

Avaliação da atividade antimalárica e estudo da composição química do extrato de *Terminalia sericea* raiz

Alfredo Salomão Dique^{1*}, Rita Maria Olivença Trindade dos Santos Serrano², Olga Maria Duarte Silva²

¹Centro de Investigação e Desenvolvimento em Etnobotânica Casa zero, vila municipal de Namaacha, Maputo-Moçambique

²Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. Prof. Gama Pinto 1649-003 Lisboa – Portugal

*autor de correspondência: dique002@hotmail.com,

RESUMO: *Terminalia sericea* (Combretaceae) raiz é uma das plantas medicinais utilizadas na medicina tradicional do distrito de Moamba, província de Maputo, Moçambique para o tratamento da malária, de acordo com um levantamento etnobotânico por nós realizado junto aos praticantes da medicina tradicional (PMT) daquele distrito, esta espécie tem ampla aplicação terapêutica tanto em Moçambique como em outros países africanos para o tratamento de diferentes doenças. Este trabalho tinha como objetivo validar o uso da receita da medicina tradicional moçambicana na base da raiz de *T. sericea* para o tratamento da malária. Durante a realização do inquérito etnomédico, procedeu-se a colheita da planta medicinal; a identificação botânica da espécie foi realizada no Herbarium Lourenço Marques Agriculture, do Instituto de Investigação Agronómica de Moçambique; obtidos dados do extrato total de acordo com a receita da medicina tradicional dos PMT do distrito de Moamba; seguido do fracionamento L-L com solventes de polaridade crescente; determinada a atividade antimalárica *in vitro* pelo método de inibição da formação de β hematina; rastreio fitoquímico dos metabolitos secundários por métodos bioquímicos TLC, LC/UV-DAD, para obtenção do perfil cromatográfico da planta medicinal e deteção de possíveis compostos marcadores em *T. sericea* e determinação da atividade antioxidante por métodos bioquímicos ácido fosfomolibdénico, FRAP e DPPH. *Terminalia sericea* extrato total (TSR) e frações (TSR1 a TSR4), apresentaram atividade antimalárica com destaque para TSR2 com valor de inibição de 1,138 mg/ml contra o valor de 0,417 mg/ml da quinina usada como controlo positivo neste ensaio. Foram identificados em TSR os compostos da classe dos taninos hidrolisáveis, destacando ácidos elágico e gállico, combreglutinina e terchebulina. TSR apresentou atividade antioxidante significativa com valor IC_{50} de 115,74 μ g/gEAA pelo método FRAP, o ácido ascórbico foi usado como controle positivo.

Palavras chave: Atividade antimalárica, etnomédico, metabolitos secundários, *Terminalia sericea*

ABSTRACT: Evaluation of antimalarial activity and study of the chemical composition of *Terminalia sericea* root extract. *Terminalia sericea* (Combretaceae) roo, is one of the medicinal plants used in the traditional medicine of the district of Moamba, Maputo province in Mozambique for the treatment of malaria, according to an ethnobotanical survey done by us to the traditional medicine practitioners (TMP) of that district. species has wide therapeutic application in Mozambique and other African countries for the treatment of different diseases. This study aimed to validate the recipe of traditional Mozambican medicine for the treatment of malaria. The botanical identification of the specie under study held in the Lourenço Marques Agriculture Herbarium, of the Instituto de Investigação Agronómica de Moçambique; was obtained data from the total extract according to the traditional medicine of the TMP of the Moamba district, followed by the L-L fractionation with increasing polarity solvents; determination of anti-malarial activity *in vitro* by inhibition of β -hematin formation; chemical monitoring of secondary metabolites by TLC, LC/UV-DAD biochemical methods to obtain the chromatographic profile of the medicinal plant and detection of possible marker compounds in *T. sericea* and determination of the antioxidant activity by biochemical methods phosphomolybdenic acid, FRAP and DPPH. *Terminalia sericea* total extract (TSR) and fractions (TSR1 to TSR4) showed anti-malarial activity, TSR2 obtained 1.138 mg/ml of inhibited against the value of 0.417 mg/ml of quinine

Recebido para publicação em 23/02/2018

Aceito para publicação em 20/01/2022

Data de publicação em 25/01/2022

ISSN 1983-084X

© 2019 Revista Brasileira de Plantas Medicinais/Brazilian Journal of Medicinal Plants.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

used as a positive control in this assay. The hydrolysable tannins compounds such as ellagic and gallic acids, combreglutinin and terchebulin was the class compounds were identified in TSR. TSR showed significant antioxidant activity with an IC_{50} value of 115.74 $\mu\text{g/gEAA}$ by the FRAP method, ascorbic acid was used as a positive control.

Key words: Antimalarial activity, ethnomedicine, secondary metabolites, *Terminalia sericea*

INTRODUÇÃO

O homem desde sempre usa plantas para as diferentes necessidades do seu dia a dia, destacando o uso como alimento, na construção, como combustível, para vestuário, como medicamento, religioso ou ritual, entre outras. (Rodrigues et al. 2010; Gomes 2012).

O estudo de química de produtos naturais no geral e em especial de plantas medicinais teve início em meados do séc. XIX, período em que a química era vista como uma ciência moderna, pelos trabalhos concebidos por Lavoisier e Berzelius. Resultado de estudos tais como o isolamento da morfina, a partir do ópio, eram principalmente dedicados ao isolamento e à determinação estrutural de constituintes químicos. Em plantas, para além dos produtos do metabolismo primário, há também, uma maior variedade de compostos que são metabolitos secundários, ou seja, produtos naturais que na maioria dos casos, não é conhecido o seu papel biológico, mas apenas que eles representam uma enorme fonte de investigação para a química (Canelo 2013).

A malária é uma das mais antigas doenças a atingir os humanos, criando sérias preocupações a Organização Mundial da Saúde (OMS) nas últimas décadas, não apenas devido ao grande número de infeções e mortalidade, mas também pela sua expansão e distribuição em áreas antes não afetadas (Toma 2015; Bekalo et al. 2009).

Segundo estatísticas publicadas pela OMS, estima-se que metade da população mundial esteja em risco de contrair malária. Esta doença é responsável pela morte de cerca dois milhões de pessoas em todo o mundo por ano (Onguéné et al. 2013)

Medicamentos tradicionais são usados para o tratamento de malária por milhões de anos e são fontes de dois grupos de medicamentos antimaláricos modernos (artemisinina, quinina e seus derivados), com problemas crescentes de resistência de algumas estirpes de plasmódio aos medicamentos recomendados pela OMS e as dificuldades do acesso por maior parte da população em zonas rurais e pobres, medicamentos tradicionais tem um papel importante como recurso para o tratamento da malária (Bodeker et al. 2004).

A caracterização botânica, química e farmacológica de cada extrato passível de ser

utilizado sob diferentes formas farmacêuticas é fundamental para garantir a validade da utilização tradicional da planta. Essa validação implica uma colaboração multidisciplinar entre diferentes áreas tais como botânica, farmacognosia, farmacologia, microbiologia, virologia, toxicologia, química entre outras (Hostettmann et al. 1996).

Nesta comunicação são apresentados resultados da determinação *in vitro* da atividade antimalárica, caracterização química por cromatografia em camada delgada (CCD) e por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de matriz de díodos (LC/UV-DAD) de um extrato aquoso (decoto) da raiz da *T. sericea* e das frações obtidas a partir desta por extração líquido-líquido com solventes de polaridade crescente e ainda a determinação da atividade antioxidante por métodos bioquímicos do extrato total.

Metodologia

A raiz de *Terminalia sericea* Burch. ex. DC. (figura 1), popularmente conhecida por *Conola* na província de Maputo, Moçambique, foi colhida em Fevereiro de 2016, a quando do levantamento etnomédico para a obtenção de receitas tradicionais usadas no tratamento da malária nas localidades de Pessene e Ressano Garcia, distrito de Moamba, província de Maputo (com coordenadas geográficas S 25° 35'19,0'' E 032° 18'0.3''); a identificação botânica da espécie foi realizada pelo técnico Augusto Jossias Zandamela no Herbarium do Instituto de Investigação Agronómica de Moçambique (IIAM) com voucher 5544; a amostra foi seca a sombra, com circulação de ar durante 30 dias. Efetuou-se o levantamento bibliográfico sobre os principais estudos já realizados com esta espécie botânica, os resultados encontram-se na tabela 1.

Terminalia sericea raiz foi submetida aos estudos laboratoriais, o material seco foi fotográfico (Figura 1), pulverizado e submetido a extração por decocção seguida da partição líquida-líquida com solventes de polaridade crescente 1- éter dietílico, 2- acetato de etilo, 3- *n*-butanol e 4- água.

A determinação da atividade antimalárica *in vitro* pelo método de inibição de formação de β -hematina foi realizada de acordo com procedimentos adaptados de Vargas et al. (2011) (Figura 2).

TABELA 1- Dados etnomédicos de *Terminalia sericea*.

Família	Planta	Usos etnomédicos	Parte da planta e ou extra-to	Classe química	Compostos identificados/ Isolados	Referências
Combreta-ceae	<i>Terminalia sericea</i>	antiabortivo, diabetes, diarreias, disenteria, dores abdominais, feridas, reumatismo, sífilis, bilharziose, antidoto, doenças torácicas, pneumonia e cólicas	Folhas, raiz e casca do caule	Triterpeno e taninos	ácido serícico, β - sitosterol, arjungenina, estigmasterol, catequina, termignano B e ácido arjunico	Mongalo 2004; Chivandi, E. 2013; Jansen e Mendes, 1991



FIGURA 1 - Foto de *Terminalia sericea* no habitat natural. Raiz de *Terminalia sericea* aspecto geral da amostra em estudo. a) vista superior; b) vista interior. (Fotografado pelo autor)

Procedimento

Amostras: em um frasco pesaram-se 50 mg de amostra e dissolveram-se em 2 ml de solução stock HCl 0,1 M/MeOH/DMSO (5:3:2).

Hematina: em um frasco pesou-se 1,4 mg, de hemina adicionaram-se 2 ml de NaOH a 0,1 M.

Análise (solução a): 10 μ l da amostra foram colocadas em um tubo Eppendorf, adicionaram-se 100 μ l da solução hematina, agitou-se, adicionaram-se 10 μ l de HCl a 1 M, agitou-se, adicionaram-se 60 μ l de acetato de sódio saturado, agitou-se e de seguida levou-se a solução para uma estufa a 60 °C durante 90 min para a incubação. Após a incubação foram adicionados 750 μ l de piridina a 15%, agitado e deixado em repouso por 60 min.

Análise branco (solução b): 10 μ l da amostra foram colocadas em um tubo Eppendorf, adicionaram-se 100 μ l da solução hematina, agitou-se, adicionaram-se 10 μ l de HCl a 1 M, agitou-se,

adicionaram-se 60 μ l de acetato de sódio saturado, agitou-se e de seguida levou-se a solução para uma estufa a 60 °C durante 90 min para a incubação. Após a incubação foram adicionados 750 μ l de HEPES, agitado e deixado em repouso por 60 min.

Controle branco (solução c): 10 μ l da amostra foram colocadas em um tubo Eppendorf, adicionaram-se 100 μ l da solução da solução NaOH a 0,1 M, agitou-se, adicionaram-se 10 μ l de HCl a 1 M, agitou-se, adicionaram-se 60 μ l de acetato de sódio saturado, agitou-se e de seguida levou-se a solução para uma estufa a 60 °C durante 90 min para a incubação. Após a incubação foram adicionados 750 μ l de piridina a 15%, agitado e deixado em repouso por 60 min.

Controle branco branco (solução d): 10 μ l da amostra foram colocadas em um tubo Eppendorf, adicionaram-se 100 μ l da solução NaOH, agitou-se, adicionaram-se 10 μ l de HCl a 1 M, agitou-se,

adicionaram-se 60 μl de acetato de sódio saturado, agitou-se e de seguida solução foi incubada em uma estufa a 60 °C durante 90 min. Após a incubação foram adicionados 750 μl de HEPES, agitado e deixado em repouso por 60 min.

Padrão: Para o controlo positivo dos resultados foi usada a quinina como padrão. Pesaram-se 19,5 mg de quinina hemissulfato monohidratado e solubilizou-se em 2 ml de solução stock, tomaram-se 10 μl para cada um dos tubos Eppendorf (a, b, c, d) adicionaram-se 100 μl de hematina, 10 μl de HCl a 1 M, para os tubos a, b e adicionaram-se 60 μl de acetato de sódio, a solução foi incubada por 90 min a 60 °C.

Para os tubos c, d adicionaram-se 100 μl de NaOH, 10 μl de HCl a 1 M e 60 μl de acetato de sódio, incubou-se por 90 min a 60 °C. De seguida nas soluções a e c foram adicionados 750 μl de piridina a 15 % e em b e d adicionaram-se 750 μl de HEPES. Todas foram preparadas em triplicata. Em uma microplaca, foram adicionados 100 μl de cada solução e procedeu-se a leitura das absorvâncias em um espectrofotómetro de leitura de microplacas a 405 nm.

Rastreio químico por CCD: Para identificação preliminar dos constituintes químicos do extrato, foram feitas diversas cromatografias em camada delgada (CCD) em placas de celulose ou sílica, em diferentes sistemas e usando reveladores específicos para cada classe de compostos em análise (Stahl 1969; Wagner 1984). As placas usadas foram sílica gel 60 F254 Merck art. 1.5554 (SiG60) e celulose Merck art. 5552 (Cl), o sistema de solvente para eluição dos taninos foi (ácido acético glacial/água 15:85).

Rastreio químico por CLAE: recorreu-se ao sistema Alliance (Waters) constituído por um cromatógrafo Waters 2690 acoplado a uma matriz de díodos 996. O sistema é controlado por computador

usando o programa Millennium 32 (Silva 2004). Foram registados cromatogramas por detecção UV/Visível no máximo de absorvância de cada banda (*Maxplot*), no intervalo de comprimento de onda entre 190 e 800 nm. Registrou-se ainda o cromatograma dos padrões para efeitos de comparação. Usou-se uma coluna Nova-Pak C18 e o volume de injeção foi de 20 μl .

Atividade antioxidante determinada pelos métodos FRAP, ácido fosfomolibdénico e DPPH.

Método ácido fosfomolibdénico de acordo como o método de Prieto et al. (1999) e Balestrin et al. (2008): A amostra foi preparada pesando-se 2 mg e dissolveu-se em 5 ml de água destilada, obtendo uma solução de 400 $\mu\text{g/ml}$, foram preparadas soluções por diluição de concentrações (400, 300, 200, 100, 50, 0). Depois da otimização de todos parâmetros experimentais, colocaram-se 0,2 ml (200 μl) de extrato em um tubo de ensaio e adicionaram-se 3 ml da solução reagente contendo ácido sulfúrico a 0,6 M, fosfato de sódio a 28 mM e molibdato de amónio a 4 mM. Os tubos de ensaio foram incubados em banho maria a 95 °C por 90 min. Depois deixou-se a solução em arrefecimento até a temperatura ambiente, a absorvância foi lida em espectrofotómetro UV-Vis a 695 nm, (Hitachi U-2000) contra um branco.

Método FRAP: A amostra foi preparada pesando 20 mg em um frasco e adicionando 5 ml de água destilada, obtendo uma solução de 4000 $\mu\text{g/ml}$ e depois foram preparadas soluções de concentrações diferentes respetivamente (4000, 3000, 2000, 1000, 500, 0). O ensaio da força de redução do ferro (FRAP) foi realizado de acordo com os procedimentos modificados, descritos pelo Oyaizu et al. (1986) várias diluições do extrato em triplicado foram adicionadas para 3 ml de uma solução contendo 0,2 M de fosfato, buffer com pH 6,6, TPTZ e cloreto férrico hidratado, foi incubado em banho maria a 37 °C e em cada tubo de ensaio, contendo 100 μl de amostra. A leitura dos resultados foi efetuada em espectrofotómetro UV/Vis a 593 nm. O ácido ascórbico foi usado como padrão, foram preparadas soluções de 0-175 $\mu\text{g/ml}$.

Método DPPH, de acordo com Nascimento et al. (2011): pesaram-se 20 mg de amostra e foram dissolvidos em 2 ml de água destilada, obtendo uma solução de 10000 $\mu\text{g/ml}$. Após foram preparadas soluções nas seguintes concentrações: 10000, 7500, 5000, 4000, 2000, 1000, 0; tomaram-se 3,6 ml da solução DPPH e adicionou-se à 100 μl de extrato contidos em um tubo de ensaio, o qual foi incubado por 30 min à temperatura ambiente ao abrigo da luz.

A atividade antioxidante nos extratos de plantas e o radical livre DPPH (difenilpicridihidrazil) foi determinada espectrofotometricamente. A mudança de cor (de violeta intenso para amarela)



FIGURA 2 - Determinação da atividade antimalárica. a) Equipamento de leitura espectrofotométrica e registo de resultados b) microplaca.

foi determinada a 517 nm em espectrofotômetro de UV- Vis. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão e apresentados como concentração de inibição (valor de IC₅₀ - o 50 é subscrito), que representa a concentração da amostra requerida para retirar 50% de radicais livres de DPPH. Para os três métodos foi usado o ácido ascórbico como padrão (100 -250 µg/ml).

RESULTADOS

Atividade antimalárica

Os resultados da atividade antimalárica são obtidos pela diferença de absorções (A-B)-(C-D) e expresso em mg/ml da inibição de formação de β hematina. Em *Terminalia sericea* a fração TSR1 apresenta menor valor quando comparada com valor da quina usada como controlo positivo e de outras frações. O extrato total, frações TSR2 e TSR4 apresentaram valores de atividade muito superiores que o padrão, com maior destaque para a fração TSR2 com valor de 1,138 mg/ml de inibição.

Rastreio de compostos químicos por CCD: O cromatograma (Figura 3) ilustra a determinação de taninos hidrolisáveis em frações de TSR de acordo com as condições cromatográficas estabelecidas, as outras classes de compostos não foram detetadas. Após determinação dos taninos hidrolisados no extrato total, pesquisou-se também nas frações (TSR1 a TSR4), a placa cromatográfica foi pulverizada com a solução recém-preparada de vanilina clorídrica e aquecida durante 5 min a uma temperatura de 50 °C, foi revelada a 366 nm e no visível.

Do rastreio químico por CCD, foi possível verificar que há possibilidade de ocorrência de taninos hidrolisáveis com destaque para os ácidos gálico e elágico, que foram usados como padrões neste ensaio.

O cromatograma obtido para TSR (Figura 4) analisado por CLAE é caracterizado pela presença de 13 picos maioritários. A observação dos espectros Uv/ visível destes 13 compostos confirma serem estes maioritariamente taninos hidrolisáveis.

Possibilidade de ocorrer ácido gálico em TSR2, não foi detetado em TSR, TSR1, TSR3 e TSR4 como ilustram os dados da tabela 3.

Possibilidade de ocorrer ácido elágico em TSR, TSR1 e TSR4, não foi detetado em TSR3 como ilustram os dados da tabela 4.

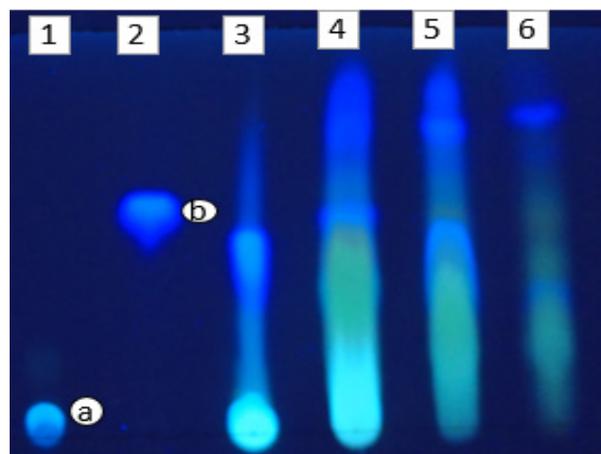


FIGURA 3- Placa cromatográfica CCD para a determinação de taninos hidrolisáveis Revelação a UV 366 nm; 1-Ácido elágico; 2-Ácido gálico; 3-TSR1; 4-TSR2; 5-TSR3; 6-TSR4.

Possibilidade de ocorrer combreglutina em TSR1 e TSR3, não foi detetado em TSR, TSR2 e TSR4 como ilustram os dados da tabela 5.

Possibilidade de ocorrer terchebulina em TSR1 e TSR4, não foi detetado em TSR, TSR2 e TSR3 como ilustram os dados da tabela 6.

Atividade antioxidante: Depois da determinação da atividade antioxidante pelos diferentes métodos (FRAP, ácido fosfomolibdénico e DPPH), são apresentados os resultados obtidos em forma de tabela e gráfico, contendo valores das absorções lidas (Figura 5).

Foram determinadas as médias e desvios padrão, assim o valor da atividade antioxidante em cada amostra foi expresso como concentração inibitória IC₅₀ em µg/gEAA, em todos os três métodos tomou-se o ácido ascórbico (AA) para controlo positivo. As soluções amostra e padrão foram preparados em triplicado, em concentrações diferentes, os valores das absorvâncias também foram lidos em triplicados.

A relação existente entre atividade antimalárica e os compostos identificados (taninos hidrolisáveis) no extrato e frações ativas levou a concluir-se que a atividade antimalárica encontrada é devida à presença de compostos deste grupo. Este fato é concordante com o já descrito por Aldulaimi et al. (2017), Garcia-Alvarez et al. (2013) e Reddy et al. (2007), que concluíram que a atividade antimalárica verificada *in vitro* aquando do estudo de outras

TABELA 2- Atividade antimalárica em diferentes frações de TSR.

Frações	Padrão (mg/ml)	TSR (mg/ml)	TSR1 (mg/ml)	TSR2 (mg/ml)	TSR3 (mg/ml)	TSR4 (mg/ml)
Valor lido	0,417	0,424	0,065	1,138	0,256	0,727
Atividade	Ativo	Ativo	Ativo	Ativo	Ativo	Ativo

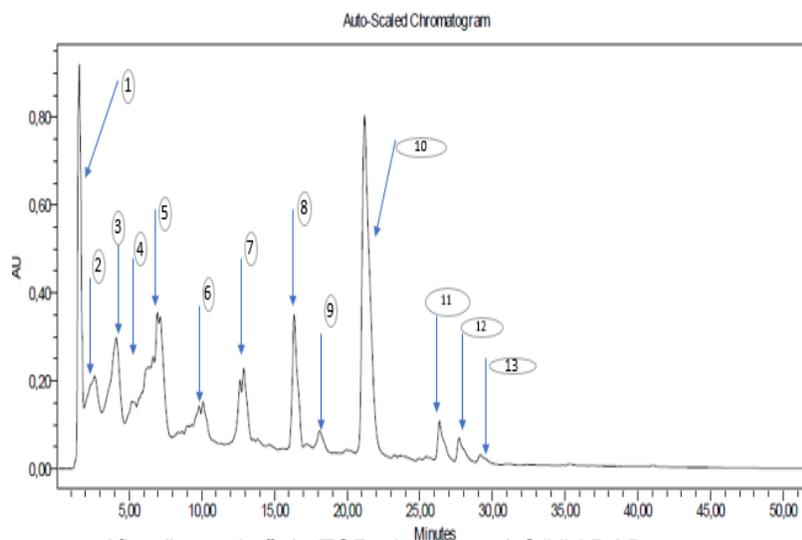


FIGURA 4- Perfil cromatográfico “maxplot” de TSR obtido por LC/UV-DAD.

TABELA 3- Rastreamento do ácido gálico em TSR e respectivas frações.

amostra	t_R (min.)	λ_{max} (nm)	Banda
Padrão	2,62	269,7	
TSR	nd	nd	nd
TSR1	nd	nd	nd
TSR2	2,63	269,7	
TSR3	nd	nd	nd
TSR4	nd	nd	nd

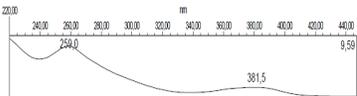
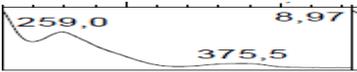
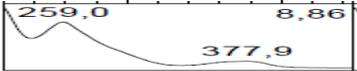
nd- Não detetado

TABELA 4- Rastreamento do ácido elágico por HPLC em TSR e respectivas frações.

Análise	t_R (min.)	λ_{max} (nm)	Bandas
Padrão	12,62	254,3	
TSR	nd	nd	nd
TSR1	12,77	254,3	
TSR2	nd	nd	nd
TSR3	nd	nd	nd
TSR4	12,56	254,3	

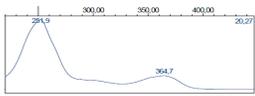
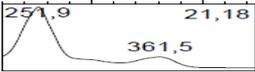
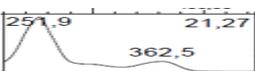
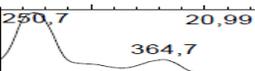
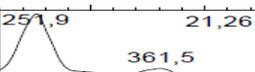
nd- Não detetado

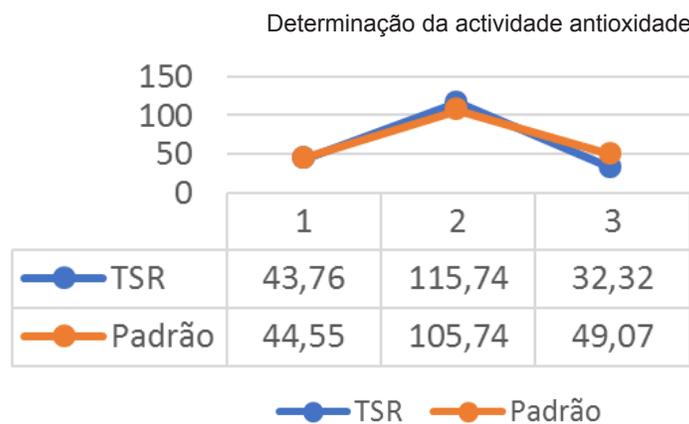
TABELA 5 - Rastreo do combreglutinina por HPLC em TSR e respectivas frações.

Análise	t_R (min.)	λ_{max} (nm)	Bandas
Padrão	9,59	259,0	
TSR	nd	nd	nd
TSR1	8,97	259,0	
TSR2	nd	nd	nd
TSR3	9,97	259,0	
TSR4	nd	nd	nd

nd- Não detetado

TABELA 6 - Rastreo de terchebulina em TSR e respectivas frações.

Amostra	t_R (min.)	λ_{max} (nm)	Bandas
Padrão	20,27	251,9	
TSR	21,18	251,9	
TSR1	21,27	251,9	
TSR2	20,99	250,07	
TSR3	nd	nd	nd
TSR4	21,26	251,9	

**FIGURA 5** - Gráfico comparativo da actividade antioxidante (valores de IC_{50}) pelos diferentes métodos 1-método DPPH; 2-método FRAP; 3- método DPPH

espécies de plantas medicinais foi devido a presença de taninos hidrolisáveis em especial o ácido gálico, o ácido elágico, o etil galato, castalagina e punicalagina. Em TSR foi possível a identificação pela primeira vez dos ácidos gálico e elágico.

TSR mostrou atividade antioxidante pelo método DPPH e FRAP, podendo ser atribuída aos taninos hidrolisáveis (constituintes mais frequentes) deste extrato.

De uma forma preliminar pode se dizer que a receita da medicina tradicional moçambicana usada para o tratamento da malária e por nós testada contendo um extrato aquoso (decoto) da raiz de *T. sericea* pode ser ativa contra *Plasmodium* sp. e justifica a realização de estudos aprofundados no futuro próximo.

CONCLUSÕES

O inquérito etnomédico por nós realizados no distrito de Moamba permitiu a identificação da planta medicinal útil no tratamento da malária e a inventariação do respetivo modo de preparação tradicional.

Terminalia sericea raiz uma das plantas usadas para o tratamento da malária no distrito de Moamba, província de Maputo, é de ampla utilização na medicina tradicional em diferentes países, mas não como agente antimalárico, sendo por nós descrita pela primeira vez esta utilização, tanto quanto é do nosso conhecimento.

Confirmou-se serem os taninos hidrolisáveis constituintes frequentes no extrato total e também nas frações ativas, tendo nestas sido identificados, os ácidos gálico e elágico, combreglutinina e terchebulina.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Investigação e Desenvolvimento em Etnobotânica (CIDE) e Departamento da Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa pelo apoio financeiro, material e moral para elaboração do presente estudo e apoio financeiro para a publicação do presente artigo.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

Aldulaimi O, Uche FI, Hameed H, Mbye H, Ullah I,

- Drijfhout F, Claridge TDW, Horrocks P, Wen WL (2017) A characterization of the antimalarial activity of the bark of *Cylicodiscus gabunensis* Harms. *J Ethnopharmacol* 198:221-225. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.01.014>
- Balestrin L, Dias JFG, Miguel OG, Dall SDSG, Miguel MD (2008) Contribuição ao estudo fitoquímico de *Dorstenia multiformes* (Moraceae) com abordagem em atividade antioxidante. *Rev Bras Farmacogn* 18(2):230-235. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200016>
- Bekalo TH, Woodmatas SD, Woldemariam ZA (2009) An ethnobotanical study of medicinal plants used by local people in the lowlands of Konta Special Woreda, southern nations, nationalities and peoples regional state, Ethiopia. *J Ethnobiol Ethnomed* 5:26. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-5-26>
- Bodeker G, Willcox ML (2004) Traditional herbal medicines for malaria; Clinical review. *BMJ* 329:1156-1159. DOI: 10.1136/bmj.329.7475.1156
- Canelo LIN (2013) Caracterização química de produtos naturais de plantas medicinais de Angola 186p. Tese (Doutoramento em Química), Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal.
- Chivandi E, Davidson BC, Erlwanger KH (2013) Proximate, mineral, fibre, phytate-phosphate, vitamin E, amino acid and fatty acid composition of *Terminalia sericea*. *S Afr J Bot* 88:96-100. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.001>
- Fadipe VO, Mongalo NI, Opok, AR (2015) Bioprospecting for betulinic acid among medicinal plants from South African origin. *S Afr J Bot* 98:208. DOI:10.1016/J.SAJB.2015.03.149
- Garcia AMC, Moussa I, Soh PN, Nongonierma R, Abdoulaye A, Nicolau TML, Fabre A, Wdzieczak BJ, Ahond A, Poupat C, Ikhiri K (2013) Both plants *Sebastiania chamaelea* from Niger and *Chrozophora senegalensis* from Senegal used in African traditional medicine in malaria treatment share a same active principle. *J Ethnopharmacol* 149(3):676-684. DOI: 10.1016/j.jep.2013.07.024
- Gomes S (2012) Etnobotânica no Jardim Botânico Tropical: o seu interesse para o Público. 150p. Dissertação (mestrado - Área de especialização de Natureza e Conservação), Departamento de Antropologia, Universidade Nova de Lisboa.
- Hostettmann K, Wolfender JL, Rodriguez S, Marston A (1996) Strategy in the search for bioactive plant constituents. Chemistry, biological and pharmacological properties of African medicinal plants. Harare, University of Zimbabwe, p.21-42.
- Jansen PCM, Mendes O (1991) Plantas Medicinais. Seu Uso Tradicional em Moçambique, 1ª edição, Maputo. Gabinete de Medicina Tradicional. 299P.
- Mazimba O (2014) Pharmacology and phytochemistry studies in *Peltophorum africanum*. review article. *Bull Fac Pharm Cairo Univ* 52:145-153. <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2014.01.001>
- Martins ASD (2010) Contribuição para o estudo morfológico e químico de *Calycobolus heudelotii*. 109p. Dissertação (mestrado em medicamentos à base de plantas) Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa- Portugal.
- Nascimento JC, Lage LFO, Camargo CRD, Amaral

- JC, Costa LM, de Sousa NA, Oliveira FQ (2011) Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonoides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. Rev Bras Farmacogn 92(4):327-332.
- Onguéné PA, Fidele NK, Lydia L, Lifongo JCN, Wolfgang S Luc M (2013) The potential of anti-malarial compounds derived from African medicinal plants. Part I: A pharmacological evaluation of alkaloids and terpenoids. Malar J 12:449. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-449>
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S (2009) A tree reference and selection guide version 4.0. Agroforestry Database disponível em: (<http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>). Acesso em 27/03/2017;
- Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese J Nutr 44:307–315. <http://dx.doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>.
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M (1999) Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Anal Biochem 269:337-341 <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1999.4019>
- Reddy MK, Gupta SK, Jacob MR, Khan SI, Ferreira D (2007) Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. Planta Med 73(5):461-467. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-967167>
- Rodrigues F, Botelho M, Mendonça C, Vilela A, Mendiola MA (2010) Etnobotânica e desenvolvimento sustentável: recordar o passado para sustentar o futuro. 1º Congresso De Desenvolvimento Regional De Cabo Verde. 2335-2348.
- Silva OMD (2004) Estudo etnofarmacológico de espécies da flora da Guiné-Bissau com actividade antimicrobiana. 340p. Tese (doutoramento em Farmacognosia e Fitoquímica); Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa.
- Stahl E (1969) Thin-Layer Chromatography. A Laboratory Handbook. Springer-Verlag, New York, 709p.
- Toma A, Serawit D, Abrham F, Amalework E, Andrew B (2015) In vivo antiplasmodial and toxicological effect of crude ethanol extract of *Echinops kebericho* traditionally used in treatment of malaria in Ethiopia. Malar J 14:196. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0716-1>.
- Vargas S, Ndjoko LK, Hay AE, Loset JR, Wittlin S, Hostettmann K (2011) Screening medicinal plants for the detection of novel antimalarial products applying the inhibition of β – hemozoin formation. J Pharm Biomed Anal 56:880– 886. DOI: 10.1016/j.jpba.2011.06.026.
- Wagner H, Bladt S (2001) Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas. Second Edition, Springer, New York, 368p.