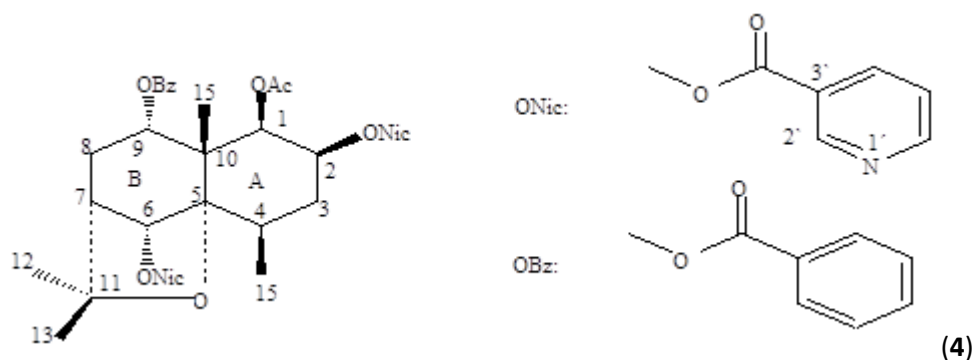
*G. heterophylla* ou *Maytenus heterophylla* é uma planta da família *Celastraceae*, conhecida pela população nativa da província de Maputo por Muima. Ela pode ser um arbusto ou árvore, até 9 m de altura. Esta planta ocorre principalmente nas orlas das florestas, bosques e savanas arbustivas de Tanzânia até Cabo (África do Sul). Medicinalmente, as folhas são usadas para o tratamento de disenterias, feridas, tosse (pulmonar). As raízes são usadas para tratamento de constipações e outras perturbações de peito, tosse, hérnia e sífilis e também como antiinflamatórias (Jansen e Mendes, 1991). A casca serve para tratar diarreias, disenteria e mordeduras de cobras. Também, as outras plantas deste género são usadas como antiasmáticas, agente de regulação de fertilidade, antitumoral, bem como para os problemas do estômago (Flores *et al.*, 1984, Ghazanfar, 1994).

Estudos fitoquímicos mostram que a partir desta planta vários compostos foram isolados, tais como alcalóides, compostos fenólicos, taninos, glicósidos e triterpenos de acordo com o referenciado por Da Silva *et al.*, (2011). Dos ramos de *G. heterophylla*, Khaled *et al.*, (2001), isolaram a partir do extracto de etanol um alcalóide com actividade antimicrobiana, o dihidroagarofurano, 1  $\beta$  -acetoxi-9  $\alpha$  -benzoiloxi-2  $\beta$  ,6  $\alpha$  -dinicotinoiloxi-  $\beta$  -dihidroagarofurano (4), juntamente com outros compostos,  $\beta$  -amarina, ácido maytenfólico, ácido 3  $\alpha$  -hidroxi-2-

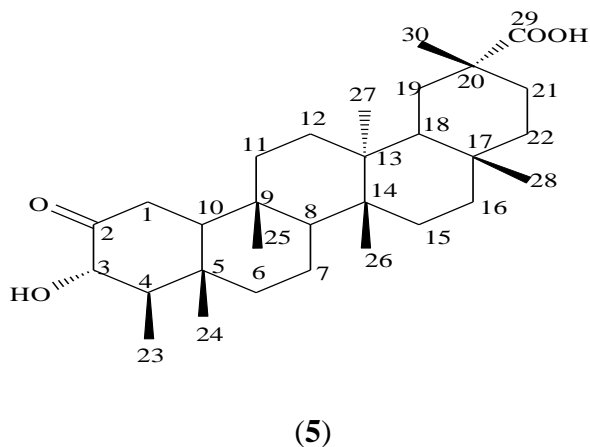


*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas medicinais usadas na Província de Maputo*

oxofriedelano-20  $\alpha$  -carboxílico (5), lup-20 (29)-ene-1  $\beta$ , 3  $\beta$  -diol, (-)-4'-metilepigalocatequina e (-)-epicatequina. O ácido maytenfólico, mostrou uma moderada actividade antimicrobial inibindo o crescimento de *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (Khaled *et al.*, 2001).



**Figura 3**-1 $\beta$ -acetoxi-9 $\alpha$ -benzoiloxi-2 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dinicotinoiloxi- $\beta$ -dihidroagarofurano



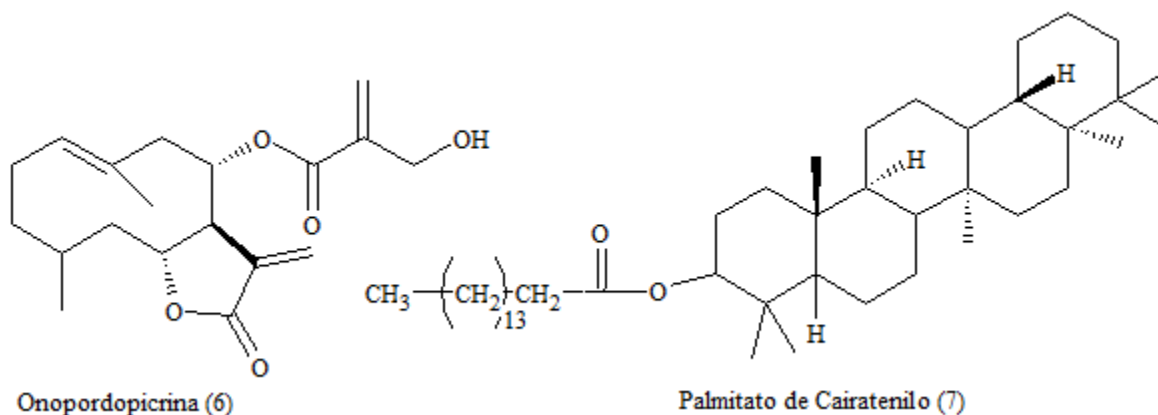
**Figura 4**-Ácido maytenfólico- ácido 3 $\alpha$ -hidroxi-2-oxofriedelano-20 $\alpha$ -carboxílico

**2.2.2. *Brachylaena discolor***



**Figura 5- *Brachylaena discolor*.**

*B. discolor* (Familia Asteraceae) é conhecida pela população nativa de Maputo pelos seguintes nomes: Pahla kufa, Impalha, Intsombelo bacha, Patcha. Esta planta pode variar de arbusto a uma árvore dióica e cresce até 6 m de altura (Jansen e Mendes, 1991). Ocorre no litoral, mato e nas margens da floresta verde do Cabo Oriental para Moçambique. Africanos e colonizadores europeus usavam as folhas para fins medicinais para tratar doenças renais. As folhas foram usadas pelos camponeses para o tratamento de diabetes. O povo Zulu usa uma infusão das raízes como um enema (lavagem) para parar o sangramento do estômago e uma infusão das folhas como um tónico para tratar parasitas intestinais e para dor no peito (Jansen e Mendes, 1991). Em Maputo, as folhas são usadas no tratamento de tosse, dores de estômago e dentes, constipações e malária. Apenas a lactona sesquiterpénica, a Onopordopicrina (6) (Zdero e Bohlamann, 1987) foi isolada a partir dos ramos, mas entretanto de uma outra planta do mesmo género, a *Brachylaena ramiflora* var. resultou o isolamento de dois triterpenos, o palmitato de Cairatenilo (7) e palmitato de hopenilo e cinco triterpenóides, palmitato de  $\alpha$ -amarina, o palmitato de  $\beta$ -amarina, acetato de  $\beta$ -amarina, acetato de lupeilo, e lupeol (Chaturvedula *et al.*, 2002).



**Figura 6-** Compostos isolados de *B. discolor* e *B. ramiflora*, respectivamente.

### 2.2.3. *Terminalia sericea*



**Figura 7-** *Terminalia sericea*.

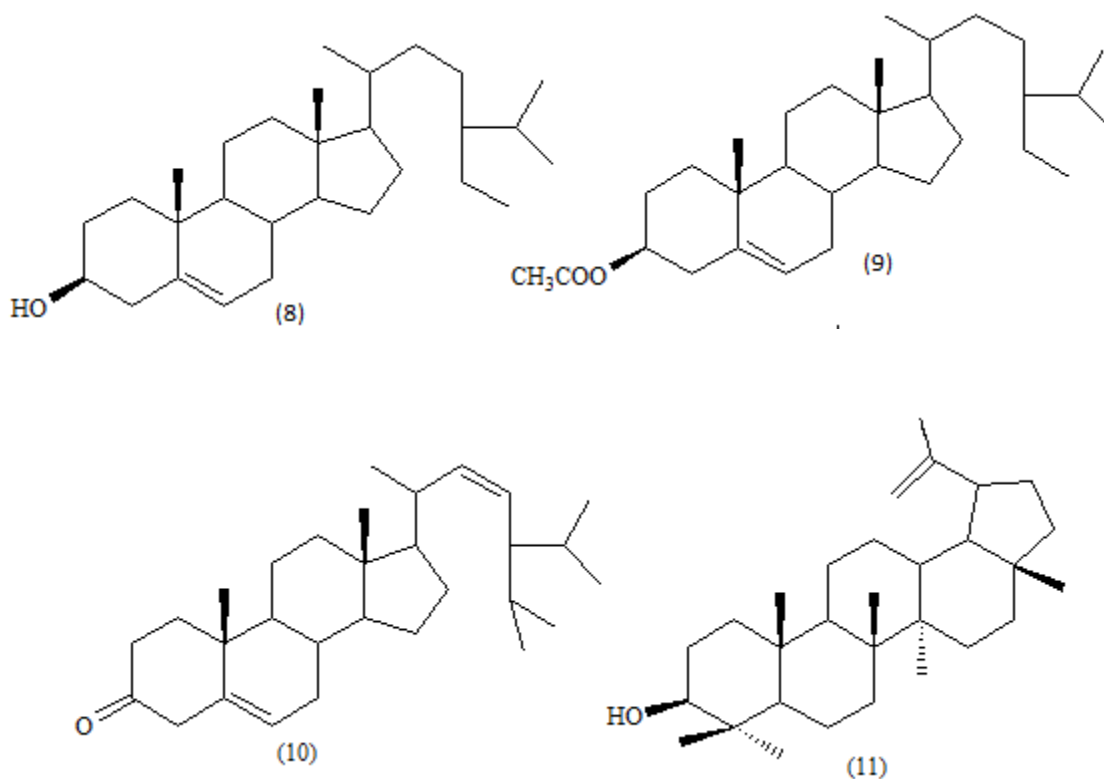
*T. sericea* é uma espécie da família *Combretaceae*, que é conhecida em Maputo como Gonono, Miputua e Nkonola. É um arbusto ou árvore decídua, crescendo a uma altura de cerca de 3-12 metros na floresta (Jansen e Mendes, 1991). É endémica para a África e distribui-se desde a Tanzânia e República Democrática do Congo ao sul da África do Sul. Ela cresce em floresta aberta mista e em solos arenosos. Muitas vezes, é uma das dominantes espécies em floresta mista (Hines e Eckman, 1993). As folhas e raízes são usadas na medicina tradicional para o tratamento de tuberculose, feridas, disenteria, malária, gonorreia, diarreias, pneumonia, diabete,

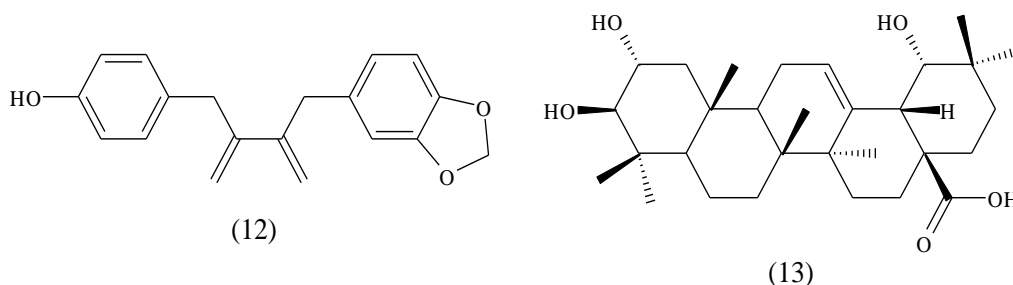
## *Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas medicinais usadas na Província de Maputo*

---

sífilis, perturbações pancreáticas, poliomielite, reumatismo e fibrosite (Jansen e Mendes, (1991), Bandeira *et al.*, (2001), Moshi e Mbwambo, (2005), Ribeiro *et al.*, (2010), Bruschi *et al.*, (2011)). A casca do caule é usada no tratamento de diabetes *militus* e feridas (Jansen e Mendes, 1991).

Vários estudos fitoquímicos já foram realizados sobre esta planta e que culminaram com o isolamento de alguns compostos. Desta planta, foram isolados a partir dos extractos do caule flavonóides, triterpenos pentacíclicos e estilbenos glicósidos (Nkobole, 2009, Monjane, 2010). Nkobole *et al.*, (2009), fraccionaram o extracto de acetona da casca, o que levou ao isolamento de 4 compostos nomeadamente  $\beta$ -sitosterol (**8**),  $\beta$ -sitosterol-3-acetato (**9**), estigmasterol-3-ona (**10**) e lupeol (**11**). Dois dos compostos cuja actividade antibacterial já foi avaliada são o Termilignano B (**12**) e o ácido arjúnico (**13**). Estes compostos foram activos contra as seguintes bactérias *Bacillus subtilis*, *Staphylacocus aureus*, *E. coli* e *Klebsiela pneumoniae* (Edeen *et al.*, 2006).





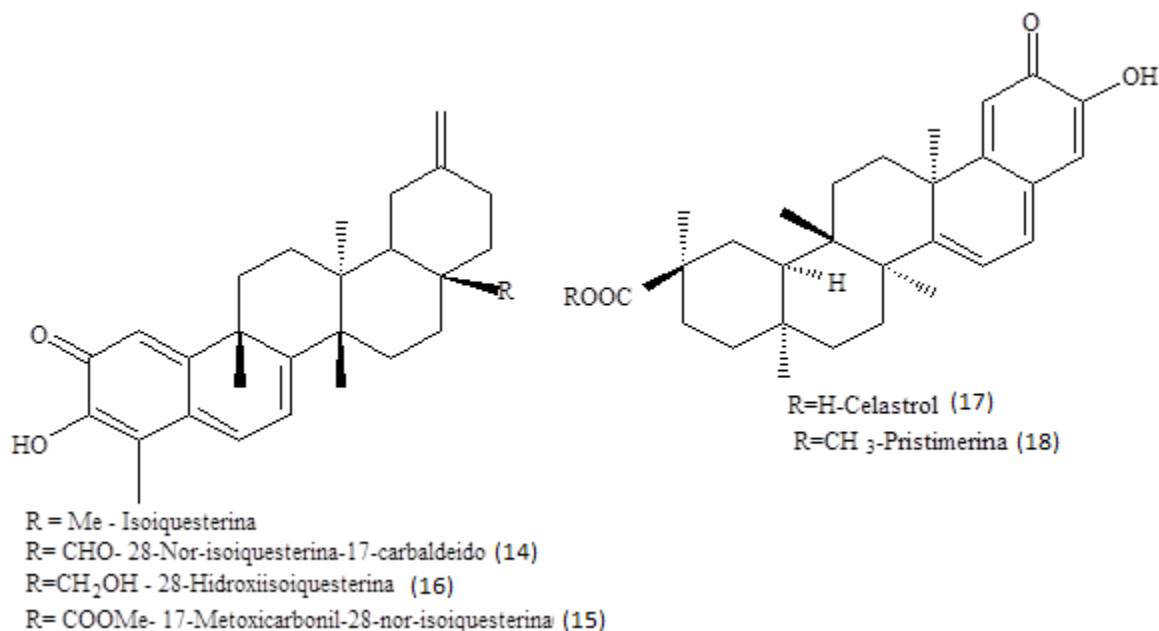
**Figura 8-** Estruturas de compostos isolados na espécie *T. sericea*.

#### 2.2.4. *Salacia kraussii*



**Figura 9-** *Salacia kraussii* .

*S. kraussii* é uma espécie pertencente à família *Celastraceae* e bem conhecida em Maputo por Pschicha. É um arbusto de até 1 -3 m de altura. *S. kraussii* é uma planta das dunas, estepes arbustivas e bosque aberto no litoral (Jansen e Mendes, 1991). Em Moçambique, as raízes de *S. kraussii* são usadas na medicina tradicional para o tratamento de diarreia, malária (Bandeira *et al.*,2001), bilharziose e disenteria (Jansen e Mendes, 1991). Na África Austral e Oriental, é usada em crianças no tratamento de epilepsia e ténica (Jansen e Mendes, 1991). Figueiredo *et al.*, (1998), isolaram a partir das raízes desta planta três metido-quinonas, 28-nor-isoiguesterin-17-carbaldeído (**14**), 17 - (metoxicarbonil)-28-nor-isoiguesterina (**15**), e 28-hidroxiisoiguesterina (**16**), em conjunto com a conhecida celastrol (**17**) e pristimerina (**18**) eles mostraram uma actividade antimalária.



**Figura 10-** Estruturas de compostos isolados em *Salacia kraussii*

### 2.3. Metabólitos secundários e suas actividades biológicas

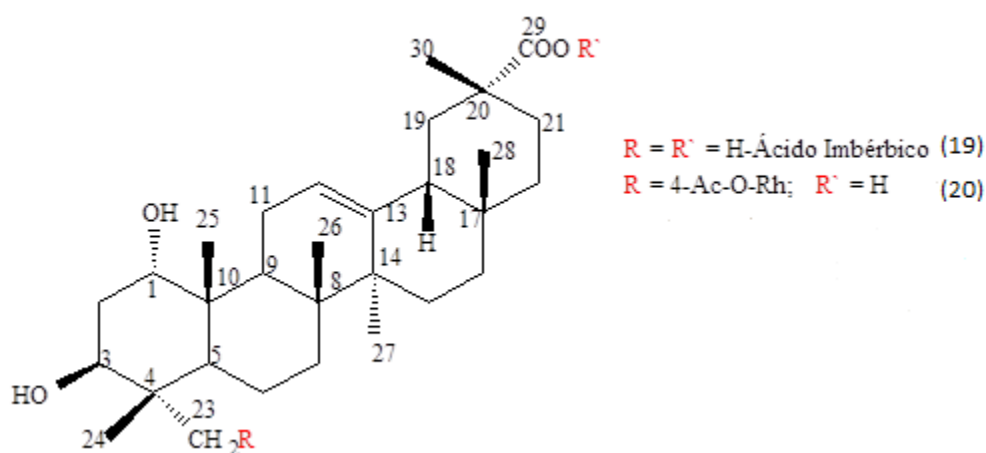
Os metabólitos secundários ou produtos naturais são compostos orgânicos de estruturas simples ou complexas, resultantes do metabolismo secundário dos organismos vivos. Estes compostos são frequentemente restritos a um grupo de espécies entre si relacionados e que parecem não estar ligados com os processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos (Taiz e Zeiger, 2009), mas desempenham neles actividades biológicas importantes, como antioxidantes, estimulantes, reguladores, só para citar alguns exemplos. Dos vários metabólitos secundários produzidos pelas plantas, destacam-se os seguintes:

#### 2.3.1. Compostos Terpénicos

São hidrocarbonetos de origem vegetal possuindo um ou mais ligações duplas, muitas vezes de estrutura cíclica. Eles formam um grupo generalizado dos compostos naturais com importância prática considerável (Patočka, 2003). Os terpenos são amplamente distribuídos no reino vegetal e a sua frequência e abundância estão intimamente ligados a factores genéticos e climáticos (Marcano e Hasegawa, 2002).

### 2.3.1.1. Actividade biológica

Os terpenos que ocorrem naturalmente, apresentam propriedades anti-inflamatórias e anticoncepcionais, inibem a agregação plaquetária e interferem a nível intracelular em vários passos de transdução. São também antibacterianos, antifúngicos, antivirais, analgésicos, cardiovasculares (glicósidos), antitumorais (Taiz e Zeiger, 2009). Triterpenos pentacíclicos isolados a partir de folhas de *Combretum imberbe* mostraram actividade antibacteriana contra *Mycobacterium fortuitum* (Katerere *et al.*, 2003). A figura 10 mostra as estruturas de 2 triterpenos pentacíclicos (Ácido  $1\alpha, 3\beta$ -Hidroxiimbérbico (Ácido  $1\alpha, 3\beta$ -dihidroxiolean-12-en-29-óico) (**19**),  $1\alpha, 3\beta, 23$ -trihidroxi-olean-12-en-29-oato-*O*- $\beta$ -*L*-acetil-ramnopiranosídeo (**20**)) isolados a partir de *C. imberbe* com actividade antimicrobial.



**Figura 11-** Estruturas de triterpenos pentacíclicos isoladas nas folhas de *C. imberbe*.

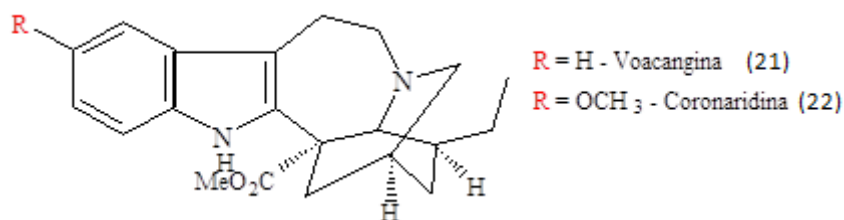
### 2.3.2. Alcalóides

Segundo *Pelletier* (1882) citado por Morrison e Boyd, 2005, alcalóides são moléculas cíclicas que contêm nitrogénio endocíclico e que são verdadeiros metabólitos secundários produzidos pelos seres vivos. Esta definição exclui as aminas simples, os derivados de amoníaco acíclicos e ainda os compostos nitro e nitrosos (uma vez que nos alcalóides o átomo de nitrogénio tem de possuir estado de oxidação negativo). Os alcalóides formam um grupo muito vasto de metabólitos que podem ocorrer tanto em microorganismos como em plantas superiores e inferiores ou ainda em animais, apesar de nestes últimos ocorrerem com menor frequência.

### 2.3.2.1. Actividade biológica

Alcalóides desempenham a função protectora nas plantas por serem tóxicos. No entanto, acredita-se que actuam também como reserva de nitrogénio, reguladores de crescimento, agentes de desintoxicação e transformação simples de outras substâncias nocivas às plantas e ainda como protectores contra os raios UV (Oliveira *et al.*, 2009). Alcalóides possuem um potencial efeito antimalárico, antimicrobiano, anticancerígeno, antiinflamatório, no tratamento de diabetes, vasodilatador, anti-séptico, cicatrizante, estomática, antihelmíntico e antidiurético (Tiwari *et al.*, 2011).

Voacangina e coronaridina são alcalóides isolados da casca de *Tabernaemontana angulata*, e têm actividade biológica. Coronaridina (**22**) é um alcalóide anticolinesterásica (Andrade *et al.*, 2005), hipotensora, contraceptiva (Farnsworth *et al.*, 1975), contra cancro de ovário e citotóxico (Prakash, 2003), antiinflamatória e analgésica (Henriques *et al.*, 1996), enquanto que a voacangina (**21**), possui actividade frente a diferentes espécies de *Mycobacterium* (Rastogi *et al.*, 1998).

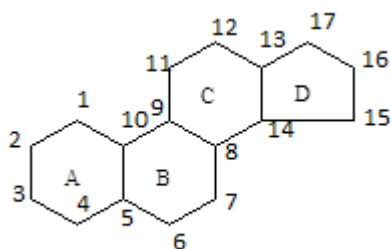


**Figura 12-** Estruturas de alcalóides isolados da casca de *Tabernaemontana angulata*.

### 2.3.3. Esteróides (Fitosteróis)

Os esteróides são compostos resultantes do metabolismo secundário de seres vivos, que apresentam na sua estrutura química quatro anéis condensados denominada ciclopentano-peridro-fenantreno (**23**). Eles formam um grande grupo de compostos solúveis em gordura (lipossolúveis), que têm uma estrutura básica de 17 átomos de carbono disponíveis em quatro anéis ligados entre si (Campos, 2002). A maioria deles possui grupo hidroxilo na posição C-3 e uma dupla ligação em Carbonos 5 e 6.





(23)

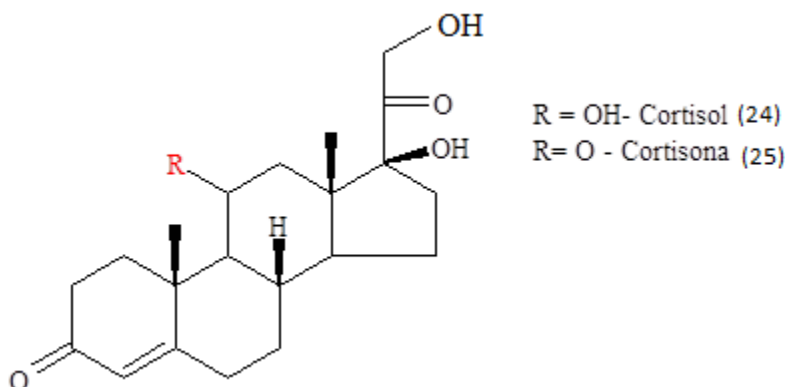
**Figura 13-** Estrutura básica de esteróides - ciclopentano-peridro-fenantreno

Esteróides têm estruturas cíclicas semelhantes às dos triterpenos não esteroidais mas são considerados separadamente deles devido à particularidades químicas e sua importância biológica e medicinal. Ocorrem em todos os organismos vivos (animais e vegetais).

### 2.3.3.1. Actividade biológica

Em várias especialidades estes compostos (esteróides) são denominados antiinflamatórios hormonais usados no tratamento de diversas infecções na forma tópica (pomadas, soluções) ou sistêmica (oral, inalatória, intramuscular e intravenosa) (Campos, 2002).

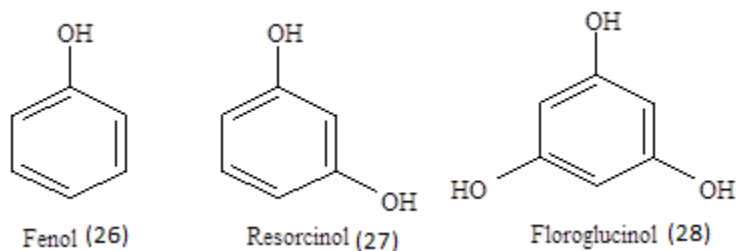
Por exemplo, o cortisol (24) e a cortisona (25) produzidos pela glândula suprarrenal, possuem na sua forma sintética efeito antiinflamatório e antiasmático e são usados para o tratamento de artrite.



**Figura 14-** Estruturas de cortisol e cortisona

### 2.3.4. Compostos fenólicos

São compostos que possuem um ou mais grupos hidroxilos (-OH) ligados directamente a um anel aromático. O fenol (26) é a estrutura a qual todo o grupo está baseado (Wermerris e Nicholson, 2009).



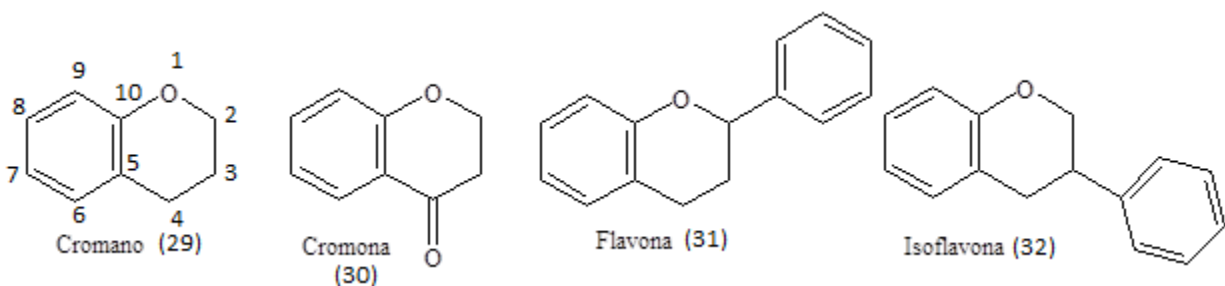
**Figura 15-** Exemplos de compostos fenólicos mais simples

#### 2.3.4.1. Actividade biológica

Os compostos fenólicos constituem um grande grupo de metabólitos secundários que ocorrem no reino vegetal e animal. Desempenham a função protectora contra a luz UV, participam nos processos de oxidação- redução da respiração e polinização. Alguns têm propriedades fungicidas e insecticidas. Possuem actividade antimicrobial, antihelmíntica, antidiarreica (Tiwari *et al.*, 2011).

### 2.3.5. Flavonóides

Flavonóides são compostos com esqueleto de quinze átomos de carbono ( $C_{15}$ ) os quais têm estrutura  $C_6-C_3-C_6$ . Flavonóides podem ser agrupados em três grandes classes com base na sua estrutura geral. Em cada caso, dois anéis de benzeno estão ligados por três carbonos. O arranjo de  $C-3$  é que determina a forma como os compostos são classificados (Wermerris e Nicholson, 2009).

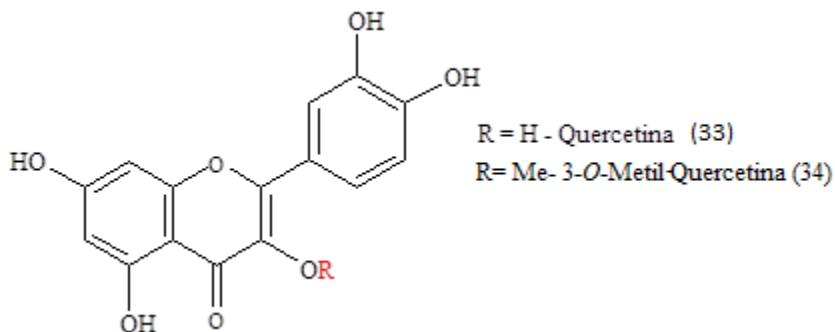


**Figura 16-** Estruturas básicas de tipos de flavonóides

Flavonóides ocorrem em forma de pigmentos vegetais hidrossolúveis de cor amarela, vermelha e azul. A maior parte destes compostos fenólicos ocorre na natureza em forma de glicósidos em que a aglicona  $C_6-C_3-C_6$  está ligada com açúcares nas posições 3 e 5 (Wermerris e Nicholson, 2009).

### 2.3.5.1. Actividade biológica

Ensaio biológicos usando combinações isoladas revelam que os flavonóides exibem uma grande acção sobre os sistemas biológicos demonstrando efeito antimicrobiano, antiviral, antiulcerogénico, citotóxico, antineoplásico, antioxidante, antihepatotóxico, antihipertensivo, hipolipidémico, antiinflamatório, antiplaquetário (Machado *et al.*, 2008). A figura que se segue apresenta estruturas de alguns flavonóides isolados do género *Chromolaena* com actividade antimicrobial (Taleb-Contini *et al.*, 2003)



**Figura 17-** Estruturas de flavonóides isolados do género *Chromolaena*.

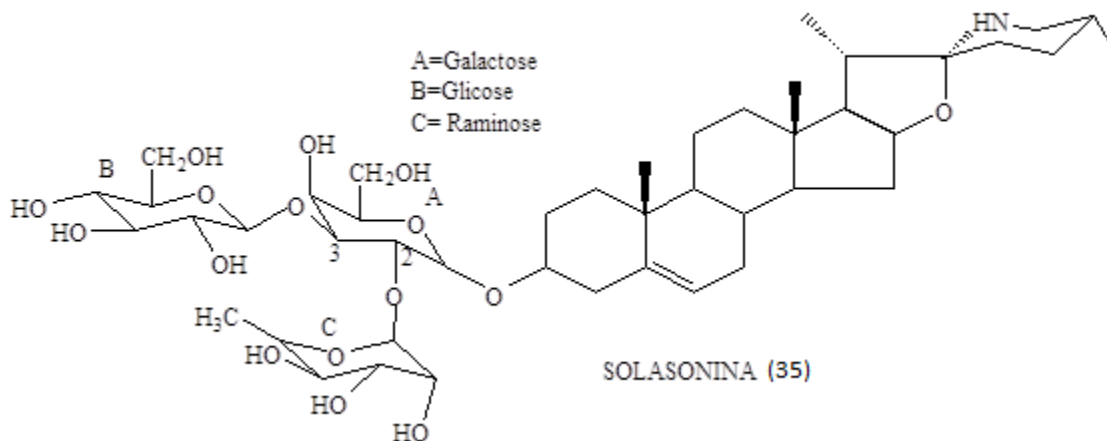
### 2.3.6. Saponinas

Saponinas (*Saponis do Latim - Sabão*) são glicósidos de esteróides ou de terpenos policíclicos. Esse tipo de estrutura possui uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e sua acção detergente e emulsificante (Sabino, 2011).

As saponinas são substâncias de elevada massa molecular (600 a 2000) e, de modo geral, ocorrem em misturas complexas devido à presença concomitante de estruturas com um número variado de açúcares ou ainda devido à presença de diversas agliconas (Sabino, 2011).

#### 2.3.6.1. Actividade biológica

O comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolipídeos de membranas determinam um número variado de propriedades biológicas para essas substâncias, destacando-se a acção sobre membranas celulares, alterando a sua permeabilidade, ou causando a sua destruição. Relacionadas com essa acção sobre membranas, estão a actividade hemolítica e moluscida, frequentemente observadas. Para algumas saponinas também foi relatada acção espermicida, antimicrobiana, anti-protozoária, antifúngica, anti-inflamatória e anti-helmíntica (Sabino, 2011). A figura 18 representa a estrutura da Solasonina, que é uma saponina isolada do *Solanum lycocarpum* e apresenta actividade anti-inflamatória (Goswani *et al.*, 2003).



**Figura 18**-Estrutura de solasonina

### **2.3.7. Glicósidos**

Os glicósidos são metabólitos secundários de plantas com grande importância. O seu nome é referente à ligação glicosídica que se forma quando uma molécula de açúcar é condensada com uma outra contendo um grupo hidroxilo. Existem três grupos de glicósidos de interesse particular: saponinas, glicósidos cardíacos e glicósidos cianogénicos (García e Carril, 2009). A estrutura de solasonina (**35**), é um exemplo típico de um glicósido.

#### **2.3.7.1. Actividade biológica**

Por serem compostos derivados das diferentes classes de metabólitos secundários, os glicósidos são responsáveis por muitas actividades biológicas, dentre as quais destacam-se: estimulantes do coração, antitumorais, antiinflamatória, antidiarreica (Tiwari *et al.*, 2011).

### **2.3.8. Taninos**

Taninos são compostos polifenólicos (polímeros) com alto peso molecular (500-3000) de natureza heterogénica. São divididos em duas classes: taninos hidrolisáveis e condensados (não hidrolisáveis) e são encontrados em quase toda a parte da planta: casca, flores, caule, folhas e raízes (Scalbert, 1991) (Taiz e Zeiger, 2006).

#### **2.3.8.1. Actividade biológica**

Taninos têm uma potencial actividade antidiarreica, antihelmíntica, antimicrobiana (Tiwari *et al.*, 2011), anti-séptica, antiinflamatória, antioxidante, hemostática (ou seja, que suspende hemorragias favorecendo a coagulação) e precipitam a gelatina, propriedade conhecida como adstringência (De Bruyne *et al.*, 1999).

## **2.4. DOENÇAS INFECCIOSAS**

Uma doença infecciosa é a manifestação de uma contaminação provocada por um microorganismo como bactéria, fungo, vírus ou protozoário e pode ser transmitida de um organismo para o outro por via aérea, pela água, pelos alimentos, por contacto pele a pele, através de outros animais e por contacto sexual. Os principais problemas de saúde pública em

Moçambique são a malária, HIV/SIDA, tuberculose, diarreias, infecções respiratórias e sarampo (WHO, 2004).

#### **2.4.1. Tuberculose**

A tuberculose é uma doença infecciosa documentada desde há longa data e que continua a afligir a Humanidade nos dias actuais. Ela é causada pela espécie de *Mycobacterium tuberculosis*, que é um bacilo que mais mortalidade causa em Moçambique. Moçambique está entre os 22 países (ocupando a 18<sup>a</sup> posição) mais afectados pela tuberculose a nível mundial e anualmente têm aparecido cerca de 46 mil novos casos. Ressalta-se que a grande maioria dos novos casos de tuberculose diagnosticados actualmente estão também associados ao HIV/SIDA, uma vez que se estima que cerca de metade dos casos da doença tem a co-infecção pelo HIV (MISAU, 2008 e 2011).

#### **2.4.2. HIV/SIDA**

É uma doença caracterizada por uma disfunção grave do sistema imunológico do indivíduo infectado pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (MISAU, 2008).

O número de casos notificados de HIV tem aumentado de ano a ano devido a expansão dos ambulatorios de testagem e formação de mais quadros em matéria de aconselhamento e testagem de saúde, entre 2003 a 2006 a notificação aumentou em 80% e a taxa de HIV/SIDA indica que 1,4 milhão de indivíduos moçambicanos ou 16% da população entre 15 e 49 anos é seropositiva, destes 57,8% são do sexo feminino, 36% são do sexo masculino e 6,2% são crianças (PARPA, 2006).

#### **2.4.3. Malária**

Doença provocada por quatro espécies de Plasmódio (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax* e *Plasmodium malariae*) e que atinge vastas áreas de África, da América Central e do Sul e da Ásia. A malária é a principal causa da mortalidade de crianças em Moçambique. Anualmente, causa cerca de 36.000 mortes apenas em crianças<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup>([http://www.unicef.org/mozambique/pt/child\\_survival\\_3141.html](http://www.unicef.org/mozambique/pt/child_survival_3141.html))

#### **2.4.4. Cólera**

O agente causal, o *Vibrião cholerae*, apareceu pela primeira vez em Moçambique em 1973, na cidade de Maputo, propagando-se pelo país durante as últimas décadas influenciado por uma série de factores tais como o crescimento populacional urbano descontrolado, condições higiénico-sanitárias de má qualidade, comercialização de produtos alimentares sem o devido controlo sanitário e a seca (Aragon *et al.*, 1994).

### **2.5. MÉTODOS DE EXTRACÇÃO DE COMPOSTOS NATURAIS A PARTIR DE PLANTAS**

Existem várias metodologias descritas para a preparação de extractos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos (Filho e Yunes, 1998) a saber: maceração, infusão, decocção, percolação (Soxleht), digestão, sonicação ou ultra-som, homogeneização dos tecidos da planta (Tiwari *et al.*, 2011). Entretanto, neste trabalho foi usado o método de maceração.

Na maceração (por extracto fluido), o material da planta inteira ou grosseiramente pulverizado é mantido em contacto com o solvente em um recipiente tapado por um período definido, com agitação frequente até que a matéria solúvel seja dissolvida. Este método é mais adequado para utilização no caso das drogas termodegradáveis (Tiwari *et al.*, 2011).

Neste trabalho, usou-se o processo descrito por Luo *et al.*, (2011) que consiste em obter os extractos brutos a partir do material vegetal seco previamente moído através de um processo de extracção por maceração sequencial com *n*-hexano, diclorometano, acetato de etilo e etanol a 70% (v/v) durante 48 h, à temperatura ambiente.

### **2.6. MÉTODOS DE SEPARAÇÃO**

Os extractos obtidos ou seleccionados são submetidos a diferentes técnicas cromatográficas. Em princípio, é geralmente empregada a cromatografia em coluna aberta com sílica gel como fase estacionária onde, dependendo do extracto, os seus componentes são eluídas com uma mistura de solventes que deve ser previamente determinada por cromatografia em camada fina. Outros suportes cromatográficos podem ser utilizados, como alumina, celulose, poliamina e saphadex (Filho e Yunes, 1998)

### **2.6.1. Cromatografia**

A cromatografia é um conjunto de técnicas físico-químicas de separação e identificação dos componentes de uma mistura, líquida ou gasosa, baseada na diferença de velocidades de arrastamento dos solutos por uma fase móvel líquida, gasosa ou um fluido supercrítico através de uma fase estacionária fixa (sólida ou líquida) em uma coluna ou numa superfície sólida (Skoog *et al.*, 2006). Nestas técnicas, as moléculas fortemente retidas pela fase estacionária movem-se lentamente enquanto as fracamente retidas movem-se com mais rapidez com o fluxo da fase móvel. Devido a esta distinta mobilidade, os componentes da mistura vão-se separando em bandas ou zonas discretas que podem ser analisadas qualitativamente e quantitativamente.

Segundo Skoog, *et al.*, 2006, citado por Zimila, 2011, existem várias técnicas cromatográficas que resultam principalmente do tipo de fases móvel e estacionária, dos equilíbrios envolvidos na transferência dos solutos entre as fases e do modo como estas são postas em contacto. Contudo, a mais aplicada é a cromatografia em camada fina por ser de fácil execução e barata.

#### **2.6.1.1. Cromatografia em camada fina (CCF ou TLC em Inglês)**

A TLC baseia-se na adsorção dos analitos na fase estacionária quando são arrastados pela fase móvel, que consiste de um solvente ou mistura de solventes voláteis no estado líquido. A fase estacionária em TLC é uma camada fina de adsorvente sólido finamente dividido (geralmente alumina,  $Al_2O_3$ , ou sílica gel –  $SiO_2 \cdot xH_2O$ ) impregnado na superfície de um material rígido e inerte (por exemplo, folha de alumínio, plástico ou placa de vidro). É uma técnica versátil, reprodutível, de fácil execução e permite a separação em um breve espaço de tempo (Vogel 1989, Skoog *et al.*, 2006).

Uma TLC inclui as seguintes etapas principais:

#### **Aplicação da amostra**

Um pequeno volume da amostra é dissolvido em um solvente volátil (formando solução de 0,1 a 1,0%) e, posteriormente, a solução é aplicada, como uma mancha de 1-2 mm de diâmetro, a 1 cm da extremidade inferior da placa cromatográfica (Vogel, 1989, Skoog *et al.*, 2006).



### **Desenvolvimento da placa**

A extremidade da placa cromatográfica com a mancha da amostra é colocada em uma cuba saturada com o eluente, tomando cuidado do contacto directo da amostra com a fase móvel. A fase móvel percorre a fase estacionária, geralmente por capilaridade, arrastando consigo os analitos em diferentes graus; de acordo com (1) a sua solubilidade na fase móvel, (2) a interacção com a matriz e (3) com o grau de adsorção na fase estacionária. Quando o solvente estiver próximo da extremidade superior da placa, esta é removida e marca-se a distância por ele percorrido (Vogel, 1989, Sequeira e Azevedo, 2003, Skoog, *et al.*, 2006).

A localização dos analitos na placa cromatográfica pode ser feita a olho nú, se o(s) analito(s) for(em) colorido(s), ou através de luz ultravioleta ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) ou por aspersão com agentes químicos, tais como vapores de iodo e ácido sulfúrico (após o aquecimento da placa), que reagem com muitos compostos orgânicos formando produtos de cor amarela-escura (Vogel, 1989, Sequeira e Azevedo, 2003, Skoog *et al.*, 2006). Caso se obtenha apenas uma mancha na placa cromatográfica, significa que o composto em solução é puro, excepto situações de terem havido inconvenientes.

### **Identificação dos analitos**

O método comum para a identificação dos compostos por este método consiste em comparar os valores dos índices de retenção ( $R_f$ ) obtidos durante a experiência com os índices de retenção de referência autenticados, obtidos nas condições similares de análise. Tais valores variam de 0 a 1 e são obtidos através da seguinte razão (Vogel, 1989, Sequeira e Azevedo, 2003, Skoog *et al.*, 2006).

$$R_f = \frac{\text{Distância percorrida pelo analito (Mancha)}}{\text{Distância percorrida pelo solvente}}$$

Onde :  $R_f$  - Factor de retenção

## **2.7. MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO QUALITATIVA DAS CLASSES DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS**

Embora uma planta possa conter centenas de metabólitos secundários, apenas os compostos presentes em maior concentração são geralmente isolados e estudados pela fitoquímica clássica (Filho e Yunes, 1998).

Exames fitoquímicos foram realizados para todos os extractos conforme os métodos padrões descritos por Tiwari *et al.*, (2011).

### **2.7.1. Métodos Químicos**

#### **2.7.1.1. Detecção de Alcalóides**

Para a análise de alcalóides nos extractos secos primeiramente dissolvidos em ácido mineral diluído, foram aplicados os seguintes testes:

##### **a) Teste de Mayer**

Os filtrados são tratados com reagente de Mayer (tetraiodomercurato de potássio  $K_2[HgI_4]$ ). A formação de um precipitado de cor amarela indica a presença de alcalóides.

##### **b) Teste de Wagner**

Os filtrados são tratados com reagente de Wagner (iodo em iodato de potássio  $I_2/KI$ ). A formação de um precipitado de cor marrón- vermelha indica a presença de alcalóides.

##### **c) Teste de Dragendorff**

Os filtrados são tratados com reagente de Dragendorff (tetraiodobismutato de potássio  $K[HgI_4]$ ). A formação de um precipitado de cor vermelha ou castanha indica a presença de alcalóides.

##### **d) Teste de Hager**

Os filtrados são tratados com reagente de Hager (solução saturada de ácido pícrico). Presença de alcalóides é confirmada pela formação de um precipitado de cor amarela.

### **2.7.1.2. Detecção de Glicósidos**

Os extractos são hidrolisados com ácido clorídrico diluído e depois são submetidos ao teste de glicósidos.

#### **a) Teste de Borntrager modificado**

Os extractos hidrolisados são imersos em água em ebulição cerca de 5 minutos. A mistura é arrefecida e é extraída com iguais volumes de benzeno ou clorofórmio. A camada de benzeno ou clorofórmio é separada e tratada com solução de amónia. Formação de cor-de-rosa na porção amoniacal indica a presença de glicósidos de antranol (Derivados de antraquinonas).

### **2.7.1.3. Detecção de Saponinas**

#### **a) Teste de espuma**

Os extractos são diluídos com água destilada para 20 mL e são agitados num cilindro graduado até 15 minutos. Formação de 1 cm de camada de espuma indica a presença de saponinas. Ou, 0,5 mg de extracto são agitados em 2 mL de água. O aparecimento de espuma persistente durante 10 minutos indica a presença de saponinas.

### **2.7.1.4. Detecção de Fitosteróis**

#### **a) Teste de Salkowski (Triterpenos)**

Os extractos são tratados com clorofórmio e filtrados se necessário. Os filtrados são tratados com gotas de ácido sulfúrico concentrado, agitar e deixar em repouso. O aparecimento de cor amarelo dourado indica a presença de triterpenos.

#### **b) Teste de Libermann-Burchard (Esteróides)**

Os extractos são tratados com clorofórmio e filtrados se necessário. O filtrado é tratado com gotas de anidrido acético, aquece-se e arrefece-se. Adiciona-se o ácido sulfúrico concentrado. Formação de anel castanho na junção indica a presença de fitoesteróis (Tiwari *et al.*, 2011). Pode-se observar também a formação de cor vermelha no caso em que taninos e saponinas não

são livres e no caso contrário observa-se a formação de uma coloração verde-amarela (Mendes, 2009).

Ainda pode-se observar a formação de coloração rósea escura ou azul que indica presença da função carbonilo na posição 3 e dupla ligação entre os carbonos 5 e 6. A coloração verde indica presença da função hidroxilo na posição 3 e ligação dupla nas posições 5 e 6. Se houver coloração amarela provavelmente existe um metil no carbono 14 (Virtuoso, 2005).

#### **2.7.1.5. Detecção de Fenóis**

##### **a) Teste de cloreto férrico**

Extractos secos são tratados com algumas gotas da solução de cloreto férrico. A formação de cor preta azulada indica a presença de fenóis.

#### **2.7.1.6. Detecção de Taninos**

##### **a) Teste de gelatina**

Para o extracto, é adicionado uma solução de gelatina a 1% contendo cloreto de sódio. A presença de taninos é confirmada pela formação de um precipitado branco.

#### **2.7.1.7. Detecção de Flavonóides**

##### **a) Teste do reagente alcalino**

Os extractos são tratados com algumas gotas da solução de hidróxido de sódio. A formação de uma cor amarela intensa que poderá desaparecer depois de adição de um ácido diluído, indica a presença de flavonóides.

##### **b) Teste de acetato de chumbo**

Os extractos são tratados com poucas gotas de solução de acetato de chumbo. A presença de flavonóides é confirmada pela formação de precipitado de cor amarela.

## **2.7.2. Métodos espectroscópicos**

Depois da obtenção dos extractos brutos e realização dos testes fitoquímicos preliminares, segue-se a etapa da identificação dos fitoconstituintes pelos métodos espectroscópicos. Neste trabalho foi usado o método de Ressonância Magnética Nuclear do protão (RMN  $^1\text{H}$ ) para a identificação de algumas classes presentes nos extractos brutos.

### **2.7.2.1. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear do protão (RMN $^1\text{H}$ )**

Os núcleos de determinados elementos e isótopos comportam-se como se fossem ímanes girando em torno de um eixo. Os núcleos do hidrogénio ordinário ( $^1\text{H}$ ) e os núcleos de carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ) têm esta propriedade. Sob acção de um campo magnético externo, os seus spins nucleares orientam-se paralelamente (estado de energia mais baixo) ou antiparalelamente (estado de energia mais alto) ao campo magnético aplicado e começam a processar (Solomons e Fryhle, 2005). Aplicando uma radiação electromagnética de frequência de rádio (RF) (60-700 MHz), os núcleos atómicos de hidrogénio ( $^1\text{H}$ ) e carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ) podem absorver a energia de frequência igual à do movimento de precessão passando do estado de energia mais baixa para o estado de energia mais elevada. Este processo de absorção resulta em picos observados em um espectro de RMN (Solomons e Fryhle, 2005, McMurry, 2008).

Um espectro de RMN é um gráfico de deslocamento químico ( $\delta$  em partes por milhão – ppm) versus magnitude do sinal que oferece a informação sobre o ambiente químico que rodeia cada protão (através da ressonância magnética nuclear do protão - RMN- $^1\text{H}$ ) ou cada núcleo de carbono, se se tratar da ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN- $^{13}\text{C}$ ). O deslocamento químico de um núcleo, quer de  $^1\text{H}$  como de  $^{13}\text{C}$ , é determinado pelo ambiente electrónico que rodeia esse núcleo e os factores que o afectam, por exemplo, solvente, insaturação, pontes de hidrogénio, e quanto maior for o seu valor menor é o campo magnético aplicado (isto é, menor é a blindagem electrónica em volta do núcleo). Os deslocamentos químicos vão de 0-15 ppm na RMN- $^1\text{H}$  e de 0-200 ppm em RMN- $^{13}\text{C}$  (Moore e Langley, 2010). Para definir a posição numa absorção, o espectro é geralmente calibrado com o tetrametilsilano (TMS),  $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ , que, convencionalmente, tem um deslocamento químico igual a 0 ppm (Gokel, 2004, Solomons e Fryhle, 2005). Nestes casos, usualmente utiliza-se o clorofórmio deuterado,

$\text{CDCl}_3$ , ou tetracloreto de carbono,  $\text{CCl}_4$ , metanol deuterado,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , como solventes (Gokel, 2004).

Qualquer composto orgânico que contém um ou mais átomos, com um momento magnético diferente de zero é potencialmente detectável por RMN e, uma vez que os isótopos com os momentos magnéticos diferentes de zero incluem  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  e  $^{31}\text{P}$ , todas as moléculas biologicamente importantes, têm pelo menos, um sinal de RMN. Estes sinais são caracterizados pela sua frequência (deslocamento químico) a qual reflecte o ambiente do núcleo detectado (Krishnan, *et al.*, 2004)..

A versatilidade da técnica de RMN como uma ferramenta para análise de compostos orgânicos pode ser demonstrada em pelo menos dois modos. Em primeiro lugar, RMN é não destrutivo, e espectros podem ser registados a partir de suspensões de células e tecidos, bem como a partir de extractos e metabólitos purificados (Ratcliffe, 1994, Ratcliffe e Shachar-Hill, 2001). Em segundo lugar, RMN oferece uma variedade de esquemas de detecção que podem ser adaptados à natureza da amostra e do problema metabólico que está a ser tratada (Ratcliffe *et al.*, 2001).

O mais sensível isótopo de ocorrência comum com momento magnético diferente de zero é  $^1\text{H}$  e este é, inevitavelmente, o núcleo preferido para impressão digital de muitos metabólitos e aplicações de perfis de RMN. Portanto, o RMN- $^1\text{H}$  pode detectar normalmente 20-40 metabólitos num extracto não fraccionado (Krishnan *et al.*, 2005).

Assim, os espectros de RMN muitas vezes contêm uma variedade de informações sobre a identidade das moléculas da amostra, e é nesta base que RMN pode ser utilizada para identificar e quantificar os metabólitos nas amostras de origem biológica (Krishnan *et al.*, 2005).

### **III. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1. Colheita de Amostras**

Com base nas doenças infecciosas que são tratadas por estas plantas e segundo a sua ocorrência, as amostras (folhas e/ou raízes) foram recolhidas em três Distritos da Província de Maputo entre Abril-Maio de 2012. Neste caso, as folhas de *G. heterophylla* foram colhidas em Magude; folhas e raízes de *S. kraussii* (Matutuine); folhas de *B. discolor* e *T. sericea* (Moamba). A identificação botânica foi feita no Instituto de Investigação Agrária de Moçambique (IIAM). A secagem foi feita numa sombra a temperatura ambiente.

#### **3.2. Métodos gerais**

Para o registo dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear foi usado um espectrómetro de 400 MHz para o  $^1\text{H}$  (Bruker Ultrashield 400 Magnet), usando como solventes  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  e  $\text{DCM-d}_2$  (Esta parte foi feita na Universidade de Lund, Suécia). O padrão usado foi o Tetrametilsilano. Para o TLC foram usadas placas (Merck) de sílica gel 60 F<sub>254</sub>. Os solventes usados para a extração foram *n*-hexano (Merck), diclorometano (Rochelle Chemical, assay 99,5%), acetato de etilo (Sigma Aldrich, assay, 99,5%) e etanol (BDH, 99,7-100%).

#### **3.3. Reagentes e solventes**

A tabela 1 mostra os reagentes e solventes usados para extração e os testes fitoquímicos.

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

**Tabela 1:** Reagentes e solventes

Reagentes e solventes orgânicos-Grau de pureza	Reagentes inorgânicos
<i>n</i> -Hexano -95%	Solução aquosa de cloreto férrico 5%
Anidrido acético - $\geq 98,5\%$	Solução alcoólica cloreto férrico 1%
Clorofórmio - $\geq 99,8\%$	Solução de ácido clorídrico 10%
Acetato de etil -99,5%	Solução de ácido sulfúrico 10%
Etanol absoluto 99,7-100%	Solução de amónia 10%
Metanol - $\geq 99,8\%$	Solução aquosa de cloreto de sódio 10%
Tolueno - $\geq 99,9\%$	Solução aquosa de hidróxido de sódio 10%
Diclorometano - 99,5%	Reagente de Wagner (I <sub>2</sub> /KI)
Solução saturada de ácido pícrico	Reagente de Dragendorff (K[BiI <sub>4</sub> ])
Solução de gelatina a 1%	Reagente de Mayer (K[HgI <sub>4</sub> ])
Benzeno - $\geq 99,8\%$	Ácido sulfúrico concentrado, 98%
Vanilina -99%	Água destilada
Solução aquosa de acetato de chumbo 10%	Ácido clorídrico , 37%

### 3.4. Procedimentos

#### 3.4.1. Extracção por maceração sequencial

As amostras secas (50 g) e moídas foram maceradas sequencialmente usando solventes de polaridade crescente (*n*-hexano, diclorometano, acetato de etilo e uma mistura hidroalcoólica 300 mL cada durante 48 horas (Luo *et al.*, 2011). A figura 19 mostra o fluxograma do trabalho realizado para a extracção.



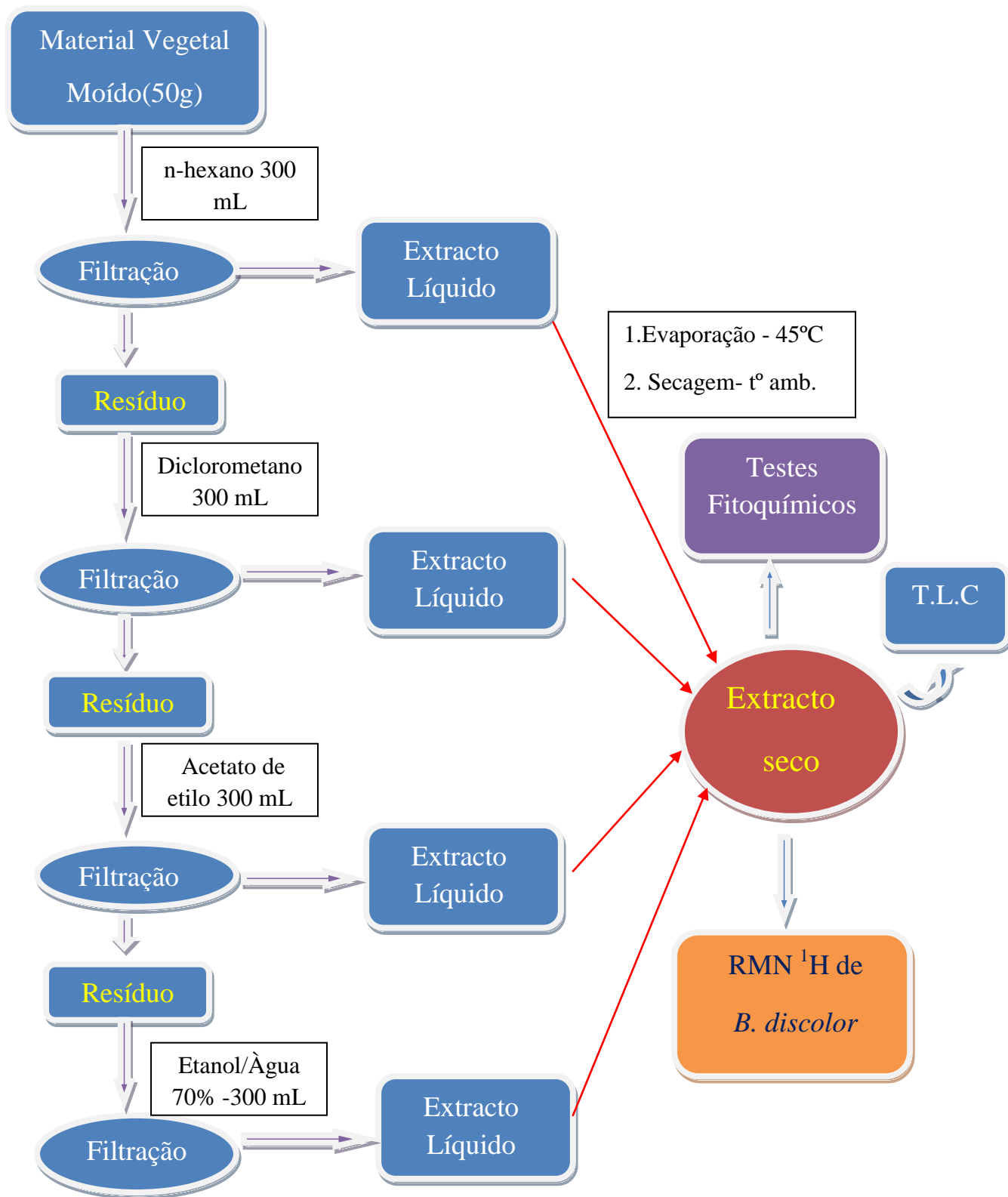


Figura 19- Fluxograma experimental

### **3.4.2. Preparação das soluções para os testes fitoquímicos**

A preparação das soluções para os testes fitoquímicos foi feita com o intuito de análise qualitativa, isto é, para saber se existe ou não uma classe de metabólitos secundários relacionados com o reagente usado.

Soluções preparadas para os testes

- ➔ Solução aquosa de cloreto férrico a 5% (p/v)  $\text{FeCl}_3$  em 100 mL
- ➔ Solução alcoólica de cloreto férrico a 1% (p/v)  $\text{FeCl}_3$  em 100 mL
- ➔ Gelatina a 1% (p/v) em 50 mL
- ➔ Solução aquosa de NaCl a 10% em 50 mL
- ➔ Solução aquosa de NaOH a 10% em 100 mL
- ➔ Solução aquosa de acetato de Chumbo [ $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ] a 10% em 100 mL
- ➔ Solução aquosa de  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 10% em 100 mL
- ➔ Solução aquosa de HCl a 10% em 100 mL
- ➔ Solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 10% em 100 mL
- ➔ Solução saturada de ácido pícrico-Reagente de Hager em 50 mL
- ➔ Reagente de Wagner em 100 mL
- ➔ Reagente de Mayer em 100 mL

### **3.4.3. Cromatografia em camada fina**

Na análise cromatográfica dos extractos secos, utilizou-se placas cromatográficas de sílica gel 60 Merck  $\text{F}_{254}$  e foram secadas em estufa cerca de 30 min a  $40^\circ\text{C}$ . Os extractos secos foram dissolvidos em solventes específicos. As placas foram visualizadas em UV a 254 nm, em solução de vanilina e reagentes específicos para a confirmação da presença dos fitoconstituintes em cada extracto, como mostra a tabela 2.

O método usado para a escolha do sistema de eluição foi com base no sistema que melhor separava as manchas, isto é, fez-se várias tentativas de sistema de solventes (fase móvel) para a eluição dos extractos. Neste caso, não se usou nenhuma referência bibliográfica.

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas medicinais usadas na Província de Maputo*

---

**Tabela 2:** Fases móveis e reagentes usados para a análise cromatográfica dos extractos.

Extracto	Solvente usado para preparação da solução amostra	Fase móvel	Reagente específico usado para confirmação
<i>n</i> -Hexano	<i>n</i> -Hexano	Tolueno e acetato de etilo (97:3 v/v)	Ácido sulfúrico a 98% ; aquecimento a 100°C
Diclorometano	Clorofórmio	<i>n</i> -hexano e acetato de etilo (0,5:1,5v/v)	Ácido sulfúrico a 98% ; aquecimento a 100°C
Acetato de etilo	Acetato de etilo	<i>n</i> -hexano, clorofórmio e etanol (1,0:1,5:1,0 v/v)	Solução alcoólica de FeCl <sub>3</sub>
Hidroalcoólico	Metanol	tolueno, acetato de etilo e água destilada (2,0:1,5:1,0 v/v)	Solução alcoólica de FeCl <sub>3</sub>

#### IV. RESULTADOS

##### 4.1. EXTRACÇÃO DOS FITOCONSTITUINTES

A tabela 3 mostra os pesos do material vegetal seco e moído das plantas, as massas e as percentagens dos extractos brutos secos obtidos pelo método de maceração sequencial por ordem crescente de polaridade dos solventes.

**Tabela 3:** Resultados da extracção- massas e percentagem

Solvente	Plantas e pesos do extracto seco				
	<i>B. discolor</i> (Folhas) (50,09g)	<i>G.heterophylla</i> (folhas) (50,38g)	<i>T.sericea</i> (Folhas) (50,13g)	<i>S. kraussii</i>	
				Folhas(50,07g)	Raízes(50,55g)
<i>n</i> -Hexano	1,88g (3,75%)	1,56g (3,09%)	1,04g (2,07%)	1,11g (2,22%)	1,07g (2,12%)
Diclorometano	1,78g (3,55%)	1,07g (2,12%)	1,10g (2,19%)	2,01g (4,01%)	1,44g (2,85%)
Acetato de etilo	1,43g (2,86%)	0,30g (0,6%)	0,4g (0,8%)	0,30g (0,6%)	0,96g (1,90%)
Hidroalcoólico	2,06g (4,11%)	1,60g (3,18%)	1,99g (3,97%)	1,62g (3,24%)	1,02g (2,02%)

##### 4.2. TESTES FITOQUÍMICOS

As tabelas 4, 5, 6, 7 e 8 apresentam os resultados do rastreio fitoquímico dos extractos de *B. discolor*, *G. heterophylla*, *T. sericea* e *S. kraussi*

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

**Tabela 4:** Resultados de testes fitoquímicos de extractos de *B. discolor* (folhas)

Classe de metabolitos secundários	Teste fitoquímico	Extracto			
		<i>n</i> -Hexano	Diclorometano	Acetato de etilo	Hidroalcoólica
<b>Alcalóides</b>	De Mayer	(-)	(-)	(-)	(+)
	De Wagner	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Dragendroff	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Hager	(-)	(-)	(-)	(+)
<b>Glicósidos</b>	De Borntrager	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>Fitosteróis</b>	Salkowski (Tritepenos)	(+++)	(+++)	(+)	(-)
	Libermann-Burchard(Esteróide)	(+++)	(+++)	(+)	(-)
<b>Fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	(-)	(-)	(-)	(+++)
<b>Taninos</b>	Gelatina + NaCl	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>Flavonóides</b>	Reagente alcalino	(-)	(-)	(+)	(+)
	Acetato de Pb	(-)	(-)	(-)	(+++)
<b>Saponinas</b>	De espuma	(-)	(-)	(-)	(+)

**Legenda :** (+++) - Teste positivo com maior concentração

(+)- Teste positivo com menor concentração

(-) - Teste negativo

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

**Tabela 5:** Resultados de testes fitoquímicos de extractos *G. heterophylla* (Folhas).

Classe de metabólitos secundários	Teste fitoquímico	Extracto			
		<i>n</i> -Hexano	Diclorometano	Acetato de Etilo	Hidroalcolico
<b>Alcalóides</b>	De Mayer	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Wagner	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Dragendroff	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Hager	(-)	(-)	(+)	(+)
<b>Glicósidos</b>	De Borotrager	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>Fitosteróis</b>	Salkowski(Triterpenos )	(+)	(+)	(+)	(-)
	Libermann-Burchard (Esteróides)	(+++)	(+++)	(+)	(-)
<b>Fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	(-)	(+)	(+++)	(+++)
<b>Taninos</b>	Gelatina + NaCl	(-)	(-)	(+)	(-)
<b>Flavonóides</b>	Reagente alcalino	(-)	(-)	(-)	(+++)
	Acetato de Pb	(-)	(-)	(-)	(+++)
<b>Saponinas</b>	De espuma	(-)	(-)	(-)	(+++)

**Tabela 6:** Resultados de testes fitoquímicos de extractos de *T. sericea* (Folhas)

Classe de metabólitos secundários	Teste fitoquímico	Extracto			
		<i>n</i> - hexano	Diclorometano	Acetato de etilo	Hidroalcolico
<b>Alcalóides</b>	De Mayer	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Wagner	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Dragendroff	(-)	(-)	(+)	(-)
	De Hager	(-)	(-)	(-)	(+)
<b>Glicósidos</b>	De Borotrager	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>Fitosteróis</b>	Salkowski(Triterp)	(+++)	(+++)	(+)	(-)
	Libermann-Burchard (est.)	(+++)	(+++)	(+)	(-)
<b>Fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	(-)	(-)	(-)	(+++)
<b>Taninos</b>	Gelatina + NaCl	(-)	(-)	(-)	(+)
<b>Flavonóides</b>	Reagente alcalino	(-)	(-)	(+)	(+++)
	Acetato de Pb	(-)	(-)	(-)	(+++)
<b>Saponinas</b>	De espuma	(-)	(-)	(-)	(+)

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

**Tabela 7:** Resultados de testes fitoquímicos de extractos de *S. kraussii* (Folhas)

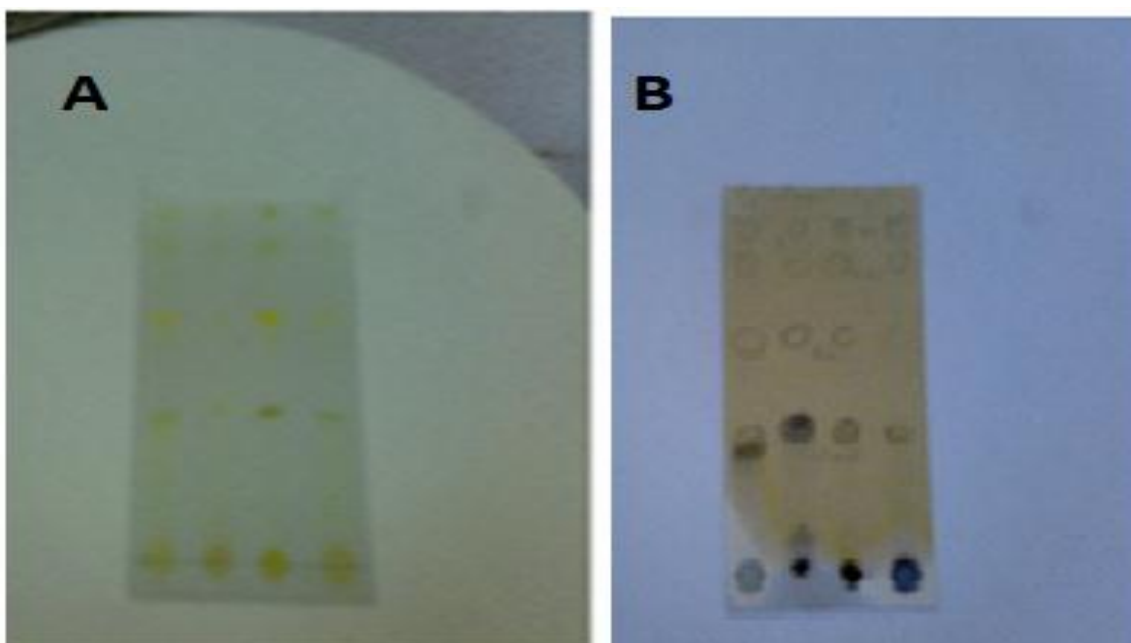
Classe de metabólitos secundários	Teste fitoquímico	Extracto			
		<i>n</i> -hexano	Diclorometano	Acetato de etilo	Hidroalcoólico
<b>Alcalóides</b>	De Mayer	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Wagner	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Dragendroff	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Hager	(-)	(-)	(+)	(+)
<b>Glicósidos</b>	De Borntrager	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>Fitosteróis</b>	Salkowski (Triterpenos)	(+)	(+++)	(+)	(-)
	Libermann-Burchard(est.)	(+)	(+++)	(+++)	(-)
<b>Fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	(-)	(-)	(-)	(+++)
<b>Taninos</b>	Gelatina + NaCl	(-)	(-)	(-)	(+)
<b>Flavonóides</b>	Reagente alcalino	(-)	(-)	(-)	(+)
	Acetato de Pb	(-)	(-)	(-)	(+++)
<b>Saponinas</b>	De espuma	(-)	(-)	(-)	(+++)

**Tabela 8:** Resultados de testes fitoquímicos de extractos de *S. kraussii* (Raízes)

Classe de metabólitos secundários	Teste fitoquímico	Extracto			
		<i>n</i> -Hexano	Diclorometano	Acetato de etilo	Hidroalcoólico
<b>Alcalóides</b>	De Mayer	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Wagner	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Dragendroff	(-)	(-)	(-)	(-)
	De Hager	(-)	(-)	(+)	(+)
<b>Glicósidos</b>	De Borntrager	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>Fitosteróis</b>	Salkowski (triterpenos)	(+++)	(+++)	(+)	(-)
	Libermann-Burchard(Esteróides)	(+++)	(+++)	(-)	(-)
<b>Fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	(-)	(-)	(-)	(+++)
<b>Taninos</b>	Gelatina + NaCl	(-)	(-)	(-)	(-)
<b>Flavonóides</b>	Reagente alcalino	(-)	(-)	(-)	(+)
	Acetato de Pb	(-)	(-)	(-)	(+++)
<b>Saponinas</b>	De espuma	(-)	(-)	(-)	(-)

### 4.3. RESULTADOS CROMATOGRÁFICOS

A figura 20 mostra o perfil cromatográfico dos extractos hidroalcoólicos das plantas (sistema de solventes: tolueno, acetato de etilo e água destilada (2,0:1,5:1,0 v/v). Aplicação da amostra da esquerda para direita é: *B. discolor*, *T. sericea*, *S. kraussii* e *G. heterophylla*. Os cromatogramas de TLC dos extractos de *n*-hexano, diclorometano e acetato de etilo estão no anexo 1.



**Figura 20**-Cromatogramas de extractos hidroalcoólicos

Legenda: **A**-Cromatograma antes da revelação; **B**-Cromatograma revelado com a solução alcoólica de  $\text{FeCl}_3$ . Foto: Viriato Virgílio, 09/08/2012

Os factores de retenção ( $R_f$ ) das manchas do cromatograma **A** acima apresentado estão mostrados na tabela 5.

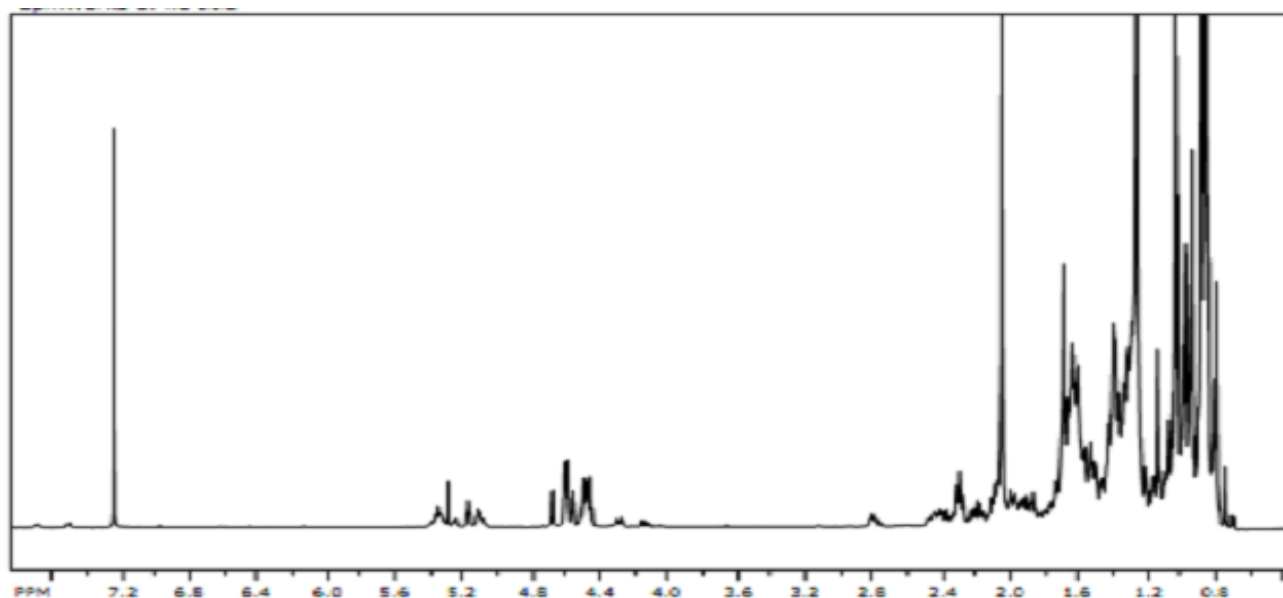


**Tabela 9:** Factores de retenção dos extractos hidroalcoólicos das plantas (antes da revelação)

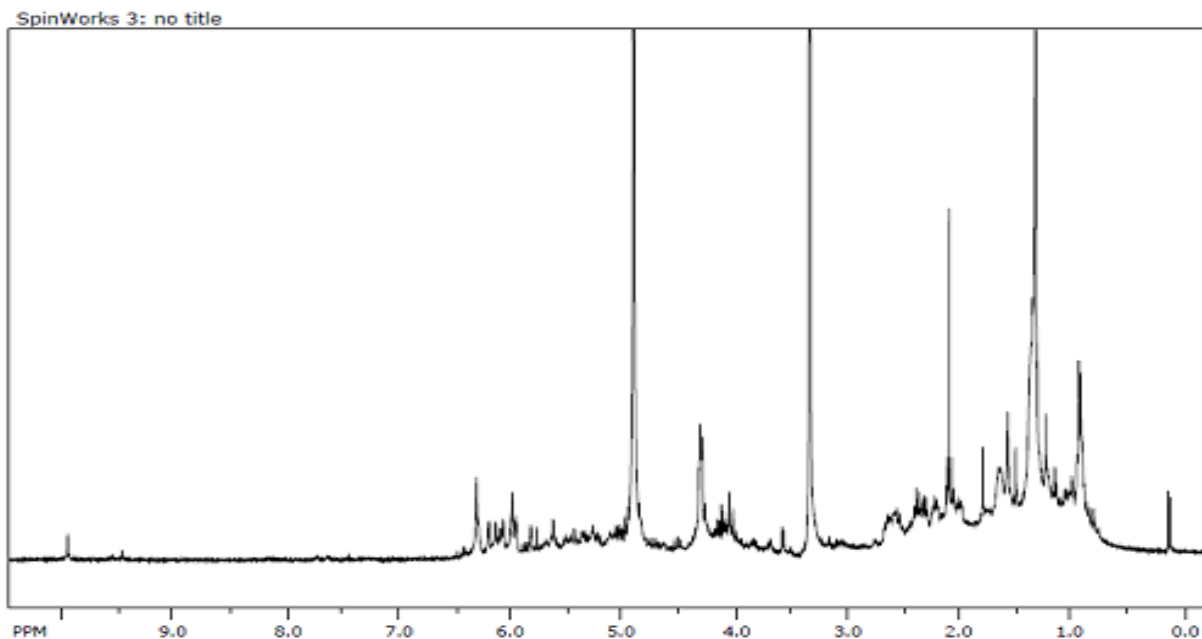
Cor da mancha	Plantas e Factores de retenção das manchas (Rf)			
	<i>B. discolor</i>	<i>G.heterophylla</i>	<i>T.sericea</i>	<i>S. kraussii</i>
Esverdeada	0,35	0,38	0,4	0,38
Amarela	0,63	0,67	0,64	0,65
Amarela-esverdeada	0,85	0,83	0,85	0,84
Amarela-esverdeada	0,95	0,95	0,95	0,92

#### 4.4. ESPECTROS DE RMN-<sup>1</sup>H DE EXTRACTOS DE *B. discolor*

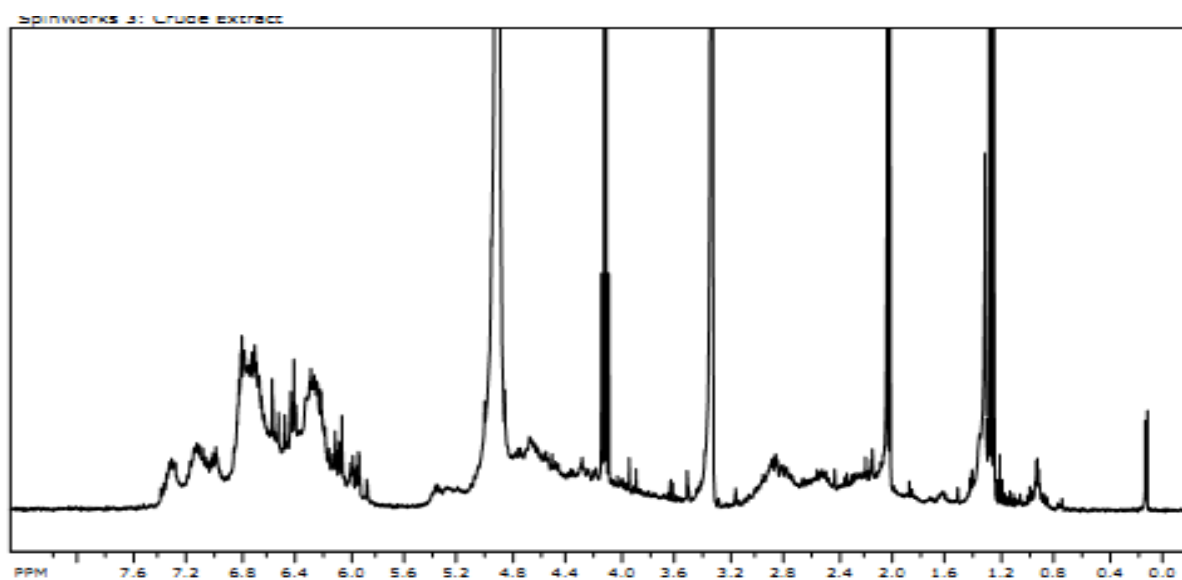
As figuras que se seguem correspondem aos espectros de RMN-<sup>1</sup>H de extractos brutos de DCM, EtOAc e hidroalcoólico de *B. discolor* registados a 400MHz em CDCl<sub>3</sub>, CD<sub>3</sub>OD, CD<sub>3</sub>OD e DCM-d<sub>2</sub>, respectivamente. Os espectros foram registados na Universidade de Lund, Suécia.



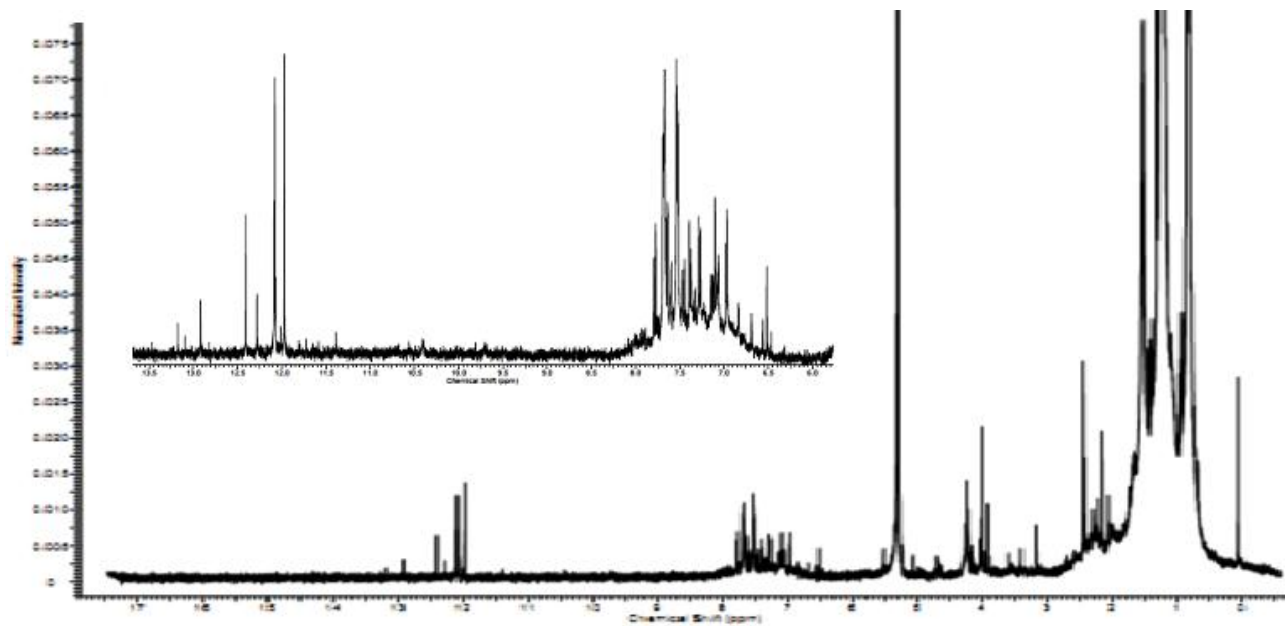
**Figura 21-** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H do extracto de DCM de *B. discolor* (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)



**Figura 22-** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H do extracto de acetato de etilo de *B. discolor* (400MHz, CD<sub>3</sub>OD)



**Figura 23-** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H do extracto hidroalcoólico de *B. discolor* .(400MHz, CD<sub>3</sub>OD)



**Figura 24-** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H do extracto hidroalcoólico pré-purificado das folhas da *B. discolor* (400 MHz, DCM-d<sub>2</sub>)

## **V. DISCUSSÃO E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**

### **5.1. OBTENÇÃO DOS EXTRACTOS**

O processo de preparação e obtenção dos extractos brutos inicia com a secagem do material vegetal, que tem por finalidade a retirada da água e, com isso, impedir reacções de hidrólise dos fitoconstituintes e de crescimento microbiano. A etapa da moagem tem por finalidade reduzir, mecanicamente, o material vegetal a fragmentos de pequenas dimensões para o aumento da área de contacto entre o material sólido e o líquido extractor tornando mais eficiente a operação na etapa da extracção (Tiwari *et al.*, 2011).

A extracção por maceração sequencial feita nas plantas em estudo, teve maior percentagem dos extractos secos em extracto hidroetanólico para *B. discolor* (4,11%), *G. heterophylla* (3,18%), *T. sericea* (3,97%) e extracto de diclorometano para *S. kraussii* (4,01% folhas) e (2,85% raízes), respectivamente. Ainda neste processo, obteve-se menores percentagens dos extractos secos para o solvente acetato de etilo para todas as plantas estudadas como mostra a tabela 3. Usou-se este processo pois ele economiza mais o solvente, visto que quando se prepara primeiro um extracto bruto usando um solvente polar como a mistura hidroalcoólica existe uma necessidade de se fraccionar o extracto usando vários solventes. Daí que o volume do solvente a ser usado vai depender da quantidade da amostra e dos compostos a serem extraídos.

Considerando os solventes utilizados nas extracções das diferentes plantas, a mistura hidroalcoólica é a que melhor dissolve, à temperatura ambiente, os extractos. Porém o tempo de maceração pode variar em função da rigidez do material e do tamanho das suas partículas proporcionando assim um processo mais eficiente para determinados órgãos vegetais (Pachú, 2007).

### **5.2. TESTES FITOQUÍMICOS**

A investigação fitoquímica tem como objectivo prever as classes dos componentes químicos (metabólitos secundários) que se encontram num determinado extracto de uma certa planta. Caso o interesse esteja restrito a uma classe específica de constituintes ou substâncias responsáveis por uma certa actividade biológica, a investigação deverá ser direccionada para o isolamento e a elucidação estrutural das mesmas (Filho e Yunes, 1998).

Embora uma planta possa conter centenas de metabólitos secundários, apenas os compostos presentes em maior concentração são geralmente isolados e estudados pela fitoquímica clássica (Filho e Yunes, 1998). Ou se estiverem em menores concentrações deve-se trabalhar com grandes quantidades de amostra ou usar métodos mais sofisticados como HPLC ou LC-MS entre outros.

De acordo com os resultados obtidos na triagem fitoquímica das plantas, eles mostram a presença de muitas classes de compostos de metabólitos secundários em que a maioria deles, de acordo com a literatura possuem actividade antimicrobiana, antiinflamatória e mais outras actividades biológicas.

Para além dos ensaios fitoquímicos clássicos, foi realizada uma análise espectroscópica para *B. discolor*, isto porque ainda é escassa a informação fitoquímica desta espécie, ou seja, ainda não foi amplamente estudada a fitoquímica desta planta. Com base na revisão bibliográfica realizada, só foi possível encontrar um e único composto (6), que até então foi isolado e publicado, diferentemente das outras três plantas. No entanto, o seu uso medicinal sugere que nesta planta há uma probabilidade de existirem metabólitos secundários com interesse farmacológico. Por isso usou-se o RMN-<sup>1</sup>H para confrontar os ensaios fitoquímicos o que posteriormente poderá servir como ponto de suporte para próximos estudos desta planta.

### **Alcalóides**

Os alcalóides são um grupo de metabólitos secundários com actividade antimicrobiana. De acordo com as Tabelas 4, 5, 6, 7 e 8, os alcalóides estão presentes em pequenas quantidades nos extractos de acetato de etilo e hidroalcoólico de todas as plantas estudadas, com a excepção do extracto de acetato de etilo das folhas de *B. discolor*. Estes resultados (pequenas quantidades) podem dever-se ao facto de que os alcalóides possuem uma diversidade estrutural, daí que não exista apenas um único método para a sua extracção e na maioria dos casos encontram-se em forma de sais orgânicos, portanto seria necessário usar um outro procedimento diferente do que foi usado neste trabalho. Dados da literatura confirmam a presença de alguns alcalóides nas folhas de *G. heterophylla*. Khaled *et al.*, (2001) isolaram a partir do extracto de etanol dos ramos

o alcalóide dihidroagarofurano. Também, durante o mesmo estudo, foram isolados flavonóides (catequinas) e triterpenos pentacíclicos.

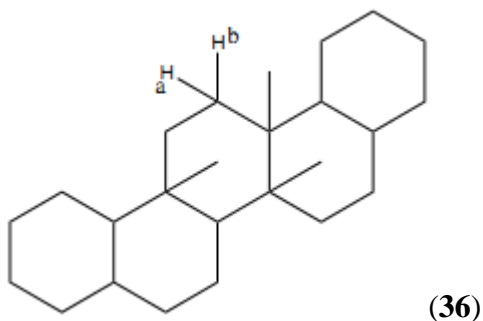
### **Glicósidos**

Esta classe pertence aos compostos orgânicos nos quais um açúcar está ligado a uma molécula não-carbohidratada. Com base no ensaio de Borntrager não foi possível detectar os mesmos em todos os extractos analisados. Entretanto, de acordo com a revisão bibliográfica feita, já foram isolados alguns glicósidos na *G. Heterophylla* (Da Silva *et al.*, (2011)) e *T. Sericea* (estilbeno glicósidos) (Nkoble, 2009, Monjane, 2010). Este teste negativo pode dever-se pelo facto de que o método usado para a sua identificação não era o conveniente. Outro factor que pode estar associado a este facto é que o ensaio de Borntrager é referente a um tipo de glicósidos, glicósidos de antranol, portanto não se pode descartar a possibilidade de existência de outros tipos de glicósidos. Por isso, usando a espectroscopia de RMN-<sup>1</sup>H foi possível detectar-se alguns compostos glicosídicos nos extractos de DCM, EtOAc e hidroalcoólico das folhas da *B. discolor*, tal como ilustram as figuras 21, 22, 23 e 24. Tal facto pode ser confirmado pelo aparecimento dos sinais entre  $\delta$  3.5 a 5 ppm referente aos CH-OH dos glicósidos ou carbohidratos e que estão bem evidenciados nos espectros dos extractos de EtOAc e hidroalcoólico. Este facto mostra que os testes fitoquímicos apenas, não são sempre suficientes para excluir a existência de certos metabólitos secundários, daí a necessidade de uso de análise instrumental que confere maior precisão na análise de constituintes em menores concentrações.

### **Terpenos**

Os terpenos são compostos naturais com largo espectro de actividade biológica. De acordo com o ensaio de Salkowski, os triterpenos estão presentes nos extractos de *n*-Hexano, DCM e EtOAc de todas as plantas analisadas. Resultados paralelos a estes estão relatados na literatura onde foram isolados triterpenos pentacíclicos nos ramos de *G. heterophylla* (Khaled *et al.*, 2001), derivados de triterpenos, os metide-quinonas nas raízes de *S. kraussii* (Figueiredo *et al.*, 1998) e uma lactona sesquiterpénica nos ramos de *B. discolor* DC (Zdero e Bohlamann, 1987). Estudos feitos de uma planta do género *Brachylaena* (*B. ramiflora* var.), resultaram no isolamento dos compostos (7) e derivados de  $\alpha$ -amarina,  $\beta$ -amarina e lupeol (Chaturvedula *et al.*, 2002). Dado

que a maioria dos terpenos possuem  $^1\text{H}$  alifáticos, foi possível serem detectados por RMN, pois o aparecimento de muitos singletos entre  $\delta$  0.7 - 1.3 ppm mostra a presença dos  $-\text{CH}_3$  típicos dos terpenos, tal como mostra a figura 21. Esta evidência pode ser confirmada pela presença de sinais entre  $\delta$  1.8 a 2.5 ppm dos  $-\text{CH}$  (dos  $-\text{CH}_2$ ) ligados a um carbono quiral, tal como mostra a figura 25.



**Figura 25** -Estrutura de esqueleto de terpenos (Triterpeno)

### **Esteróides**

Os esteróides são metabólitos secundários com actividades antiinflamatórias. Com base nos ensaios com o reagente de Libermann-Burchard, estes compostos foram identificados em todas as plantas nos extractos de *n*-Hexano, DCM e EtOAc, excepto o extracto de acetato de etilo das raízes de *S. kraussii*. Dados da literatura indicam a presença de esteróides nas folhas de *T. sericea*. Nkobile *et al.*, 2009, isolaram de *T. sericea* quatro compostos puros indicados pelas estruturas (8), (9), (10) e (11). Tal como os terpenos, o seu esqueleto principal é caracterizado por hidrocarbonetos saturados, razão pela qual no presente estudo os espectros de RMN- $^1\text{H}$  dos extractos de DCM (Figura 21) e EtOAc (Figura 22) de *B. discolor* apresentam deslocamentos químicos aproximados de hidrocarbonetos saturados de  $\delta$  0,8 - 2,8ppm (C-H).

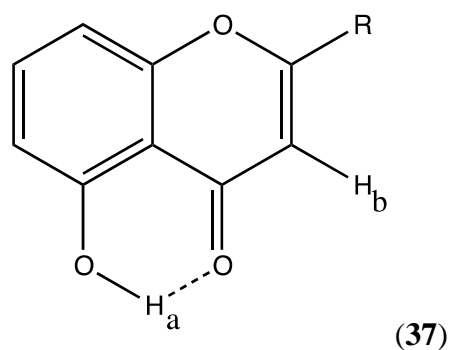
Tanto o espectro quanto os testes fitoquímicos, confirmam a presença dos esteróides, também detectados por TLC nos extractos de DCM e EtOAc. A maior concentração de terpenos e esteróides nos extractos de *n*-hexano e DCM e menor concentração em EtOAc, pode-se explicar pelo facto de estas classes possuírem agliconas pouco polares, o que facilita a sua extracção por solventes apolares.

### **Compostos Fenólicos**

Compostos fenólicos englobam uma diversidade de metabólitos secundários com diferente actividade biológica. Esses metabólitos podem ser: taninos, flavonóides, benzoquinonas, cumarinas, etc. De acordo com as tabelas 4, 5, 6, 7 e 8, os compostos fenólicos estão presentes em maior concentração nos extractos hidroalcoólicos de todas as plantas e extracto de acetato de etilo de *G. heterophylla* e, também, em menor concentração no extracto de DCM de *G. heterophylla*. A maior concentração dos compostos fenólicos nos extractos hidroalcoólicos está associada com facto de serem muito polares (presença de -OH) facilitando, assim, a sua extracção com este solvente. A literatura relata a presença de compostos fenólicos em *G. heterophylla* (Khaled *et al*, 2001), *T. sericea* (Nkobole, 2009; Edeen *et al*, 2006). Com o RMN-<sup>1</sup>H foi possível detectar compostos desta classe nos extractos de EtOAc e hidroalcoólico de *B. discolor* (Figuras 22 e 23, respectivamente), mas em maiores quantidades no último extracto. A sua presença pode ser confirmada pelo aparecimento de picos na região de deslocamento químico de  $\delta$  6,0-7,4 ppm referentes aos protões aromáticos (Ar-H). Analisando as figuras acima mencionadas pode-se ver através do aparecimento de sinais difusos entre  $\delta$  4,8-6,0 ppm que eles podem ser derivados de glicósidos. Para confirmar a sua presença, foi pré-purificado (partição com butanol-1) o extracto hidroalcoólico e registou-se o espectro em DCM-d<sub>2</sub>, tal como mostra a figura 24.

Da figura 24, pode-se confirmar a presença dos compostos fenólicos devido ao aparecimento de sinais entre  $\delta$  11.4 a 12.2 ppm (singletos) típicos dos OH (a) aromáticos e envolvidos em pontes de hidrogénio intramolecular, também pela presença dos protões aromáticos ( $\delta$  6.45 a 7.8 ppm), tal como exemplifica a estrutura da figura 26. A presença de sinais entre 3,2 a 4,6 ppm e 0,6 -2,5 ppm pode dever-se a existência de CH-OH de açúcares (Glicósidos) e protões de carbonos saturados ligados com os anéis aromáticos, respectivamente .





**Figura 26-** Estrutura de uma aglicona de um flavonóide.

No entanto, os compostos fenólicos detectados por RMN-<sup>1</sup>H, também foram identificados pelos ensaios fitoquímicos preliminares e TLC por revelação com a solução alcoólica de FeCl<sub>3</sub>.

### **Taninos**

Os taninos são compostos polifenólicos com alto peso molecular com actividade antimicrobial. O ensaio de gelatina confirmou a presença destes compostos em pequena concentração nos extractos de EtOAc de *G.heterophylla* e hidroalcoólicos de *T. sericea* e *S. kraussii* (folhas). O facto de eles estarem em pequenas concentrações pode-se dever ao método de extracção usado, pois não existe apenas um método para a extracção de taninos a partir de plantas. Por exemplo, usando a acetona como solvente de extracção pode-se aumentar a quantidade dos taninos a extrair. Este solvente inibe as interacções durante o processo de extracção entre os taninos e as proteínas ou mesmo a quebra pontes de hidrogénio de alguns complexos formados entre taninos e proteínas. Dos extractos estudados apenas foi reportada a presença de taninos na casca de *G. heterophylla* (Githens, 1949).

### **Flavonóides**

Os flavonóides constituem um grupo mais extenso e de maior diversidade dos compostos fenólicos (Wermerris e Nicholson, 2009) com um largo espectro de actividade biológica. De acordo com os resultados dos ensaios fitoquímicos das tabelas 4, 5, 6, 7 e 8, os flavonóides estão presentes em maior concentração nos extractos hidroalcoólicos de todas as plantas e menor concentração nos extractos de EtOAc de *B. discolor* e *T. sericea*. Estudos feitos sobre estas plantas, indicam a ocorrência desta classe em *G. heterophylla* (Khaled *et al.*, 2001) e *T. sericea*

(Nkobile, 2009). Os picos da região de  $\delta$  6.0 - 7.2 ppm (figura 23) e de  $\delta$  6.5 a 7.7 ppm ( figura 24), mostram a presença de flavonóides glicosidados. Tal facto pode ser comparado com o espectro da figura 5 do anexo 3 que apresenta picos de flavonóides glicosídicos nesta região.

### **Saponinas**

Saponinas ocorrem nas plantas em forma de glicósidos e têm propriedades tensoactivas fortes e como detergentes naturais. O ensaio de espuma realizado confirmou a presença destes compostos nos extractos hidroalcoólicos de todas as plantas, sendo em maior concentração de *G. heterophylla* e *S. kraussii* (folhas) e menor concentração em *B. discolor* e *T. sericea*. No entanto, não foi possível identificar esta classe nas raízes de *S. kraussii*.

Em geral, a avaliação fitoquímica mostrou que:

As espécies *G. heterophylla* e *S. kraussii*, pertencentes à família Celastraceae apresentam semelhanças nas suas propriedades fitoquímicas como sugerem os ensaios clássicos realizados. Isto é, as classes detectadas em *G. heterophylla* também foram identificadas em *S. kraussii*.

Em todas as plantas foram detectados os terpenóides, fenóis, flavonóides, saponinas, esteróides, taninos e alcalóides, com excepção das raízes de *S. kraussii* onde não foi detectada a presença de taninos e de saponinas, respectivamente.

Os resultados cromatográficos, mostram de alguma forma que existe uma probabilidade de se encontrar compostos idênticos, se não iguais nas quatro plantas, visto que o perfil (factores de retenção) e colorações das manchas no cromatograma do mesmo solvente são próximos e iguais, respectivamente. Esta probabilidade pode ser sustentada pelo facto de as condições de extracção ocorrerem de igual modo para todas as plantas.

Na revelação por reagentes específicos com objectivo de se confrontar a presença ou não de algumas classes identificadas pelos ensaios fitoquímicos, confirmou-se a presença de triterpenos e fitosteróis nos extractos de *n*-hexano e DCM e compostos fenólicos em geral para os extractos de EtOAc e hidroetanólico.

## VI. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no trabalho sobre o estudo fitoquímico de plantas medicinais, permite concluir o seguinte:

- ➔ Foi possível realizar a extração dos fitoconstituintes das quatro plantas pelo método de maceração sequencial por ordem crescente de polaridade dos solventes;
- ➔ As classes dos metabólitos secundários presentes nas quatro espécies de plantas identificadas através dos testes fitoquímicos são: alcalóides, esteróides, terpenóides, compostos fenólicos e saponinas e não foram identificados os glicósidos;
- ➔ Identificou-se taninos nas folhas de *S. kraussii*, *G. heterophylla* e *T. sericea*;
- ➔ Por revelação com reagentes específicos, a TLC confirmou a presença de terpenos e esteróides nos extractos de *n*-hexano e DCM e compostos fenólicos em geral para os extractos de EtOAc e hidroetanólico, respectivamente;
- ➔ Identificou-se a classe de glicósidos por RMN-<sup>1</sup>H nos extractos brutos de DCM, EtOAc e hidroalcoólico de *B. discolor*, algo não registado nos ensaios fitoquímicos clássicos;
- ➔ Foram identificados por RMN-<sup>1</sup>H terpenos e esteróides nos extractos de DCM e EtOAc e compostos fenólicos em geral em extractos de EtOAc e hidroalcoólico de *B. discolor*;
- ➔ Nas folhas e raízes de *S. kraussii*, foram identificadas as classes de alcalóides, esteróides e compostos fenólicos. Nas folhas desta planta foram detectadas as classes de saponinas e taninos, caso não registado nas raízes;
- ➔ O tratamento tradicional de doenças infecciosas com estas plantas está relacionado com as classes identificadas, pois estas são relatadas como principais agentes activos contra bactérias, fungos e muitos outros microorganismos patogénicos.

## **VII. RECOMENDAÇÕES**

Como já foi esclarecido no corpo do trabalho, as análises feitas neste estudo foram meramente qualitativas, isto é, obteve-se informações preliminares sobre o perfil fitoquímico das quatro plantas estudadas. Neste contexto, recomenda-se:

- ➔ Aos Departamentos de Química e de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências desta Universidade que façam análises de actividade biológica das fracções bem definidas;
- ➔ Ao Departamento de Química que faça fraccionamento dos extractos brutos para isolamento, purificação e caracterização estrutural dos metabólitos secundários detectados nos extractos de *B. discolor* para servir de base de dados desta planta;
- ➔ Ao Ministério da Saúde para que em coordenação com os Departamentos de Química e de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências desta Universidade faça estudos mais aprofundados destas plantas, que posteriormente possam servir como linha de introdução de novos fármacos para o combate das doenças, em particular as infecciosas.

## **BIBLIOGRAFIA**

- [1]. Almeida, E.R. (1993). *Plantas Mediciniais*. (p-341). São Paulo. Hermus.
- [2]. Andrade M.T., Lima, J.A., Pinto, A. C., Rezende, C.M., Carvalho, M.P., Epifanio, R.A. (2005). Indole alkaloids from *Tabernaemontana australis* (Muell. Arg) Miers that inhibit acetylcholinesterase enzyme. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 13, 4092-4095.
- [3]. Aragon, M., Barreto, A., Tabbard, P. (1994). Epidemiologia da Cólera em Moçambique no período de 1973 – 1992. *Revista de Saúde Pública*, 28 (5), 332 – 336.
- [4]. Bandeira, S.O., Gaspar, F., Pagula, F.P. (2001). African Ethnobotany and Healthcare: Emphasis on Mozambique. *Pharmaceutical Biology* 39 (1), 70–73.
- [5]. Bruschi, P., Morganti, M., Mancini, M., Signorini M.A. (2011). Traditional healers and laypeople: A qualitative and quantitative approach to local knowledge on medicinal plants in Muda (Mozambique). *Journal of Ethnopharmacology*, 138, 543 – 563.
- [6]. Campos, L.S. (2002). *Entender a Bioquímica*. (683pp, 3ª edição). Lisboa. Escolar.
- [7]. Chaturvedula, V.S. Schilling, J.K., Miller, J.S., Andriantsiferana, R., Rasamoson, V.E., Kingston, D.G. (2002). Two new Triterpenes Esters from Twigs of *Brachylaena ramiflora* var. *ramiflora*. *Journal of Natural Product*, 65 (8), 1222-1224.
- [8]. Clardy, J. e Walsh, C. (2004). Lessons from natural molecules. *Nature*, 432, 829–837.
- [9]. Cragg, G e Newman, D. J. (2005). Biodiversity: a continuing source of novel drug leads. *Pure and Applied Chemistry*, 77 (1), 7–24.
- [10]. Da Silva, G., Serrano, R., Silva, O. (2011). *Maytenus heterophylla* and *Maytenus senegalensis*, two traditional herbal medicines. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 2 (1), 59-65.

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

- [11]. De Bruyne, T., Pieters, L., Deelstra, H., Vlietinck, A. (1999). Condensed Vegetable Tannins. Biodiversity in structure and biological activity. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27, 445-459.
- [12]. De Sousa, N.J. (1993). Industrial development of traditional drugs: the forskolin example, A mini-review. *Journal Ethnopharmacology*, 38 (2-3),177-180.
- [13]. Duarte, M.C.T. (2006). Atividade Antimicrobiana de Plantas Mediciniais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. Construindo a História dos produtos naturais. *Multiciência*, 7, 6.
- [14]. Eldeen, I.M.S, Elgorashi, E.E., Mulholland, D.A., van Staden, J. (2006). Anolignan B: A bioactive compound from the roots of *Terminalia sericea*. *Journal of Ethnopharmacology*, 103 (1), 135-138
- [15]. Farnsworth, N.R. (1993). Relative safety of herbal medicines, *HerbalGram*, 29(36), 36A-36H.
- [16]. Farnsworth, N.R., Bingel A.S., Cordell, G. A., Crane, F.A., Fong, H.H. (1975). Potential value of plants as sources of new antifertility agents. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 64, 535-598.
- [17]. Figueiredo, J.N. Raz, B. e Séquin U. (1998). Novel quinone methides from *Salacia kraussii* with in vitro antimalarial activity. *Journal of Natural Product*, 61 (6), 718-723.
- [18]. Filho, R.B. (2010). Contribuição da Fitoquímica para o desenvolvimento de um País emergente. *Química Nova*, 33 (1), 229-239.
- [19]. Filho, V.C. e Yunes, R.A. (1998). Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de Plantas Mediciniais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização de Atividade. *Química Nova*, 21 (1), 99-105
- [20]. Flores, A.F., Prance, G. T., and Kallunki, J. A. (1984). Notes on some medicinal and poisonous plants of Amazonian Peru. *Ethnobotany in the Neotropics. Advances in Economic Botany*, 1, 1 – 8

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

- [21]. García, A. A. e Carril, E. P. U. (2009). Metabolismo Secundário de Plantas. Reduca (Biologia). *Série de Fisiología Vegetal*. 2 (3), 119-145.
- [22]. Ghazanfar, S.A. (1994). *Handbook of Arabian medicinal Plants*. (265pp). CRC PressING. Saudi Arabia. Health and Fitness.
- [23]. Githens, T.S. (1949). *Drug Plants of Africa, Phialadelphia*. (125pp). University of Pennsylvania. Pennsylvania Press.
- [24]. Gokel, G. W. (2004). *Dean's Handbook of Organic Chemistry*. (1024 pp, 2<sup>nd</sup> edition) McGraw Hill Editora.
- [25]. Goswani, A., Kotoky, R., Rastogi, R.C., Ghosh, A.C. (2003). A one-pot eficiente process for 16-dihydropregnenolone acetate. *Organic process Research and Development*, 7, 306-308.
- [26]. Henriques A.T., Melo, A.A., Moreno P .R., Ene, L.L., Henriques, J. A., Schapoval, E. E. (1996). *Ervatamia coronaria*: Chemical constituents and some pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 50, 19-25.
- [27]. Hines, D.A. e Eckman, K. (1993). *Indigenous multipurpose trees of Tanzania: uses and economic benefits*. Corporate document repository. Canada. Department of FAO. ISBN. 0-9697075-0-9. FAO
- [28]. Jansen, P.C.M. e Mendes, O. (1983). *Plantas Mediciniais. Seu Uso Tradicional em Moçambique* (216pp, Tomo 1). Maputo. Instituto Nacional de Livro e do Disco.
- [29]. Jansen, P.C.M. e Mendes, O. (1990): *Plantas medicinais. Seu uso tradicional em Moçambique* (254 pp, Tomo 3). Maputo. Instituto Nacional do Livro e do Disco.
- [30]. Jansen, P.C.M. e Mendes, O. (1991). *Plantas Mediciniais. Seu Uso Tradicional em Moçambique* (299 pp, Tomo 4). Maputo. Gabinete de Medicina Tradicional.
- [31]. Jansen, P.C.M., Da Silva, M. C. Mendes, O., (2001). *Plantas Mediciniais – Seu Uso Tradicional em Moçambique* (272pp, Tomo 5). Maputo. Gabinete de Estudos da Medicina Tradicional.

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

- [32]. Katerere, D.R., Gray, A.I., Nash, R.J., Waigh, R.D. (2003). Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated from African *Combretaceae*. *Phytochemistry*, 63, 81-88.
- [33]. Khaled, Y. O., Saleh, I.A., Mahmoud M.E., Jaber, S.M., Mahommad, I. (2001). Dihydroagarofuran alkaloid and triterpenes from *Maytenus heterophylla* and *Maytenus arbutifolia*. *Phytochemistry*, 58(3), 475-480.
- [34]. Krishnan, P. Kruger, N.J. e Ratcliffe, R.G. (2005). Metabolite fingerprinting and profiling in plants using NMR. *Journal of Experimental Botany*, 56 (410), 255-265.
- [35]. Krog M., Falcão, M.P., Olsen C.S. (2006). *Medicinal plant markets and trade in Maputo, Mozambique* (p-16). Forest & Landscape Working Papers.
- [36]. Luo, X. Pires, D., Aínsa, J. A., Gracia, B., Duarte, N., Mulhovo, S., Anes, E., Ferreira, M.J.U. (2011). Antimycobacterial evaluation and preliminary phytochemical investigation of selected medicinal plants traditionally used in Mozambique. *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 114-120.
- [37]. Luo, X., Pires, D., Aínsa, J. A., Gracia, B., Duarte, N., Mulhovo, S., Anes, E., Ferreira, M.J.U. (2013). *Zanthoxylum capense* constituents with antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis* *in vitro* and *in vivo* within human macrophages, *Journal of Ethnopharmacology*, 146, 417-422
- [38]. Machado, H. Nagem, T. J., Peters, V. M., Fonseca, C. S., Oliveira, T.T. (2008). Flavonóides e seu Potencial Terapêutico, *Boletim do Centro de Biologia de Reprodução- Juiz de Fora*, 27, (½), 33-39.
- [39]. Marcano, D. e Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica Orgânica*. ( p-237-378, 2ª edição). Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
- [40]. McMurry, J. E. (2008). *Organic Chemistry*. (1354pp, 7<sup>th</sup> edition). USA. Thomson Learning, Inc.



*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

- [41]. Mendes, H.A.R. (2009). *Estudo Fitoquímico Preliminar das plantas Acridocarpus natalitus, Viscum obovatum e Senna petersiana*. Trabalho de Licenciatura (71pp). Universidade Eduardo Mondlane. Departamento de Química. Maputo.
- [42]. MISAU (2008). Disponível em [http://www.misau.gov.mz/pt/programas\\_de\\_saude/malaria](http://www.misau.gov.mz/pt/programas_de_saude/malaria). Acessado no dia 12 de Fevereiro de 2013.
- [43]. MISAU (2011). *Movimento Contra a Tuberculose no Coração do Misau*. (3pp). Comunicado n° 4/2011. Maputo. MISAU.
- [44]. Monjane, J. (2010). Isolation and Characterization of Natural Product(s) Derived from the Mozambican *Terminalia sericea* Plant. Master Thesis in Chemistry (29pp). Umeå Universitet. Department of Chemistry. Sweden.
- [45]. Moore, J. T. e Langley, R. H. (2010). *Organic Chemistry II for Dummies*. (388pp). USA. John & Wiley Publishing.
- [46]. Morrison, R.T. e Boyd, R.N. (2005). *Química Orgânica*. (1510pp, 14ª edição). Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian.
- [47]. Moshi, M.J. e Mbwambo, Z.H. (2005). Some pharmacological properties of extracts of *Terminalia sericea* roots. *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 43–47
- [48]. Mujovo, S.F., Lall, N., Hussein, A.A., Fourie, P., Muthivhi, T.N., Meyer, J.J.M. (2008). Bioactive Compounds from *Lippia javanica* and *Hoslundia opposita*. *Natural Product Research*, 22 (12), 1047-1054.
- [49]. Nkobole, N., Lalla, N., Houghton, P.J., Hussein, A.A. (2009). Hypoglycaemic Compounds from *Terminalia sericea* .Burch. Ex. DC. *Annual Meeting Abstracts of South African Association of Botanists*, 414.
- [50]. Nkobole, N. (2009). *Activity of Pentacyclic Triterpenes and Flavonoids from Stem bark of Terminalia sericea* Ex. DC (280pp). Pretoria. University of Pretoria.

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

- [51]. Oliveira, V.B., Freitas, M.S.M., Mathias, L., Braz-Filho, R., Vieira, I.J.C. (2009). Atividade biológica e alcalóides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 11 (1), 92-99.
- [52]. Pachú, C.O. (2007). *Processamento de Plantas Mediciniais para obtenção de extratos secos e líquidos*. Tese de Doutorado (117pp). Universidade Federal de Campina Grande. Centro de Ciência e Tecnologia. Paraíba.
- [53]. PARPA (2006). *Plano de Acção para a Redução da Pobreza Absoluta 2006-2009*, República de Moçambique, (190p), Maputo.
- [54]. Patöcka, J. (2003). Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. *Journal of Applied Biomedicine*, 1, 7-12.
- [55]. PES (2011). Plano Economico e Social, República de Moçambique. (28pp). Maputo. Ministério de Saúde.
- [56]. Pinto, V.F.V.J., Pinto, A.C., Maciel, M.A.M. (2005). Plantas Mediciniais: Cura segura? *Química Nova*, 28 (3), 519-528.
- [57]. Prakash C.V.S. (2003). New cytotoxic indole alkaloids from *Tabernaemontana calcarea* from the Madagascar rainforest, *Journal of Natural Product*, 66: 528-531.
- [58]. Qinghaosu Antimalaria Coordinating Research Group. (1979). Antimalarial studies on Quinghaosu, *Chinese Medical Journal*, 92, 811-816.
- [59]. Queiroz, M.J. (2006). Saúde em Mapas e Números, Consultores Científicos. *Eurotrials. Boletim Informativo*, 20, 4.
- [60]. Raaman, N. (2006). *Phytochemical Techniques*. (201pp). New Deli. New India Publishing Agency.
- [61]. Rastogi N, Abaul J., Goh K.S., Devallois, A., Philogéne, E., Bourgeois, P. (1998). Antimycobacterial activity of chemically defined natural substances from the *Caribbean flora* in Guadeloupe. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 20, 267-273.

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

- [62]. Ratcliffe, R.G. (1994). In vivo NMR studies of higher plants and algae. *Advances in Botanical Research*, 20, 43–123.
- [63]. Ratcliffe, R.G.e Shachar-Hill, Y. (2001). Probing plant metabolism with NMR. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 499-526.
- [64]. Ratcliffe, R.G., Roscher, A., Shachar-Hill, Y. (2001). Plant NMR spectroscopy. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 39, 267–300.
- [65]. Ribeiro, C.M. (2008). *Avaliação de atividade Antimicrobiana de Plantas utilizadas na medicina popular da Amazonia*. Dissertação de Mestrado (70pp). Universidade Federal do Pará. Brasil.
- [66]. Ribeiro, A., Romeiras, M.M., Tavares, J., Faria, M. T. (2010). Ethnobotanical survey in Canhane village, district of Massingir, Mozambique: medicinal plants and traditional knowledge, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 6, 33 – 47
- [67]. Sabino, T.V. (2011). *Saponina: Farmacognesia*. Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAABTFAAI/farmacognesia-saponinas> . Acessado no dia 21 de Setembro de 2012.
- [68]. Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of Tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- [69]. Sequeira, A.J.S. e Azevedo, J.F. (2003). *Introdução à Cromatografia com Ênfase em Material Biológico*. (93pp). Porto Alegre. EDIPUCRS Ed.
- [70]. Skoog, D.A. West, D. M., Holler, F. J., e Crouch, S. R. (2006). *Fundamentos de Química Analítica*. (1026pp, Tradução da 8ª edição Norte Americana). São Paulo. Thomson.
- [71]. Solomons, T. W. G. e Fryhle, C. B. (2005). *Química Orgânica*. (pp-365-413, Vol 1. 8ª Edição). Rio de Janeiro. LTC Editora S.A.
- [72]. Taiz, L. e Zeiger, E. (2006). *Fisiologia Vegetal*. (719pp, vol I, 3ª edição). Porto Alegre. ARTMED.

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

- [73]. Taiz, L. e Zeiger, E. (2009). *Fisiologia Vegetal*. (p-342-370, 4ª edição). São Paulo. ARTMED.
- [74]. Taleb-Contini, S.H., Salvador, M.J., Watanabe, E., Ito, I. Y., Oliveira, D. C. R. (2003). Antimicrobial activity of flavonoids and steroids isolated from two *Chromolaena* species. *Brazilian Journal of Pharmacological Sciences*, 39(4), 403-408.
- [75]. Tiwari, P. Kumar, B., Kaur, M., Kuar, G., Kuar, H.K. (2011). Phytochemical Screening and extraction. *A Review of Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 98-106.
- [76]. Van Wyk, B.-E. (2008). A broad review of commercially important Southern African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(3); 342–355.
- [77]. Verzar R., Petri G. (1987). Medicinal plants in Mozambique and their popular use. *Journal of Ethnopharmacology*, 19, 67 – 80.
- [78]. Virtuoso, S., (2005). *Estudo Fitoquímico e Biológico das Cascas de Erythina velutina Wild-Fabaceae (Leguminosae-Papilionoideae)*. Dissertação de Mestrado (124 pp). Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
- [79]. Vogel, A.I. (1989). *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*. (1540pp, 5<sup>th</sup> edition). New York. Longman Scientific and Technical.
- [80]. Wani, M.C., Taylor, H.L., Wall, M.E., Coggon, P., McPhail, A.T. (1971). Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *Journal of American Chemistry Society*, 93 (9), 2325–2327
- [81]. Wermerris, W. e Nicholson, R. (2009). *Phenolic Compound Biochemistry*. (278pp). USA. Springer.
- [82]. WHO (World Health Organization) (2004). *Estratégias de Cooperação da OMS com a República de Moçambique*. (68pp). 2004-2008. WHO.
- [83]. Yunes, R. A. e Calixto, J.B. (2001). *Plantas Mediciniais sob ótica da Química Moderna*. (120pp) Chapecó. Argos.

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

[84]. Zdero, C. e Bohlamann, F., (1987). Sesquiterpenes lactones from the *Genus Brachylaena*. *Phytochemistry*, 26 (6) 2597-2601.

[85]. Zimila, H.E., (2011). *Síntese de Reguladores de Crescimento de Plantas Derivados de Naftaleno*. Trabalho de Licenciatura (80pp). Universidade Eduardo Mondlane. Departamento de Química. Maputo.

[86]. <http://www.ispot.org.za/-/node/167626>. Acessado no dia 22 /10/2012.

[87]. [http://www.plantdatabase.co.uk/Brachylaena\\_discolor](http://www.plantdatabase.co.uk/Brachylaena_discolor). Acessado no dia 22 /10/2012.

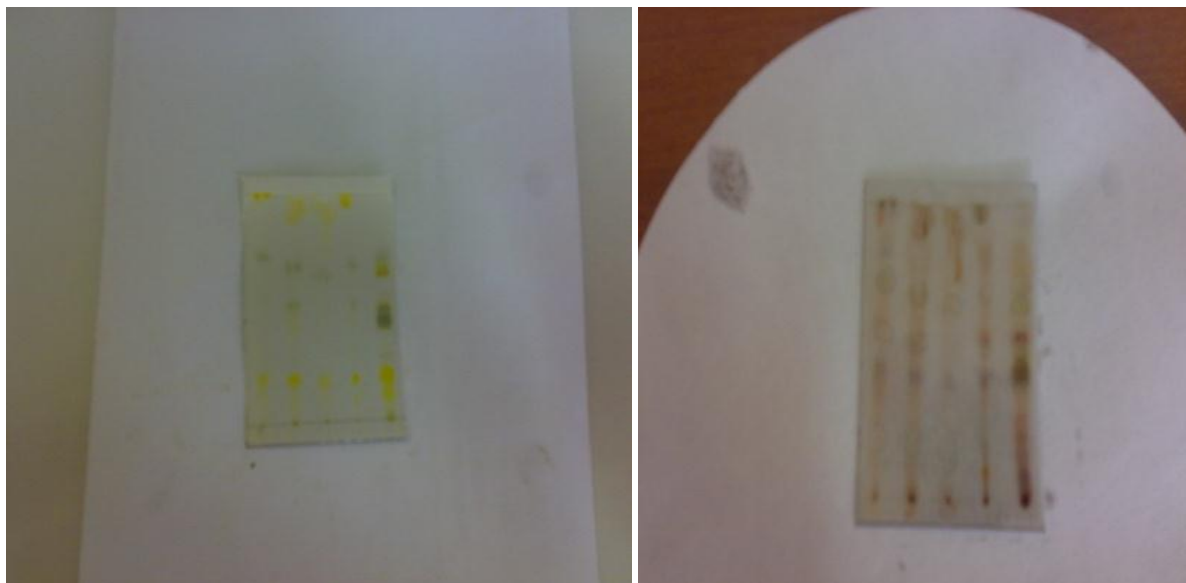
[88]. [http://www.mozambiqueflora.com/speciesdata/species-record.php?record\\_id=7207](http://www.mozambiqueflora.com/speciesdata/species-record.php?record_id=7207).  
Acessado no dia 11 /09/2012.

[89]. <http://www.plantsystematics.org>. Acessado no dia 13 /09/2012.

**ANEXOS**

Anexo 1.

**Cromatogramas de TLC**



**Figura 1-** Cromatogramas de extracto de *n*-hexano. Fase móvel : Tolueno e acetato de etilo (93:7 v/v). Aplicação de extractos da esquerda para direita: *B.discolor*, *T. sericea*, *S. kraussii* e *G. heterophylla*



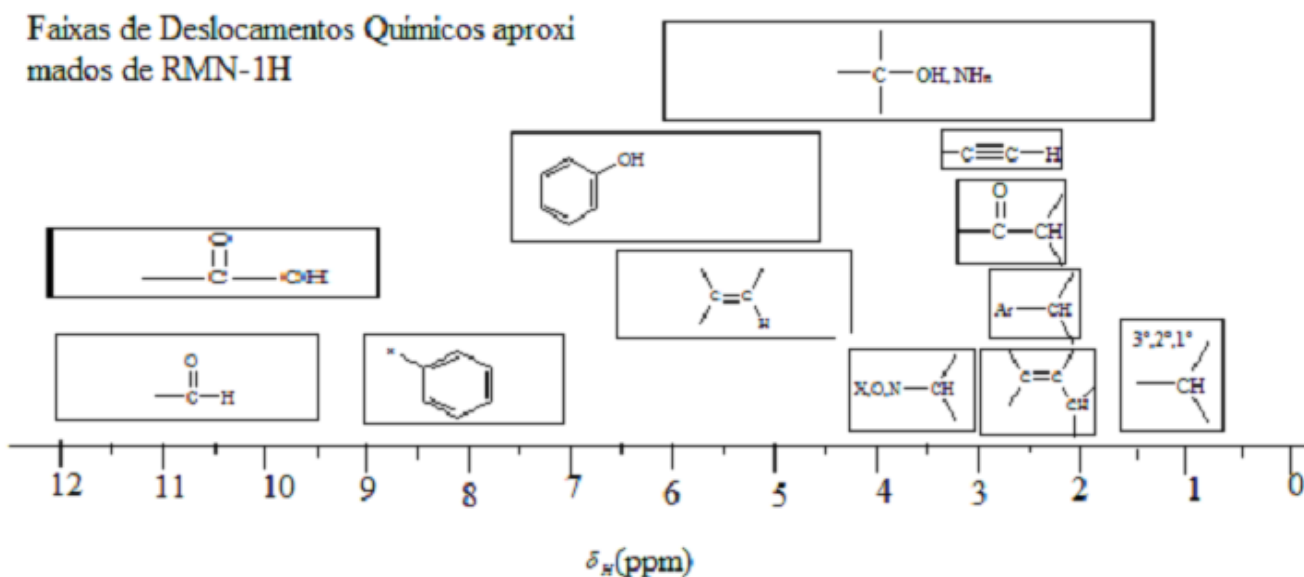
**Figura 2-** Cromatogramas de extracto de diclorometano. Fase móvel. *n*-hexano e acetato de etilo (0,5:1,5v/v). Aplicação de extractos da esquerda para direita: *B.discolor*, *T. sericea*, *S. kraussii* e *G. heterophylla*



**Figura 3-** Cromatogramas de extracto de acetato de etilo. Fase móvel : *n*-hexano, Clorofórmio e etanol (1,0:1,5:1,0 v/v). Aplicação de extractos da esquerda para direita: *B. discolor*, *T. sericea*, *S. kraussii*

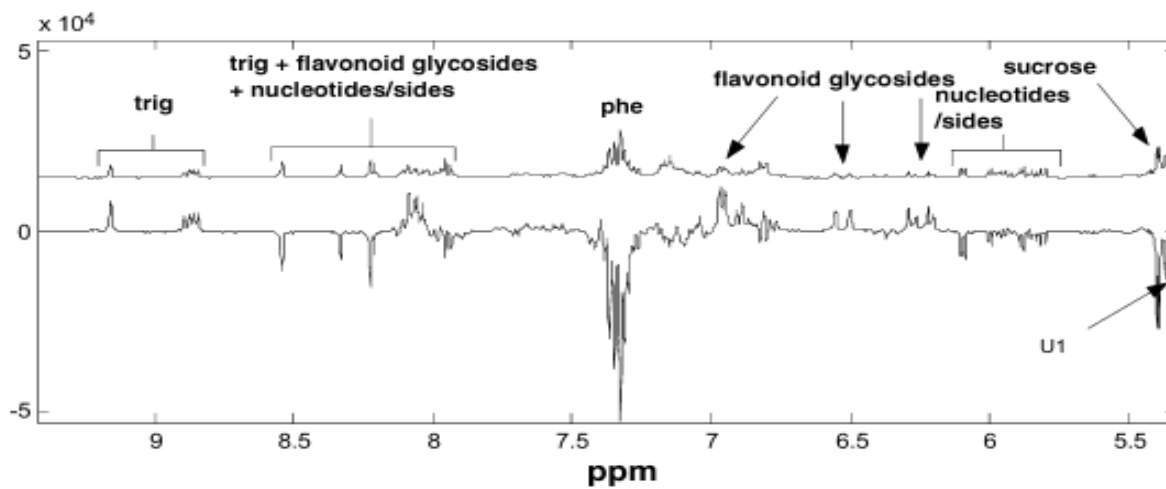
## Anexo 2

Deslocamentos químicos aproximados dos prótons.



**Figura 4-**Deslocamentos químicos aproximados dos prótons

### Anexo 3



**Figura 5-** Espectro RMN-<sup>1</sup>H de um extracto obtido a partir de tomate transgênico (*Lycopersicon esculentum*).

### Anexo 4

#### Preparação das soluções para os testes fitoquímicos

A preparação das soluções para os testes fitoquímicos foi feita com o intuito de análise qualitativa, por isso usou-se a proporção peso por volume.

#### Solução aquosa de cloreto férrico a 5% (p/v) FeCl<sub>3</sub>

➡ Pesou-se 5g de cloreto férrico e dissolveu-se num copo de precipitação. Transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e perpez-se o volume.

#### Solução alcoólica de cloreto férrico a 1% (p/v) FeCl<sub>3</sub>

➡ Pesou-se 1g de cloreto férrico e dissolveu-se num copo de precipitação. Transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e perpez-se o volume.



*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

Gelatina a 1% (p/v)

➡ Pesou-se 0,5g de gelatina e introduziu-se num copo de Becker para a dissolução. Transferiu-se para um balão de 50 mL e fez-se o volume com água destilada.

Solução aquosa de NaCl a 10%

➡ Pesou-se 5g de NaCl e introduziu-se num copo de Becker para a dissolução. Transferiu-se para um balão de 50 mL e fez-se o volume com água destilada.

Solução aquosa de NaOH a 10%

➡ Pesou-se 10g de NaOH e introduziu-se num copo de Becker e dissolveu-se. Transferiu-se para um balão de 100 mL e fez-se o volume com água destilada.

Solução aquosa de Acetato de Chumbo [Pb(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>] a 10%

➡ Pesou-se 10g de acetato de chumbo e introduziu-se num copo de Becker para a dissolução. Transferiu-se para um balão de 100 mL e fez-se o volume com água destilada.

Solução de NH<sub>4</sub>OH a 10 %

➡ Numa proveta de 50 mL mediu-se 20 mL da solução de amónia a 25% e introduziu-se num balão volumétrico de 100mL e fez-se o volume com água destilada.

Solução de HCl a 10 %

➡ Mediu-se 27 mL de HCl a 37 % numa proveta de 50 mL e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e fez-se o volume com água destilada.

Solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 10 %

➡ Numa proveta de 20 mL mediu-se 10,2 mL da solução de ácido sulfúrico a 98 % e introduziu-se num balão volumétrico de 100mL e fez-se o volume com água destilada.

Solução saturada de ácido pícrico-Reagente de Hager

*Trabalho de Licenciatura- Estudo Fitoquímico de algumas plantas  
medicinais usadas na Província de Maputo*

---

➡ Pesou-se 1,4g de ácido pícrico e dissolveu-se num copo de Becker. Transferiu-se para um balão de 50 mL e perpez-se o volume com água destilada.

Reagente de Wagner (Método descrito por Raaman, 2006)

➡ Pesou-se 1,27 g de iodo e 2,0 g de KI, foram dissolvidos em 5 mL de água. Deitou-se num balão de 100 mL e perpez-se o volume com água destilada.

Reagente de Mayer (Método descrito por Raaman, 2006)

➡ Pesou-se 1,36 g de  $\text{HgCl}_2$  e dissolvidos em 60 mL de água e pesou-se 5,0 g de KI e dissolveu-se em 10 mL de água; misturou-se as duas soluções e transferiu-se para um balão de 100 mL e perpez-se o volume.