

UNIVERSIDADE EDURADO MONDLANE



**FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM
QUÍMICA E PROCESSAMENTO DE
RECURSOS LOCAIS**

**DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS E
AVALIAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE,
ANTIBACTERIANA E ANTIDIABÉTICA
(preliminar) DOS EXTRACTOS DE *Grewia
monticola Sond.***

AUTOR: Ananias Simão Nhanrave

Maputo, Junho 2026

UNIVERSIDADE EDURADO MONDLANE



FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM
QUÍMICA E PROCESSAMENTO DE
RECURSOS LOCAIS

DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS E
AVALIAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE,
ANTIBACTERIANA E ANTIDIABÉTICA (preliminar)
DOS EXTRACTOS DE *Grewia monticola* Sond.

AUTOR: Ananias Simão Nhanrave

SUPERVISOR: Prof. Doutor Rui Tique Ráice

MAPUTO, Junho 2026

DECLARAÇÃO DE HONRA

Declaro que esta dissertação nunca foi apresentada para a obtenção de qualquer grau ou num outro âmbito e que ela constitui o resultado do meu labor individual. Esta dissertação é apresentada em cumprimento parcial dos requisitos para a obtenção do grau de Mestrado em Química e Processamento de Recursos Locais da Faculdade de Ciências da Universidade Eduardo Mondlane Maputo.

Junho, 2026

Ananias Simão Nhanrave

DEDICATÓRIA

À Deus

por todos os momentos em que a Ele me dirigi e, em que por meio de Suas respostas, se fortaleceu a minha caminhada.

À minha esposa

Pelo incentivo e apoio recebidos e com muito amor e paciência, soube esperar e apoiar-me durante esta jornada.

Aos meus filhos

Pelo amor incondicional e apoio emocional durante a caminhada

Dedico os à concretização deste sonho!

AGRADECIMENTOS

Para que este trabalho fosse realizado, diversas pessoas contribuíram directa ou indirectamente, sendo que não me é possível citá-las nominalmente. A elas, meus mais profundos agradecimentos.

INDICE

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS, SIGLAS E ACRÓNIMOS	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJECTIVOS	3
2.1. OBJECTIVO GERAL	3
2.2. OBJECTIVOS ESPECÍFICOS	3
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
3.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ESPÉCIE <i>Grewia monticola</i>	4
3.2. COMPOSTOS FENÓLICOS (FENÓIS TOTAIS E FLAVONÓIDES)	6
3.2.1. DISTRIBUIÇÃO NOS ÓRGÃOS VEGETAIS	7
3.2.2. QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS E FLAVONOIDES TOTAIS	7
3.2.3. TANINOS (COMPOSTOS FENÓLICOS DE ALTO PESO MOLECULAR)	14
3.2.4. TERPENÓIDES E SAPONINAS	17
3.2.5. ALCALÓIDES (COMPOSTOS NITROGENADOS)	18
3.3. PROPRIEDADES FITOQUÍMICAS DA <i>Grewia</i>	19
3.4. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DAS ESPÉCIES DE <i>GREWIA</i>	20
3.4.1. ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE	20
3.4.2. ACTIVIDADE ANTIMICROBIANA	23
3.4.3. ACTIVIDADE ANTIDIABÉTICA	25

3.4.4. OUTRAS ACTIVIDADES FARMACOLÓGICAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1. COLECTA E PREPAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO	30
4.2. SOLVENTES E REAGENTES	30
4.3. PREPARAÇÃO DOS EXTRACTOS BRUTOS (EBE)	30
4.4. FITOQUÍMICA QUALITATIVA	31
4.4.1. ALCALÓIDES	31
4.4.2. FLAVONÓIDES	31
4.4.3. TANINOS	32
4.4.4. SAPONINAS	32
4.4.5. COMPOSTOS FENÓLICOS	32
4.4.6. ANTRAQUINONAS	32
4.4.8. ESTERÓIDES	33
4.4.9. GLICÓSIDEOS	33
4.5. FITOQUÍMICA QUANTITATIVA	33
4.5.1. DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS	33
4.5.2. DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS	35
4.5.3. DETERMINAÇÃO DE TANINOS	36
4.6. DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE	37
4.6.1. REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE DPPH	37
4.6.2. CAPACIDADE REDUTOR FÉRRICO - FRP	38
4.6.3. AVALIAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL - TAC	38
4.7. AVALIAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIMICROBIANA	39
4.8. DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIDIABÉTICA (preliminar) PELO MÉTODO INIBITÓRIA DE ALFA-AMILASE	40

4.9.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
5.	RESULTADOS	42
5.1.	FITOQUÍMICA QUALITATIVA	42
5.2.	FITOQUÍMICA QUANTITATIVA	43
5.3.	ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE	45
5.3.1.	REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE <i>DPPH</i>	45
5.3.2.	CAPACIDADE REDUTORA FÉRRICA - (<i>FRP</i>)	46
5.3.3.	ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL - (<i>TAC</i>)	47
5.4.	ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA DE <i>Grewia monticola</i>	48
5.5.	ACTIVIDADE INIBITÓRIA DE α -AMILASE	49
6.	DISCUSSÃO DE RESULTADOS	50
6.1.	FITOQUÍMICA QUALITATIVA	50
6.2.	FITOQUÍMICA QUANTITATIVA	58
6.3.	ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE	73
6.3.1.	REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE <i>DPPH</i>	73
6.3.2.	ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE – <i>FRP</i> E <i>TAC</i>	76
6.3.3.	IMPLICAÇÕES FARMACOLÓGICAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
6.4.	ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA DE <i>Grewia monticola</i>	78
6.4.1.	COMPARAÇÃO COM OUTRAS ESPÉCIES DO GÉNERO <i>Grewia</i>	78
6.5.	ACTIVIDADE INIBITÓRIA DE α -AMILASE	83
6.5.1.	CORRELAÇÃO ENTRE CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL E ACTIVIDADE INIBITÓRIA	85
7.	CONCLUSÕES	89
8.	RECOMENDAÇÕES	90
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fitoquímica qualitativa dos extractos de <i>G. monticola</i>	42
Tabela 2: Fitoquímica quantitativa dos extractos de <i>G. monticola</i>	44
Tabela 3: Fitoquímica quantitativa de <i>G. bicolor</i> – dados usados como referência	45
Tabela 4: Actividade antibacteriana dos extractos hidroetanólicos da <i>G. monticola</i>	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Aspectos Morfológicos da <i>G. monticola</i> sond.	4
Figura 2: Flavonóides isoalados das plantas do gênero <i>Grewia</i>	14
Figura 3: Exemplos de alcalóides isolados das plantas do gênero <i>Grewia</i>	19
Figura 4: curva de calibração do ácido gálico	43
Figura 5: curva de calibração da quercetina	43
Figura 6: curvas de calibração de ácido tânico	44
Figura 7: Actividade antioxidante dos extractos da <i>G. monticola</i> - DPPH	ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.	
Figura 8: Actividade antioxidante dos extractos de <i>G. monticola</i> – FRP	47
Figura 9: Actividade antioxidante dos extractos de <i>G. monticola</i> - TAC	48
Figura 10: Inibição da α -amilase pelos extractos de <i>G. monticola</i>	49

RESUMO

Grewia monticola Sond. é uma planta medicinal utilizada na medicina tradicional africana no tratamento de infecções gastrointestinais, inflamações e outras patologias. O presente estudo teve como objectivo determinar os constituintes fitoquímicos e avaliar as actividades antioxidante, antimicrobiana e inibitória da enzima α -amilase dos extractos de *G. monticola*. Foram obtidos extractos hidroetanólicos das folhas, caule e raiz, nos quais foram determinados fenóis totais, flavonoides totais e taninos por métodos espectrofotométricos. A actividade antioxidante foi avaliada pelos métodos DPPH, actividade antioxidante total (TAC) e poder redutor férrico (FRP), a actividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco e a inibição da α -amilase pelo método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNSA). Os resultados revelaram teores de fenóis totais entre $4,778 \pm 0,058$ e $6,508 \pm 0,180$ mg EAG/g, enquanto os flavonoides apresentaram maior concentração no caule ($9,143 \pm 0,302$ mg EQ/g). Os taninos foram detectados no caule e nas folhas. No ensaio DPPH, a raiz apresentou maior actividade antioxidante ($IC_{50} = 31,36 \pm 1,11$ μ g/mL), enquanto na TAC (capacidade antioxidante total) as folhas apresentaram melhor actividade ($IC_{50} = 27,12 \pm 1,24$ μ g/mL) e no poder redutor férrico (FRP) o caule apresentou maior actividade ($IC_{50} = 33,91 \pm 0,83$ μ g/mL). Todos os extractos apresentaram actividade antimicrobiana, com halos de inibição entre 8,84 e 27,68 mm. Na inibição da α -amilase, os extractos das folhas e do caule apresentaram actividade, com IC_{50} de $30,10 \pm 0,82$ e $48,48 \pm 1,54$ μ g/mL, respectivamente. O extracto da raiz, por sua vez, apresentou inibição superior a 50% mesmo nas menores concentrações testadas, não sendo possível estimar empiricamente o seu IC_{50} , o que sugere uma potência superior à da acarbose ($IC_{50} = 63.57 \pm 3.85$ μ g/mL).

Conclui-se que *G. monticola* apresenta constituintes fitoquímicos e actividades antioxidante, antimicrobiana e inibitória da α -amilase, evidenciando potencial farmacológico e sustentando, preliminarmente, o seu uso na medicina tradicional. Estes resultados constituem uma base para futuras investigações sobre os compostos bioactivos da espécie e o seu potencial desenvolvimento como produto fitoterapêutico.

Palavras-chave: *Grewia monticola*, fitoquímica, antioxidante, antimicrobiana, α -amilase IC_{50}

ABSTRACT

Grewia monticola Sond. it is a medicinal plant used in traditional African medicine in the treatment of gastrointestinal infections, inflammation and other pathologies.

The present study aimed to determine the phytochemical constituents and evaluate the antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities of the enzyme α -amylase of *G. monticola* extracts.

Hydroethanolic extracts were obtained from the leaves, stem and root, in which total phenols, total flavonoids and tannins were determined by spectrophotometric methods. Antioxidant activity was evaluated by DPPH, total antioxidant activity (TAC) and ferric reducing power (FRP), antimicrobial activity by disk diffusion and α -amylase inhibition by 3,5-dinitrosalicylic acid (DNSA) methods. The results revealed total phenol contents between 4.778 ± 0.058 and 6.508 ± 0.180 mg EAG/g, while the flavonoids showed higher concentration in the stem (9.143 ± 0.302 mg EQ/g). Tannins were detected in the stem and leaves. In the DPPH assay, the root showed higher antioxidant activity ($CI_{50} = 31.36 \pm 1.11$ μ g/mL), while in the TAC (total antioxidant capacity) the leaves showed better activity ($CI_{50} = 27.12 \pm 1.24$ μ g/mL) and in the ferric reducing power (FRP) the stem showed higher activity ($CI_{50} = 33.91 \pm 0.83$ μ g/mL). All extracts showed antimicrobial activity, with inhibition halos between 8.84 and 27.68 mm. In the inhibition of α -amylase, the leaf and stem extracts showed activity, with CI_{50} of 30.10 ± 0.82 and 48.48 ± 1.54 μ g/mL, respectively. The root extract, in turn, showed inhibition higher than 50% even at the lowest concentrations tested, and it was not possible to empirically estimate its CI_{50} , which suggests a higher potency than acarbose ($CI_{50} = 63.57 \pm 3.85$ μ g/mL).

It is concluded that *G. monticola* has phytochemical constituents and antioxidant, antimicrobial and α -amylase inhibitory activities, showing pharmacological potential and preliminarily supporting its use in traditional medicine. These results constitute a basis for future research on the bioactive compounds of the species and their potential development as a phytotherapeutic product.

Keywords: *Grewia monticola*, phytochemistry, antioxidant, antimicrobial, α -amylase, IC_{50} .

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

ABTS	<i>2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
COX	ciclooxigenase
DPPH	<i>2,2-difenil-1-picrilidrazil</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
FRP	<i>Ferric Reducing Power</i>
HPLC-DAD de diodos	Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos
HPLC-MS de massas	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas
IC ₅₀	Concentração inibitória de até 50%
LC-MS	Cromatografia Líquida-Espectrometria de Massas
LOX	Lipoxigenase
NF-κB	Factor nuclear kappa B
R ²	Coeficiente de determinação
ROS	Espécies reactivas de oxigênio
TAC	Capacidade antioxidante total
TFC	<i>Total flavonoid content</i>
TPC	<i>Total Phenolic Content</i>
TPTZ	<i>2,4,6-Tri-(2-pyridyl)-s-triazine</i>
UV	Ultravioleta

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido fundamentais na saúde pública, especialmente em comunidades com acesso limitado a medicamentos convencionais (Mudau et al., 2022). Seu uso é sustentado pelo conhecimento tradicional, e muitas espécies vegetais são fontes de compostos bioativos que deram origem a fármacos modernos. Diante da crescente busca por alternativas naturais e eficazes, a investigação científica sobre a composição química e os efeitos terapêuticos dessas plantas se torna essencial (Maroi, 2013) e (Turatbekova et al., 2023).

Entre as diversas espécies com potencial farmacológico, o gênero *Grewia* se destaca por sua ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais, abrangendo cerca de 150 espécies conhecidas por suas propriedades medicinais (Mudau et al., 2022) e (Qamar et al., 2021). Estudos demonstram que plantas desse gênero são ricas em flavonóides, terpenóides e saponinas, compostos associados a múltiplas actividades biológicas, incluindo antioxidante, antimicrobiana e antidiabética (Eloh et al., 2024). Essas propriedades sustentam o uso tradicional dessas plantas no tratamento de infecções, inflamações e distúrbios gastrointestinais (Zia-Ul-Haq et al., 2012).

Uma das espécies relevantes desse gênero é *Grewia monticola* Sond., nativa da África Austral e amplamente utilizada na medicina tradicional moçambicana. Suas folhas, raízes e frutos são usados no alívio de diarreias, úlceras e problemas gastrointestinais, além de serem aplicados em feridas cutâneas para acelerar a cicatrização (Maroi, 2013) e (Mudau et al., 2022). No entanto, apesar do seu potencial medicinal, *G. monticola* permanece pouco estudada do ponto de vista fitoquímico e farmacológico, tornando necessária sua investigação científica para validar seus efeitos e explorar possíveis aplicações terapêuticas.

Diversas espécies do gênero *Grewia* já demonstraram significativa actividade antioxidante, essencial para neutralizar radicais livres e reduzir o *stress* oxidativo, um factor chave no desenvolvimento de doenças crónicas. *Grewia flava* e *Grewia bicolor*, por exemplo, exibiram alta capacidade antioxidante em ensaios *in vitro*, sugerindo que *G. monticola*

Sond. possa apresentar propriedades similares (Masisi et al., 2021) e (Turatbekova et al., 2023). Além disso, seu conteúdo fenólico pode estar directamente associado a essa actividade, dada a correlação entre flavonóides e a capacidade antioxidante das plantas (Qamar et al., 2021).

O potencial **antimicrobiano** das espécies *Grewia* também tem sido documentado, com evidências de que seus extractos são eficazes contra bactérias patogénicas. Pesquisas indicam que algumas espécies possuem actividade antibacteriana significativa contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, patógenos frequentemente associados a infecções resistentes a antibióticos (Dharmasoth et al., 2021). A resistência antimicrobiana representa um problema global de saúde pública, impulsionando a busca por novas fontes de compostos naturais com potencial terapêutico. Assim, a avaliação da actividade antibacteriana de *G. monticola* pode fornecer informações valiosas sobre sua possível aplicação no combate a infecções bacterianas (Akwu et al., 2019).

Além disso, espécies como *G. asiatica* demonstraram efeitos antidiabéticos em modelos experimentais, reduzindo os níveis de glicose no sangue e melhorando a tolerância à glicose. Esse efeito é atribuído à inibição de enzimas digestivas envolvidas na degradação de carboidratos e ao aumento da captação periférica de glicose (Eloh et al., 2024). Dado que *G. monticola* compartilha um perfil fitoquímico semelhante, é plausível que apresente mecanismos hipoglicemiantes similares, tornando relevante sua investigação como potencial agente auxiliar no controlo do diabetes *mellitus* (Khatune et al., 2016).

2. OBJECTIVOS

2.1.OBJECTIVO GERAL

Avaliar a actividade antioxidante, o potencial inibitório sobre a enzima α -amilase e a actividade antimicrobiana de extractos obtidos de diferentes partes da planta *Grewia monticola* (folhas, caule e raiz).

2.2. OBJECTIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar a composição fitoquímica preliminar dos extractos das folhas, caule e raiz de *Grewia monticola*.
2. Quantificar o teor de compostos fenólicos totais (TPC) e flavonóides totais (TFC) e taninos totais (TTC) nos diferentes extractos das folhas, caule e raiz de *Grewia monticola*.
3. Avaliar a actividade antioxidante dos extractos através de ensaios baseados em diferentes mecanismos de acção, nomeadamente o método do fósfolimolbato (TAC), o sistema férrico/ferricianeto (FRP) e 2,2-Difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).
4. Determinar o potencial inibitório dos extractos sobre a enzima α -amilase, por meio de ensaio *in vitro* usando o reagente DNSA (Ácido 3,5-dinitrosalicílico).
5. Avaliar a actividade antimicrobiana *in vitro* dos extractos contra cepas bacterianas de relevância clínica, utilizando o método de difusão em ágar.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ESPÉCIE *Grewia monticola*

O género *Grewia*, pertencente à família Malvaceae, compreende cerca de 321 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Muitas dessas espécies possuem reconhecida importância medicinal e comercial, sendo tradicionalmente utilizadas para tratar diversas enfermidades, como diabetes, febre tifóide, hepatite, diarreia, dispepsia, varíola, úlceras sifilíticas e eczema, além de servirem como nutracêuticos (Kumar et al., 2022). Em Moçambique, por exemplo, *G. monticola* ocorre nas províncias de Maputo, Tete e Nampula, onde é conhecida por nomes locais como *Nsihana*, *Maporassôco* e *Nulula* respectivamente (Akwu et al., 2019; Kumar et al., 2022).

A *Grewia monticola* Sond. é uma pequena árvore que pode atingir cerca de 10 m de altura. Apresenta tronco tortuoso com casca áspera de coloração cinza a marrom, e ramos jovens densamente pilosos de coloração branca a castanho-clara, como pode se ver na figura nº 1. A espécie é adaptada a climas quentes e secos, o que se reflecte em algumas de suas características morfológicas e metabólicas. Dada a ampla distribuição geográfica e utilização etnobotânica de *Grewia monticola* Sond. e de outras espécies do género, torna-se relevante explorá-las cientificamente para comprovar e entender suas propriedades medicinais.

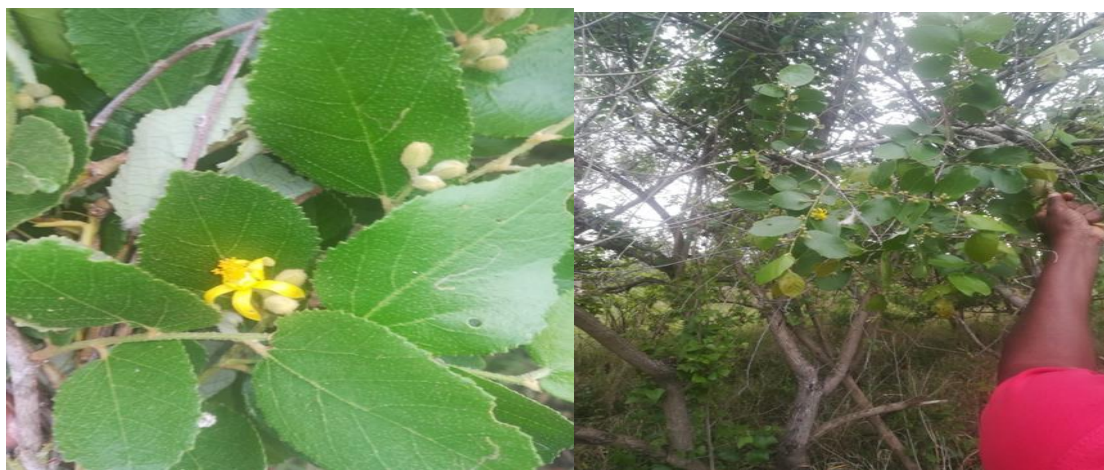


Figura 1: Aspectos morfológicos da *G. monticola* Sond.

Fonte: Foto tirada pelo autor

Vale ressaltar o enorme potencial medicinal do género *Grewia*. Estudos recentes destacam múltiplos efeitos farmacológicos nessas plantas. Por exemplo, Suguna & Umesha (2022) observaram efeito imunomodulador do extracto etanólico de *G. asiatica* em modelos experimentais, administrado *in vivo* nas doses de 200 e 400 mg/kg (Singh & Yadav, 2014). Outros pesquisadores reportaram propriedades antifertilidade, anti-hiperglicêmicas, antivirais e até a capacidade de auxiliar no tratamento de doenças degenerativas como câncer, Alzheimer e diabetes (Chikkamath et al., 2019; Kumar et al., 2022). Alguns exemplos de usos tradicionais de algumas espécies do género *Grewia*, foram descritos e evidenciando abaixo:

Os frutos de *G. abutilifolia* são usados para tratar abscessos e reumatismo; enquanto que os frutos de *G. asiatica* por sua vez são usados no tratamento de problemas respiratórios, cardíacos e sanguíneos, além de diarreia, cefaleia, problemas oculares, feridas e cólera. Ademais (Kumar et al., 2022) descreveram que as flores de *G. flavescens* são utilizadas contra diarreia e como afrodisíaco, informações convergentes com as indicações locais da *G. monticola* Sond.

Observa-se, portanto, que diversas espécies de *Grewia* possuem usos medicinais difundidos na medicina tradicional. As múltiplas actividades biológicas dessas plantas (antioxidante, antimicrobiana, antidiabética, anti-inflamatória, entre outras) estão intimamente ligadas aos metabólitos secundários por elas produzidos. Tais compostos surgem na planta como mecanismos de defesa contra predadores ou para atracção de polinizadores (Isah, 2019). Em contraste, metabólitos primários – como açúcares, aminoácidos e lípidos – estão envolvidos principalmente em processos de crescimento e funcionamento básico do organismo vegetal, não desempenhando papel direto na defesa (Khanal et al., 2016). Diante da relevância científica demonstrada pelos metabólitos secundários, numerosos estudos fitoquímicos têm sido conduzidos para identificar essas substâncias e correlacioná-las com as actividades biológicas observadas. Para melhor compreensão, quimicamente os principais grupos de metabólitos secundários presentes em *Grewia* podem ser classificados em três categorias distintas (Borges & Amorim, 2020):

1. Compostos fenólicos – Incluem os *fenóis totais* (polifenóis) e subgrupos importantes como *flavonóides* e *taninos*.

2. Terpenóides – Incluem diversos terpenos (mono-, di- e triterpenos), bem como glicósidos triterpênicos conhecidos como *saponinas*.
3. Compostos nitrogenados – Principalmente os *alcalóides*, além de alguns aminoácidos não proteicos e outros derivados nitrogenados.

Diversas investigações confirmam essa composição fitoquímica. Khanal *et al.* (2016), por exemplo, detectaram nos extratos *n*-hexano e metanólico de *G. asiatica* e *G. optiva* a presença de glicósidos, esteróides, flavonóides, saponinas e taninos, não encontrando alcalóides. De modo semelhante, Ullah *et al.* (2012) relataram terpenos, esteróides e flavonóides em *G. biloba* e *G. villosa*, observando inclusive alcalóides nos extractos de *G. bicolor*. Já Kaur *et al.* (2014) identificaram em *G. monticola* uma gama de metabólitos secundários – saponinas, flavonóides, terpenóides e glicósidos – correlacionando-os com diversas actividades biológicas. Esses achados reforçam a noção de que as plantas do género *Grewia* são biologicamente activas devido à abundância de compostos fenólicos, terpenóides e alcaloídicos que elas acumulam (Mudau *et al.*, 2022).

Abaixo, discute-se em detalhe cada classe de metabólitos secundários em *Grewia* – suas principais características fitoquímicas, métodos de análise e exemplos de compostos já identificados – bem como as actividades biológicas associadas a esses metabólitos.

3.2. COMPOSTOS FENÓLICOS (FENÓIS TOTAIS E FLAVONÓIDES)

Os compostos fenólicos englobam uma ampla variedade de metabólitos secundários caracterizados pela presença de um ou mais anéis aromáticos com grupos hidroxil. Eles estão entre os fitoconstituintes mais abundantes nas plantas do género *Grewia*. De facto, os fenóis totais têm sido reportados como os compostos predominantes nessas espécies. Rosa *et al.* (2019) definem os fenólicos como um grupo quimicamente e funcionalmente diverso de substâncias presentes no cotidiano – grande parte do sabor, aroma e coloração dos vegetais deve-se a componentes fenólicos. Harborne (1999) destacou que os polifenóis exercem múltiplas actividades biológicas, incluindo acção antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, protecção contra danos ao colágeno, redução do colesterol sérico e modulação do sistema imune.

Estudos demonstram que as espécies de *Grewia* apresentam teores consideráveis de fenólicos totais, o que ajuda a explicar seu uso tradicional no tratamento de diversas doenças citadas. Por exemplo, extractos de *G. asiatica*, *G. monticola* e *G. optiva* exibiram conteúdos elevados de compostos fenólicos, associados a actividades terapêuticas relevantes (Chikkamath *et al.*, 2019; Kaur *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2022).

3.2.1. DISTRIBUIÇÃO NOS ÓRGÃOS VEGETAIS

Factores fisiológicos e ambientais influenciam o acúmulo de fenólicos nas plantas. Tecidos fotossintéticos expostos à luz tendem a sintetizar mais compostos fenólicos que órgãos subterrâneos. Assim, folhas directamente expostas à radiação UV e ao ataque de herbívoros acumulam flavonóides, taninos e outros fenólicos como defesa fotoprotetora e anti-herbivoria (Monteiro *et al.*, 2005). De facto, a radiação UV pode induzir o aumento de fenólicos foliares, reforçando seu papel protector contra o *stress* oxidativo causado pela luz. Casca do caule também frequentemente apresenta altos teores de fenóis totais – notadamente taninos – que actuam como defesa contra patógenos e predadores. Uma casca rica em taninos confere resistência a fungos e insectos, adaptação importante para plantas lenhosas de ambientes áridos (Barbehenn & Constabel, 2011). Em raízes, ao contrário, geralmente encontram-se teores mais baixos de fenólicos, por estarem isoladas da luz UV e sujeitas a pressões ecológicas distintas. Nesses órgãos subterrâneos, metabólitos não fenólicos (como alcaloides, terpenoides ou polissacarídeos) podem desempenhar papéis defensivos mais proeminentes, atuando contra patógenos do solo ou mediando interações simbióticas (Borges & Amorim, 2020). Além de proteger contra predadores, condições de *stress* ambiental também estimulam a produção de fenólicos nas plantas. Por exemplo, *stress* hídricos (seca e falta de água) desencadeiam respostas de defesa química, incluindo o acúmulo de metabólitos antioxidantes. Sob défice hídrico, muitas plantas exibem aumentos substanciais no teor de flavonoides totais, possivelmente para combater o *stress* oxidativo da dessecação (Jamloki *et al.*, 2021; Shomali *et al.*, 2022).

3.2.2. QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS E FLAVONOIDES TOTAIS

Dada a importância dos compostos fenólicos, foram desenvolvidos diversos métodos analíticos para a sua quantificação em extractos vegetais. O ensaio colorimétrico de Folin-Ciocalteu é o método mais amplamente utilizado para determinar o teor de fenóis totais,

graças à sua simplicidade e reprodutibilidade (Lawag *et al.*, 2023). Neste método, os compostos fenólicos reagem com os reagentes de Folin, originando um complexo de coloração azul cuja absorbância é medida por espectrofotometria. Os resultados são expressos em equivalentes de um padrão (geralmente ácido gálico), reflectindo o conteúdo total de polifenóis.

Para a quantificação dos flavonóides totais, um ensaio colorimétrico clássico é o método do Cloreto de Alumínio (AlCl_3), amplamente utilizado pela sua rapidez e baixo custo (Chaves *et al.*, 2020; Sultana *et al.*, 2024). Neste ensaio, os flavonóides presentes no extracto formam complexos com AlCl_3 , cuja absorbância é visível, permitindo estimar o teor total em equivalentes de um flavonóide padrão (tipicamente quercetina). Embora útil em triagens e comparações gerais, este método apresenta limitações importantes: a intensidade da coloração formada varia consoante a estrutura dos flavonóides. Flavonóis como a quercetina produzem um sinal forte, enquanto flavan-3-óis (catequinas) e antocianinas reagem fracamente ou não reagem com AlCl_3 . Adicionalmente, outros compostos fenólicos presentes no extracto podem interferir na medição da absorbância. Assim, expressar o “teor total de flavonóides” com base apenas neste ensaio pode ser enganador, uma vez que o resultado não reflecte de forma equitativa todas as subclasses de flavonóides (Pękal & Pyrzynska, 2014).

As técnicas cromatográficas (tais como HPLC-DAD e UPLC-MS/MS) complementam as análises globais, permitindo a identificação e quantificação individual de cada flavonóide presente. A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), acoplada à detecção por arranjo de díodos (DAD) ou à espectrometria de massas, já possibilitou a identificação de dezenas de flavonóides distintos em extractos de *Grewia*. Por exemplo, Qamar *et al.* (2021) detectaram mais de 70 flavonóides em espécies deste género utilizando LC-MS. Esta abordagem fornece um perfil detalhado, permitindo a identificação de moléculas específicas (quantificando, por exemplo, miligramas de quercetina, kaempferol, vitexina por grama de amostra) com elevada sensibilidade e especificidade analítica (Mizzi *et al.*, 2020). Em contrapartida, exige equipamentos sofisticados, reagentes dispendiosos e pessoal tecnicamente qualificado, sendo por isso menos acessível do que os métodos espectrofotométricos simples.

Aplicando tais métodos, inúmeros compostos fenólicos foram identificados nas espécies do género *Grewia*. Swain *et al.* (2023), por exemplo, detectaram kaempferol e quercetina nas folhas de *G. asiatica*, associando estes flavonóides à actividade antibacteriana. De igual modo, Mehmood *et al.* (2020) isolaram ácido gálico da mesma espécie, atribuindo a este composto fenólico a potente actividade antioxidante observada.

Em termos quantitativos, Masisi *et al.* (2021) relataram teores de fenóis totais de aproximadamente 2250 mM equivalentes de ácido fórmico por 0,7 g de extracto em *G. flava*, e cerca de 250 mM, segundo os mesmos parâmetros, em *G. bicolor*. Resultados semelhantes foram obtidos por Akwu *et al.* (2019), que encontraram $132,8 \pm 0,2$ mg de equivalentes de ácido gálico por grama (mg EAG/g) no extracto metanólico das folhas de *G. lasiocarpa*, e $171,1 \pm 0,4$ mg EAG/g no extracto da casca do caule da mesma espécie. Estes valores indicam um conteúdo fenólico expressivo, corroborando o potencial antioxidante destas plantas.

Entre os compostos fenólicos já isolados de espécies de *Grewia*, destacam-se os flavonóides – um grupo amplamente distribuído no reino vegetal e particularmente relevante neste género – e os taninos, que serão abordados separadamente (ver secção seguinte). Os flavonóides em *Grewia* abrangem várias subclasses (flavonas, flavanonas, flavonóis, antocianinas, entre outras), podendo ser encontrados em praticamente todas as partes da planta: folhas, flores, frutos, caule e até raízes (Qamar *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2022). Frequentemente, contudo, concentram-se nos órgãos aéreos – estudos apontam para teores elevados especialmente em flores jovens e frutos verdes, particularmente ricos nestes metabolitos (Mudau *et al.*, 2022).

O teor total de flavonóides em *Grewia* tende a variar, em média, entre 0,5% e 5% da massa seca, podendo atingir até cerca de 20% em determinadas espécies ou condições (Li *et al.*, 2024; Turatbekova *et al.*, 2023). Trata-se, indubitavelmente, de um dos grupos de produtos naturais mais importantes e diversificados, que vem merecendo especial atenção devido às suas múltiplas actividades farmacológicas. Por exemplo, Kumar *et al.* (2022) relataram a presença de epicatequina no extracto de *G. asiatica*, associando este flavonóide a efeitos

antidiabéticos, anti-inflamatórios, antimicrobianos e antioxidantes. Bari *et al.* (2019) isolaram 7-O-metilcatequina da raiz de *G. optiva*, correlacionando-a com actividade antioxidante.

Dentre os compostos fenólicos já isolados de *Grewia*, destacam-se os flavonóides – um grupo amplamente distribuído no reino vegetal e particularmente relevante neste género – e os taninos, descritos numa secção autónoma (ver secção seguinte). Os flavonóides em *Grewia* abrangem diversas subclasses (flavonas, flavanonas, flavonóis, antocianinas, entre outras) e podem ser encontrados em quase todas as partes da planta: folhas, flores, frutos, caule e até raízes (Qamar *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2022). Frequentemente, contudo, concentram-se nos órgãos aéreos – estudos apontam teores elevados, principalmente em flores jovens e frutos verdes, que são particularmente ricos nesses metabolitos (Mudau *et al.*, 2022). Em *Grewia*, o teor total de flavonóides costuma variar, em média, entre 0,5% e 5% da massa seca, podendo atingir até cerca de 20% em certas espécies ou condições (Li *et al.*, 2024; Turatbekova *et al.*, 2023).

Trata-se, sem dúvida, de um dos grupos de produtos naturais mais importantes e diversificados, que tem merecido atenção especial devido às inúmeras actividades farmacológicas que apresenta. Por exemplo, Kumar *et al.* (2022) relataram a presença de epicatequina no extracto de *G. asiatica*, associando este flavonóide a efeitos antidiabéticos, anti-inflamatórios, antimicrobianos e antioxidantes. Bari *et al.* (2019) isolaram 7-O-metilcatequina da raiz de *G. optiva*, correlacionando-a com actividade antioxidante.

Adicionalmente, investigações recentes identificaram inúmeros flavonóides específicos em espécies de *Grewia*. Koley *et al.* (2019) relataram a presença de 21 flavonóis, 2 dihidroflavonóis, 7 flavonas, 6 antocianinas, 3 isoflavonóides, além de ácidos fenólicos e flavanonas, em extractos de *G. asiatica*, implicando-os em actividades anti-hiperlipidémica, antidiabética e anticolinesterásica. De forma resumida podemos ver abaixo alguns exemplos de flavonóides isolados de *Grewia* e suas respectivas actividades biológicas.

- 6-Hidroxiluteolina – flavona isolada de *G. asiatica*, com actividade antioxidante (Koley *et al.*, 2019).

- Kaempferol-3-(p-cumaroyldiglucosídeo)-7-glicosídeo – flavonol glicosídico isolado de *G. optiva*, com actividade antidiabética (Zahoor *et al.*, 2020).
- Calicosina – isoflavona (glicosídeo) isolada de *G. asiatica*, apresenta actividades antitumoral e anti-inflamatória (Li *et al.*, 2024).
- 6-Aldeídoisooophiopogonona – isoflavona isolada de *G. asiatica*, com actividades antitumoral e anti-inflamatória (Qamar *et al.*, 2021).

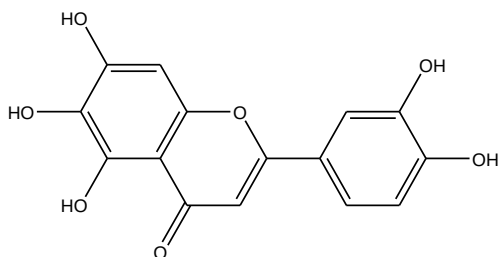
Esses exemplos ilustram a variedade de flavonoides presentes no gênero e indicam a relação entre suas estruturas químicas e potenciais efeitos biológicos. Sabe-se que muitos desses compostos contribuem de forma decisiva para as propriedades farmacológicas das plantas do gênero *Grewia*, especialmente no que tange às actividades antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antidiabética, entre outras.

Diversos flavonóides isolados têm mecanismos de acção já sugeridos. Em especial, pesquisas indicam que:

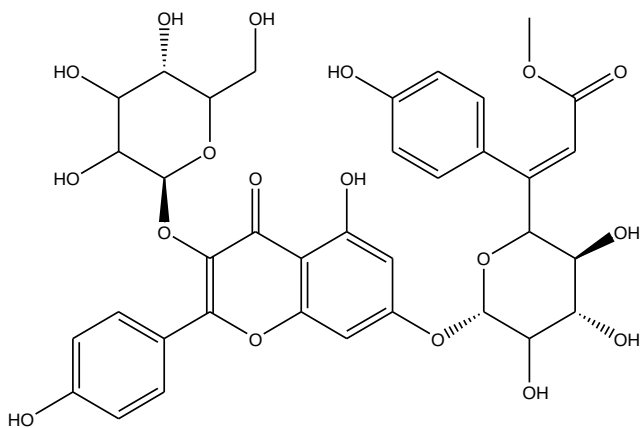
- Quercetina – Apresenta notável actividade antioxidante, actuando por inibição de enzimas geradoras de espécies reactivas de oxigénio e por sequestrar directamente radicais livres (Kumar *et al.*, 2022).
- Apigenina – Destaca-se pela actividade anti-inflamatória, intervindo na modulação do processo inflamatório, inclusive pela inibição da síntese de prostaglandinas (Zahoor *et al.*, 2020).
- Luteolina – Demonstra potente actividade antibacteriana, atribuída à capacidade de inactivar adesinas microbianas e, pela sua natureza lipofílica, de romper as membranas celulares das bactérias (Qamar *et al.*, 2021).
- Baicaleína – Flavonóide com reconhecida actividade antifúngica, possivelmente por formar complexos com proteínas da parede celular dos fungos, comprometendo a sua integridade (Koley *et al.*, 2019).

Como se observa, os flavonóides das plantas do gênero *Grewia* exibem uma ampla gama de propriedades bioactivas e actuam por múltiplos mecanismos, o que os torna

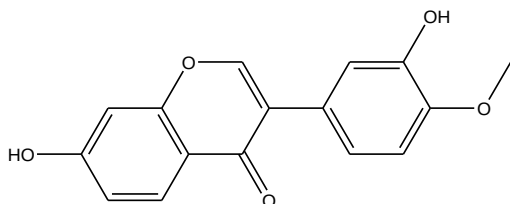
componentes-chave no perfil farmacológico destas plantas, a figura nº 2 ilustra algumas das estruturas acima descritas, as quais se atribuem as actividades supra.



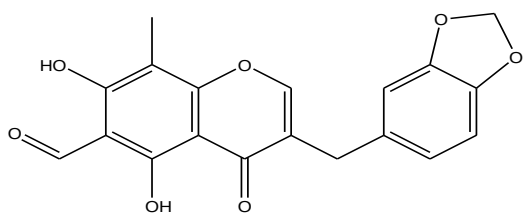
-6-Hidroxiluteolina



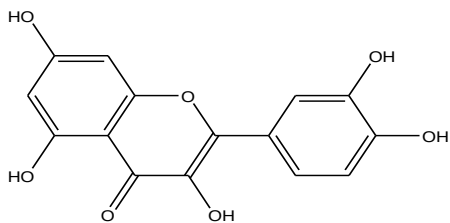
Kaempferol-3-(cumaroyldiglucosídeo)-7-glicosídeo



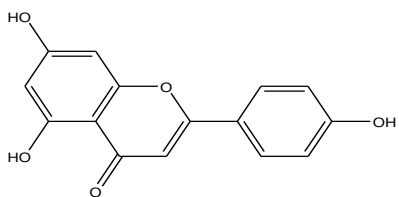
Calcosina



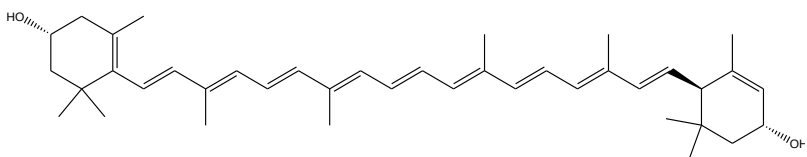
6-Aldeidoisoophiopogonona



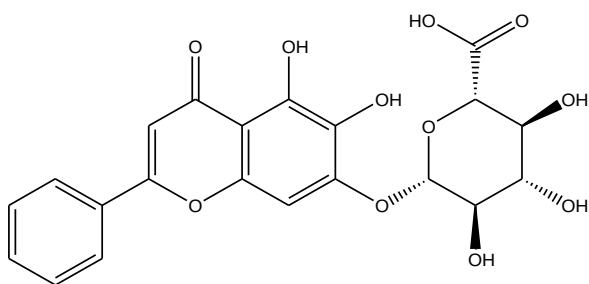
Quercetina



Apigenina



Luteolina



Baicaleína

Figura 2: Flavonóides isoalados das plantas do gênero *Grewia*

3.2.3. TANINOS (COMPOSTOS FENÓLICOS DE ALTO PESO MOLECULAR)

Os taninos constituem outra classe importante de compostos fenólicos presente de forma consistente nas espécies do género *Grewia*. São classicamente definidos como polifenóis solúveis em água, com massa molecular compreendida entre ~300 e 3.000 Da, capazes de precipitar proteínas (como a gelatina) e alcalóides (Khanbabaee & Ree, 2001). Esta definição tradicional exclui moléculas de maiores dimensões; no entanto, descobertas mais recentes identificaram taninos com massas até ~20.000 Da e estruturas semelhantes aos taninos “clássicos” (Mueller-Harvey, 2006). Em suma, trata-se de uma família extremamente diversa de oligómeros e polímeros fenólicos.

Do ponto de vista das aplicações, dados epidemiológicos sugerem que os taninos são úteis no tratamento tópico de inflamações cutâneas e lesões, sendo que a sua ingestão regular poderá contribuir para a prevenção de doenças crónicas (Ambu *et al.*, 2011). Apresentam uma vasta gama de efeitos biológicos e podem actuar no organismo de duas formas principais (Tairo, 2021; Rawat & Narain, 2018):

- (1) **Taninos não absorvíveis** – de elevado peso molecular e estrutura complexa, actuam localmente no trato gastrointestinal como antioxidantes, antimicrobianos, antivirais, antimutagénicos e nutracêuticos;
- (2) **Taninos absorvíveis** – geralmente de menor peso molecular, podem ser absorvidos e exercer efeitos sistémicos em diversos órgãos.

Devido a estas propriedades adstringentes e terapêuticas, os taninos de origem vegetal são amplamente utilizados na medicina tradicional para estancar hemorragias locais, tratar diarreias, inflamações da boca e garganta, bronquites, queimaduras, acelerar a cicatrização de feridas, entre outros usos (Rawat & Narain, 2018).

Tal como outros compostos fenólicos, os taninos podem ser quantificados por ensaios colorimétricos, métodos titulométricos, técnicas de precipitação e cromatografia (Makkar *et al.*, 1993). Ensaio como o de Folin-Ciocalteu respondem também à presença de taninos, embora não permitam distingui-los de outros fenóis. Entre os métodos específicos destacam-se a titulação com solução de índigo carmim (em que uma solução padrão, frequentemente KMnO_4 , oxida os taninos, permitindo determinar o seu teor) e os métodos de precipitação, nos quais os taninos são complexados com proteínas ou outros substratos, sendo posteriormente quantificados de forma indirecta. Técnicas cromatográficas, como a HPLC, permitem separar e quantificar taninos individualmente, oferecendo maior especificidade analítica (Wilhelmy *et al.*, 2020). Cada método possui vantagens e limitações, sendo a escolha muitas vezes determinada pelo tipo de tanino predominante (hidrolisável versus condensado) e pelos recursos laboratoriais disponíveis.

O teor de taninos nas espécies de *Grewia* varia significativamente em função da espécie, do órgão vegetal analisado e do método de extracção/determinação utilizado. De forma geral, diversos estudos indicam que frutos, folhas e cascas tendem a apresentar maiores concentrações de taninos, possivelmente por serem as partes da planta mais expostas a factores de stress ambiental (Sati & Ahmed, 2018; Elhassan & Yagi, 2010). Por exemplo, ao avaliar árvores e arbustos da savana africana, verificou-se que muitas espécies folhosas acumulam taninos como mecanismo de defesa. As folhas jovens de certas árvores apresentam teores tão elevados de taninos condensados que se tornam pouco palatáveis para herbívoros – como é o caso do mopane (*Colophospermum mopane*), cujas folhas novas são ricas em taninos e evitadas pelos animais, ao passo que as folhas maduras, com menor teor, passam a ser consumidas (Kohi *et al.*, 2009). Em *Grewia*, de modo semelhante, as partes aéreas estão mais sujeitas à predação e à radiação solar, o que justifica os seus teores superiores em taninos; contudo, há também registo de elevados níveis nas raízes e na casca em algumas espécies (Borges & Amorim, 2020).

Medições quantitativas ilustram esta variabilidade. Em diferentes espécies, o teor de taninos (expresso como percentagem relativamente à massa seca) pode oscilar entre valores muito baixos e níveis substanciais. Por exemplo, Elhassan & Yagi (2010) registaram aproximadamente 0,27–0,33% de taninos em *G. villosa* e *G. tenax*, cerca de 0,28% em *G. mollis*, 1,13% em *G. flavescens* e até 9,5% em *G. retinervis*. Outro estudo relatou teores na ordem de $1,64 \pm 0,31$ e $1,69 \pm 0,22$ mg EAT/g (miligrama equivalente de ácido tânico por grama de extracto) para *G. forbesii* e *G. bicolor*, respectivamente (Tairo, 2021). Esta disparidade reforça que a concentração de taninos depende não apenas da espécie, mas também da parte da planta e do protocolo de extracção/análise adoptado.

3.2.3.1. CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA DOS TANINOS

Quimicamente, os taninos subdividem-se em duas grandes classes: hidrolisáveis e não hidrolisáveis (condensados). Os taninos hidrolisáveis são ésteres polifenólicos de um poliálcool (geralmente glicose) com ácidos fenólicos como o ácido gálico ou elágico. Por hidrólise ácida ou enzimática, libertam estas moléculas (os galotaninos libertam ácido gálico; os elagitaninos libertam ácido elágico, derivado de dímeros de ácido gálico). Existem ainda variações estruturais, como taninos derivados do ácido quínico (em substituição da glicose), esterificados por ácido gálico ou caféico (Barbehenn & Constabel, 2011). Em *Grewia*, já foram identificados taninos hidrolisáveis característicos: ácido elágico livre e pedunculagina (um elagitanino) foram isolados em *G. asiatica* e *G. optiva* (Zahoor, Bari, Zeb & Khan, 2020; Qamar *et al.*, 2021). Uma mistura de poligalotaninos frequentemente designada por “ácido tânico” (embora não corresponda a um composto único, mas sim a um conjunto de penta-, tetra- e trigaloil-glicosés) também foi identificada em *G. asiatica*, representando aproximadamente 25,14% dos fenóis totais nas folhas e 20,79% nos frutos desta espécie (Kinjal, 2019).

A segunda classe, os taninos condensados, são polímeros formados pela ligação de unidades flavânicas (flavan-3-óis, como catequina, e flavan-3,4-dióis). Também conhecidos como proantocianidinas, devem o seu nome ao facto de que, em condições fortemente ácidas, as suas ligações são quebradas, libertando pigmentos antocianidínicos de coloração avermelhada (como a cianidina e a delphinidina). Os taninos condensados estão amplamente distribuídos em plantas lenhosas e conferem adstringência a cascas e frutos.

No género *Grewia*, há registos da ocorrência de proantocianidinas, nomeadamente em *G. asiatica* (Talpur *et al.*, 2017). Em resumo, tanto os taninos hidrolisáveis como os condensados foram identificados em espécies de *Grewia*, contribuindo significativamente para as propriedades biológicas destas plantas (como será abordado, os taninos possuem forte actividade antioxidante e desempenham ainda um papel relevante na actividade antidiabética, devido à inibição de enzimas digestivas).

3.2.4. TERPENÓIDES E SAPONINAS

Outra classe de metabolitos de relevo nas *Grewia* é a dos terpenóides (também designados isoprenóides). Trata-se da classe de produtos naturais mais numerosa e estruturalmente diversa conhecida até à data (Ludwiczuk *et al.*, 2017). Os terpenóides desempenham múltiplas funções ecológicas nas plantas — como a atracção de polinizadores, defesa contra herbívoros, alelopatia, entre outras — bem como importantes funções farmacológicas. Em *Grewia*, foram já isolados diversos triterpenos pentacíclicos de interesse medicinal, tais como lupeol, taraxerol, α -amirina, β -amirina, lupenona, eritrodiol, betulina e friedelina, entre outros. Estes compostos foram identificados em espécies como *G. asiatica*, *G. damine* e *G. optiva* (Kaur *et al.*, 2014). Os terpenóides presentes nas *Grewia* têm suscitado interesse por apresentarem diversas actividades terapêuticas, incluindo propriedades anticancerígenas, anticoncepcionais, digestivas, hepatoprotectoras, anti-inflamatórias, antibióticas, entre outras (Heras & Hortelano, 2009; Moreira *et al.*, 2007).

Os terpenos classificam-se segundo o número de unidades de isopreno (C_5H_8) presentes na sua estrutura. As estruturas mais simples são os hemiterpenos ($C_{10}H_{16}$), entre os quais se destaca o próprio isopreno. Curiosamente, as folhas de *Grewia* contêm ácidos orgânicos voláteis derivados do isopreno — como os ácidos tiglólico, angélico, isovalérico e seneciónico — considerados hemiterpenóides (Ludwiczuk *et al.*, 2017). Terpenos de maior dimensão incluem os monoterpenos ($C_{10}H_{16}$), sesquiterpenos ($C_{15}H_{24}$), diterpenos ($C_{20}H_{32}$), triterpenos ($C_{30}H_{48}$), e assim sucessivamente, muitos dos quais permanecem por investigar nas *Grewia* em maior detalhe.

Entre os terpenóides complexos, destacam-se as saponinas, glicósidos de triterpenos ou esteróides. Recebem esta designação pela sua capacidade de formar espuma estável em solução aquosa, à semelhança do sabão. Quimicamente, consistem num núcleo triterpénico

ou esteroideal ligado a um ou mais açúcares (Oleszek, 2002; Vincken *et al.*, 2007). Apresentam características marcantes: provocam hemólise dos eritrócitos (em concentrações elevadas), formam espuma persistente quando agitadas em meio aquoso, e são solúveis em água e em solventes orgânicos moderadamente polares, como o álcool (Aziz *et al.*, 2019).

As saponinas estão amplamente distribuídas nas *Grewia*. Espécies como *G. hirsuta*, *G. asiatica*, *G. nervosa*, *G. serrulata* e *G. flava* revelaram a presença de saponinas nas suas folhas, cascas ou raízes (Pundlik, 2021). Diversas saponinas foram já isoladas, nomeadamente em *G. asiatica*, *G. lasiocarpa* e *G. optiva*. Estes compostos demonstraram actividades biológicas relevantes, incluindo propriedades medicinais como actividade hemolítica, anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiviral, insecticida, citotóxica e potencialmente anticancerígena (Akwu, *et al.*, 2019). No contexto ecológico, as saponinas funcionam como mecanismos de defesa vegetal contra insectos e microrganismos, reduzindo a herbivoria e as infecções — o que justifica a forte actividade antimicrobiana frequentemente observada em extractos saponínicos (Aziz *et al.*, 2019; Ullah *et al.*, 2012). Em suma, a presença concomitante de terpenos (incluindo saponinas) nas *Grewia* contribui simultaneamente para a sua resistência ecológica e para o seu diversificado potencial terapêutico.

3.2.5. ALCALÓIDES (COMPOSTOS NITROGENADOS)

Embora em proporção inferior à dos compostos fenólicos e terpenóides, as *Grewia* também produzem metabolitos secundários azotados, nomeadamente **alcalóides**. Estes são compostos orgânicos de estrutura cíclica contendo nitrogénio (habitualmente em anel heterocíclico) e caracterizam-se por apresentarem actividade biológica notável. Estudos fitoquímicos permitiram a identificação e isolamento de diversos alcalóides em espécies de *Grewia*, alguns dos quais demonstraram propriedades farmacológicas relevantes (Kumar *et al.*, 2022).

Por exemplo, foi descrito que *Grewia paniculata* contém alcalóides do tipo piperidínico, embora os detalhes estruturais ainda não tenham sido amplamente divulgados (Kumar *et al.*, 2022). Nas raízes de *Grewia nervosa* foi identificado um alcalóide designado N-metilmicrocosamina, o qual demonstrou actividade inibitória sobre a enzima α -glicosidase

Chemical structures of two indole derivatives:

a: 2-methyl-3,4-dihydro-1H-indole

b: 2-methyl-3,4-dihydro-1H-indole-5-methoxy

Embora quantitativamente os alcalóides não sejam tão abundantes quanto os compostos fenólicos nas *Grewia*, a sua presença diversifica o potencial fitoquímico da planta e pode contribuir para efeitos terapêuticos específicos, como actividade neurofarmacológica, antimicrobiana ou hipoglicemiante.

De forma geral, a riqueza em flavonóides, taninos, terpenóides (incluindo saponinas) e alcalóides confere às espécies do género *Grewia* um perfil fitoquímico diversificado. Esta diversidade química encontra-se na base das múltiplas actividades biológicas já reportadas para o género. Conforme anteriormente referido, estes metabolitos secundários evoluíram como adaptações ecológicas (defesa, atracção, adaptação ambiental), mas coincidentemente interagem de forma benéfica com sistemas biológicos humanos ou de

agentes patogénicos. Nas secções seguintes, será abordado como estes compostos se traduzem em efeitos biológicos concretos — com especial enfoque nas acções antioxidantes, antimicrobianas e antidiabéticas, áreas de investigação particularmente activas no que respeita às espécies de *Grewia*.

3.4.ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DAS ESPÉCIES DE GREWIA

3.4.1. ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE

A actividade antioxidante refere-se à capacidade que certos compostos possuem de proteger células e tecidos contra danos oxidativos provocados por radicais livres e outras espécies reactivas. Nos extractos vegetais, esta actividade encontra-se geralmente associada à presença de polifenóis (flavonóides, taninos, etc.) e outras moléculas redutoras. No caso das *Grewia*, os elevados teores de compostos fenólicos justificam as fortes actividades antioxidantes observadas em várias espécies (Akwu *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2022).

Para compreender a importância dos antioxidantes, importa resumir o papel dos radicais livres nos sistemas biológicos. Estes são átomos ou moléculas altamente reactivos, caracterizados por possuírem um electrão desemparelhado na sua última camada electrónica (Ferreira & Matsubara, 1997). Neste grupo incluem-se sobretudo as espécies reactivas de oxigénio (ERO) — como o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e o radical hidroxilo (OH) — bem como espécies reactivas de azoto (ERA). Dado que nem todas possuem electrões desemparelhados (por exemplo, o H_2O_2 não é, tecnicamente, um radical), os termos ERO e ERA são considerados mais apropriados para englobar estes agentes oxidantes (Chandimali *et al.*, 2025).

A produção destas espécies reactivas é um processo natural e inevitável no metabolismo aeróbio. No organismo humano, por exemplo, são continuamente geradas em organelos como as mitocôndrias (durante a fosforilação oxidativa que gera ATP), o retículo endoplasmático e os peroxissomas (Bae *et al.*, 2011). Adicionalmente, participam em funções fisiológicas essenciais, como a fagocitose (em que as células imunitárias produzem ERO para destruir patógenos), a sinalização celular e a regulação do tónus vascular (Bae *et al.*, 2011; Chandimali *et al.*, 2025). Fontes exógenas, como a exposição à radiação

ionizante ou UV, poluentes, tabagismo, certos fármacos e toxinas, contribuem igualmente para a carga oxidativa do organismo.

Quando produzidas em excesso ou quando os mecanismos de defesa são insuficientes para as neutralizar, as ERO/ERA desencadeiam um estado de *stress* oxidativo, que pode danificar componentes celulares. Estas espécies reactivas atacam macromoléculas essenciais — provocando peroxidação lipídica, oxidação de proteínas (enzimas, receptores) e mutações no ADN — conduzindo à disfunção ou morte celular (Chaudhary *et al.*, 2023). A literatura científica tem correlacionado o *stress* oxidativo crónico com o envelhecimento precoce e com diversas doenças degenerativas, incluindo doenças neurodegenerativas (como Parkinson e Alzheimer), diversos tipos de cancro, doenças cardiovasculares, cataratas, declínio imunológico, diabetes, entre outras (Meo & Venditti, 2020; Chandimali *et al.*, 2025). Desde a hipótese de Denham Harman, formulada em 1956 — que propôs os radicais livres como agentes do envelhecimento e da doença — tem-se acumulado evidência sobre o papel patogénico do dano oxidativo (Rusciano & Bagnoli, 2024).

Felizmente, os organismos desenvolveram defesas antioxidantes para controlar os radicais livres e proteger-se dos seus efeitos prejudiciais. Estas defesas incluem antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Entre os primeiros destacam-se três enzimas principais: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), com apoio da glutathione reductase (GR). A SOD catalisa a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em H_2O_2 ; a CAT converte H_2O_2 em água e oxigénio; e a GPx reduz H_2O_2 (ou peróxidos orgânicos) com uso da glutathione, impedindo a formação do radical hidroxilo. Estas enzimas encontram-se amplamente distribuídas: a SOD é universal, a CAT actua sobretudo nos peroxissomas do fígado, rim e eritrócitos, e a GPx no citosol e mitocôndrias.

Entre os antioxidantes não enzimáticos, incluem-se moléculas endógenas e dietéticas, de natureza hidrossolúvel (como a glutathione e o ácido ascórbico – vitamina C) ou lipossolúvel (como a vitamina E e os carotenóides). A vitamina C, por exemplo, regenera outras moléculas antioxidantes e, sendo solúvel em água, protege o citoplasma e o plasma celular (Barbosa *et al.*, 2020). Os antioxidantes dietéticos polifenólicos, como os flavonóides, integram igualmente esta categoria, contribuindo para a neutralização dos radicais livres.

Do ponto de vista químico, muitos antioxidantes naturais (vitaminas, polifenóis) são compostos aromáticos com grupos hidroxilo capazes de doar electrões ou átomos de hidrogénio para estabilizar radicais (Babaei *et al.*, 2020). Em termos simples, oxidam-se em vez das biomoléculas críticas ou actuam quelando metais de transição que promoveriam a formação de radicais.

Nas plantas, inúmeros metabolitos secundários possuem actividade antioxidante. Nas plantas do género *Grewia*, como já referido, os flavonóides e os taninos desempenham esse papel, reforçando as defesas antioxidantes do organismo humano quando consumidos. Dado o interesse crescente em quantificar esta capacidade antioxidante (para aplicações farmacológicas, nutracêuticas ou de controlo de qualidade), foram desenvolvidos diversos ensaios *in vitro*. Os principais métodos, conforme Rahman (2007), baseiam-se em diferentes princípios, nomeadamente:

- **Sequestro de radicais livres estáveis:** métodos do radical *DPPH* e *ABTS*, que medem a capacidade do extracto em doar electrões ou hidrogénios e neutralizar estes radicais visíveis por alteração de cor.
- **Capacidade redutora de iões metálicos:** métodos FRAP, FRP e CUPRAC, baseados na redução de iões metálicos (Fe^{3+} ou Cu^{2+}), evidenciada por formação de complexos coloridos.
- **Sequestro de radicais reactivos específicos:** métodos ORAC, TRAP ou o ensaio da desoxirribose, que avaliam a inibição de reacções iniciadas por radicais peroxila ou hidroxilo.
- **Inibição da peroxidação lipídica:** métodos como TBARS (que detecta malondialdeído, produto da oxidação lipídica) ou oxidação de LDL (associada à aterosclerose).

Entre esses métodos, os mais utilizados actualmente na fitoquímica são DPPH, ABTS, FRAP, ORAC e CUPRAC, pela sua simplicidade, rapidez e reprodutibilidade (Rahman, 2007).

Diversos estudos aplicaram estes ensaios às plantas do gênero *Grewia*, experimentalmente Gwatidzo *et al.* (2018) testaram extractos hidroetanólicos de folhas, caules e frutos de *G. bicolor* e *G. carpinifolia* com DPPH, ABTS e FRAP: todos revelaram actividade significativa, atingindo até 80% de inibição de DPPH a 200 mg/L. *G. optiva* demonstrou valores notáveis nos ensaios ABTS (0,09–0,915 mM em equivalentes de Trolox) e FRAP (22,64–43,28 mg/mL em FeSO₄) (Rehman, Khan & Asghar, 2013; Kumar *et al.*, 2022). Adicionalmente, Asuku, Atawodi & Onyike (2012) observaram actividade antioxidante *in vivo* com extractos de *G. mollis* administrados a ratos (5 mg/Kg), com melhorias significativas nos marcadores de stress oxidativo.

Estes resultados reforçam o elevado potencial antioxidante do género *Grewia*, associado principalmente à presença de flavonóides (como quercetina, kaempferol, catequinas) e taninos.

Em síntese, as espécies de *Grewia* constituem fontes naturais de potentes antioxidantes, o que fundamenta o seu uso tradicional em inflamações e cicatrizações e justifica o interesse actual em aplicações preventivas de doenças associadas ao stress oxidativo.

3.4.2. ACTIVIDADE ANTIMICROBIANA

A resistência crescente de microrganismos patogénicos aos antibióticos convencionais e o surgimento de novas doenças infecciosas têm impulsionado a procura por agentes antimicrobianos alternativos, sobretudo de origem natural. As plantas medicinais, ricas em compostos bioactivos, destacam-se como candidatas promissoras neste cenário (Duarte *et al.*, 2014). O género *Grewia*, em particular, tem atraído atenção, pois as suas espécies concentram metabolitos (fenólicos, terpenos, alcalóides) associados a forte actividade antimicrobiana (Akwu *et al.*, 2019).

Dois factores motivam esta busca por fitoterápicos antimicrobianos: (1) o aumento na incidência de infecções bacterianas devido ao crescimento populacional em zonas urbanas precárias, poluição e carências em saneamento e saúde pública – factores que facilitam a transmissão de doenças (Belkaid & Hand, 2015); e (2) o surgimento de estirpes bacterianas resistentes aos fármacos disponíveis, consequência do uso indiscriminado de antibióticos,

especialmente em países em desenvolvimento (Ali *et al.*, 2023). A resistência antimicrobiana tem vindo a crescer em ritmo alarmante, dificultando o tratamento de infecções comuns. Perante este cenário, derivados de plantas com actividade antibiótica representam uma esperança de novos agentes terapêuticos, muitas vezes actuando por mecanismos distintos dos antibióticos sintéticos e com menor tendência a induzir resistência (Akwu *et al.*, 2019).

Para se avaliar experimentalmente a actividade antibacteriana de extractos vegetais, empregam-se metodologias *in vitro* padronizadas. Os ensaios quantitativos incluem os métodos de diluição em meio de cultura (água ou caldo nutritivo), nos formatos de macro ou micro-diluição, os quais permitem determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) dos extractos. Já os ensaios qualitativos compreendem os métodos de difusão em água, como o método do disco de papel (Kirby-Bauer) e o *E-test* (Prathyusha *et al.*, 2013). O método de difusão em disco é amplamente utilizado pela sua simplicidade, baixo custo e capacidade de fornecer resultados reproduzíveis. Consiste na aplicação de discos de papel filtro impregnados com o extracto sobre placas de água semeadas com a bactéria de interesse; após incubação, mede-se o halo de inibição do crescimento microbiano ao redor do disco (Aadesariya *et al.*, 2017). Quanto maior o diâmetro do halo, mais potente é considerado o extracto contra essa bactéria.

Estudos com plantas do género *Grewia* têm demonstrado um amplo espectro de acção antibacteriana, abrangendo tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas. Aadesariya *et al.* (2017) relataram que extractos de *G. tenax* (1 mg/mL) inibiram de forma significativa o crescimento de diversas bactérias patogénicas humanas: entre as Gram-positivas, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus epidermidis* e *S. pneumoniae* mostraram-se susceptíveis; e, entre as Gram-negativas, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus vulgaris* foram inibidas pelo extracto. Lamola *et al.* (2017), ao investigarem *G. flava*, observaram que extractos da folha e da raiz exibiram actividade potente, com valores de CIM tão baixos quanto 0,03 mg/mL contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium*, e cerca de 0,07 mg/mL contra *Bacillus cereus*, *E. coli* e novamente *S. aureus* (neste caso possivelmente replicado em outro ensaio). Esta eficácia foi posteriormente

atribuída, em parte, a dois triterpenos isolados da *G. flava* – taraxerol e lupeol – que apresentaram acentuada actividade antibacteriana quando testados isoladamente (Mongalo *et al.*, 2022).

Outros trabalhos reforçam o potencial antimicrobiano do género. Akwu *et al.* (2024) investigaram *G. lasiocarpa* e constataram que os seus extractos etanólicos das folhas exibiram actividade específica contra a bactéria multirresistente MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina), formando halos de inibição entre 6,5 e 17,3 mm. Em contraste, estes extractos mostraram-se pouco ou nada eficazes contra certas Gram-negativas padrão (*P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhimurium* ATCC 14026, *K. pneumoniae* ATCC 314588, *E. coli* ATCC 25922). Já *G. paniculata*, avaliada por Nasrin, Dash & Ali (2015), apresentou actividade antibacteriana moderada a forte: extractos foliares a 400 µg/disco inibiram significativamente o crescimento de *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Shigella dysenteriae* e *K. pneumoniae*, com halos variando em torno dos 23 mm de diâmetro.

De modo geral, observa-se que os extractos de folhas de *Grewia* tendem a exibir actividade antimicrobiana superior à de extractos de outras partes (cascas, raízes), possivelmente devido à maior concentração de compostos fenólicos e terpenóides nas folhas (Aadesariya *et al.*, 2017). As propriedades anti-sépticas e antibióticas das *Grewia* são atribuídas a uma acção sinérgica dos seus metabolitos: flavonóides e taninos podem danificar membranas microbianas e inactivar enzimas ou toxinas; terpenos, pela sua natureza lipofílica, intercalam-se nas membranas dos patógenos, aumentando a sua permeabilidade; alcalóides podem interagir com ácidos nucleicos ou alvos específicos nos microrganismos, etc. Esta diversidade de mecanismos reduz a probabilidade de desenvolvimento de resistência por parte dos patógenos e pode inspirar o desenvolvimento de novos fármacos ou fitoprodutos antimicrobianos baseados em *Grewia*.

3.4.3. ACTIVIDADE ANTIDIABÉTICA

As doenças crónicas não transmissíveis, entre as quais o diabetes mellitus, têm vindo a apresentar um acentuado aumento da prevalência global, impulsionado principalmente por estilos de vida sedentários, dietas pouco saudáveis, factores genéticos e ambientais (Faria *et al.*, 2023). O diabetes mellitus, em particular, é um distúrbio metabólico crónico

caracterizado por hiperglicemia persistente, resultante de defeitos na secreção e/ou na acção da insulina (Zahoor *et al.*, 2020). As projecções indicam um crescimento contínuo nos casos de diabetes a nível mundial, tornando-se um desafio de saúde pública. Embora existam diversos medicamentos disponíveis (hipoglicemiantes orais, insulina exógena, etc.), o controlo glicémico sustentado permanece difícil em muitos doentes, sendo que os tratamentos convencionais frequentemente acarretam efeitos adversos (hipoglicemia, distúrbios gastrointestinais) e complicações a longo prazo. Por estes motivos, tem crescido o interesse em explorar tratamentos alternativos ou complementares provenientes de fontes naturais (Khanal *et al.*, 2016; Faria *et al.*, 2023).

As plantas medicinais e os seus metabolitos têm-se revelado promissores na abordagem do diabetes e das suas complicações. Estudos indicam que diversos metabolitos secundários – incluindo flavonóides, terpenóides, alcalóides e polissacarídeos – podem auxiliar no controlo da glicemia e na protecção dos órgãos-alvo do diabetes (Dornas *et al.*, 2009). No género *Grewia*, compostos destas classes foram identificados e avaliados quanto à sua actividade antidiabética. Em especial, flavonóides como quercetina, miricetina, kaempferol e genisteína, isolados de várias espécies de *Grewia*, mostraram-se associados à protecção das células β pancreáticas contra danos oxidativos e à melhoria da secreção de insulina. Existem evidências de que estes compostos também promovem a captação de glicose pelos tecidos periféricos, inibem as enzimas digestivas α -amilase e α -glicosidase (retardando a absorção de hidratos de carbono) e aumentam a glicogénese hepática, mecanismos esses que contribuem para a redução da glicemia pós-prandial (Jan *et al.*, 2022; Zahoor *et al.*, 2020).

A caracterização da actividade antidiabética de extractos de *Grewia* tem sido efectuada principalmente através de ensaios *in vitro* sobre enzimas digestivas e, em menor escala, por estudos *in vivo* com modelos animais de diabetes. Um método comum é avaliar a capacidade do extracto em inibir as enzimas α -amilase (amilase pancreática) e α -glicosidase (intestinal) – enzimas responsáveis pela digestão dos hidratos de carbono em açúcares simples. A inibição destas enzimas resulta numa menor absorção de glicose, contribuindo para o controlo dos picos hiperglicémicos. Geralmente, avaliam-se

simultaneamente ambos os ensaios, a fim de confirmar a actividade hipoglicemiante (Mohamed, 2014).

Estudos *in vitro* demonstraram que os extractos de *Grewia* frequentemente apresentam potente actividade de inibição da α -amilase, atribuída à presença de compostos fenólicos nos extractos (Assefa *et al.*, 2019). A afinidade de taninos e flavonóides por estas enzimas é elevada, conduzindo à formação de complexos enzima-inibidor. Os dados sugerem que, nos extractos foliares de *Grewia*, os taninos e flavonóides poliméricos são os principais responsáveis pela forte inibição da α -amilase observada, enquanto extractos da raiz (com poucos fenólicos, contendo apenas ácidos fenólicos simples e outros metabolitos de baixa actividade) exibem um efeito inibitório desprezível em concentrações equivalentes (Qamar *et al.*, 2021). Este perfil é compatível com a distribuição desigual de fenólicos na planta – as folhas concentram taninos e flavonóides complexos, ao passo que as raízes não.

Paralelamente, evidências *in vivo* corroboram o potencial antidiabético das *Grewia*. *Grewia tenax*, por exemplo, revelou-se rica em compostos bioactivos como flavonóides, taninos e ácidos fenólicos, conhecidos pelas suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Aadesariya *et al.*, 2017; Khanal *et al.*, 2016). Em modelos animais, extractos desta espécie demonstraram melhorar a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina. Os mecanismos propostos incluem o aumento da expressão de transportadores de glicose nos tecidos periféricos (favorecendo a entrada de glicose nas células) e a modulação de vias de sinalização da insulina. Além disso, metabolitos de *G. tenax* mostraram inibir enzimas-chave da hiperglicemia, como a α -glicosidase e, possivelmente, a própria α -amilase, contribuindo para reduzir a carga de glicose absorvida (Zahoor *et al.*, 2020; Acharya *et al.*, 2024).

Face a estes achados, as plantas do género *Grewia* surgem como candidatas interessantes para o desenvolvimento de agentes antidiabéticos de origem natural. Os seus extractos polifenólicos podem actuar de forma multifactorial: reduzindo o stress oxidativo (protegendo as células pancreáticas), melhorando a resposta e secreção de insulina, retardando a digestão dos hidratos de carbono e atenuando os processos inflamatórios associados ao diabetes. Esta actuação abrangente é particularmente valiosa numa doença multifacetada como o diabetes, que envolve desequilíbrios metabólicos, danos oxidativos

e inflamação crónica. São ainda necessários estudos clínicos para confirmar a eficácia e segurança destes extractos em humanos, bem como estudos fitoquímicos para isolar e caracterizar os compostos mais activos. No entanto, as evidências actuais sustentam o uso tradicional de *Grewia* no controlo do diabetes e apontam caminhos promissores para novas terapias adjuvantes ou suplementos nutracêuticos.

3.4.4. OUTRAS ACTIVIDADES FARMACOLÓGICAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para além das actividades já detalhadas, espécies de *Grewia* têm demonstrado uma variedade de efeitos farmacológicos adicionais. Por exemplo, diversas *Grewia* exibem acção anti-inflamatória significativa, geralmente atribuída aos flavonóides que inibem mediadores inflamatórios (como se observa para a apigenina, luteolina e outros compostos). Actividades anticancerígenas também têm sido relatadas: flavonóides isolados, como a 6-aldeídoisooophiopogonona e a calicosina, apresentaram efeitos citotóxicos contra células tumorais e propriedades antiproliferativas (Qamar *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2024).

Cumprir ainda referir a actividade imunomoduladora: conforme anteriormente citado, extractos etanólicos de *G. asiatica* demonstraram capacidade de modular o sistema imunitário – em estudos realizados com ratos, a administração oral (200 e 400 mg/kg) neutralizou a leucopénia induzida por ciclofosfamida, aumentando a contagem de leucócitos e a actividade fagocítica, o que indica um efeito imunoestimulante apreciável (M & S, 2022). Adicionalmente, existem registos do efeito antifertilidade de componentes de *Grewia*: sementes de *G. asiatica* actuam como agentes anti-implantação (abortivos), impedindo a fixação do embrião no útero (*phytojournal.com*) – propriedade que, em contextos tradicionais, é utilizada como método contraceptivo de base herbal.

Em síntese, o género *Grewia* destaca-se no panorama das plantas medicinais por reunir uma diversidade química notável e, consequentemente, um vasto espectro de actividades biológicas. Flavonóides, taninos, terpenóides e alcalóides isolados destas plantas já demonstraram actividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antidiabéticas, imunomoduladoras, hepatoprotectoras, anticonvulsivantes, entre outras. Estas múltiplas bioactividades reforçam o potencial terapêutico das *Grewia* e justificam o

rigor científico que tem sido dedicado ao seu estudo nas últimas décadas. Novas investigações continuam a emergir – explorando desde formulações fitoterápicas tradicionais até à identificação de moléculas puras com acção farmacológica – o que poderá conduzir ao desenvolvimento de novos fármacos de origem natural ou de coadjuvantes no tratamento de doenças complexas.

Conclusão: A revisão da literatura evidencia que as *Grewia*, incluindo *G. monticola*, concentram metabolitos secundários bioactivos em abundância, especialmente fenólicos (flavonóides, taninos) e terpenóides (saponinas), responsáveis por uma vasta gama de actividades biológicas cientificamente validadas. A organização lógica deste conhecimento – desde os aspectos botânicos e fitoquímicos até aos mecanismos de acção farmacológica – fornece uma base sólida para futuras pesquisas e para o uso racional destas espécies na biomedicina. Num contexto de procura por alternativas terapêuticas mais seguras e eficazes, as *Grewia* surgem como fontes promissoras de compostos naturais, cujo estudo aprofundado poderá contribuir para inovações em fitomedicamentos e para a compreensão dos fenómenos adaptativos das plantas em relação ao meio ambiente e à interacção com outras formas de vida.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. COLECTA E PREPAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

Diversas partes (Raiz, caule e folhas) da *Grewia monticola*, foram colectadas no Distrito de Matutuine, Província de Maputo, no Posto Administrativo da Bela Vista, Bairro Mudada, com as seguintes coordenadas -26°24'00.0" 32°36'00.0"E. A identificação da espécie foi feita por botânicos do Herbário do Instituto de Investigação Agrária de Moçambique por comparação com espécime existente com voucher número 63457.

O material para o estudo, foi submetido a secagem à temperatura ambiente por 105 dias ao abrigo da luz excessiva, com controlo regular de perda de massa (ciclo de 15 dias), seguido de redução do tamanho das partículas com um moinho (Skymesen, LS10-HD) e a calibração do pó, por tamis de 180 µm de diâmetro da malha. A conservação foi feita em um recipiente de vidro âmbar hermeticamente fechado até a data de início de processos extractivos.

4.2. SOLVENTES E REAGENTES

Todos os solventes e reagentes químicos usados para extracção ou ensaios analíticos foram adquiridos na sua forma pura em Laboratórios de referência a partir de fornecedores locais. O etanol foi adquirido da Merck (RSA), reagente de Folin-Ciocalteu, da LNS Lab (RSA), carbonato de sódio, da Fluka Chemika (Suécia), o ácido ortofosfórico, da Merck (RSA), o 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) da Sigma-Aldrich (EUA), o cloreto de alumínio, da Merck (RSA) e o ácido sulfúrico, da Merck (RSA), ácido gálico da Sigma-Aldrich (EUA), piridina LNS Lab (RSA), ácido ascórbico da Sigma-Aldrich (EUA), ácido tânico da Sigma-Aldrich (EUA), quercetina da Sigma-Aldrich (EUA), Sulfato ferroso da Sigma-Aldrich (EUA), hexaferrocianato de ferro da Merck (RSA), ácido tricloroacético da Merck (RSA), fosfato de sódio da Merck (RSA), α -amilase da Sigma-Aldrich (EUA).

4.3. PREPARAÇÃO DOS EXTRACTOS BRUTOS (EBE)

O etanol a 80° GL foi preparado pela diluição de etanol a 96° GL (Merck, RSA) e o seu título confirmado com recurso ao alcoómetro de Gay-Lussac. Em seguida, 50 Gramas do pó da raiz, caule ou das folhas de *Grewia monticola* foram extraídos por maceração sob

agitação até esgotamento com 250 mL de etanol 80° GL (EtOH) durante 16 dias com renovação diária de solvente (48 horas). Os extractos foram combinados e os marcos submetidos a duas lavagens com 250 mL do mesmo solvente e posteriormente descartados. Os extractos resultantes foram filtrados por sucção usando um funil provido de uma membrana filtrante e submetida a concentração no rotavapor (BUCHI, Alemanha) à pressão reduzida, a 50°C até a obtenção dos extractos brutos secos que foram conservados no dessecador até a realização dos ensaios.

4.4. FITOQUÍMICA QUALITATIVA

Para uma triagem fitoquímica preliminar realizaram-se testes qualitativos para identificar a presença de diferentes metabólitos secundários de interesse nos extractos, como alcalóides, flavonóides, taninos, antraquinonas, terpenos, esteroides, glicósidos e saponinas, utilizando testes precipitação ou ensaios colorimétricos.

A Preparação do extracto vegetal para ensaios fitoquímicos, foi feita tomando 0,5g do pó da raiz, caule e folhas separadamente em elernmeyeres de 100 mL e misturados com 50ml de etanol a 80% por 30 minutos sob agitação a 200 rpm. Posteriormente a mistura foi centrifugada por 20 minutos a 3000 rpm, decantada e filtrada em um balão volumétrico de 50 mL e fez-se o volume com o mesmo solvente.

4.4.1. ALCALÓIDES

Para detenção de alcalóides nos extractos foram tomados 0,5 mL de cada amostra e colocados em tubo de ensaio e posteriormente deitou-se duas gotas do reagente de Drangedorff. E mesmo processo se repetiu usando o reagente de Meyer, conforme descrito por (Silva *et al.*, 2017) e (Ezeonu & Ejikeme, 2016), o aparecimento de um precipitado marrom ou branco, respectivamente indicava a presença de alcalóides .

4.4.2. FLAVONÓIDES

O teste preliminar dos flavonóides foi feito usando o método descrito por (Ezeonu & Ejikeme, 2016), onde 0,5 mL de cada amostra foram tomados de forma separada para três tubos de ensaio e de seguida deitou-se dois grânulos de Magnésio e duas gotas do ácido clorídrico concentrado. O aparecimento de uma coloração rósea ou marrom indicou a presença de flavonóides.

4.4.3. TANINOS

Para uma avaliação qualitativa dos taninos foi usado o teste de cloreto ferrico, descrito por (Sheel *et al.*, 2014) e (Ezeonu & Ejikeme, 2016) onde 4mL de cada amostra foram tomados separadamente para três tubos de ensaio e misturados com 3 gotas de solução de FeCl₃, a mistura foi deixada em repouso sendo que o aparecimento da cor azul significava a presença de taninos hidrossolúveis e o aparecimento de cor verde de taninos condensados.

4.4.4. SAPONINAS

Para a detecção da presença de saponinas, foram tomados 0,5 mL das três amostras separadamente em três tubos de ensaio e misturados com 1,00mL de água e a mistura foi agitada vigorosamente por dois minutos. O aparecimento de uma espuma com duração de mais ou menos 5 minutos significava existência de saponinas (Silva *et al.*, 2017).

4.4.5. COMPOSTOS FENÓLICOS

Para avaliação qualitativa dos compostos fenólicos existem diversos métodos que podem ser usados, porém no presente estudo foi usado o teste de Iodo, descrito por (Kocabas, 2017), (Ezeonu & Ejikeme, 2016) e (Silva *et al.*, 2017) ou seja, 0,5mL dos extractos foram adicionados a 2 gotas de solução de a 2%. O aparecimento de uma cor vermelha transitória indicava a presença de compostos Fenólicos.

4.4.6. ANTRAQUINONAS

Para identificação das antraquinonas foram tomados 0,5 mL de cada amostra de forma separada para três tubos de ensaio, misturados com 1mL de NaOH a 10%, agitados vigorosamente por dois minutos e acrescentados mais 1mL de NaOH a mesma concentração. O aparecimento da cor rosa significava a presença dos compostos supra, conforme descrito por (Ezeonu & Ejikeme, 2016) e (Kocabas, 2017).

4.4.7. TERPENOS

Para a identificação de Terpenos foram tomados 0,5 mL de cada amostra, separadamente em três tubos de ensaio e misturados com três gotas de anidrido acético para o tratamento prévio e posteriormente adicionadas duas gotas de ácido acético e três gotas do ácido sulfúrico. A formação de uma cor azul-esverdeada significava a presença dos compostos supra, conforme descrito por (Silva *et al.*, 2017).

4.4.8. ESTERÓIDES

A identificação de esteróides foi feita usando o método descrito por (Ezeonu & Ejikeme, 2016), onde 1,0 mL de cada amostra foi tomado separadamente para três tubos de ensaio e misturado com 2 (duas) gotas de ácido sulfúrico concentrado, agitado por 1 minuto e deixado em repouso, o aparecimento de duas fases, uma sobrenadante avermelhada e uma sedimentada verde indicava a presença dos compostos supra.

4.4.9. GLICÓSIDOS

Os glicósidos foram identificados pelo método descrito por (Kocabas, 2017), onde 0,5mL de cada amostra foram tomados separadamente para três tubos de ensaio e misturados com duas gotas do ácido acético glacial e duas de cloreto férrico a 3%, de seguida a mistura foi vertida num tubo de ensaio contendo duas gotas do ácido sulfúrico concentrado. A formação de uma cor marrom-avermelhada significava existência destes metabólitos.

4.5. FITOQUÍMICA QUANTITATIVA

4.5.1. DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS

Preparação de Reagentes

Ácido tânico (0,1 mg/mL) – dissolveu-se 112 mg (tendo em conta as impurezas contidas no reagente) do ácido tânico em água quanto basta para 100mL.

Ácido gálico (0,1 mg/mL) – dissolveu-se 100 mg de ácido gálico em água quanto basta para 100mL.

Reagente Folin-Ciocalteu (10% V/V) – diluiu-se 5mL do reagente supra em água destilada quanto basta para 50mL

Solução de Carbonato de Sódio (7,5% m/V) – dissolveu-se 7,5g de carbonato de sódio em água destilada quanto basta para 100mL.

Etanol (80% V/V) – 90 mL do etanol a 90% foram dissolvidos em água destilada quanto basta para 100mL.

Procedimento

1,0 g da amostra seca foram tomados e macerados em 50 mL de etanol a 80% (concentração inicial do extracto de 1 mg/mL), por 30 minutos sob agitação a 260 rpm e posteriormente

cetrigados por 20 minutos a 3000 rpm. A mistura foi filtrada num balão volumétrico de 50 mL e fez-se o volume com o solvente usado.

Para a análise dos extractos, 1 mL de cada extracto, foram transferidos separadamente para tubos de ensaio. Seguidamente adicionados 500 µL de reagente de Folin-Ciocalteu 10 % (v/v), agitados vigorosamente e deixados em repouso por 10 minutos a temperatura ambiente, seguido de adição de 1 mL da solução de carbonato de sódio 7,5 % (m/v) e 2,5 mL de água destilada, agitado por um minuto, e uma posterior incubação (2 horas), seguido das leituras das medidas de absorção das soluções azuis formadas, usando um espectrofotómetro UV/vis (Thermo Scientific™ Orion™ AquaMate 8000 UV-Vis Spectrophotometer), a um comprimento de onda de 760 nm.

Todos os ensaios foram feitos em 3 réplicas e o teor de fenóis calculado como média ± desvio padrão da média e expressos em miligramas equivalente de ácido gálico (mgEAG) por grama de extracto seco, calculados através da equação da curva de calibração (equação 1) do padrão deste ácido, traçada usando a metodologia proposta por (Fariasa *et al.*, 2015), com pequenas modificações.

$$Y=0,0303+0,3859; R^2=0,9672 \quad (1)$$

Onde, y – absorbância, x – concentração (µg/mL) e R^2 – quadrado de coeficiente de correlação de Pearson.

Para preparação da curva de calibração, diluiu-se 100, 200, 300, 400, 500 e 800 µL de uma solução stock de ácido gálico 50 mg/mL em 100 mL, adiciona-se água destilada quantidade que baste. E posteriormente seguiu-se o mesmo procedimento da amostra.

A concentração de ácido gálico equivalente foi obtida pela equação nº 2:

$$X=(Abs-0,3859)/0.0303 \quad (2)$$

Portanto, para obter a concentração real no extracto, os valores de x foram multiplicados por 5, considerando-se que o extracto total era de 50 mL, preparado a partir de 1g da amostra seca, a fórmula final para o cálculo vislumbra nas equações nº 3 e 5.

$$C_{\text{extrato}} = C_{\text{diluído}} \times 5 \quad (3)$$

$$\text{TPC} = \frac{C_{\text{extrato}} \times 50}{1000} = C_{\text{diluído}} \times 5 \times \frac{50}{1000} = C \times 0,25 \quad (4)$$

A concentração (x, em µg/mL) foi convertida em TPC (mg EAG/g de amostra seca) usando o fator 0,25, conforme a equação nº 5.

$$\text{TPC (mg EAG/g)} = x \times 0,25 \quad (5)$$

4.5.2. DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS

Reagentes usados

Quercetina (0,1 mg/mL, m/v) – dissolveu-se 10 mg de quercetina em água, num balão volumétrico de 100 mL.

Solução de ácido acético a (60% v/v) diluiu-se 30 mL de ácido acético em 20 mL de etanol a 80%.

Solução de piridina (20%, v/v) - diluiu-se 40 mL de piridina em 160 mL de etanol a 80%.

Solução de Cloreto de alumínio (5%, m/v) dissolveu-se 5 g do reagente supra em 100 mL de etanol a 80%.

Procedimentos

A preparação da amostra, seguiu o mesmo procedimento descrito na quantificação de fenóis totais. Para a determinação de flavonoides, 500 µL de cada amostra, foram transferidos separadamente para tubos de ensaio. Seguidamente adicionados 500 µL da solução etanólica do ácido acético 60 % (v/v), 2 mL da solução etanólica de piridina 20 % (v/v), 1 mL da solução etanólica de reagente cloreto de alumínio 5 % (m/v) e 6 mL de solução hidrometanólica 80 % (v/v). As amostras foram mantidas a temperatura ambiente por 30 minutos e as medidas de absorbâncias lidas a 420 nm no espectrofotómetro UV/vis (Thermo Scientific™ Orion™ AquaMate 8000 UV-Vis Spectrophotometer). Todos os ensaios foram feitos em 3 réplicas e os teores de flavonóides calculados como média ± desvio padrão da média e expressos em miligramas equivalente de rutina (mEQ) por grama de extracto seco, calculados através da equação da curva de calibração do padrão de Quercetina (equação 6), traçada usando a metodologia descrita por (Fariasa *et al.*, 2015).

$$y = 0,0219x + 0,1524; R^2 = 0,9928 \quad (6)$$

Onde, y – absorvância, x – concentração (mg/L) e R^2 – quadrado de coeficiente de correlação de Pearson.

A curva de calibração foi preparada usando alíquotas de 100-800 μL da solução de Quercetina 100 $\mu g/mL$ (solução etanólica), o ensaio foi feito seguindo exactamente o mesmo procedimento da amostra. As concentrações finais de Quercetina variavam de 1-8 $\mu g/mL$. Todos os ensaios foram feitos em 3 réplicas e as médias usadas para a construção da curva de calibração com recurso a regressão linear obtida no programa estatístico *GraphPad Prisma 7.0*.

Por fim para a determinação da concentração de TFC ($mgEQ/g$ da amostra seca, seguiu se mesmo raciocínio aplicado para a determinação TPC.

4.5.3. DETERMINAÇÃO DE TANINOS

Para determinação de taninos foi usado o método descrito por (Fariasa *et al.*, 2015), onde foram tomados 0,5g de caseína e deitados num elernmeyer de 25mL e adicionados 5mL de extracto e 5 mL de água destilada e deixadas sob agitação por duas horas a 295 rpm, posteriormente a mistura foi filtrada no balão volumétrico de 10 mL e adicionou-se água que baste 10 mL. Para curva de calibarção foi usada a solução do ácido tânico a 0,1mg/mL (m/v) com um dissolvidos em água num balão volumétrico de 100 mL. Foram tomadas 500 μL das soluções com concentrações que variavam de 1 a 8 $\mu g/mL$ para diferentes tubos de ensaio e foram misturados com 500 μL de Folin-Ciocalteu, 1,0 mL de carbonato de sódio a 7,5% e água destilada quanto basta para 10 mL. A mistura foi deixada em repouso por 30 minutos e posteriormente lida a 760 nm. O ensaio foi feito em triplicado. Para a quantificação dos taninos totais, foi utilizada uma curva de calibração construída com ácido tânico padrão, cuja equação nº 7, obtida por regressão linear.

$$y = 0,0755x + 0,0036; (7)$$

onde, y = absorvância da amostra, x = concentração equivalente de ácido tânico ($\mu g/mL$), A absorvância foi obtida após correção do valor bruto pela absorvância de uma amostra isenta de taninos (etanol 1%). A concentração real no extracto foi corrigida para reflectir a extracção de 50 mL de solução a partir de 1 g de amostra, utilizando-se 1 mL no ensaio. E posteriormente aplicada a equação nº 8.

$$\text{TCT (mg EAT/g)} = x \times 0,25 \quad (8)$$

4.6. DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.6.1. REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE DPPH

Para a preparação das soluções do extracto etanólico bruto (EBE), foram dissolvidos 250 mg da amostra em 25 mL de etanol a 80% (v/v). A partir desta solução-mãe, foram tomadas alíquotas de 0,5 mL; 1,0 mL; 1,5 mL; 2,0 mL; 2,5 mL; 3,0 mL; 4,0 mL e 5,0 mL, que foram completadas para 10 mL com etanol a 80%, originando soluções com concentrações finais compreendidas entre 500 e 5000 µg/mL.

Posteriormente, 1,0 mL de cada diluição foi misturado com 3,0 mL e 1 mL de água. Para o branco foi usado etanol 80% no lugar da amostra. A Solução de referência foi preparada usando 3 mL de DPPH e 1 mL de etanol a 80% e 1 mL de água bidestilada. E os padrões tratados da mesma maneira, tendo se usado uma concentração inicial de 1,0 mM. O decréscimo de absorção foi medido a 517 nm e os dados usados para determinar a percentagem de inibição com recurso a equação nº9 .

$$\% \text{Inibição} = \frac{\text{Abs}(\text{controle}) - \text{Abs}(\text{amostra})}{\text{Abs}(\text{controle})} \times 100 \quad (9)$$

Onde Inibição (%) – percentagem de inibição; Absorbância (controle) – absorbância de DPPH na ausência de amostra; Absorbância (amostra) – absorbância de DPPH na presença de amostra.

As percentagens de inibição obtidas das diferentes diluições dos extractos, foram plotados com concentracao dos extractos e usados para calcular IC₅₀. O IC₅₀ (do inglês *Inhibitory Concentration 50*) representa a concentração do extracto ou composto necessária para reduzir ou neutralizar 50% de um agente oxidante ou um radical livre em determinado ensaio antioxidante in vitro. Quanto menor o valor de IC₅₀, maior é a potência antioxidante

do composto, pois uma quantidade menor é suficiente para exercer uma actividade significativa.

4.6.2. CAPACIDADE REDUTOR FÉRRICO - FRP

O poder redutor dos extractos foi determinado pelo método *ferric reducing power*, descrito por (Canabady-Rochelle, et al., 2015) com modificações.

Da solução mãe foram tomados 0,5mL, 1,0mL, 1,5mL, 2,0mL, 2,5mL, 3,0mL, 4,0mL e 5,0mL e dissolvidos em balões de 10ml. E posteriormente 2 mL de amostra ou de padrões quercetina e ácido ascórbico a 1mM, foi misturado com 2,5 mL de 200 mM de tampão fosfato (pH 6,6) e 2,5 mL de ferricianeto de potássio 1 %. A mistura foi incubada a 50° C por 30 minutos seguida de adição de 2,5 mL de ácido tricloroacético 10 % e centrifugada a 3000 rpm por 10 minutos. 2,5 mL do sobrenadante foi misturado com 2,5 mL de água destilada e 500 µL de cloreto férrico 0,1 %. A absorvância das amostras foi medida a 700 nm contra o branco apropriado o Poder redutor foi calculado usando a equação nº 10.

$$\text{Poder redutor férrico (\%)} = [1 - (A_o - A_a) / A_o] \times 100 \quad (10)$$

Onde, A_o – corresponde a solução azul da Prússia, formado pelos padrões quercetina e ácido ascorbico na concentração inicial de 1mM medida nas mesmas condições que as das amostras, e A_a – absorbância de amostra.

4.6.3. AVALIAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL - TAC

A determinação da actividade antioxidante total (TAC) foi realizada segundo o método descrito por Prieto, Pineda e Aguilar (1999), com ligeiras modificações. Para a análise, 1,0 mL de cada diluição dos extractos ou das soluções padrão de quercetina ou vitamina C foi adicionado a 1,0 mL do reagente fosfomolibdénico (Fosfato de sódio 28 mM, molibdato de amónio 4 mM e ácido sulfúrico 0.6 M) e 3,0 mL de água ultrapura, em tubos de ensaio devidamente rotulados. As misturas reactivas foram incubadas a 90 °C durante 90 minutos em banho-maria. Após arrefecimento à temperatura ambiente, as leituras de absorbância foram realizadas a 695 nm contra um branco apropriado (preparado nas mesmas condições, substituindo o extracto por etanol 80%). A actividade antioxidante total (TAC, %) foi calculada com base na Equação 5, expressando o aumento da intensidade da coloração

verde como indicador da formação do complexo fosfomolibdénio (Mo^{5+}), proporcional à presença de compostos antioxidantes redutores no extracto. Os valores TAC (%) foram calculados usando a equação nº 10.

4.7. AVALIAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIMICROBIANA

A actividade antimicrobiana dos extractos foi avaliada pelo método de difusão em disco, seguindo a metodologia descrita por (Razmavar *et al.*, 2014 e Arullappan *et al.*, 2009) com algumas modificações. Foram usadas quatro estirpes de bactérias (gram negativas e gram positivas) nomeadamente, *Escherichia coli* ATCC 25922 (gram negativa), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (gram negativa), *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (gram positiva) e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (gram positiva). Todas as cepas foram obtidas no Laboratório de Microbiologia do Centro de Investigação em Saúde da Manhiça (cortesia do Técnico Juízo), e repicadas no caldo nutritivo contido em tubos de ensaio e incubadas numa estufa bacteriológica a 37° C por 24 horas, padronizadas para a turbidez de 0,5 na escala de Mcfarland em solução salina 0,9 %, por comparação visual com tubo padrão contendo uma suspensão padrão de sulfato de bário equivalente a uma suspensão de *Escherichia coli* contendo $1,5 \times 10^8$ células/mL.

Para o teste, 500 µL da suspensão de cada microrganismo foi uniformemente espalhado numa placa de Petri contendo agar de *Muller Hinton* usando uma zaragatoa estéril. Quatro discos de papel estéreis de 6 mm de diâmetro foram colocados (usando uma pinça estéril) e impregnados com 10 µL de cada amostra nas concentrações que variavam de 100 µg a 1,2 mg (100, 125, 250, 375, 500, 625, 750, 1000 e 1250 µg/mL). O dimetilsulfóxido (DMSO) foi usado como solvente e controlo negativo. Foi usada a Amoxicilina na concentração de 20µg como controlo positivo. E as placas foram incubadas numa estufa bacteriológica a 37° C por 24 horas. Todos os ensaios foram feitos em 2 réplicas, medindo se os halos (mm) de inibição de cada concentração e foram considerados extractos activos aqueles que produziram halos iguais ou superiores a 8mm.

4.8. DETERMINAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIDIABÉTICA (preliminar) PELO MÉTODO INIBITÓRIA DE ALFA-AMILASE

O ensaio de inibição da α -amilase foi conduzido segundo protocolo enzimático padronizado, descrito por (KWON *et al.*, 2008). Para cada tubo de ensaio, adicionou-se 1,0 mL de tampão fosfato (20 mM, pH 6,9, contendo 6 mM de NaCl), seguido de 200 μ L da solução das amostras diluídas e 200 μ L da enzima α -amilase. A mistura foi incubada a 37 °C durante 10 minutos. Após esse período, adicionaram-se 200 μ L de uma solução de amido a 1% (p/v), seguida de nova incubação a 37 °C por mais 10 minutos. Em seguida, para interromper a reacção e permitir a quantificação do açúcar redutor formado, foram adicionados 500 μ L de ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNSA), e os tubos foram levados à fervura durante 10 minutos. Após o arrefecimento à temperatura ambiente, adicionaram-se 7,9 mL de água ultrapura para diluição final. A leitura da absorbância foi realizada a 540 nm, permitindo determinar o grau de inibição da actividade enzimática.

Como controlo positivo do ensaio, utilizou-se a acarbose, um inibidor padrão da α -amilase. Para isso, foi preparada uma solução-mãe a partir da trituração de um comprimido de acarbose de 100 mg, dissolvido em água destilada num balão volumétrico de 20 mL, obtendo-se uma concentração de 5 mg/mL. Em tubos de ensaio separados, seguiram-se procedimentos análogos ao das amostras: adicionou-se 1,0 mL de tampão, 100 μ L da solução de acarbose (em diferentes concentrações), 100 μ L de enzima α -amilase e incubou-se a 37 °C por 10 minutos. Posteriormente, foram acrescentados 100 μ L de amido a 1%, seguidos de nova incubação por 10 minutos, 200 μ L de DNSA, fervura por 10 minutos e, finalmente, adição de 8,5 mL de água bidestilada. A absorbância também foi lida a 540 nm.

Todas as análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

A percentagem de inibição da actividade da α -amilase foi calculada utilizando a equação 11:

$$\% \text{Inibição} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad (11)$$

onde:

- A_{controle} é a absorbância da reacção sem inibidor (enzima ativa),
- A_{amostra} é a absorbância na presença do extrato ou padrão (acarbose).

4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos ensaios foram realizados em triplicata ($n = 3$) e os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP).

As curvas de calibração para o teor de fenólicos totais (TPC), teor de flavonoides totais (TFC) e teor de taninos totais (TTC) foram obtidas por regressão linear, utilizando ácido gálico, quercetina e ácido tânico como padrões de referência, respectivamente.

Para os ensaios antioxidantes (DPPH, FRP e TAC) e o ensaio de inibição da α -amilase, os valores percentuais de actividade ou inibição foram calculados para cada concentração testada e utilizados para construir curvas dose-resposta. Os valores de IC_{50} , definidos como a concentração necessária para produzir 50% de actividade antioxidante ou inibição enzimática, foram determinados por regressão linear ou interpolação a partir das curvas experimentais.

A análise de variância (ANOVA) de uma via foi utilizada para avaliar a variação intra-ensaio, enquanto o teste *t de Student* foi aplicado para comparar as médias obtidas para diferentes amostras ou tratamentos. A significância estatística foi considerada para $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

Os resultados do presente estudo encontram-se descritos neste capítulo, divididos pelos seus respectivos ensaios.

5.1.FITOQUÍMICA QUALITATIVA

Os resultados da fitoquímica preliminar dos extractos de *G. monticola*, encontram-se resumidos na tabela nº 1

Tabela 1: Fitoquímica qualitativa dos extractos de *G. monticola*

Amostra	Flav	taninos Hid.	taninos Cond.	Antr	Terp	Ester	Alc	Sap
Folhas	+	–	+	–	+	+	–	–
Caule	+	+	–	+	+	+	–	–
Raiz	+	+	–	+	–	–	–	–

Onde: Flav= Flavonoides; Antr= Antraquinonas; Terp=Terpenos; Ester= Esteroides; Alc=Alcaloides; Sap= Saponinas (-) ausentes; (+) presentes

A triagem fitoquímica qualitativa de *Grewia monticola* revelou uma distribuição diferencial de compostos secundários entre raízes, caule e folhas. As raízes apresentaram uma gama ampla de metabólitos, incluindo fenóis totais, antraquinonas, taninos hidrossolúveis, flavonóides, terpenos e esteróides, enquanto no caule foram detectados fenóis totais, antraquinonas, taninos hidrossolúveis, taninos condensados e flavonóides. Nas folhas, observou-se forte presença de fenóis totais e flavonóides, além de taninos condensados, terpenos e esteróides. É importante notar a ausência de alcalóides e saponinas em todas as partes analisadas. Essa distribuição não é aleatória; ela reflecte adaptações fisiológicas e ecológicas da planta.

5.2. FITOQUÍMICA QUANTITATIVA

Para análise fitoquímica quantitativa dos extractos hidroetanólicos de *Grewia monticola*, foram usadas as equações das curvas de calibração de ácido gálico, quercetina e ácido tânico para fenóis totais, flavonoides e taninos respectivamente. Os resultados foram apresentados em mg equivalentes do respectivo padrão usado, por grama da amostra seca, as figuras nº 4, 5 e 6 ilustram as curvas de calibração obtidas por regreção linear.

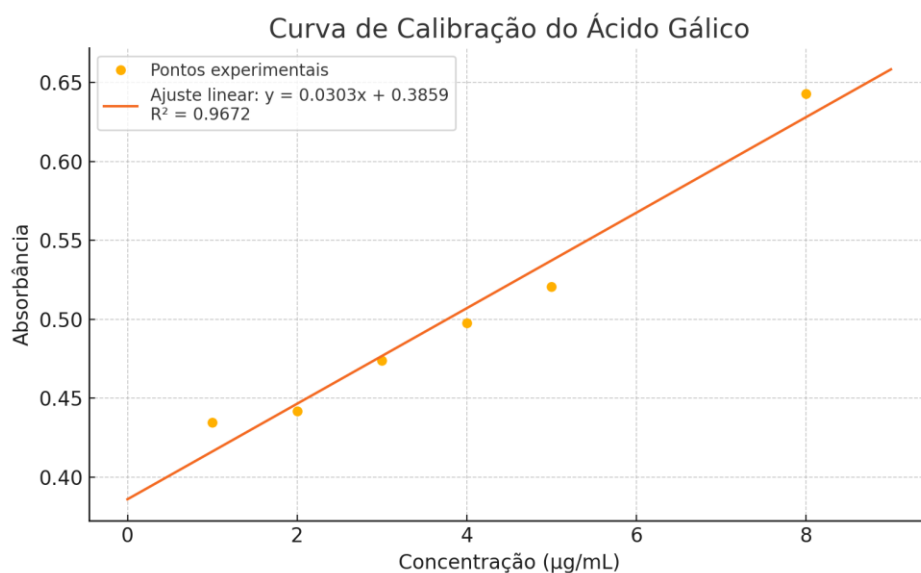


Figura 4: Curva de calibração do ácido gálico

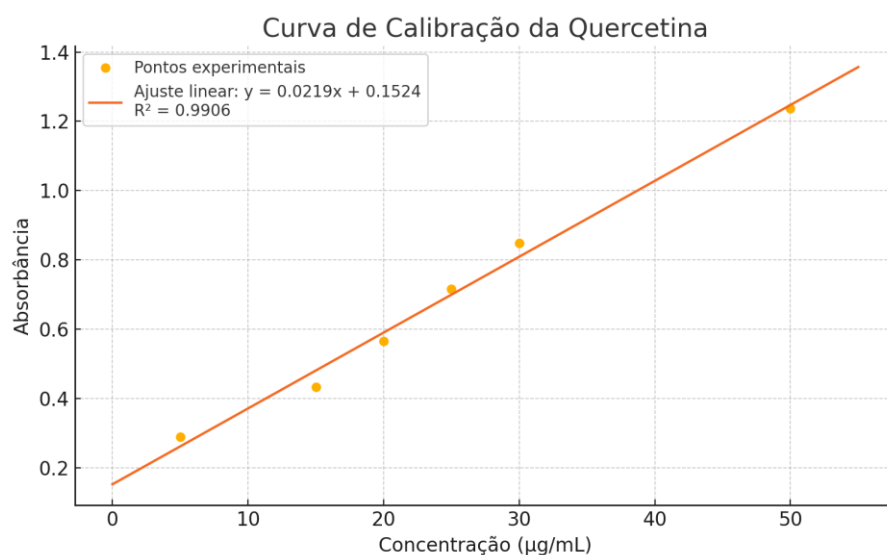


Figura 5: Curva de calibração da Quercetina

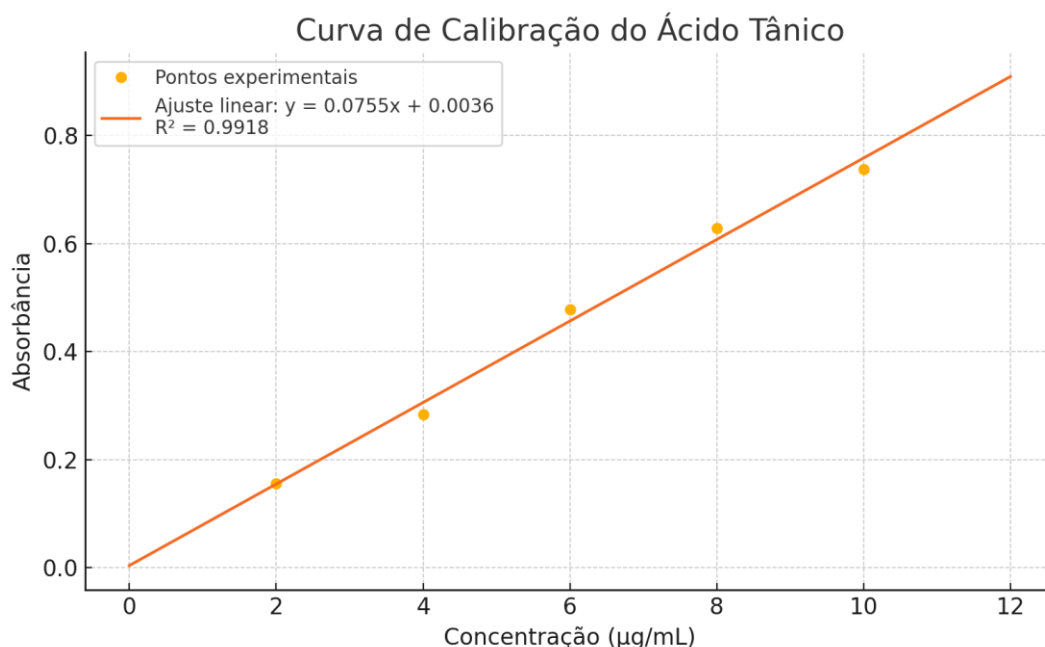


Figura 6: Curvas de Calibração de ácido tânico

Como acima exposto, a fitoquímica quantitativa dedicou-se apenas na determinação de compostos fenólicos, nomeadamente: fenóis totais, flavonoides e taninos e os resultados encontram-se espelhados na tabela nº 2. Pela inexistência de estudos que quantificam os compostos fenólicos da *Grewia monticola*, foram usados valores da *Grewia bicolor*, espécie do mesmo género, como valores de referência, conforme pode se ver na tabela nº 3

Tabela 2: Fitoquímica quantitativa dos extractos de *G. monticola*

Amostra	Fenóis Totais (mgEAG/g)	Flavonóides (mgEQ/g)	Taninos (mgEAT/g)
Caule	6.293±0.305	9.143±0.202	1.483±0.055
Raiz	4.778±0.058	6.225±0.190	-
Folhas	6.508±0.180	7.610±0.163	1.167±0.047

Os resultados demonstram variações claras no teor de compostos fenólicos totais (TPC) entre as diferentes partes de *Grewia monticola*. As folhas apresentaram o maior TPC (6,508 ± 0,180 mg EAG/g), seguidas de perto pelo caule (6,293 ± 0,305 mg EAG/g), enquanto a

raiz exibiu um valor significativamente menor ($4.778 \pm 0,058$ mg EAG/g). Uma análise estatística (por exemplo, ANOVA seguida de teste de comparações múltiplas) provavelmente confirma que folhas e caule não diferem significativamente entre si, mas ambos superam significativamente a raiz em conteúdo fenólico ($p < 0,05$).

Tabela 3: Fitoquímica quantitativa de *G. bicolor* – dados usados como referência

Amostra	Fenóis (mgEAG/g)	Totais	Flavonóides (mgEQ/g)	Taninos (mgEAT/g)	Referências Bibliográficas
Caule	0.813-12.259		4.321- 22.054	0.724 – 14.001	(Fadimatou, et al., 2021); (Pillai, et al., 2025)
Raiz	0.321 – 8.314		4.083 – 17.257	0.213 – 5.027	(Pillai, et al., 2025); (Mahomed, et al., 1990)
Folhas	1.059 – 20.211		5.346 – 22.054	0.802 – 18.621	(Qamar, et al., 2021); (Pillai, et al., 2025)

5.3. ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE

5.3.1. REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE *DPPH*

Neste estudo, os extractos de *G. monticola* demonstraram actividade redutora de *DPPH* moderada, sendo o extracto radicular ($IC_{50} = 31.86 \pm 1.11\mu\text{g/mL}$) o mais activo, seguido das folhas ($39.74 \pm 0.92\mu\text{g/mL}$) e, por fim, do caule ($45.63 \pm 0.74\mu\text{g/mL}$), conforme ilustra a figura nº 7.

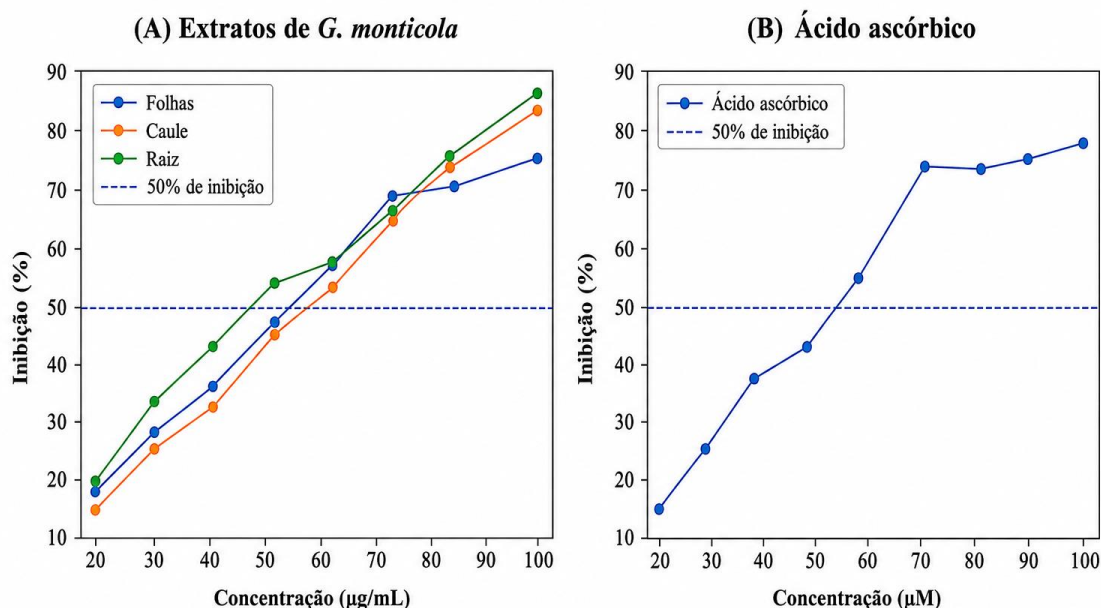


Figura 7: Actividade Antioxidante dos Extractos da *G. monticola* (A) e do controlo posetivo ácido ascórbico (B) – Método DPPH e respectivos IC_{50}

A análise dos resultados supra foi feita tendo em conta o padrão ácido ascórbico, cuja actividade redutora do *DPPH* para encontra-se espelhado na figura nº 7, com o respectivo IC_{50} . Onde é notável que o padrão nas concentrações avalaidas, apresenta melhor actividade antioxidante, evidenciada pelo baixo valor de $IC_{50} = 18.42 \pm 0.33$, quando comparado com o das amostras.

5.3.2. CAPACIDADE REDUTORA FÉRRICA - (FRP)

Os resultados obtidos evidenciam que todas as partes da planta (*folhas, caule e raiz*) de *Grewia monticola* possuem actividade antioxidante mensurável, embora com eficácias distintas. No ensaio *Ferric Reducing Power (FRP)*, o extracto do caule apresentou o melhor desempenho antioxidante, com $IC_{50} = 33.91 \pm 0.83 \mu\text{g/mL}$, significativamente menor (indicando maior potência) do que os valores observados para as folhas ($47.68 \pm 1.31 \mu\text{g/mL}$) e para a raiz ($54.62 \mu\text{g/mL}$), vide a figura nº 8.

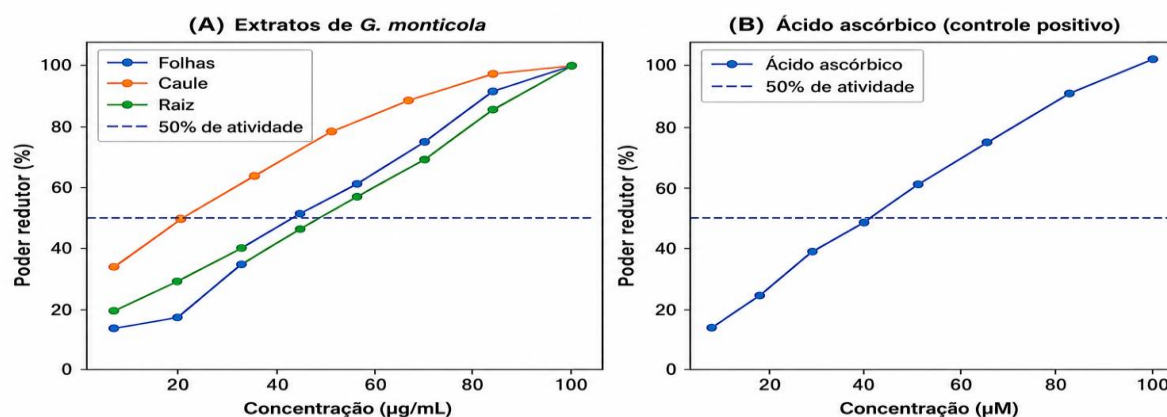


Figura 8: Actividade antioxidante dos extractos de *G. monticola* (A) e controlo positivo – ácido ascórbico (B) – FRP

Na comparação entre as amostras e o controlo positivo, nota-se uma melhor actividade antioxidante do padrão (ácido ascorbico), evidenciado pelo menor valor de $\text{IC}_{50} = 22,73 \pm 0,28 \mu\text{g/mL}$.

5.3.3. ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (TAC)

De forma análoga, no ensaio de Fosfomolibdato (TAC), o extracto das folhas exibiu o menor valor de $\text{IC}_{50} = 27,12 \pm 1,24 \mu\text{g/mL}$, seguido pelo extracto do caule $\text{IC}_{50} = 37,92 \pm 0,62 \mu\text{g/mL}$ e por último o da raiz $\text{IC}_{50} = 44,62 \pm 0,62 \mu\text{g/mL}$, como se pode ver na figura 9. Nota-se também que o controlo positivo (ácido ascórbico) exibiu actividade antioxidante $\text{IC}_{50} = 43,74 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ considerável, sendo superada pelos extractos das folhas e do caule.

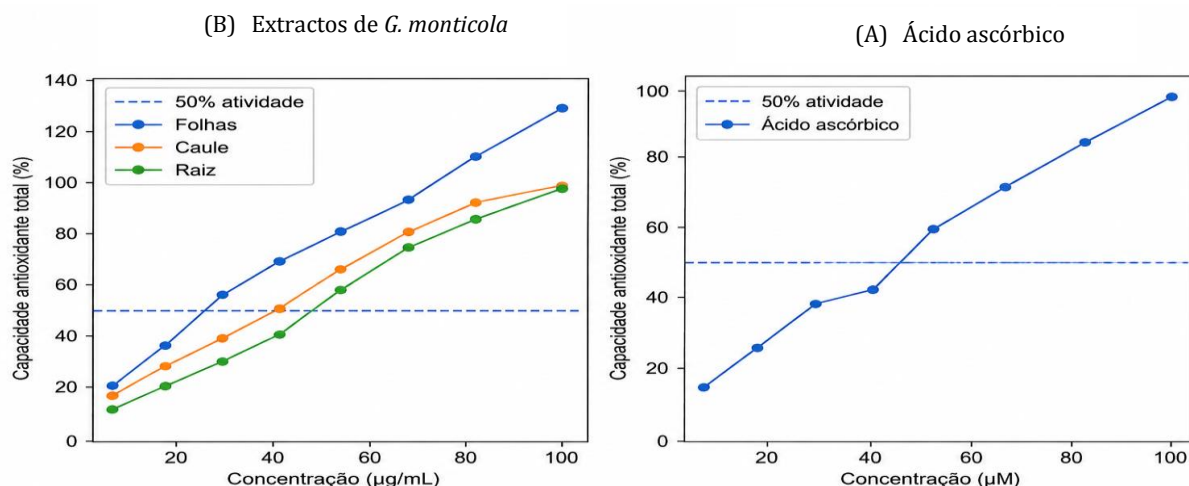


Figura 9: Actividade Antioxidante dos extractos de *G. monticola* (A) e padrão (B) - TAC

5.4. ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Grewia monticola*

Os resultados da actividade antibacteriana, encontram-se resumidos nas tabelas nº 4, estes mostram os halos de inibição dos extractos de *G. monticola* e do controlo positivo(Amoxicilina) aos microorganismos em estudo.

Tabela 4: Actividade Antibacteriana dos extractos hidroetanólicos da *G. monticola* – Halos de inibição

Extracto	Dose (μg/disc)	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>S. typhimurium</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)	<i>E. faecalis</i> (mm)
folhas	5.00	9.64 ± 0.37	9.77 ± 0.19	9.31 ± 0.28	–
	6.25	10.52 ± 0.19	10.43 ± 0.19	10.96 ± 0.37	–
	12.5	12.28 ± 0.19	11.29 ± 0.28	13.20 ± 1.87	–
	25.0	–	17.82 ± 0.93	–	–
raiz	3.25	8.84 ± 0.00	9.44 ± 0.09	9.97 ± 0.09	9.04 ± 0.09
	5.00	9.57 ± 0.09	9.90 ± 0.19	11.68 ± 0.28	10.43 ± 0.19
	625	11.22 ± 0.19	11.35 ± 0.37	13.00 ± 0.28	11.95 ± 0.09
	12.50	15.43 ± 0.58	17.23 ± 0.11	21.07 ± 0.07	12.87 ± 0.43
caule	3.25	11.81 ± 0.09	11.09 ± 0.19	11.42 ± 0.84	9.24 ± 0.19
	5.00	14.50 ± 0.03	12.40 ± 0.01	12.23 ± 0.07	10.49 ± 0.28
	6.25	23.50 ± 0.04	22.41 ± 0.04	22.41 ± 0.04	12.00 ± 0.02
	12.50	27.68 ± 0.06	25.04 ± 0.06	25.10 ± 0.04	19.16 ± 0.91
Amoxicillina	10.00	14.50 ± 0.02	13.38 ± 0.01	21.11 ± 0.02	27.75 ± 0.03

Os testes realizados com extractos de *Grewia monticola* demonstraram actividade antibacteriana significativa contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Observou-se formação de halos de inibição em todas as amostras testadas (folhas, caule e raiz) frente a *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*.

5.5. ACTIVIDADE INIBITÓRIA DE α -amilase

Os resultados obtidos evidenciam diferenças marcantes na capacidade de inibição da α -amilase entre os extractos de raiz, caule e folha de *Grewia monticola*. De um modo geral, constatou-se que as partes aéreas exibem actividade inibitória significativa, demonstrada por valores baixos do $IC_{50} = 30,10 \pm 0,92 \mu\text{g/mL}$ e $IC_{50} = 48,48 \pm 1,54 \mu\text{g/mL}$ para folhas e caule respectivamente, em concordância com um teor mais elevado de compostos fenólicos (conteúdo fenólico total, TPC) nos respectivos extractos, como se ilustra na Figura nº 10.

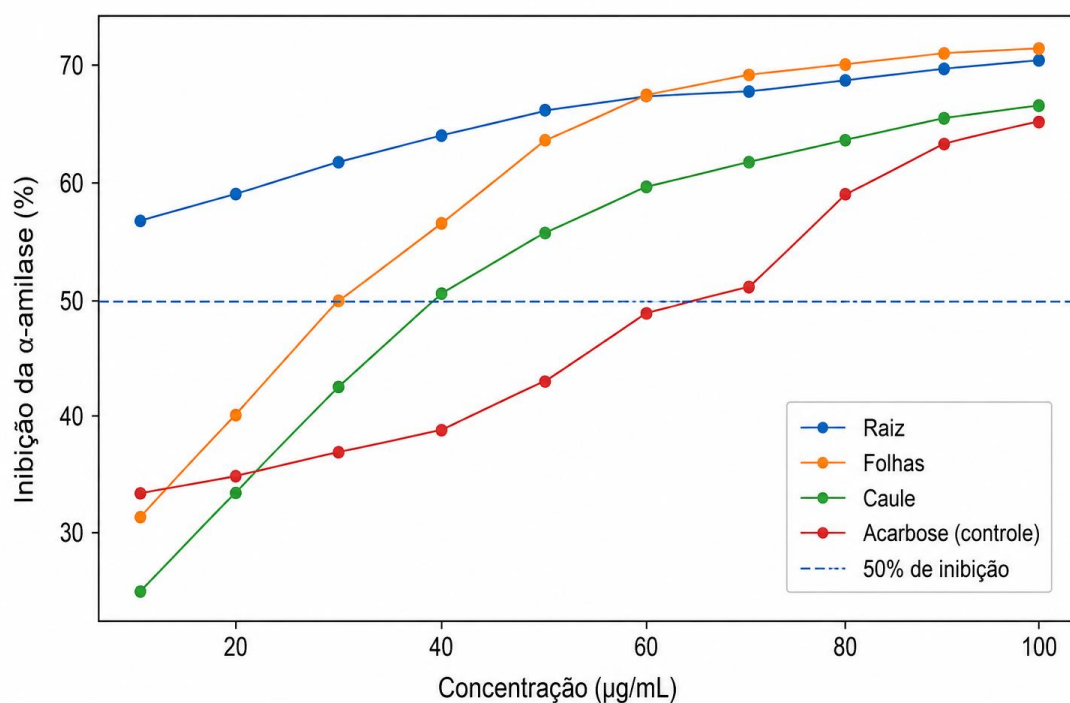


Figura 10: Inibição da α -amilase pelos extractos de *G. monticola* e padrão acarbose

6. Discussão de Resultados

6.1.FITOQUIMICA QUALITATIVA

A triagem fitoquímica qualitativa de *Grewia monticola* Sond. revelou uma distribuição diferencial de compostos secundários entre raízes, caule e folhas. As folhas, por estarem expostas à luz solar intensa e ao ataque de herbívoros, tendem a acumular maiores teores de compostos fenólicos (como flavonóides e taninos) que exercem função fotoprotectora e de defesa contra predadores. Tais compostos conferem sabor amargo/adstringente e actividade antioxidante, protegendo os tecidos foliares do estresse oxidativo e tornando-os menos palatáveis para herbívoros (Brouwer, et al., 2025). De facto, muitas plantas mostram níveis de compostos fenólicos nas folhas várias vezes superiores aos encontrados em caules ou raízes (Feduraev *et al.*, 2019). Os taninos condensados encontrados nas folhas de *G. monticola* são típicos de tecidos foliares de plantas de savana, actuando como defesa química contra herbívoros de grande porte e insectos, ao precipitar proteínas e diminuir a digestibilidade (Brouwer, *et al.*, 2025). Adicionalmente, a presença de terpenos nas folhas sugere a existência de óleos voláteis ou outras substâncias aromáticas que podem repelir insectos herbívoros. Já os esteróides (triterpenos) detectados podem incluir fitoesteróis ou triterpenóides de cutícula, contribuindo para a protecção física e química das folhas.

No caule (representado principalmente pela casca/córtex na amostra analisada), a detecção de taninos (hidrossolúveis e condensados) e antraquinonas indica que essa porção lenhosa também investe em defesa química significativa. Taninos na casca conferem resistência a patógenos e herbivoria, actuando como barreira química contra fungos, bactérias e animais que roem (Brouwer, et al., 2025). As antraquinonas presentes no caule (e raízes) podem agir como compostos antimicrobianos e antifúngicos, protegendo tecidos mais internos contra infecções, além de possivelmente desencorajar herbívoros pelo sabor amargo ou efeitos fisiológicos adversos. De facto, antraquinonas de plantas são conhecidas por suas propriedades antibacterianas e por causarem distúrbios digestivos em herbívoros (laxativas em doses relevantes), o que pode desestimular o consumo excessivo dessas partes da planta.

As raízes de *G. monticola* exibiram o conjunto mais diversificado de fitoquímicos (fenólicos, flavonóides, taninos, antraquinonas, terpenos e esteróides). Esse perfil sugere

que as raízes, embora subterrâneas, possuem defesas químicas robustas contra microrganismos do solo, nematoides e herbívoros subterrâneos (por exemplo, larvas). Antraquinonas frequentemente acumulam-se em raízes de diversas espécies e podem actuar como *phytoalexinas*, inibindo o crescimento de bactérias e fungos do solo, além de servirem como reserva de compostos que podem ser mobilizados em resposta a *stress* (Coin *et al.*, 2024). A presença de taninos hidrossolúveis nas raízes pode conferir protecção contra apodrecimento radicular, já que taninos têm actividade antimicrobiana e adstringente. Flavonóides radiculares podem estar envolvidos em interacções alelopáticas ou simbiose (e.g., sinalização para micorrizas), além de contribuírem para a defesa antioxidante do tecido subterrâneo. Terpenos e esteróides encontrados nas raízes possivelmente incluem triterpenos bioactivos (como lupeol, taraxerol, etc.) que são comuns em raízes de Malváceas e podem ter papel defensivo ou de armazenamento de carbono. Vale destacar que a completa ausência de alcalóides em *G. monticola* sugere uma estratégia de defesa predominantemente baseada em compostos de carbono (fenólicos, terpenóides), em vez de metabólitos nitrogenados. Plantas de ecossistemas com solos pobres em nitrogénio, como a savana, tendem a privilegiar sistemas defensivos carbonados (terpenos, fenóis) em detrimento de alcalóides, pois a síntese destes últimos requer maior disponibilidade de nitrogénio (Brouwer, *et al.*, 2025). Da mesma forma, não foram detectadas saponinas, outro grupo de metabólitos frequentemente encontrado em raízes e cascas de muitas espécies, o que indica uma especificidade metabólica de *G. monticola* possivelmente ligada à filogenia do género ou às condições ecológicas em que a planta se desenvolve.

Em suma, cada órgão vegetal de *G. monticola* demonstra um perfil fitoquímico adaptativo: folhas ricas em compostos fenólicos e terpenóides voláteis para protecção contra radiação UV e herbívoros; caule com taninos e antraquinonas para defesa estrutural e antimicrobiana; e raízes concentrando diversos compostos (inclusive antraquinonas e triterpenos) para se proteger de ameaças subterrâneas e contribuir para a sobrevivência da planta em ambiente de savana.

Os resultados obtidos para *Grewia monticola* coadunam-se, em parte, com triagens fitoquímicas de outras espécies do género *Grewia*, embora haja diferenças notáveis. De

modo geral, flavonóides e taninos despontam como classes prevalentes no género. Por exemplo, estudos relatam que flavonóides são frequentemente os principais fitoquímicos em espécies de *Grewia*, muitas vezes associados a elevada capacidade antioxidante e uso etnomedicinal amplo (Coin *et al.*, 2024). No presente estudo, *G. monticola* exibiu abundância de compostos fenólicos (que englobam flavonóides e taninos) em todas as partes, o que está de acordo com essa tendência geral observada no género.

Entretanto, algumas distinções específicas emergem ao comparar com espécies congêneres. Em *Grewia flavescens*, uma espécie arbustiva da savana, a triagem preliminar de raízes revelou presença de alcalóides e saponinas, além de flavonóides e taninos, mas ausência de antraquinonas e de esteróides detectáveis (Ferrão & Janeque, 2024). Isso contrasta com *G. monticola* Sond., onde não se detectaram alcalóides nem saponinas, porém as antraquinonas estavam presentes nas raízes e caule. Por sua vez, em *Grewia flava* (conhecida como “raisin bush” na África Austral), foram encontrados em extractos de ramos e raízes praticamente todos os grupos principais – alcalóides, flavonóides, saponinas, esteróides, glicósidos, antraquinonas e taninos – correspondendo a um perfil fitoquímico bastante abrangente (Coin *et al.*, 2024). *Grewia mollis* (outra espécie savânica) também apresentou resultados amplos: seus extractos foliares continham saponinas, flavonóides, glicósidos, taninos, óleos voláteis, alcalóides e fenóis, indicando uma química rica e diversificada em órgãos aéreos. Essas comparações sugerem que, embora exista um núcleo comum de metabólitos (especialmente polifenóis) em *Grewia*, cada espécie possui particularidades metabólicas. Factores genéticos e ecológicos podem modular a produção de certos compostos: por exemplo, *G. monticola* pode ter suprimido a rota biossintética de alcalóides (observada em congêneres) em favor de rotas polifenólicas, possivelmente em resposta a condições edáficas ou pressões específicas de herbivoria nas áreas onde ocorre.

Quando ampliamos a comparação para outras espécies arbustivas da savana africana fora do género *Grewia*, percebe-se uma convergência adaptativa no acúmulo de compostos fenólicos e terpenóides. Arbustos de savana, em geral, enfrentam intensa herbivoria (por grandes herbívoros e insectos) e estresse hídrico estacional, o que favorece a selecção de defesas químicas eficazes. Espécies de géneros como *Acacia* (*Vachellia*/*Senegalia*), *Combretum* e *Terminalia* são reconhecidas por altos teores de taninos e flavonóides nas

folhas e cascas, agindo como barreira contra herbívoros e exibindo forte actividade antioxidante. Esses compostos carbonados proporcionam protecção sem requerer muito nitrogénio, um recurso frequentemente escasso nos solos savânicos (Brouwer, et al., 2025). Em paralelo, muitos desses arbustos produzem terpenos voláteis (óleos essenciais) nas folhas para repelência de insectos e triterpenos bioactivos nas raízes/cascas como defesas antifúngicas e anti-insectos. A ausência ou baixos níveis de alcalóides em várias dessas espécies reforça a ideia de que defesas baseadas em taninos e outros fenólicos são uma estratégia predominante na flora arbustiva da savana. Portanto, os achados em *G. monticola* (perfil rico em fenólicos/terpenos e pobre em alcalóides) estão alinhados com esse padrão ecológico mais amplo.

Os testes qualitativos realizados indicaram a presença (ou intensidade de presença) dos grupos fitoquímicos, e esses achados mostram correspondência com dados quantitativos obtidos independentemente para teores de fenóis, flavonóides e taninos. Em particular, a forte coloração/ reacção positiva observada para fenóis totais e flavonóides nas folhas de *G. monticola* coincide com valores quantitativos elevados de teor de fenóis totais (Total Phenolic Content, TPC) e teor de flavonóides totais (TFC) nesse órgão, quando medidos por métodos espectrofotométricos (por exemplo, reagente de Folin-Ciocalteu para fenólicos e complexação com $AlCl_3$ para flavonóides). É comum que folhas apresentem TPC e TFC superiores aos de caules e raízes, dado seu alto metabolismo secundário relacionado à fotoprotecção (Feduraev *et al.*, 2019) e (Tarasevičienė *et al.*, 2023).

Outro ponto de congruência está na comparação entre órgãos: a hierarquia qualitativa (folhas com reacção mais forte para fenóis/flavonóides > caule > raízes) reflecte-se nos dados de TPC e TFC, onde tipicamente folhas > caule > raiz em conteúdo fenólico total. No caso específico de *G. monticola*, se os valores quantitativos seguirem a lógica observada, espera-se que extractos foliares tenham exibido os maiores valores de TPC (possivelmente ricos em ácidos fenólicos e flavonóis), enquanto os extractos de caule e raiz apresentaram valores intermediários ou menores, coerentes com suas respostas qualitativas moderadas. Estudos com outros membros de *Grewia* corroboram essa distribuição: extractos de ramos (*twig*) e raízes de *G. flava*, por exemplo, apresentaram elevados teores

fenólicos (até ~250 mg GAE/g em extracto metanólico do lenho jovem), consistentes com a presença marcante de taninos e flavonóides na triagem (Coin, et al, 2024).

Portanto, a análise conjunta sugere que os testes de triagem qualitativa não apenas confirmam a presença dos grupos fitoquímicos, mas também oferecem um indicativo semiquantitativo que, neste estudo, mostrou-se alinhado com as medições gravimétricas/espectrofotométricas de fenóis totais, flavonóides totais e taninos. Essa concordância reforça a confiabilidade dos métodos empregados e sustenta as inferências sobre quais órgãos concentram mais determinados metabólitos.

A diversidade de grupos fitoquímicos identificados em *G. monticola* sugere um potencial farmacológico amplo, dado que muitos desses metabólitos são conhecidos por actividades bioactivas relevantes. A predominância de compostos fenólicos e flavonóides em especial indica forte potencial antioxidante e anti-inflamatório. Flavonóides (como quercetina, kaempferol e derivados) e fenóis simples exercem actividade varredora de radicais livres e modulam vias inflamatórias (por exemplo, inibindo enzimas pró-inflamatórias como COX-2 e diminuindo citocinas) (Sousa, et al., 2007). Extractos de *Grewia* ricos em flavonóides demonstraram, em estudos prévios, actividades anti-inflamatórias significativas; por exemplo, formulações de *Grewia* (como de *G. coriacea*) foram capazes de reduzir edemas inflamatórios induzidos experimentalmente (Sun & Shahrajabian, 2023). A forte actividade antioxidante de extractos de espécies de *Grewia* tem sido correlacionada directamente ao alto conteúdo fenólico e flavonoídico (Sousa, et al., 2007). Isso sugere que *G. monticola*, especialmente suas folhas (ricas nesses compostos), possa actuar na neutralização de radicais livres e protecção celular contra estresse oxidativo, tornando-se potencialmente útil no manejo de doenças crónicas associadas ao estresse oxidativo (como distúrbios cardiovasculares, neurodegenerativos e envelhecimento precoce).

A presença de taninos, tanto hidrossolúveis quanto condensados, indica possíveis actividades adstringentes, antimicrobianas e antidiarreicas. Taninos são conhecidos por precipitar proteínas e formar complexos estáveis, o que pode impedir a adesão e crescimento de bactérias e fungos nos tecidos, além de conferir propriedades antissépticas a extractos vegetais (Brouwer, et al., 2025). Farmacologicamente, taninos contribuem para

efeito antidiarreico (reduzindo secreções e motilidade intestinal e tornando o ambiente menos favorável a patógenos) e hemostático (estancando pequenos sangramentos devido à adstringência). Assim, os taninos presentes em *G. monticola* (notadamente abundantes no caule e folhas) podem respaldar seu uso tradicional para problemas gastrointestinais e infecções cutâneas.

A detecção de antraquinonas nas raízes e caule é de particular interesse, pois compostos desse grupo podem apresentar actividades laxativas, antimicrobianas e até citotóxicas, dependendo da estrutura e dose. Antraquinonas livres ou glicosiladas (semelhantes às de *Senna* ou *Rheum*) actuam como laxantes estimulantes em doses apropriadas, por induzirem peristaltismo intestinal. Porém, no contexto de *G. monticola*, onde também há taninos presentes, o efeito líquido na fisiologia gastrointestinal pode ser modulador (pequenas doses poderiam actuar contra certos patógenos intestinais sem produzir forte laxação). Além disso, muitas antraquinonas são potentes antimicrobianas e antiparasitárias. Sua presença sugere que extractos de raízes e cascas de *G. monticola* tenham potencial antibacteriano e antifúngico, possivelmente útil contra infecções de pele ou mesmo sistêmicas leves (Feduraev et al., 2019). Vale mencionar que diversas antraquinonas naturais (como a emodina e aloína) possuem também actividades anti-inflamatórias e anticancerígenas reportadas, o que abre caminho para investigar *G. monticola* sob essas perspectivas.

Os terpenos e esteróides detectados (particularmente em folhas e raízes) também têm relevância farmacológica. Terpenos voláteis (monoterpenos, sesquiterpenos) frequentemente exibem propriedades antissépticas, repelentes de insectos e anti-inflamatórias leves (como por exemplo, cineol e mentol em óleos essenciais). Já os triterpenos e esteróides vegetais podem ter efeitos notáveis: lupeol e taraxerol, dois triterpenos isolados de raízes de *Grewia flava*, mostraram potente actividade antimicrobiana, e o lupeol em especial exibiu forte acção anti-inflamatória em ensaios biológicos (Mongalo et al., 2022). Isso sugere que compostos similares possivelmente presentes em *G. monticola* (dado o resultado positivo para terpenos/esteróides) podem conferir actividades anti-inflamatórias e analgésicas. Ademais, fitoesteróis presentes na planta podem contribuir para propriedades anti-inflamatórias e hipocolesterolêmicas

(fitosteróis da dieta competem com o colesterol e atenuam absorção, além de modularem respostas inflamatórias).

Por fim, a ausência de alcalóides limita certos efeitos farmacológicos clássicos (como actividades altamente estimulantes do sistema nervoso central, analgésicas opiáceas ou tóxicas específicas que muitos alcalóides conferem). Entretanto, isso também implica menor toxicidade aguda em usos tradicionais, já que alcaloides potentes muitas vezes conferem estreita margem terapêutica. Em contrapartida, a ausência de saponinas (que têm actividade expectorante e hemolítica, por exemplo) pode sugerir que *G. monticola* não possui as típicas propriedades expectorantes ou antifúngicas fortes associadas a saponinas. Ainda assim, a rica presença de polifenóis e terpenóides coloca *G. monticola* como uma fonte promissora de antioxidantes naturais, agentes anti-inflamatórios e antimicrobianos, o que condiz com o perfil multifuncional observado em muitas espécies do género *Grewia* (Feduraev, et al., 2019). Estudos com outras espécies (e.g. *G. asiatica*, *G. tilifolia*) reportam actividades analgésicas, antipiréticas, antidiabéticas e citoprotectoras, frequentemente atribuídas a flavonóides e triterpenos presentes (Qamar, et al., 2021). É razoável inferir que *G. monticola*, contendo fitoquímicos análogos, pode exibir efeitos farmacológicos comparáveis, merecendo investigação mais aprofundada em modelos experimentais.

Com base no perfil fitoquímico observado e no conhecimento etnobotânico disponível, é possível destacar quais órgãos de *G. monticola* despontam como mais promissores para usos terapêuticos. As folhas, pela sua riqueza em fenólicos e flavonóides, emergem como uma parte particularmente promissora. A elevada concentração desses compostos sugere que extractos foliares tenham potente actividade antioxidante e anti-inflamatória, podendo ser aproveitados para formulações antioxidantes (p. ex., para proteger contra danos oxidativos celulares) ou para aliviar condições inflamatórias tópicas (como pomadas para dermatites, dadas as prováveis acções anti-inflamatórias e cicatrizantes dos flavonóides). Em muitas plantas medicinais, as folhas ricas em flavonóides são utilizadas em chás ou cataplasmas para tratar inflamações, infecções leves ou mesmo como tónicos de saúde geral; *G. monticola* poderia encaixar-se nesse contexto, embora na medicina tradicional local haja mais relatos do uso de outras partes.

O caule (especialmente a casca) de *G. monticola* também merece atenção. A combinação de taninos condensados e antraquinonas no caule sugere um potencial uso em infecções cutâneas e cicatrização de feridas. Cascas ricas em taninos são classicamente usadas para tratar feridas, diarreias e hemorragias na medicina popular, devido às suas propriedades adstringentes e antimicrobianas. No caso de *G. monticola*, um extracto da casca poderia servir como agente antisséptico e cicatrizante para uso tópico em feridas ou como antidiarreico quando tomado oralmente (decoctos de casca são comumente usados para esse fim em plantas tanínicas). Embora não haja referência específica documentada para *G. monticola* nesse sentido, a actividade antidiarreica é de facto um uso tradicional atribuído a esta espécie, especialmente envolvendo as raízes (Maroyi, 2013).

As raízes de *G. monticola* destacam-se nos registos etnomédicos regionais. Em comunidades do Zimbábwe, por exemplo, raízes de *G. monticola* (conhecidas localmente como *Mutewa*) são empregadas no tratamento de diarreias, sendo o extracto aquoso administrado por via oral como remédio contra desarranjos intestinais (Maroyi, 2013). Essa aplicação tradicional encontra respaldo na presença de taninos (antidiarreicos) e possivelmente de antraquinonas com actividade antibacteriana que poderiam eliminar patógenos entéricos. Curiosamente, apesar de antraquinonas em dose elevada terem efeito laxativo, o uso tradicional provavelmente envolve doses moderadas ou preparações que maximizam os efeitos anti-infecciosos e adstringentes das raízes. Além do uso contra diarreia, as raízes de *Grewia* (no geral) são ocasionalmente utilizadas como eméticas ou em tratamentos de doenças respiratórias pela medicina popular; por exemplo, cita-se que o decocto da raiz pode ser administrado para induzir vômito em casos de envenenamento ou para tratar certas condições respiratórias graves, ainda que para *G. monticola* especificamente haja menos documentação disponível (Long, 2005). Em todo caso, a presença de mucilagens (comuns no género *Grewia*, embora não avaliadas na triagem clássica) e taninos nas raízes conferem propriedades demulcentes e adstringentes úteis para o trato gastrointestinal, o que corrobora seu valor terapêutico para distúrbios digestivos.

Considerando o exposto, as folhas e as raízes despontam como as partes mais promissoras de *G. monticola* em termos de aplicações terapêuticas. As folhas, pelo alto teor de antioxidantes naturais, poderiam ser exploradas em suplementos ou medicamentos anti-

inflamatórios leves e protectores celulares. Já as raízes, alinhadas ao uso tradicional, parecem especialmente valiosas para formulações antidiarreicas e possivelmente para desenvolver agentes antimicrobianos à base de plantas. O caule/casca, com seu perfil rico em taninos, também poderia ser aproveitado de forma similar às raízes no combate a infecções e problemas gastrointestinais, embora a extracção predatória de cascas deva ser ponderada frente à conservação da planta. Do ponto de vista de usos tradicionais, as evidências sugerem que comunidades locais já reconheciam o valor das raízes de *G. monticola*, e possivelmente de suas folhas, no tratamento de doenças comuns (diarreia, problemas respiratórios, feridas). Isso reforça a importância de se aprofundar a pesquisa farmacológica nessa espécie, validando cientificamente as práticas populares e potencialmente descobrindo novos agentes terapêuticos de origem natural. Em síntese, *Grewia monticola* revela-se uma planta de considerável interesse medicinal, cujos diferentes órgãos fornecem repertórios químicos complementares – um facto que deve ser levado em conta ao direccionar estudos de bioprospecção e ao considerar quais partes utilizar de forma sustentável para fins fitoterápicos.

6.2. FITOQUIMICA QUANTITATIVA

Os resultados demonstram variações claras no teor de compostos fenólicos totais (TPC) entre as diferentes partes de *Grewia monticola*. As folhas apresentaram o maior TPC ($6,508 \pm 0,180$ mg EAG/g), seguidas de perto pelo caule ($6,293 \pm 0,305$ mg EAG/g), enquanto a raiz exibiu um valor significativamente menor ($4,778 \pm 0,058$ mg EAG/g). Tendências semelhantes são relatadas em outras espécies: em *Grewia flavescens* (sin. *G. carpinifolia*), extractos etanólicos de folhas exibiram TPC superior ao dos extractos de caule (aproximadamente 19,1 vs. 14,9 mg EAG/g de extracto, respectivamente) (Pramodini et al., 2021), indicando maior concentração de fenólicos nos tecidos foliares. Assim, nossos achados corroboram a literatura e evidenciam um gradiente decrescente de fenólicos de órgãos aéreos para subterrâneos.

Do ponto de vista quantitativo, os níveis de TPC observados em *G. monticola* (extratos 80% etanol) são condizentes com relatos prévios tanto para o próprio género *Grewia*

quanto para outras espécies medicinais de ecossistemas similares. Em um estudo recente sobre espécies lenhosas de savana sul-africana, folhas de *Grewia flavescens* exibiram TPC em torno de 4,6–5,0 mg EAG/g (base massa seca), valores próximos aos obtidos para *G. monticola* (Irakli, et al., 2023). Nesse mesmo estudo, *G. monticola* apresentou teor foliar da ordem de 5 mg EAG/g, mantendo-se estável em diferentes tipos de solo (Irakli, et al., 2023). Tais magnitudes são comparáveis às encontradas em nossas amostras foliares (3,8–3,9 mg/g), considerando possíveis variações de metodologia e condições ambientais. Além disso, a literatura sobre *Grewia* reporta consistentemente altos teores fenólicos em órgãos aéreos. Por exemplo, extractos de folhas de *G. flavescens/carpinifolia* já citados atingiram ~19 mg EAG/g de extracto (Mudau, et al., 2022), ao passo que frutos de *Grewia* (como *G. flava* e *G. bicolor*) também são ricos em polifenóis (especialmente antocianinas e taninos). Esses dados reforçam que espécies do género, especialmente as nativas de climas áridos ou savânicos, acumulam compostos fenólicos em níveis consideráveis, comparáveis a outras plantas medicinais locais. De forma análoga, muitos arbustos nativos de savana (e.g. *Ziziphus mucronata*, *Combretum* spp.) exibem TPC foliar na faixa de poucos a dezenas de mg EAG/g (Irakli, et al., 2023), relacionado à presença de taninos condensados nas folhas como defesa contra herbivoria. Assim, os valores obtidos para *G. monticola* inserem-se no contexto fitoquímico esperado para plantas de habitat similar.

A escolha de etanol a 80% como solvente mostrou-se apropriada e eficaz para extrair compostos fenólicos de *G. monticola*. Solventes hidroalcoólicos nessa faixa de polaridade são amplamente reconhecidos por maximizar a recuperação de polifenóis de matrizes vegetais (Miera et al., 2023). A presença de ~20% de água no etanol aumenta a penetração celular e a ruptura de paredes celulares (devido à forte polaridade da água), facilitando a libertação de metabólitos, enquanto o componente etanólico solubiliza compostos menos polares, garantindo ampla extracção de fenólicos diversos (Irakli, et al., 2023). Estudos comparativos confirmam que *misturas de etanol-água ~70–80% frequentemente apresentam rendimentos superiores aos de solventes puramente aquosos ou totalmente alcoólicos* (Miera et al., 2023). Por exemplo, observou-se que extrair polifenóis de resíduos vegetais com etanol 80% produziu aproximadamente 3–4 vezes mais fenólicos em comparação à extracção apenas com água (Miera et al., 2023). No contexto deste estudo, o

uso de etanol 80% provavelmente permitiu recuperar tanto compostos altamente polares (áglicones fenólicos, alguns flavonóides glicosilados) quanto moléculas de polaridade intermediária (flavonóides menos hidroxilados, certos ácidos fenólicos) presentes nas folhas, caule e raiz. A eficiência do solvente é reflectida nos valores expressivos de TPC obtidos, indicando que a extracção hidroetanólica foi efectiva em extrair a maioria dos fenóis disponíveis. Em suma, o etanol 80% confirma-se como um solvente de extracção adequado na fitoquímica de produtos naturais, equilibrando selectividade e rendimento na recuperação de compostos bioactivos (Irakli, et al., 2023).

Os níveis de TPC encontrados sugerem um bom potencial bioactivo para os extractos de *G. monticola*, especialmente os obtidos de folhas e caule. Há uma correlação bem conhecida entre alto teor de fenólicos e forte actividade antioxidante em extractos vegetais. Assim, é esperado que os extractos foliares e caulinares de *G. monticola* apresentem significativa capacidade sequestradora de radicais livres (actividade antioxidante), o que pode ser explorado tanto na indústria farmacêutica (como fitoterápicos para combater stress oxidativo) quanto na de alimentos (como antioxidantes naturais para conservação de alimentos). Estudos com espécies afins sustentam essa expectativa: por exemplo, extractos de *Grewia flava* demonstraram elevada actividade antioxidante em ensaios de DPPH e ABTS, em consonância com seu alto conteúdo fenólico. Além do potencial antioxidante, compostos fenólicos conferem a muitos extractos actividades anti-inflamatórias, antimicrobianas e citoprotectoras. No caso de *Grewia*, já se documentou acção anti-inflamatória notável – extractos foliares de *G. mollis* inibiram enzimas pró-inflamatórias como LOX e COX-2 de forma potente, comparável ou superior a controles positivos, sem apresentar citotoxicidade significativa em células saudáveis (Adamu et al., 2020) e . Tal perfil (forte actividade biológica aliada a baixa toxicidade) sugere aplicações terapêuticas promissoras, por exemplo no desenvolvimento de agentes anti-inflamatórios naturais ou adjuvantes no tratamento de doenças crónicas relacionadas ao stress oxidativo. Os taninos presentes (especialmente em folhas e casca) também podem conferir propriedades antimicrobianas e antifúngicas, úteis para tratar infecções tópicas ou gastrointestinais leves, dado seu efeito adstringente e precipitante de proteínas bacterianas (Das et al., 2020). Ressalta-se que, apesar do menor TPC nas raízes, estas não são desprovidas de interesse

farmacológico. Tradicionalmente, raízes de *G. monticola* são mastigadas ou preparadas em infusão para aliviar distúrbios gastrointestinais (como dor de estômago e azia). Esse uso pode relacionar-se à presença de taninos em quantidade moderada – suficientes para um efeito antidiarreico e gastroprotector via acção adstringente – ou a outros metabólitos específicos da raiz. Em termos práticos, os extractos das diferentes partes da planta poderiam ser direccionados a finalidades distintas: extractos foliares e de caule, pela maior riqueza em fenólicos, seriam candidatos naturais a antioxidantes nutracêuticos ou cosméticos fotoprotectores, enquanto extractos de raiz poderiam ser explorados em formulações para saúde gastrointestinal leve, capitalizando suas propriedades tradicionais. Por fim, os resultados obtidos reforçam a importância de *G. monticola* como fonte de compostos bioactivos e fornecem base científica para o uso sustentável da espécie em produtos de valor agregado, seja no contexto de fitoterápicos, suplementos alimentares ou conservação de alimentos, especialmente em regiões onde a flora local representa uma rica farmacopeia tradicional.

Em contra partida os resultados de teor de flavonóides totais (TFC) em *Grewia monticola* revelaram valores de $9,14 \pm 0,21$ mg equivalentes de quercetina por grama (mg QE/g) no caule, $7,61 \pm 0,16$ mg QE/g nas folhas e $6,23 \pm 0,19$ mg QE/g na raiz. Esses níveis são da mesma ordem de magnitude que os relatados para outras espécies do gênero *Grewia* e plantas medicinais de ambientes tropicais similares. Por exemplo (Adebisi et al., 2017) encontraram um TFC de aproximadamente 13,2 mg QE/g em extractos etanólicos de folhas e caules de *Grewia carpinifolia*, uma espécie relacionada (Ma et al., 2024). Em plantas comestíveis silvestres da savana africana, os teores de flavonóides geralmente variam de cerca de 4 a 15 mg/g em peso seco (Nyero et al., 2023). No norte de Uganda, folhas de espécies nativas apresentaram até 14,9 mg/g de flavonoides (em equivalentes de rutina), enquanto outras registaram valores mínimos em torno de 4 mg/g (Nyero et al., 2023). Isso indica que os valores observados em *G. monticola* (aproximadamente 6–9 mg/g) situam-se em uma faixa intermediária, comparáveis a plantas de hábitos e habitats semelhantes. Em termos quantitativos, os caules de *G. monticola* mostraram um conteúdo ligeiramente superior ao das folhas e ambos superiores ao das raízes. Essa tendência (caule > folha > raiz) é consistente com alguns achados em arbustos savânicos ricos em taninos, embora em

muitas espécies as folhas geralmente concentrem mais compostos fenólicos que os tecidos subterrâneos. No geral, os níveis de TFC em *G. monticola* confirmam que a espécie possui quantidade apreciável de flavonóides em todas as partes analisadas, alinhando-se aos perfis de outras plantas medicinais de regiões tropicais e savanas, onde ~5–15 mg/g de flavonóides totais são comuns (Ghasemzadeh et al., 2012) .

Apesar do teor total similar, cada parte da planta tende a acumular tipos específicos de flavonóides de acordo com sua função e exposição ambiental. Folhas tipicamente contêm altas concentrações de flavonóis e flavonas glicosiladas, que servem para proteger tecidos fotossintéticos da radiação UV e da herbivoria. Em *Grewia* e gêneros próximos, é comum encontrar nas folhas flavonóis como quercetina e kaempferol (frequentemente na forma de glicósidos), bem como flavonas C-glicosiladas, a exemplo de vitexina e isovitexina (Hostetler et al, 2017). De facto, análise por LC-MS de *G. asiatica* detectou quercetina, kaempferol e isovitexina em extractos foliares e de frutos (Seraglio, et al., 2018). Esses compostos estão entre os flavonóides mais comuns em folhas de plantas expostas ao sol intenso, devido à sua eficácia em absorver radiação UV e neutralizar radicais livres gerados pela fotossíntese.

No caule (especialmente na casca lenhosa), além de flavonóis, costuma haver maior proporção de flavanóis oligoméricos (proantocianidinas, também chamados taninos condensados) e flavanonas. A casca do caule funciona como barreira contra patógenos e radiação, o que explica o acúmulo de compostos fenólicos de alto peso molecular nessa parte. Em algumas espécies de *Grewia*, por exemplo, a vitexina foi isolada da casca do tronco (Nyero et al., 2023), ilustrando que flavonas também podem estar presentes em tecidos lenhosos. Ademais, catequinas e outras unidades de taninos condensados (derivadas de flavan-3-óis) tendem a ser abundantes em caules e cascas de árvores e arbustos da savana, contribuindo para o TFC medido nessas amostras. Esses polímeros fenólicos podem não ser quantificados com a mesma eficiência que flavonóis livres pelo método colorimétrico, mas ainda assim contribuem para a absorbância observada nos extractos de caule.

As raízes geralmente apresentaram o menor teor de flavonóides, o que é esperado pois tecidos subterrâneos recebem pouca ou nenhuma luz e, portanto, sintetizam menos flavonóides relacionados à fotoprotecção. Frequentemente, raízes concentram outros tipos de metabólitos (como cumarinas, alcalóides ou saponinas), enquanto flavonóides aparecem em menores quantidades ou em formas especializadas (por exemplo, algumas leguminosas produzem isoflavonas em raízes para interação com microrganismos, mas esse não parece ser o caso predominante em *Grewia*). Estudos em outras plantas confirmam que as folhas contêm muito mais flavonoides que as raízes – por exemplo, em *Tetrastigma*, o conteúdo de flavonas nas folhas chega a ser diversas vezes superior ao encontrado nos tubérculos radiculares (Li, et al., 2024). Assim, o menor TFC nas raízes de *G. monticola* (6,23 mg/g) se alinha à fisiologia esperada. Ainda assim, é notável que mesmo as raízes contenham uma quantidade mensurável de flavonóides, possivelmente devido a stress do solo ou ao transporte de metabólitos a partir da parte aérea.

A quantificação de flavonóides totais pode ser realizada por métodos espectrofotométricos ou cromatográficos, cada qual com suas vantagens e limitações. No presente estudo, o TFC foi obtido pelo método colorimétrico do cloreto de alumínio (AlCl_3), usando quercetina como padrão. Esse método clássico (descrito por Chang et al., 2002) é amplamente utilizado devido à sua simplicidade, rapidez e baixo custo – basta reagir o extracto com AlCl_3 e medir a absorbância, permitindo estimar a quantidade total de flavonóides em equivalentes de um padrão flavonoídico. É um procedimento adequado para comparações gerais entre amostras e triagens iniciais de actividade antioxidante. No entanto, apresenta limitações importantes: a reacção de complexação com AlCl_3 ocorre de forma mais específica com certos subgrupos de flavonóides (principalmente flavonóis e flavonas com hidroxilos nas posições orto para formar quelatos) (Pękal & Pyrzynska, 2014). Flavonóides de outras classes podem reagir de forma menos intensa ou não reagir e outros compostos fenólicos podem interferir na absorbância. Estudos metodológicos apontam que expressar o “teor total de flavonoides” apenas com base nesse ensaio pode ser enganoso, pois o resultado depende da estrutura dos flavonóides presentes – por exemplo, flavonóis como quercetina dão sinal forte, enquanto flavan-3-óis (catequinas) e antocianinas tendem a subestimar (Pękal & Pyrzynska, 2014). Em síntese, a espectrofotometria com AlCl_3

fornece um valor global aproximado, mas não distingue quais flavonóides estão presentes nem suas proporções exactas.

Métodos cromatográficos (como HPLC-DAD e técnicas acopladas como UPLC-MS/MS) complementam e aprofundam a quantificação de flavonóides. A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) permite separar individualmente cada composto flavonoídico do extracto e quantificá-lo com base em padrões puros, enquanto a detecção por arranjo de diodos (DAD) ou por espectrometria de massas (MS) possibilita identificar estruturalmente esses compostos. As vantagens são claras: obtenção de um perfil detalhado dos flavonóides, identificação de moléculas específicas (por exemplo, quantificar quantos mg/g de quercetina, kaempferol, vitexina, etc., em vez de um valor agregado) e maior sensibilidade e especificidade analítica. De facto, abordagens cromatográficas já identificaram dezenas de flavonóides distintos em extractos de *Grewia* (Qamar, et al., 2021)– por exemplo, LC-MS permitiu detectar mais de 70 flavonóides em espécies do género, incluindo diversas gliconas e agliconas raras. Entretanto, essas técnicas demandam infraestrutura especializada, custo elevado de equipamentos e reagentes, maior tempo de análise e mão-de-obra treinada. Além disso, a quantificação absoluta requer padrões de referência de cada flavonóide de interesse, que nem sempre estão disponíveis comercialmente. Assim, há um compromisso entre a praticidade do método colorimétrico e a riqueza de informações fornecida pelos métodos cromatográficos. Em uma investigação completa, muitas vezes utiliza-se a espectrofotometria de AlCl_3 para *screening* rápido do TFC em múltiplas amostras, e posteriormente aplicam-se técnicas cromatográficas para confirmar e detalhar quais flavonóides específicos são responsáveis pelos resultados observados.

A biossíntese e o acúmulo de flavonóides em plantas são altamente influenciados por condições ambientais e factores fisiológicos. Um dos principais estímulos é a radiação UV: plantas expostas à luz solar intensa frequentemente aumentam a produção de flavonóides nas partes aéreas, pois esses compostos funcionam como filtros UV naturais e antioxidantes. Estudos mostram que sob radiação UV-B, por exemplo, folhas de *Arabidopsis thaliana* acumulam níveis significativamente maiores de flavonóis (como glicósidos de quercetina e kaempferol) para proteger os tecidos foliares (Shomali, et al.,

2022). De modo semelhante, no clima tropical de savana – caracterizado por elevada insolação – espera-se que espécies nativas como *G. monticola* apresentem flavonóides elevados nas folhas e caules como adaptação fotoprotectora.

Outro factor crítico é o stress hídrico. A seca e a disponibilidade limitada de água costumam desencadear respostas de defesa química na planta, incluindo o acúmulo de metabólitos secundários antioxidantes. Sob condições de déficit hídrico, muitas plantas mostram aumentos substanciais no teor de flavonóides totais, presumivelmente para ajudar a combater o stress oxidativo induzido pela desidratação (Shomali, et al., 2022). Por exemplo, em trigo submetido à seca observou-se um incremento de até ~140% nos flavonóides totais em variedades tolerantes (Kaur, et al., 2024). No contexto de savanas africanas, onde *G. monticola* se desenvolve, os períodos sazonais de seca podem ser um dos factores responsáveis por teores relativamente altos de flavonóides, especialmente nos tecidos perenes (caule e folhas persistentes).

Aspectos fisiológicos e de desenvolvimento também modulam o conteúdo flavonoídico. A maturação foliar é um caso emblemático: algumas espécies acumulam mais flavonóides em folhas jovens (como mecanismo de defesa inicial contra herbívoros e radiação UV em tecidos tenros), enquanto outras atingem concentrações máximas em folhas plenamente expandidas ou em senescência. Em *Cistus ladanifer*, por exemplo, folhas jovens sintetizam quantidades maiores de flavonóides que folhas maduras (Yan, et al., 2023), indicando alta demanda de protecção nas primeiras fases de desenvolvimento foliar. Por outro lado, há relatos de flavonóides aumentando com a idade da folha em certas árvores tropicais, possivelmente pelo acúmulo contínuo ao longo do tempo até um platô. Em *G. monticola*, não foram avaliadas diferenças entre idades das folhas, mas é plausível que folhas expostas há mais tempo ao sol intenso acumulem flavonóides gradualmente. A morfologia dos tecidos se relaciona a isso: folhas com cutícula espessa ou tricomas glandulares podem armazenar flavonóides externamente como primeira linha de defesa, enquanto caules lenhosos podem se tornar “sumidouros” de taninos conforme amadurecem.

Condições locais de solo e clima também desempenham seu papel. Diferenças de nutrição mineral (por exemplo, deficiência de nitrogénio ou fósforo) podem induzir a via dos

flavonóides via stress nutricional. *Grewia monticola* ocorre em diversos tipos de solo da savana; estudos com outras espécies sugerem que solos mais pobres ou mais secos levam a plantas quimicamente mais “endurecidas” (ricas em taninos e flavonóides) como estratégia de sobrevivência. Além disso, características macroambientais como altitude e temperatura influenciam a composição fitoquímica. Altitudes elevadas geralmente expõem as plantas a maior radiação UV e amplitudes térmicas, o que pode elevar a síntese de flavonóides protectores. Uma revisão recente salientou que variações geográficas e climáticas entre regiões resultam em perfis químicos distintos em *Grewia*, sugerindo que plantas africanas dessa savana ensolarada podem produzir quantidades e tipos de flavonóides diferenciados das congêneres de climas mais amenos (Qamar, et al., 2021). Em resumo, o teor de flavonóides em *G. monticola* não é fixo, mas sim um reflexo dinâmico das condições ambientais (luminosidade, seca, nutrientes) e factores intrínsecos (fase de desenvolvimento, órgão da planta), o que explica variações sazonais e geográficas observadas nos metabólitos dessa espécie.

Os flavonóides identificados em *Grewia monticola* e espécies próximas possuem reconhecida importância farmacológica, o que ajuda a explicar os usos tradicionais dessas plantas e seu potencial terapêutico. Em geral, flavonóides agem como antioxidantes potentes, neutralizando radicais livres e reduzindo o stress oxidativo celular. Compostos como a quercetina e o kaempferol, ambos flavonóis presentes em muitas *Grewia*, exibem uma ampla gama de actividades bioactivas benéficas. A quercetina, por exemplo, é um dos antioxidantes naturais mais eficazes e possui comprovada acção anti-inflamatória – ela modula vias inflamatórias e chega a reduzir significativamente níveis de citocinas pró-inflamatórias em modelos experimentais (Qamar, et al., 2021). Estudos têm demonstrado que a quercetina pode ajudar a prevenir e atenuar diversas patologias relacionadas ao stress oxidativo crónico, incluindo doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Alharbi, et al., 2025). De modo análogo, o kaempferol apresenta efeitos anti-inflamatórios e anticancerígenos, além de acção antidiabética e neuroprotetora (Parveen, et al., 2023). Esse flavonol actua modulando vias de sinalização celular e enzimas-chave, contribuindo para inibir a progressão de cânceres e reduzir inflamações crónicas (Wang, et al., 2023). A presença desses dois flavonóis em *Grewia* sugere que extractos da planta podem conferir

protecção contra danos oxidativos e inflamatórios no organismo humano, justificando algumas de suas indicações etnomédicas (Babaei, et al., 2020) e (Pannu, et al., 2021).

Os resultados sobre o teor e perfil de flavonóides em *Grewia monticola* possuem diversas implicações práticas. Em primeiro lugar, corroboram o uso tradicional de espécies de *Grewia* em comunidades locais. Na medicina popular de países da África tropical, incluindo Moçambique, espécies desse género são empregadas para tratar inflamações, infecções e distúrbios gastrointestinais. Por exemplo, *Grewia flavescens* é utilizada em populações do Zimbábue para cicatrização de feridas e alívio de disenteria (TheGreenInstitute, 2023) e (Parveen, et al., 2023) enquanto *G. bicolor* e outras fornecem chás contra tosse e dores de estômago segundo registos etnobotânicos. A presença de flavonóides antioxidantes e anti-inflamatórios robustos em *G. monticola* oferece uma base científica para esses usos tradicionais, já que muitos dos efeitos terapêuticos reportados (como redução de inflamação, combate a infecção e protecção de mucosas) podem ser atribuídos à acção dos flavonóides e taninos da planta. Esse alinhamento entre o conhecimento tradicional e a química da planta fortalece a validade do saber local e pode incentivar a continuidade do uso sustentável da espécie na medicina caseira.

Do ponto de vista farmacêutico, as descobertas abrem caminho para o desenvolvimento de novos produtos de base natural. Flavonóides como quercetina e vitexina são considerados candidatos promissores a nutracêuticos e fitomedicamentos devido aos seus efeitos benéficos à saúde (Qamar, et al., 2021). Os extractos de *Grewia monticola*, ricos nesses compostos, poderiam ser explorados na formulação de suplementos antioxidantes ou anti-inflamatórios naturais, ou servir de modelo para a síntese de derivados mais potentes. Já existem no mercado global produtos contendo quercetina para manutenção da imunidade e saúde cardiovascular; de maneira análoga, um extracto padronizado de *Grewia* (padronizado em flavonóides) poderia ser utilizado como ingrediente funcional. Além disso, a investigação fitoquímica de *G. monticola* pode levar ao isolamento de compostos inéditos com actividade farmacológica interessante, ampliando o repertório de moléculas bioactivas disponíveis para pesquisa de novos fármacos. Conforme sugerido por revisões recentes, é importante investir no estudo de espécies africanas de *Grewia*, pois factores ecológicos diferenciados podem ter levado essas plantas a produzirem metabólitos únicos

ou em teores superiores, comparadas às espécies asiáticas já pesquisadas (Lima, et al., 2017). Assim, *G. monticola* não só tem relevância local, mas pode contribuir para a inovação farmacêutica global se bem estudada.

Por fim, nossos achados ressaltam a importância da conservação da biodiversidade local. *Grewia monticola* é parte dos ecossistemas de savana e possui valor medicinal comprovado; contudo, como muitas plantas medicinais, pode enfrentar ameaças decorrentes da colecta predatória, perda de habitat e mudanças climáticas (Davis & Choisy, 2024). A validação científica de suas propriedades terapêuticas pode aumentar a demanda por esta espécie, seja para uso local ou para bioprospecção, o que torna crucial adotar medidas de manejo sustentável. Recomenda-se incentivar o cultivo comunitário de *Grewia* para fins medicinais, reduzindo a pressão sobre as populações silvestres. Projetos de conservação in situ também são desejáveis, mantendo as plantas em seu ambiente natural e protegendo-as da degradação ambiental. Além disso, a documentação do conhecimento tradicional associado e o repartimento de benefícios podem ajudar a engajar as comunidades locais na protecção da espécie. Em suma, ao demonstrar que *G. monticola* é uma fonte valiosa de flavonóides bioactivos (com potenciais aplicações em saúde humana), este estudo reforça a necessidade de preservar essa riqueza botânica. Proteger plantas medicinais como *Grewia* não só salvaguarda a herança cultural e a saúde das populações locais, mas também preserva recursos genéticos que podem ser chave para novos tratamentos de doenças no futuro. Como enfatizado na literatura, a conservação de plantas medicinais deve ser vista como parte integrante da conservação da biodiversidade, frente aos desafios actuais de perda de espécies e erosão do conhecimento tradicional (Davis & Choisy, 2024). Garantir a sobrevivência de espécies como *Grewia monticola* é, portanto, investir em saúde, ciência e sustentabilidade para as gerações vindouras.

Finalmente os resultados experimentais indicaram ausência de taninos detectáveis na raiz de *Grewia monticola*. Essa ausência sugere que a raiz não acumula quantidades mensuráveis desses compostos fenólicos, possivelmente devido a uma menor necessidade ecológica de taninos em órgãos subterrâneos. Em diversas plantas, a concentração de taninos nas raízes é substancialmente menor do que nas folhas e outras partes aéreas (Dettlaff, et al., 2018). Factores ambientais e adaptativos podem explicar essa distribuição:

raízes estão protegidas do stress luminoso/UV e sofrem pressões distintas de herbivoria, reduzindo a vantagem de investir em taninos nessas estruturas. Além disso, é possível que as raízes utilizem outras estratégias de defesa química (p. ex., metabólitos diferentes) ou físicas, tornando os taninos menos relevantes nesse órgão.

Tanto as folhas quanto o caule (casca) apresentaram teores comparáveis de taninos totais ($\approx 3,8$ mg EAT/g), evidenciando um acúmulo significativo de taninos nos órgãos aéreos. Morfofisiologicamente, é comum que taninos sejam armazenados em vacúolos de células parenquimáticas ou em células especializadas (idioblastos) nessas partes da planta (Isah, 2019). No caule, especialmente na casca, e nas folhas, esses compostos ficam segregados até serem libertados por danos teciduais ou outros estímulos. Ecologicamente, a presença de taninos em folhas e caules desempenha um papel defensivo importante. Taninos são conhecidos por sua propriedade adstringente e por formarem complexos com proteínas, reduzindo a digestibilidade das folhas e actuando como deterrentes alimentares contra herbívoros (War, et al., 2012). Quando um herbívoro mastiga a folha ou a casca, os taninos precipitam proteínas (inclusive enzimas digestivas), diminuindo o valor nutritivo e podendo causar lesões digestivas nos insectos ou outros herbívoros (Barbehenn & Constabel, 2011). Dessa forma, altos teores de taninos contribuem para defesa química da planta, tornando folhas e cascas menos palatáveis.

Outra função ecológica relevante dos taninos em partes aéreas é a fotoprotecção. Como polifenóis, taninos absorvem fortemente na região do UV, podendo proteger os tecidos vegetais da radiação solar excessiva. Estudos demonstram que a exposição a stress luminoso ou raios UV induz o aumento na produção de compostos fenólicos, incluindo taninos, em tecidos foliares (War, et al., 2012). Assim, plantas sob alta radiação podem acumular mais taninos nas folhas, o que actua como um “filtro” UV natural, minimizando danos oxidativos e à estrutura celular. De facto, taninos são frequentemente mencionados entre os metabólitos secundários produzidos em resposta à intensa luz solar, ao lado de flavonóides e outros fenólicos fotoprotectores (Feduraev *et al*, 2019). Portanto, o acúmulo de taninos nas folhas e caules de *G. monticola* provavelmente reflecte tanto uma adaptação defensiva contra herbivoria quanto um mecanismo de protecção contra radiação UV e outras condições abióticas stressantes do ambiente de savana.

Os teores de taninos observados em *G. monticola* podem ser considerados moderados em comparação com dados de literatura para outras espécies do mesmo género e plantas arbustivas de habitats similares. Estudos reportam que espécies de *Grewia* frequentemente apresentam taninos na ordem de 1–3% da matéria seca (10–30 mg/g). Por exemplo, em folhas de *Grewia flavescens* e *G. villosa* foram encontrados aproximadamente 1,13% a 2,46% de taninos (percentual em base seca) (Sati & Ahmed, 2018). Esses valores correspondem a 11–25 mg/g, superiores aos ~3,8 mg/g (0,38%) quantificados em *G. monticola* neste estudo. Diferenças metodológicas à parte, isso sugere que *G. monticola* pode ter um teor relativamente mais baixo de taninos que algumas congêneres, ou que seus taninos estão menos concentrados nos tecidos analisados.

No contexto de arbustos e árvores de savana africana, muitos exibem teores significativos de taninos como parte de suas adaptações defensivas. Espécies folhosas utilizadas como forragem para animais geralmente contêm taninos condensados em níveis que influenciam a palatabilidade. Por exemplo, o mopane (*Colophospermum mopane*), árvore típica de savanas, apresenta alta concentração de taninos condensados nas folhas, o que as torna pouco palatáveis para herbívoros quando jovens (Kohi, et al., 2009). À medida que as folhas de mopane envelhecem, o teor de taninos diminui, aumentando sua aceitação pelos animais. Em comparação, os taninos em *G. monticola* (arbusto de menor porte) poderiam estar em níveis que conferem defesa sem, contudo, torná-la completamente indigerível – possivelmente contribuindo para que suas folhas sejam consumidas por alguns herbívoros ou utilizadas em práticas pastoris tradicionais, conforme relatado em outros membros do género. Em suma, os níveis de taninos em *G. monticola* enquadram-se no espectro de variação esperado para espécies lenhosas de ambientes áridos/savânicos, embora valores literais menores que os de certas *Grewia* e outras espécies (como *Acacia* spp. ou mopane) indiquem uma estratégia defensiva de intensidade moderada.

A distribuição diferencial de taninos entre órgãos de *G. monticola* traz implicações interessantes para seu uso tradicional e ecologia química. Partes ricas em taninos (folhas e caule/casca) tendem a possuir propriedades adstringentes e antimicrobianas aproveitadas em contextos etnomedicinais. Taninos precipitam proteínas da mucosa e formam uma camada protectora, mecanismo que explica sua eficácia em tratar diarreias e inflamações

gastrointestinais: a adstringência induz vasoconstrição local e redução de secreções, levando a menor perda de água no lúmen intestinal (Wibowo *et al.*, 2021). De facto, vários usos etnofarmacológicos de espécies do género *Grewia* envolvem o tratamento de distúrbios digestivos. Por exemplo, a casca (caule) de *G. asiatica* é tradicionalmente macerada para tratar diarreia e problemas intestinais (Kaur, *et al.*, 2014), e infusões da casca de *G. villosa* são usadas contra disenteria (Zia-Ul-Haq, *et al.*, 2013). Esses usos fazem sentido dada a presença de taninos nessas partes, conferindo-lhes acção antidiarreica comprovada (taninos vegetais desnaturam proteínas da mucosa intestinal e aumentam a reabsorção de água, aliviando quadros de diarreia)_(Barbehenn & Constabel, 2011). Adicionalmente, as folhas ricas em taninos são aplicadas topicamente em algumas espécies para tratar doenças de pele, feridas e infecções, aproveitando as propriedades antimicrobianas e cicatrizantes dos taninos (Sun & Shahrajabian, 2023). A precipitação de proteínas cutâneas pelos taninos forma uma barreira que protege tecidos lesionados e dificulta a penetração de micro-organismos, auxiliando na cicatrização.

Por outro lado, a baixa concentração de taninos na raiz de *G. monticola* sugere que eventuais usos etnomédicos dessa parte possam depender de outros compostos. Curiosamente, na medicina tradicional zimbabweana, há registo do uso de extracto da raiz de *G. monticola* administrado oralmente contra diarreia (Araújo & Farias, 2021). Diante dos resultados que indicam praticamente nenhuma detecção de taninos nas raízes, esse facto levanta hipóteses: (1) talvez a eficácia antidiarreica das raízes decorra de outros constituintes químicos (por exemplo, polissacáridos mucilaginosos que suavizam a mucosa ou alcalóides/bioactivos com acção antimotoilidade); (2) é possível que o preparado tradicional (decocto, infusão prolongada) extraia traços de taninos difíceis de quantificar nas condições laboratoriais padrão, ou que concentra esses outros compostos activos; (3) também se considera que nem todos os usos etnobotânicos correspondem a uma eficácia farmacológica mensurável – o uso da raiz pode derivar de conhecimento empírico cujos mecanismos ainda não foram esclarecidos. Em contraste, para fins defensivos ecológicos, a raiz aparentemente não contribui significativamente via taninos, o que faz sentido dado que pressões como herbivoria de raiz ou patógenos do solo podem ser combatidas por

outras substâncias (por exemplo, compostos antifúngicos específicos) ou por simbioses protectoras, sem o custo metabólico de produzir taninos no órgão subterrâneo.

Os taninos totais foram extraídos utilizando etanol 80% como solvente, uma escolha considerada eficaz para polifenóis de alto peso molecular. A mistura hidroalcoólica (etanol 80%) equilibra polaridade e poder de penetração no material vegetal, favorecendo a solubilização tanto de taninos condensados (menos polares, formados por polímeros de flavan-3-óis) quanto de taninos hidrolisáveis (mais polares, derivados de ácidos gálico/eléagico esterificados) presentes nas amostras. Evidências na literatura apoiam a eficiência dessa proporção de solvente: por exemplo, estudos comparativos de extracção mostraram que extractos obtidos com ~80% de etanol rendem teores mais altos de taninos em relação a solventes puramente aquosos ou concentrados orgânicos (Dean, 2020). A presença de uma fracção de água é fundamental para romper interacções matriz-polifenol e permitir que compostos fenólicos hidrofílicos sejam libertados, enquanto o etanol diminui a polaridade geral da mistura o suficiente para carregar moléculas menos hidrossolúveis (Ranjha, et al., 2020). Assim, solventes hidroalcoólicos a 70–80% são recomendados classicamente para extrair taninos de tecidos vegetais, maximizando a recuperação tanto de proantocianidinas (condensados) quanto de galotaninos e elagitaninos (hidrolisáveis). No caso de *G. monticola*, a utilização de etanol 80% provavelmente assegurou óptima extracção dos taninos presentes nas folhas e caule. Vale notar que, se taninos condensados de muito alto peso molecular ou fortemente ligados à matriz estivessem presentes, solventes como acetona aquosa (70%) às vezes são mencionados na literatura como ligeiramente mais eficientes (Dean, 2020). Contudo, de forma geral, o etanol 80% mostrou-se adequado para a extracção dos taninos totais mensuráveis nas amostras, garantindo a obtenção representativa tanto de taninos livres quanto daqueles de moderada complexidade presentes nas folhas e casca de *G. monticola* Sond.

6.3. ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE

6.3.1. REDUÇÃO DO RADICAL LIVRE DPPH

Neste estudo, os extractos de *G. monticola* Sond. demonstraram actividade redutora de DPPH moderada, sendo o extracto radicular ($IC_{50} = 31.86 \pm 1.11 \mu\text{g/mL}$) o mais activo, seguido das folhas ($39.74 \pm 0.92 \mu\text{g/mL}$) e, por fim, do caule ($45.63 \pm 0.74 \mu\text{g/mL}$). Valores comparáveis são reportados para outras espécies do género. Por exemplo, *G. asiatica* (phalsa) mostrou IC_{50} de $16,2 \mu\text{g/mL}$ em extracto foliar benzénico (extremamente activo), e $127,5 \mu\text{g/mL}$ em extracto foliar acetónico (Kaur, et al., 2014), cifras próximas das do extracto radicular de *G. monticola*. *G. asiatica* em frutos também apresentou boa actividade ($IC_{50} \approx 41\text{--}77 \mu\text{g/mL}$ em metanólico aquoso ou puro) (Qamar, et al., 2021). Por outro lado, *G. flava* apresentou actividade de destaque em extractos aquosos-metanólicos de ramos: $IC_{50} \approx 14,5 \mu\text{g/mL}$ no extracto de ramos e $98 \mu\text{g/mL}$ no extracto radicular (Coin, et al., 2024). Isso sugere que *G. flava* tem capacidade antioxidante superior à de *G. monticola* no caule e inferior na raiz. Já *G. flavescens* revelou compostos altamente activos: taninos semi-purificados de suas folhas exibiram $EC_{50}/DPPH$ de $2,72 \mu\text{g/mL}$ (Ravikumar, Rekha, & Ravikiran, 2020), indicando potencial antioxidante muito elevado ligado a esses fenóis. Por contraste, *G. lasiocarpa* (caule) apresentou $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ (Qamar, et al., 2021), mostrando praticamente inactivo, o que destaca a variação intra-género. Em resumo, *G. monticola* exibe actividade antioxidante moderada, inferior à de extractos ricos em fenólicos de alguns congêneres (*G. flava*, *G. asiatica*), mas comparável a outros casos (p.ex., *G. asiatica* acetona) (Qamar, et al., 2021), (Coin, et al., 2024). A menor actividade nos extractos de caule de *G. monticola* ($233 \mu\text{g/mL}$) é coerente com achados em *Grewia* arbóreos, onde tecidos lenhosos tipicamente concentram menos compostos fenólicos solúveis em solventes comuns.

Os polifenóis, e em particular os flavonóides, são conhecidos por sua potente acção antioxidante devido à presença de múltiplos grupos hidroxilo, que podem doar electrões ou hidrogénio para neutralizar radicais livres (Platzer, et al., 2022). Em *Grewia*, análises fitoquímicas mostram abundância desses compostos. Por exemplo, *G. asiatica* apresenta elevado teor de fenólicos totais, flavonóides, taninos e antocianinas nas folhas e frutos (Zia-Ul-Haq, et al., 2013). Observa-se correlação geral entre maior TPC (total phenolic

content)/TFC (total flavonoid content) e actividade antioxidante: o extracto metanólico (80%) de ramos de *G. flava* registou ~250 mg EGA/g (fenol total) e foi o mais activo em DPPH ($IC_{50} \approx 14,5 \mu\text{g/mL}$) (Coin, et al., 2024). De modo semelhante, extractos mais polares de *G. asiatica* ricos em flavonóides (p.e., benzénico ou acetato de etila) exibiram IC_{50} menores (Kaur, et al., 2014). Entretanto, nem sempre a actividade antioxidante é atribuível exclusivamente aos fenólicos. Caso ilustrativo: fracções de *G. flava* obtidas com solventes menos polares (hexano e acetona) mostraram actividade significativa apesar de TPC relativamente baixo (Coin, et al., 2024). Isso indica que outros metabólitos (alcalóides, terpenos, esteróis) em sinergias podem contribuir. De facto, a diversidade de moléculas em *Grewia* – incluindo flavonóides como quercetina, kaempferol e catequinas, bem como triterpenos (lupeol, betulinol, etc.) – confere múltiplos mecanismos redox (Zia-Ul-Haq, et al., 2013). Globalmente, os extractos agem doando electrões/hidrogénio para radical DPPH e convertendo radicais reactivos em espécies estáveis. Esse comportamento foi evidenciado quando *G. flava* metanólico mostrou tendência paralela entre DPPH e ensaio FRAP: ambos dependem da capacidade de doar electrões, associada aos compostos fenólicos presentes (Coin, et al., 2024). Em síntese, os valores de IC_{50} obtidos reflectem a soma das actividades de múltiplos antioxidantes naturais presentes em *G. monticola*, maioritariamente fenólicos/flavonóides, cujos grupos hidroxilo e ressonância estrutural explicam a eficiência na neutralização dos radicais livres.

Devido à forte associação entre stress oxidativo e processos inflamatórios e degenerativos, extractos ricos em antioxidantes podem ter acção anti-inflamatória e antienvelhecimento. Plantas do género *Grewia*, especialmente *G. asiatica*, já demonstraram actividade antiinflamatória *in vitro* e *in vivo* (Sun & Shahrajabian, 2023). Por exemplo, fracções bioactivas de *G. asiatica* (folhas/frutos) inibiram reacções inflamatórias e mostraram efeitos analgésicos (Zia-Ul-Haq, et al., 2013). A capacidade antioxidante aliada a compostos como antocianinas e flavonóides sugere que extractos de *G. monticola* poderiam modular vias inflamatórias (por inibição de COX, NF- κ B, etc.) e proteger células contra danos oxidativos associados ao envelhecimento (Kaur, et al., 2014). Em terapias dermatológicas, esses extractos ricos em fenólicos também poderiam auxiliar na regeneração de pele e retardar sinais de fotoenvelhecimento.

Flavonóides e outros polifenóis de *Grewia* absorvem radiação UV (200–400 nm) (Fonseca, et al., 2023), agindo como filtros solares naturais. Formulações tópicas com extractos de *Grewia* (sobretudo frutos ou folhas) poderiam oferecer protecção contra UVB/UVA e ao mesmo tempo neutralizar ROS na pele (Fonseca, et al., 2023). Além disso, a potente acção antioxidante previne peroxidação lipídica e degradação de colágeno na pele, potencializando efeitos antienvelhecimento (redução de rugas, manutenção de firmeza) (Michalak, 2022). Em perfumes e cosméticos de perfumaria fina, extractos antioxidantes de *Grewia* actuariam como estabilizadores naturais para compostos sensíveis.

Antioxidantes naturais são amplamente usados para conservar alimentos, retardando a oxidação lipídica e prolongando a validade. Compostos fenólicos de plantas – incluindo flavonóides e taninos – impedem rancificação de óleos e mantêm cor/aroma dos alimentos (Singh, et al., 2022). Extractos de *Grewia monticola* (e congêneres) poderiam servir como conservantes naturais em produtos alimentícios processados. Por exemplo, óleo ou extracto alcoólico de frutos ou folhas, rica em fenólicos, adicionada a geleias, sucos ou carnes reduz a deterioração oxidativa e o crescimento microbiano (Kaur, et al., 2014). Além disso, certas espécies de *Grewia* produzem açúcares e pectinas, indicando potencial como aditivo funcional em bebidas saudáveis (nêctares antioxidantes) ou ingredientes de suplementos nutricionais.

Em suma, os resultados de *G. monticola* indicam bioactividade antioxidante sólida, representada por elevado teor de fitoquímicos fenólicos e flavonóides. Essa característica fitoquímica abre campo para aplicações terapêuticas (antiinflatórios, antifotoenvelhecimento), cosméticas (produtos antioxidantes e fotoprotectores) e alimentares (conservantes naturais), similares às já exploradas para *G. asiatica* (phalsa) e outras espécies do género (Fonseca, et al., 2023).

O valor de IC₅₀, que representa a concentração necessária para atingir 50% de inibição do radical DPPH, foi de 18.42 ± 0.33 µg/mL para o ácido ascórbico, resultados esses que indicam que o ácido ascórbico apresenta maior potência antioxidante quando comparado com as amostras.

6.3.2. ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE FRP E TAC

Os resultados obtidos evidenciam que todas as partes da planta (*folhas, caule e raiz*) de *Grewia monticola* Sond. possuem actividade antioxidante mensurável, embora com eficácias distintas. No ensaio de *Ferric Reducing Power* (FRP), o extracto do caule apresentou o melhor desempenho antioxidante com $IC_{50} = 33,91 \pm 0,83 \mu\text{g/mL}$, significativamente menor (indicando maior potência) do que os valores observados para as folhas ($47,68 \pm 1,31 \mu\text{g/mL}$) e para a raiz ($54,62 \pm 0,28 \mu\text{g/mL}$). De forma análoga, no ensaio de Fosfomolibdato (TAC) manteve-se o mesmo padrão: o extracto das folhas exibiu o menor IC_{50} ($27,12 \pm 1,24 \mu\text{g/mL}$), seguido pelo extracto do caule ($37,92 \pm 0,62 \mu\text{g/mL}$) e por último o da raiz ($44,62 \pm 0,62 \mu\text{g/mL}$).

Existem diferenças notáveis entre TAC e FRP, uma vez que no ensaio FRP o caule de *G. monticola* exibiu melhor actividade antioxidante, resultados contrários aos obtidos no ensaio TAC, em que as folhas exibiram melhor actividade. Esses achados indicam variações na distribuição de compostos bioactivos nas diferentes partes da planta, possivelmente reflectindo diferenças fitoquímicas inerentes (por exemplo, teores distintos de fenólicos, flavonóides ou taninos em cada órgão vegetal).

6.3.3. IMPLICAÇÕES FARMACOLÓGICAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A variação da actividade antioxidante entre caule, folhas e raiz de *Grewia monticola* pode ter implicações importantes para seu uso terapêutico ou desenvolvimento de fitoterápicos. Extractos com maior poder antioxidante, como o do caule, tendem a ser mais promissores na neutralização de estresse oxidativo em sistemas biológicos. O estresse oxidativo está implicado na fisiopatologia de diversas doenças crónicas e inflamatórias, incluindo distúrbios cardiovasculares, neurodegenerativos, diabetes e processos de envelhecimento celular. Assim, um extracto rico em antioxidantes poderia exercer efeitos citoprotectores, ajudando a resguardar células e tecidos contra danos causados por radicais livres. De facto, estudos com espécies afins corroboram essa perspectiva: o extracto das folhas de *G. mollis* por exemplo, demonstrou potente acção hepatoprotectora em modelo de toxicidade hepática induzida por tetracloreto de carbono, atribuída à presença de compostos

antioxidantes que reduziram os níveis de peroxidação lipídica e enzimas hepáticas lesadas (Asuku, *et al.*, 2012). Essa capacidade de atenuar danos oxidativos sugere que os antioxidantes de *Grewia* podem ter utilidade na protecção de órgãos contra lesões. Ademais, há evidências de que extractos antioxidantes de *Grewia* também exibem actividade anti-inflamatória, possivelmente por prevenirem a desnaturação de proteínas e a activação de vias inflamatórias mediadas por oxidantes (Qamar, *et al.*, 2021). No caso de *G. monticola*, considerando seu uso etnomedicinal (por exemplo, suas raízes são usadas tradicionalmente contra diarreias na região da África Austrá, pode-se conjecturar que taninos e polifenóis presentes no extrato radicular exerçam efeito adstringente e antimicrobiano no trato gastrointestinal, ajudando a controlar infecções intestinais e a perda de fluidos – actividades essas que podem estar relacionadas, em parte, à redução do stress oxidativo local e inibição de mediadores inflamatórios no intestino. Da mesma forma, os antioxidantes do caule e das folhas poderiam contribuir para acções antimicrobianas e citoprotectoras gerais, visto que muitas substâncias fenólicas possuem efeito inibitório sobre microrganismos patogênicos e modulam positivamente mecanismos de defesa da célula (Kumar, *et al.*, 2022).

Em suma, a análise comparativa dos extractos de *Grewia monticola* demonstra que o caule apresenta a maior eficácia antioxidante, seguido de folhas e raiz, quando avaliados pelos métodos FRP e TAC. Embora nenhum dos extractos supere os antioxidantes padrões (ácido ascórbico) em potência, sua actividade é significativa e embasa o potencial farmacológico da espécie. A riqueza em fitoquímicos antioxidantes – notadamente polifenóis como flavonóides e taninos – explica em grande medida esses resultados, alinhando-se com a literatura que aponta a importância desses compostos na actividade redox de extractos vegetais (Kaur, *et al.*, 2014). Os dados sugerem que partes específicas da planta podem ser priorizadas conforme o objectivo terapêutico: por exemplo, o caule poderia ser uma fonte mais eficiente de antioxidantes para formulações farmacêuticas ou nutracêuticas. Entretanto, convém lembrar que, em preparações tradicionais, muitas vezes se utilizam combinações ou a planta inteira; portanto, conhecer o perfil de cada parte também pode orientar usos integrados e sustentáveis – como substituir o uso da raiz (cuja colheita pode ameaçar a sobrevivência da planta) pelo caule ou galhos, sem perda substancial de eficácia

antioxidante (Akwu, *et al.*, 2024). Por fim, recomenda-se aprofundar a caracterização química dos extractos de *G. monticola* para identificar os constituintes específicos responsáveis pela acção antioxidante e investigar suas actividades *in vivo*, esclarecendo melhor o papel dessa espécie no contexto farmacológico e consolidando sua aplicação segura e efectiva em terapias baseadas em antioxidantes naturais.

6.4. ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Grewia monticola*

Em geral, a potência antibacteriana variou de acordo com a parte da planta e a concentração do extracto. Os extractos de raiz exibiram os maiores halos de inibição, especialmente em concentrações mais elevadas. *E. faecalis* mostrou-se particularmente suscetível aos extractos de *G. monticola*, seguido de *E. coli* e *S. typhimurium*, enquanto *S. aureus* apresentou inibição um pouco menor. Em concentrações mais baixas ($\leq 0,5$ mg/disco), os halos foram mais modestos (tipicamente 9–12 mm), indicando actividade dose-dependente. Os extractos de caule apresentaram actividade intermediária, produzindo halos de inibição maiores que os das folhas, porém menores que os da raiz nas mesmas concentrações. Já os extractos de folhas mostraram os menores halos de inibição dentre as partes testadas – embora ainda evidenciando efeito antibacteriano, a inibição foi limitada em concentrações baixas, tornando-se mais pronunciada apenas em doses elevadas. Esse gradiente de eficácia (raiz > caule > folhas) sugere que compostos activos encontram-se mais concentrados nas raízes, possivelmente devido ao acúmulo de metabólitos como fenóis nessa parte, conforme observado no ensaio fitoquímico qualitativo (tabela nº 1) e em outras espécies do género (Kumar *et al.*, 2022). Em suma, os resultados experimentais confirmam que *G. monticola* possui actividade antibacteriana de espectro relativamente amplo, capaz de inibir tanto cocos Gram-positivos quanto bacilos entéricos Gram-negativos.

6.4.1. COMPARAÇÃO COM OUTRAS ESPÉCIES DO GÉNERO *Grewia*

Estudos na literatura indicam que a actividade antibacteriana observada em *G. monticola* é consistente com aquela reportada em outras espécies de *Grewia*, embora haja variações em potência e espectro de acção. *Grewia flava* destaca-se por forte actividade antimicrobiana: extractos acetónicos de suas folhas e raízes exibiram valores de CIM extremamente baixos,

chegando a 0,03 mg/mL contra *S. aureus* e *S. typhimurium*, e 0,07 mg/mL contra *Bacillus cereus* e *E. coli*, indicando potência notável (Lamola, *et al.*, 2017). Essa actividade de *G. flava* abrange tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas, semelhante ao observado para *G. monticola*. No caso de *G. flava*, todos os órgãos (bagas, folhas, casca e raízes) demonstraram efeito, mas as folhas e raízes foram as mais activas (Mongalo, *et al.*, 2022). Além disso, fracções semipurificadas de extracto de ramos de *G. flava* apresentaram MIC entre 0,21–0,31 mg/mL contra um painel de patógenos (incluindo *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *B. subtilis*), reforçando seu amplo espectro (Lamola, *et al.*, 2017). Assim como em *G. monticola*, a *G. flava* tem aplicações etnofarmacológicas relacionadas a infecções gastrointestinais: na medicina tradicional do sul da África, uma mistura de casca, raiz e leite de *G. flava* é usada para tratar problemas estomacais de origem bacteriana (Coin, *et al.*, 2024). Os achados científicos corroboram esses usos, já que os extractos inibem efectivamente patógenos entéricos.

Outra espécie relevante é *Grewia mollis*. Nativos de várias regiões utilizam *G. mollis* para tratar diarreias e disenteria, indicando actividade antimicrobiana contra patógenos intestinais (Shagal, *et al.*, 2012). Estudos confirmam que extractos das folhas, casca e raiz de *G. mollis* possuem compostos bioactivos e efeito antibacteriano. Por exemplo, análise fitoquímica de folhas de *G. mollis* revelou abundância de taninos, saponinas, flavonóides e alcalóides, e extractos metanólicos e em acetato de etil da planta exibiram actividade antimicrobiana pronunciada, com MIC e MBC notáveis dependendo do solvente utilizado (Kumar, *et al.*, 2022). Em particular, *G. mollis* mostrou eficácia contra isolados clínicos de *E. coli* (causadores de diarreia), correlacionando-se com seu uso tradicional. A presença de altos teores de metabólitos fenólicos e saponínicos em *G. mollis* pode explicar sua acção sobre bactérias entéricas, ao passo que alcalóides presentes nas raízes também podem contribuir para uma actividade de espectro mais amplo (Lamola, *et al.*, 2017). Embora *G. monticola* e *G. mollis* compartilhem o uso etnomedicinal contra distúrbios gastrointestinais, os perfis de actividade podem diferir em intensidade. Os resultados de *G. monticola* indicaram inibição considerável de *S. typhimurium* e *E. coli*, o que está em linha com *G. mollis*, mas *G. monticola* parece exercer efeito ainda mais forte contra Gram-

positivos como *E. faecalis*, um aspecto que não foi detalhado em muitos estudos de *G. mollis*.

Grewia bicolor (conhecida como “cross-berry” ou *Grewia* de fruto bicolor) é outra espécie com perfil fitoquímico e bioactividade interessante. Tradicionalmente usada na África (por exemplo, na medicina sudanesa para lesões cutâneas pustulentas e como tranquilizante suave), *G. bicolor* possui comprovada acção antibacteriana e composição química distinta (Fadimatou, et al., 2021). Extractos metanólicos de suas raízes mostraram actividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Qamar, et al., 2021). A actividade ampla de *G. bicolor* é atribuída a uma combinação singular de constituintes: estudos de fitoquímica identificaram triterpenos (lupeol e betulina), ésteres triterpênicos e esteróis (β -sitosterol livre e glicosilado), além de alcalóides β -carbolínicos como harmana, 6-metoxiharmana e 6-hidroxi-harmana – sendo este último o principal alcalóide isolado (Fadimatou, et al., 2021). Essa mistura confere ao extracto capacidade de inibir tanto cocos Gram-positivos quanto bacilos Gram-negativos (Kumar, et al., 2022). Em comparação, *Grewia monticola* possivelmente compartilha alguns dos metabólitos identificados em espécies próximas, como *G. bicolor*, devido à sua proximidade filogenética — de facto, ambas podem hibridizar naturalmente (Fadimatou, et al., 2021). No entanto, até o momento, a literatura carece de um perfil fitoquímico detalhado para *G. monticola*, o que limita comparações directas.

Não obstante, a marcante actividade da raiz de *G. monticola* contra *E. faecalis* e *S. aureus* sugere a presença de compostos potentes semelhantes aos de *G. bicolor*, possivelmente alcalóides ou triterpenos com acção antibiótica.

Outras espécies do género confirmam o padrão geral de que *Grewia* spp. têm propriedades antibacterianas relacionadas à presença de metabólitos secundários comuns. *Grewia asiatica* (planta alimentícia conhecida como phalsa) e *Grewia orientalis*, por exemplo, também apresentam flavonoides, taninos, saponinas e terpenóides abundantes, associados a actividades antimicrobianas em ensaios laboratoriais (Suguna e Umesh, 2022). De modo geral, a literatura evidencia que as espécies de *Grewia* compartilham um “arsenal químico”

similar – especialmente polifenóis e triterpenos – que as torna eficazes contra diversos microrganismos patogénicos. *G. monticola* encaixa-se nesse contexto, exibindo um perfil de actividade comparável aos de *G. flava*, *G. mollis* e *G. bicolor*, diferenciando-se apenas em grau de potência ou no espectro específico, possivelmente devido a variações quantitativas de compostos activos em cada espécie.

A eficácia antibacteriana de *G. monticola* e de seus congêneres pode ser atribuída à presença de diversos compostos fitoquímicos com acção farmacológica conhecida. Dentre os principais grupos detectados nas espécies de *Grewia* estão: flavonóides, taninos, saponinas, alcalóides, além de triterpenos e esteróis. Cada um desses grupos possui mecanismos de acção propostos distintos, que em conjunto podem explicar a amplitude e intensidade da actividade antimicrobiana.

Em síntese, o perfil fitoquímico de *G. monticola* deve assemelhar-se a um “coquetel” dos grupos como, polifenóis (flavonóides, taninos), saponinas, terpenos e alcalóides. Esses compostos não agem isoladamente, mas sim de forma conjunta, muitas vezes sinérgica. A acção combinada pode explicar por que o extracto bruto apresenta amplo espectro – alguns compostos são mais eficazes contra Gram-positivos (p.ex., taninos, alcalóides intercalantes), enquanto outros afectam Gram-negativos (saponinas e triterpenos que perturbam membranas externas). A diversidade de mecanismos reduz também a chance de desenvolvimento de resistência por parte das bactérias, um atributo desejável em potenciais agentes antibacterianos derivados de plantas.

Os achados sobre *Grewia monticola* possuem grande relevância no contexto da farmacologia vegetal e do desenvolvimento de agentes antimicrobianos alternativos. Em primeiro lugar, eles fornecem embasamento científico para o uso tradicional da espécie. *G. monticola* é empregada popularmente em países do sul da África como Moçambique e Zimbábue para tratar distúrbios gastrointestinais, notadamente diarreias (Kumar, *et al.*, 2022). A actividade pronunciada contra *E. coli* e *S. typhimurium* observada nos testes justifica esse uso, uma vez que essas bactérias estão entre os principais agentes causadores de gastroenterites e doenças diarreicas. Assim, a planta pode ser vista como uma fonte de fitoterápico antidiarreico de acção antibacteriana directa.

Além disso, a eficácia contra patógenos oportunistas Gram-positivos, como *E. faecalis* (causador de infecções urinárias, endocardites e frequentemente multirresistente) e *S. aureus* (incluindo cepas possivelmente resistentes a antibióticos beta-lactâmicos), aponta para um potencial uso mais amplo de *G. monticola* no combate a infecções. Cabe ressaltar que estudos com espécies afins mostraram baixa citotoxicidade dos extractos para células de mamíferos, sugerindo margem de segurança promissora. Por exemplo, *G. flava* apresentou citotoxicidade muito discreta em células de fibroblastos humanos, com índices de concentração letal (LC₅₀) superiores a 500 µg/mL, indicando que seus extractos podem ser usados com pouca toxicidade ao hospedeiro (Lamola, *et al.*, 2017). Embora não tenhamos dados específicos de toxicidade para *G. monticola*, é razoável supor perfil semelhante, dada a afinidade fitoquímica dentro do gênero.

A comparação entre *G. monticola* e outras *Grewia* também sugere que se poderia explorar partes não tradicionalmente utilizadas para fins medicinais, visando sustentabilidade. No caso de *G. flava*, verificou-se que extractos de ramos exibem actividades equivalentes às de raízes (Qamar, *et al.*, 2021), o que permitiria poupar a planta do extractivismo destrutivo da raiz. Analogamente, se *G. monticola* tiver compostos activos em folhas e caules suficientes, essas partes poderiam ser privilegiadas na produção de extractos antibacterianos, preservando as populações naturais. Contudo, nossos resultados indicam que a raiz concentrou maior actividade; portanto, investigações fitoquímicas detalhadas são necessárias para quantificar os princípios activos em cada órgão da planta, que não sejam necessariamente fenólicos. Uma vez identificados os constituintes-chave (sejam flavonóides específicos, saponinas ou alcalóides), poderão ser desenvolvidas formulações padronizadas, aumentando a confiabilidade do uso terapêutico.

Do ponto de vista dos mecanismos de resistência bacteriana, os compostos vegetais de *Grewia* oferecem uma vantagem: muitos deles actuam em alvos múltiplos. Por exemplo, taninos podem inactivar enzimas e danificar membranas simultaneamente; flavonóides podem inibir bombas de efluxo bacterianas e reduzir a virulência; triterpenos podem aumentar a permeabilidade a outros antibióticos. Essa multifactorialidade torna menos provável que bactérias desenvolvam resistência cruzada rapidamente, ao contrário do que ocorre com antibióticos convencionais monoespecíficos. Assim, extractos ou fracções de

G. monticola poderiam ser usados como adjuvantes terapêuticos, potencializando antibióticos existentes ou agindo como alternativa no tratamento de infecções resistentes.

Por fim, vale mencionar que os compostos isolados de *Grewia* não se restringem à actividade antibacteriana – muitos possuem acções anti-inflamatórias, antioxidantes e cicatrizantes. Lupeol, por exemplo, é um anti-inflamatório conhecido; flavonóides em geral reduzem a inflamação e o *stress* oxidativo. Isso significa que um extracto de *G. monticola* poderia tratar não só a infecção em si, mas também aliviar os sintomas (como inflamação intestinal no caso de diarreias infecciosas) e promover a recuperação tecidual. Essa abordagem integrativa é uma das vantagens de medicamentos à base de plantas. No entanto, também é preciso ponderar a variabilidade intrínseca de extractos vegetais e assegurar controle de qualidade – variações sazonais ou geográficas na composição de *G. monticola* podem afectar a actividade, assim como o método de extracção. Estudos futuros devem focar em isolar e caracterizar os principais componentes antibacterianos da espécie, avaliar suas concentrações óptimas e possíveis sinergias, bem como conduzir ensaios *in vivo* de eficácia e segurança.

Em conclusão, a *Grewia monticola* demonstra um perfil promissor de actividade antibacteriana, comparável a outras espécies do género *Grewia* de reconhecida acção antimicrobiana. Suas raízes, caules e folhas contêm uma gama de metabólitos (flavonóides, taninos, saponinas, triterpenos e possivelmente alcalóides) que, em conjunto, inibem eficazmente patógenos relevantes em saúde humana, sustentando seu uso tradicional contra infecções. A solidificação desse conhecimento tradicional com evidências científicas abre caminho para o desenvolvimento de novos agentes fitoterápicos ou fitofármacos antibacterianos, uma estratégia valiosa em face do aumento da resistência microbiana aos antibióticos actuais.

6.5. ACTIVIDADE INIBITÓRIA DE α -AMILASE

Os valores de IC₅₀ determinados para os extractos de *Grewia monticola* representam um parâmetro fundamental para quantificar e comparar a potência inibitória de cada amostra

frente à enzima α -amilase. Conceitualmente, um IC_{50} mais baixo corresponde a uma menor concentração de extracto necessária para inibir 50% da actividade enzimática, sendo, portanto, indicativo de maior eficácia. Inversamente, valores mais elevados traduzem menor potência ou necessidade de doses mais altas para alcançar o mesmo efeito.

No presente estudo, os extractos da folha e do caule apresentaram IC_{50} finitos e relativamente baixos – $30.10 \pm 0.92 \mu\text{g/mL}$ e $48.48 \pm 1.54 \mu\text{g/mL}$, respectivamente – enquadrando-se dentro da faixa considerada farmacologicamente activa para produtos naturais (~ 0.05 – 1 mg/mL). Tais resultados denotam actividade enzimática relevante e alinhada com a literatura fitoquímica. A acarbose, inibidor sintético de referência, exibiu um IC_{50} de $63.57 \pm 3.85 \mu\text{g/mL}$, valor compatível com o seu perfil clínico bem estabelecido.

Em contraste, o extracto da raiz revelou um comportamento cinético singular. A sua curva dose-resposta indicou níveis de inibição superiores a 50% mesmo nas menores concentrações testadas, impossibilitando a intersecção com o ponto de 50% e, consequentemente, a determinação empírica do IC_{50} dentro do intervalo experimental. Quando submetido a regressão linear, este perfil gerou um IC_{50} de valor matematicamente negativo (tendendo a $-\infty$), o que, na prática, não representa uma medida realista de potência, mas sim um artefacto decorrente da extrapolação do modelo.

Matematicamente, um IC_{50} negativo significaria que o extracto necessitaria de uma concentração hipotética inferior a zero para atingir 50% de inibição, o que é fisicamente impossível. No entanto, esse resultado deve ser interpretado com base no comportamento empírico da curva, que sugere que o verdadeiro IC_{50} se encontra abaixo do menor valor testado. Assim, a actividade inibitória do extracto da raiz pode ser considerada, com elevada probabilidade, superior à dos demais extractos, incluindo a própria acarbose, nas condições testadas.

Este aparente paradoxo – um IC_{50} negativo vs. uma actividade experimental elevada – ilustra as limitações dos modelos de regressão aplicados fora da faixa de confiança e evidencia a necessidade de considerar a forma e o alcance da curva dose-resposta. Do ponto

de vista farmacológico, o extracto da raiz destacou-se por apresentar inibição robusta desde as menores concentrações, sugerindo uma acção altamente potente e possivelmente atribuível à presença de compostos de elevada afinidade enzimática ou a efeitos sinérgicos ainda não isolados.

Por conseguinte, a ausência de um IC_{50} mensurável para a raiz não anula o seu valor terapêutico potencial, mas sim realça a necessidade de ampliar a faixa de concentrações testadas, idealmente incluindo diluições mais baixas, para delimitar com precisão o ponto de 50% de inibição (Brooks, et al., 2019). Em paralelo, este caso serve de exemplo para sublinhar que a interpretação do IC_{50} deve ser sempre contextualizada pelo comportamento integral da curva e pelos dados empíricos observados.

Adicionalmente, em estudos de inibição enzimática, IC_{50} elevados ou não definidos podem reflectir problemas como baixa presença de compostos activos, interacções antagonistas ou mesmo actividade pró-enzimática. No entanto, os resultados obtidos para a raiz de *G. monticola* afastam essas possibilidades, demonstrando um padrão de inibição consistente e acima do limiar de 50% em todo o espectro testado. Esta evidência reforça a interpretação de que a raiz possui a maior potência inibitória entre as partes estudadas, estabelecendo a seguinte hierarquia de actividade: raiz > folha > caule – uma ordem que é coerente com os dados experimentais e com o perfil fitoquímico da espécie.

6.5.1. CORRELAÇÃO ENTRE CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL E ACTIVIDADE INIBITÓRIA

Os dados obtidos evidenciam uma correlação globalmente positiva entre o conteúdo fenólico total (TPC) dos extractos de *Grewia monticola* e a sua capacidade de inibir a enzima α -amilase. O extracto da folha, que apresentou o TPC mais elevado ($6.508 \pm 0.180\text{mg/g}$), revelou também uma actividade inibitória expressiva ($IC_{50} = 30.10 \pm 0.92\mu\text{g/mL}$). O extracto do caule, com um TPC ligeiramente inferior ($6.293 \pm 0.305\text{mg/g}$), demonstrou actividade moderada ($IC_{50} = 48.48 \pm 1.54\mu\text{g/mL}$). Esta tendência é coerente com o que é amplamente documentado na literatura fitoquímica, segundo a qual as folhas, por acumularem níveis superiores de compostos fenólicos, tendem a apresentar maior capacidade antioxidante e inibitória de enzimas digestivas (Rana, et al., 2019).

Contudo, o extracto da raiz revelou uma excepção relevante a esta tendência. Apesar de apresentar o menor TPC entre os extractos analisados ($4.778 \pm 0.058\text{mg/g}$), demonstrou a actividade inibitória mais pronunciada, com percentagens de inibição superiores a 50% mesmo na menor concentração testada, e um IC_{50} estimado como negativo por regressão linear. Este paradoxo aparente indica que, embora o TPC seja uma métrica útil da carga antioxidante de um extracto, não constitui, por si só, um preditor absoluto da sua eficácia enzimática. Este fenómeno pode dever-se à presença, na raiz, de compostos fenólicos minoritários de elevada potência ou de outras classes de metabolitos secundários com afinidade específica pela α -amilase, mesmo em concentrações reduzidas.

A análise dos flavonóides totais e dos taninos complementa esta avaliação bioquímica. Os flavonóides totais foram mais abundantes no caule ($9.143 \pm 0.202\text{mg/g}$), seguidos das folhas ($7.610 \pm 0.163\text{mg/g}$) e da raiz ($6.225 \pm 0.190\text{mg/g}$). Embora esta distribuição não reflecta directamente a ordem de actividade inibitória observada, confirma o papel potencial dos flavonóides na inibição enzimática. Importa, porém, sublinhar que a eficácia de tais compostos depende fortemente da sua estrutura química: diferentes subclasses de flavonóides (como flavonóis, flavonas ou antocianidinas) apresentam diferentes afinidades pelos alvos enzimáticos. Assim, mesmo com menor teor global, a raiz poderá conter flavonóides com maior actividade específica contra a α -amilase.

Quanto aos taninos totais, apenas os extractos da folha e do caule apresentaram quantificações detectáveis. O caule evidenciou o maior teor ($1,483\text{ mg/g}$), seguido da folha ($1,167\text{ mg/g}$). A ausência de taninos quantificáveis na raiz pode dever-se a concentrações inferiores ao limite de detecção ou, efectivamente, à ausência destes compostos. Sendo os taninos reconhecidos inibidores da α -amilase — em particular os taninos hidrolisáveis —, a sua contribuição nos extractos da folha e do caule é plausível. Ainda assim, a elevada actividade observada na raiz, mesmo sem taninos detectáveis, reforça a hipótese da presença de compostos com actividade notável, não identificados pelos métodos colorimétricos utilizados, ou de fenóis com elevada eficácia em concentrações diminutas.

Importa salientar que as quantificações de TPC, flavonóides e taninos baseiam-se em métodos colorimétricos globais, não permitindo distinguir entre as diversas subclasses

químicas. Dois extractos com valores semelhantes podem apresentar perfis de actividade distintos, consoante a natureza estrutural dos compostos predominantes. Assim, os dados obtidos sublinham que a avaliação da actividade biológica de extractos vegetais deve considerar não apenas a quantidade total de metabolitos, mas sobretudo a sua qualidade estrutural e a sua interacção com os alvos biológicos. A actividade elevada do extracto da raiz poderá reflectir a presença de compostos especialmente activos — como certos flavonóis altamente hidroxilados ou taninos hidrolisáveis — cuja acção se manifesta mesmo em concentrações muito baixas, eventualmente em sinergismo com outras moléculas bioactivas. Em síntese, embora haja uma correlação entre os teores totais e a actividade inibitória, os dados de *G. monticola* evidenciam a complexidade e a especificidade dos mecanismos envolvidos, realçando a necessidade de abordagens integradas e analíticas mais refinadas na caracterização fitoquímica e funcional dos extractos.

Em síntese, a actividade anti- α -amilásica dos extractos de *G. monticola* pode ser explicada pela presença de uma gama de compostos fenólicos cujas estruturas conferem maior ou menor afinidade pela enzima. Os dados sugerem que taninos e flavonóides complexos sejam os principais responsáveis pela forte inibição verificada na folha (e em menor grau no caule), ao passo que a raiz, possuindo poucos fenólicos e possivelmente apenas ácidos fenólicos simples ou outros metabólitos de baixa actividade, não conseguiu inibir a enzima de forma apreciável na faixa de concentrações abaixo de 50%. Essa relação estrutura-actividade corrobora a ideia de que não é apenas a quantidade de fenólicos (TPC) que importa, mas também a sua qualidade estrutural.

Para além dos compostos maioritários discutidos, considera-se a hipótese de actuação sinérgica de compostos minoritários altamente activos nos extractos. Em preparações fitoquímicas complexas, é frequente que o efeito inibitório global exceda aquele previsto pela soma das actividades de componentes individuais isolados, indicando interacções sinérgicas ou cooperativas entre eles. No caso de *G. monticola*, embora os fenólicos predominantes (p.ex., taninos, flavonóides principais) expliquem grande parte da actividade, é plausível que compostos presentes em baixa concentração, mas de elevada potência intrínseca, contribuam desproporcionalmente para a inibição da α -amilase.

Estudos com outros extratos vegetais corroboram esta ideia: por exemplo, fracções ricas em polifenóis demonstraram IC_{50} consideravelmente menores do que quaisquer compostos isolados dessas mesmas fracções, sugerindo sinergismo entre constituintes. Adicionalmente, tem-se reportado que combinações de classes diferentes de polifenóis podem reforçar mutuamente o efeito inibitório. Um exemplo citado na literatura é o efeito sinérgico entre elagitaninos e antocianinas (como encontrado em frutos vermelhos), que juntos inibem mais eficazmente a digestão do amido do que cada classe separadamente (Ćorković, et al., 2022). No contexto do nosso estudo, pode-se especular que os extractos de folha e caule contenham pequenas quantidades de compostos especialmente potentes (por exemplo, algum alcalóide, terpeno ou fenol atípico) que, mesmo abaixo do limite de detecção nos métodos de quantificação global, reforçam a inibição em sinergia com os polifenóis maioritários. De facto, investigações recentes em extractos complexos demonstram que múltiplos componentes actuam em conjunto sobre a enzima, muitas vezes com alvos e modos de ligação complementares. No extracto da casca do jatobá (*Hymenaea courbaril*), por exemplo, verificou-se que dímeros de procianidina (taninos condensados) e flavonóides glicosilados contribuem significativamente para a inibição da α -amilase, mas também que outros constituintes não identificados estavam envolvidos para explicar plenamente o efeito observado. Isso sugere um cenário de multicomponentes activos em que até mesmo moléculas minoritárias podem exercer um papel crucial, seja aumentando a ligação de outras (por alterações conformacionais na enzima) ou actuando em diferentes sítios simultaneamente. Em *G. monticola*, a ausência de um único composto dominante responsável pela actividade indica que estamos provavelmente perante um efeito aditivo/sinérgico de um conjunto de compostos. Assim, a elevada actividade inibitória do extracto da folha, por exemplo, pode não advir unicamente dos compostos fenólicos mais abundantes, mas também de uma orquestra de moléculas actuando em harmonia. Este facto é de especial interesse farmacológico, pois sugere que a eficácia do extracto integral pode superar a de qualquer componente isolado, alinhando-se com a filosofia de que misturas naturais oferecem benefícios multialvo. Do ponto de vista prático, a hipótese de sinergismo implica que estratégias de *screening* focadas apenas nos constituintes maioritários podem subestimar o potencial terapêutico de extractos brutos, tornando relevante a manutenção de um espectro amplo de compostos (o chamado “efeito de matriz” dos extractos vegetais).

7. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que os extractos das diferentes partes de *Grewia monticola* Sond. — folhas, caule e raiz — possuem um conjunto promissor de propriedades bioactivas com destaque para a actividade antioxidante, antimicrobiana e inibitória da enzima α -amilase, corroborando com o uso etnofarmacológico tradicional da espécie.

A análise fitoquímica revelou níveis apreciáveis de compostos fenólicos ($6,508 \pm 0,180$ mgEAG/g) para o extracto das folhas e flavonóides ($9,143 \pm 0,202$ mgEQ/g) para o caule, particularmente. Os taninos totais estiveram presentes apenas nas folhas e no caule, o que poderá justificar, em parte, a actividade antioxidante e antimicrobiana observada.

Os extractos exibiram actividade antioxidante variável consoante o método utilizado. O extracto do caule destacou-se no ensaio de poder redutor férrico (FRP) com $IC_{50} = 33,91 \pm 0,83$ μ g/mL, enquanto o extracto da raiz demonstrou melhor desempenho no ensaio DPPH com $IC_{50} = 31,86 \pm 0,92$ μ g/mL, revelando a complexidade e complementaridade dos mecanismos antioxidantes envolvidos. E, por sua vez, as folhas exibiram melhor actividade antioxidante na TAC com valor de $IC_{50} = 27,12 \pm 1,24$ μ g/mL.

Os extractos estudados mostraram uma actividade antimicrobiana eficaz frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, com halos de inibição que atingiram até 27,68 mm. O extracto do caule evidenciou-se pela sua acção antimicrobiana mais pronunciada.

No ensaio de inibição da enzima α -amilase, os extractos da folha e do caule apresentaram IC_{50} de $30,10 \pm 0,92$ μ g/mL e $48,48 \pm 1,54$ μ g/mL, respectivamente. O extracto da raiz mostrou elevada inibição enzimática mesmo nas menores concentrações testadas, sugerindo uma potência superior à da acarbose de referência ($IC_{50} = 63,57 \pm 3,85$ μ g/mL), o que aponta para um potencial antidiabético relevante.

Assim, os dados obtidos sustentam cientificamente o uso tradicional de *Grewia monticola* na medicina popular e evidenciam o seu potencial para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos ou nutracêuticos com propriedades antioxidantes, antimicrobianas e hipoglicemiantes.

8. RECOMENDAÇÕES

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que os extractos de *G. monticola* Sond. constituem excelente fonte de compostos bioactivos com propriedades antioxidantes, antibacterianas e antidiabéticas. Contudo mais estudos são sugeridos como:

- Estudos adicionais de isolamento e identificação de compostos bioactivos.
- Avaliação da toxicidade *in vitro* e *in vivo*.
- Estudos adicionais para determinação das Concentrações inibitória mínima e bacteriostática mínima.
- Ensaio com modelos animais de stress oxidativo, infecção bacteriana e hiperglicemia.
- Formulação e desenvolvimento de produtos fitoterápicos ou nutracêuticos.
- Estudos de estabilidade e conservação dos extractos.
- Investigação sobre possíveis sinergismos entre os extractos das diferentes partes da planta.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aadesariya, M. K., Gauni, B. M., Duggirala, S. M., Ram, V. R., & Vyas, S. J. (2017). Antibacterial activity of *Abutilon pannosum* and *Grewia tenax* leaves extracts. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6(16), 1259-1274. <https://doi.org/10.20959/wjpr201716-10325>
- Acharya, D. S., Tripathi, D. S., & Sharma, D. A. (2024). Exploring the antidiabetic properties of *Grewia tenax* and its role in blood sugar regulation. *International Journal of Progressive Research In Engineering Management And Science*, 4(11), 138-143. <https://doi.org/10.58257/IJPREMS36585>
- Adamu, I. I., Adebayo, S. A., & Al-Shahrani, M. S. (2020). *Grewia mollis* leaf extracts and fractions demonstrated good inhibitory activity on pro-inflammatory enzymes and with lower cytotoxicity in vitro. *Journal of Inflammation Research*, 13, 765-772 <https://doi.org/10.2147/JIR.S271254>
- Aghababaei, F., & Hadidi, M. (2023). Recent advances in potential health benefits of Quercetin: Review. *Pharmaceuticals*, 16(7), 1-31. <https://doi.org/10.3390/ph16071020>
- Ahmed, S. R., Mostafa, E. M., Musa, A., Rateb, E. E., Al-Sanea, M. M., Abu-Baih, D. H., . . . Abdelmohsen, U. R. (2022). Wound healing and antioxidant properties of *Launaea procumbens* supported by metabolomic profiling and molecular docking. *Antioxidants*, 11(11), 1-17. <https://doi.org/10.3390/antiox11112258>
- Akwu, N. A., Naidoo, Y., Singh, M., Lin, J., Aribisala, J. O., Lekhooa, S. S., & Aremu, A. O. (2024). Phytochemistry, antibacterial and antioxidant activities of *Grewia lasiocarpa* E. Mey. Ex Harv. fungal endophytes: A Computational and experimental validation study. *Chemistry and Biodiversity*, 22(5), 1-22. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202402908>
- Akwu, N., Naidoo, Y., Singh, M., Nundkumar, N., & Lin, J. (2019). Phytochemical screening, in vitro evaluation of the antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity

- potentials of *Grewia lasiocarpa* E. Mey. ex Harv. *South African Journal of Botany*, 122, 180-192. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.03.004>
- Ali, D. H., Reshad, R. A., Rahman, M. M., & Miah, D. F. (2023). Antimicrobial resistance: Understanding the mechanism and strategies for prevention and control: Review. *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, 6, 468-482. <https://doi.org/10.5455/jabet.2023.d142>
- Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2019). Natural antioxidants of plant origin. *Advances in Food and Nutrition Research*, 88, 1-81. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.011>
- Araújo, F. F., & Farias, D. F. (2021). Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. *Food Chemistry*, 338, 127535. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127535>
- Arullappan, S., Zakaria, Z., & Basri, D. F. (2009). Preliminary screening of antibacterial activity using crude extracts of *Hibiscus rosa sinensis*. *Tropical Life Sciences Research*, 20(2), 109-118. <https://doi.org/10.21315/tlsr2009.20.2.2>
- Assefa, S. T., Yang, E.-Y., Chae, S.-Y., Song, M., Lee, J., Cho, M.-C., & Jang, S. (2019). Alpha- glucosidase inhibitory activities of plants with focus on Common Vegetables: Review. *Plants*, 9(1), 1002. <https://doi.org/10.3390/plants9010002>
- Asuku, O., Atawodi, S. E., & Onyike, E. (2012). Antioxidant, hepatoprotective, and ameliorative effects of methanolic extract of leaves of *Grewia mollis* Juss. on carbon tetrachloride-treated albino rats. *Journal of Medicinal Food*, 15(2), 111-118. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0285>
- Aziz, M. M., Ashour, A. S., & Melad, A. S. (2019). A review on saponins from medicinal plants: Chemistry, isolation, and determination. *Journal of Nanomedicine Research*, 8(1), 6-12.
- Babaei, F., Moafizad, A., Darvishvand, Z., Mirzababaei, M., Hosseinzadeh, H., & Nassiri-Asl, M. (2020). Review of the effects of vitexin in oxidative stress-related diseases. *Food Science & Nutrition*, 8(5), 2569-2580. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1567>
- Bae, Y. S., Oh, H., Rhee, S. G., & Yoo, Y. D. (2011). Regulation of reactive oxygen species generation in cell signaling. *Molecules and Cells*, 32(6), 491-509. <https://doi.org/10.1007/s10059-011-0276-3>

- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barbehenn, R. V., & Constabel, C. P. (2011). Tannins in plant–herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72(13), 1551-1565. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.040>
- Barbosa, K. B., Costa, N. M., Alfenas, R. d. C.G., Paula, S. O., Minim, V. P., & Bressan, J. (2010). Oxidative stress: Concept, implications and modulating factors. *Revista de Nutrição*, 23(4), 629-643. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>
- Bari, W. U., Zahoor, M., Zeb, A., Khan, I., Nazir, Y., Khan, A., Ullah, R., Majid, H. (2019). Anticholinesterase, antioxidant potentials, and molecular docking studies of isolated bioactive compounds from *Grewia optiva*. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1386-1396. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1650763>
- Belkaid, Y., & Hand, T. W. (2015). Role of the microbiota in Immunity and inflammation. *Cell*, 157(1), 121-141. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Borges, L. P., & Amorim, V. A. (2020). Secondary plant metabolites. *Revista Agrotecnologia*, 11, 54-67.
- Brooks, E. A., Galarza, S., Gencoglu, M. F., Cornelison, R. C., Munson, J. M., & Peyton, S. R. (2019). Applicability of drug response metrics for cancer studies using biomaterials. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5(10), 4837-4849. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0226>
- Brouwer, N., Connuck, H., Dubniczki, H., Gownaris, N., Howard, A., Olmsted, C., Wetzel, D., Whittinghill, K., & Zallek, T. (2025). Ecology For All! LibreTexts. [Bio.libretexts.org](https://bio.libretexts.org)
- Canabady-Rochelle, L. L., Harscoat-Schiavo, C., Kessler, V., Aymes, A., Fournier, F., & Girardet, J.-M. (2015). Determination of reducing power and metal chelating ability of antioxidant peptides: Revisited methods. *Food Chemistry*, 183, 129-135. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.147>

- Chandimali, N., Bak, S. G., Hyun, P. E., Lim, H.-J., Won, Y.-S., Kim, E.-K., & Lee, S. J. (2025). Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: A review. *Cell Death Discovery*, 11(1), 19. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02278-8>
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Razis, A. F., Modu, B., . . . Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases: Review. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1158198. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1158198>
- Chaves, J. O., Souza, M. C., Silva, L. C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., Machado, A. P., . . . Rostagno, M. A. (2020). Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. *Frontiers in Chemistry*, 8, 507887. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.507887>
- Chikkamath, V., Kulkarni, V. H., Habbu, P. V., & Kulkarni, P. V. (2019). *Grewia hirsuta* Vahl Chemical Constituents and Biological Activities. *RGUHS Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(3), 3-10. <https://doi.org/10.5530/rjps.2019.3.1>
- Coin, G., Lekutlane, D., Masisi, K., Muzila, M., & Mazimba, O. (2024). *Grewia flava* twig extracts: phytochemical, antioxidant, and antimicrobial evaluations. *Bulletin of the National - Research Centre*, 48, 2-10. <https://doi.org/10.1186/s42269-024-01234-x>
- Das, A. K., Islam, M. N., Faruk, M. O., Ashaduzzaman, M., & Dunganic, R. (2020). Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*, 135, 101-122. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>
- Davis, C. C., & Choisy, P. (2024). Medicinal plants meet modern biodiversity science: Review. *Current Biology*, 34(4), R158-R173. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.12.038>
- Dean, L. L. (2020). Extracts of *Peanut skins* as a source of bioactive compounds: Methodology and applications: *Applied sciences*, 10(23) 8546. <https://doi.org/10.3390/app10238546>
- Dettlaff, M. A., Marshall, V., Erbilgin, N., & Jr, J. F. (2018). Root condensed tannins vary over time, but are unrelated to leaf tannins. *AOB Plants*, 10(2), ply044 <https://doi.org/10.1093/aobpla/ply044>

- Dev, R., Kannan, V., Kumar, M. S., Dayal, D., & Patel, R. (2019). *Grewia* species: Diversity, distribution, traditional knowledge and Utilization. In M. K. Siddiqui (Ed), *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products*, (pp.395-426). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31885-7_31
- Dharmasoth, R. D., Rao, B. G., Nageswara, S., & Basavaiah, K. (2022). Investigation of antibacterial activity of methanolic extract and isolation of sterol and triterpenoids from *Grewia Tiliaefolia* Vahl Leaf. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 14(4), 34-40. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2022v14i4.44105>
- Dornas, W. C., Oliveira, T. T., Dores, R. G., Fabres, M. H., & Nagem, T. J. (2009). Antidiabetic effects of the medicinal plants: Review. *Revista Brasileira de farmacognosia*, 19(2B) 488-500. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000300024>
- Duarte, A. F., Hirota, B. C., Oliveira, V. B., Campos, R., Murakami, F. S., Miguel, M. D., & Miguel, O. G. (2015). Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do extracto etanólico bruto e fracções orgânicas obtidas a partir da casca do caule da espécie *Guettarda uruguensis* Cham. & Schtdl. (Rubiaceae). *Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 35(4), 607-614.
- Elhassan, G. M., & Yagi, S. (2010). Nutritional composition of *Grewia* Species (*Grewia tenax* (Forsk.) Fiori *G. flavescens* Juss and *G. Villosa* Willd) Fruits . *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2(3) 159-162.
- Ezeonu, C. S., & Ejikeme, C. M. (2016). Qualitative and quantitative determination of phytochemical contents of indigenous Nigerian softwoods. *New Journal of Science*, 2016, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2016/5601327o>
- Fadimatou, A., Momeni, J., Hacene, F. B., Yanawa, S. S., Faissam, L. S., & Ghalem, S. (2021). Phytochemical screening, antioxidant, anti-inflammatory, and antiplasmodial activities of Leaf Extracts of *Grewia Bicolor*. *International Journal of Plant Research* 11(2), 1-7. <https://doi.org/10.5923/j.plant.20211102.01>
- Faria, R. R., Siqueira, S. F., Haddad, F. A., Silva, G. D., Spaggiari, C. V., & Filho, M. M. (2023). The six pillars of lifestyle medicine in managing non communicable diseases – the gaps in current guidelines: Arquivos. *Sociedade Brasileira de*

- Cardiologia*, 120(4), e20230408. <https://doi.org/10.36660/abc.20230408>
- Farias, S. L., Costa, L. G., Calili, R. F., Rios, R. M., & Oliveira, E. C. (2015). Metrological evaluation of the analytical curve for determination of very low concentrations of sulphur content in diesel oil S-10. *Química. Nova*, 38(10), 852-858. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150071>
- Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N., & Skripnik, L. (2019). Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. And *Rumex obtusifolius* L. At different growth stages. *Antioxidants*, 8(7), 237. <https://doi.org/10.3390/antiox8070237>
- Ferreira, A. L., & Matsubara, L. S.(1997). Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista Associação Médica Brasileira*, 43(1), 61-68. <https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>
- Ferrão, E. J., & Janeque, E. A. (2024). Bioactive potentialities of *Grewia flavescens* root extract in the treatment of alcohol dependence: Preliminary phytochemical study. *Medire*, 2(1), 1-9. <https://doi.org/10.58489/2836-2322/025>
- Fonseca, M., Rehman, M., Soares, R., & Fonte, P. (2023). The impact of flavonoid-loaded nanoparticles in the uv protection and safety profile of topical sunscreens. *biomolecules*, 13(3), 1-32. <https://doi.org/10.3390/biom13030493>
- F.Y, S., Vejjayan, J., Jamuna, A., & Ambu, S. (2011). Efficacy of tannins from mimosa pudica and tannic acid in neutralizing cobra (naja kaouthia) venom. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 17(1), 42-48. <https://doi.org/10.1590/S1678-91992011000100007>
- Gulcin, I., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *processes*, 11(8), 2248 <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Gwatidzo, L., Domba, P., & Mangena, M. (2018). TLC separation and antioxidant activity of flavonoids from *Carissa bispinosa*, *Ficus sycomorus*, and *Grewia bicolor* fruits. *Nutrire*, 43, 7. <https://doi.org/10.1186/s41110-018-0062-5>
- Harborne, J. B. (1999). Classes and functions of secondary products from plants. In N. J. Walton & D. E. Brown (Eds), *Chemicals from plants: Perspectives on secondary products* (pp. 1-25). Imperial College Press.

- Heras, B. de las, & Hortelano, S. (2009). Molecular basis of the anti-inflammatory effects of terpenoids. *Inflammation & Allergy - Drug Targets*, 8(1), 28-39. <https://doi.org/10.2174/187153009787582298>
- Irakli, M., Skendi, A., Bouloumpasi, E., Christaki, S., Biliaderis, C. G., & Chatzopoulou, P. (2023). Sustainable recovery of phenolic compounds from distilled rosemary by-product using green extraction methods: Optimization, comparison, and antioxidant activity. *Molecules*. 28(18), 6669. <https://doi.org/10.3390/molecules28186669>
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 42, 39. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Jamloki, A., Bhattacharyya, M., Nautiyal, M., & Patni, B. (2021). Elucidating the relevance of high temperature and elevated CO₂ in the production of plant secondary metabolites (PSMs). *Heliyon*, 7, e07709. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07709>
- Jan, R., Khan, M., Asaf, S., Lubna, Asif, S., & Kim, K.-M. (2022). Bioactivity and therapeutic potential of kaempferol and quercetin: New insights for plant and human health - Review. *Plants*, 11(19), 2623. <https://doi.org/10.3390/plants11192623>
- Kaur, S., Shams, R., Dash, K. K., Pandey, V. K., Shaikh, A. M., & Kovács, B. (2024). Phytochemical and pharmacological characteristics of phalsa (*Grewia asiatica* L.): A comprehensive review. *Heliyon*, 10(2), e25046. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25046>
- Khanal, D. P., Raut, B., & Kafle, M. (2016). A comparative study on phytochemical and biological activities of two *Grewia* species. *JMMIHS*, 2, 53-60. <https://doi.org/10.3126/jmmihs.v2i0.15797>
- Khanbabaee, K., & van Ree, T. (2001). Tannins: Classification and Definition. In *The Royal Society of Chemistry* (pp. 641-649). <https://doi.org/10.1039/b101061l>
- Kinjal, H. S. (2019). Estimation of total tannins, total phenolics and total flavonoids of different extracts of *Grewia asiatica* Linn. leaves and fruits. *International Journal of Medical Science and Clinical Invention*, 6(10), 4655-4658. <https://doi.org/10.18535/ijmsci/v6i10.09>

- Kocabas, A. (2017). Ease of phytochemical extraction and analysis from plants: Review. *Anatolian Journal of Botany*, 1(1), 26-31. <https://doi.org/10.30616/ajb.345430>
- Kohi, E. M., Boer, W. F., Slot, M., Wieren, S. E., Ferwerda, J. G., Grant, R. C., . . . Prins, H. H. (2009). Effects of simulated browsing on growth and leaf chemical properties in *Colophospermum mopane* saplings. *Africa Journal Ecology*. 47(2), 190-196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2028.2008.00979.x>
- Koley, T. K., Khan, Z., Oulkar, D., & Singh, B. (2019). Profiling of polyphenols in phalsa (*Grewia asiatica* L) fruits based on liquid chromatography high resolution mass spectrometry. *Journal of Food Science and Technology*, 56(10), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04092-y>
- Kumar, S., Singh, B., & Bajpai, V. (2022). Traditional uses, phytochemistry, quality control and biological activities of genus *Grewia*. *Phytomedicine Plus*, 2(3), 100290 <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100290>
- Kwon, Y.-I., Apostolidis, E., & Shetty, K. (2008). Inhibitory potential of wine and tea against α -amylase and α -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes. *Journal of Food Biochemistry*, 32(1), 15-31. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2007.00165.x>
- Lamola, S. M., Dzoyem, J. P., Botha, F., & Wyk, C. v. (2017). Anti-bacterial, free radical scavenging activity and cytotoxicity of acetone extracts of *Grewia flava*. *African Health Sciences*, 17(3), 790-796. <https://doi.org/10.4314/ahs.v17i3.22>
- Lawag, I. L., Nolden, E. S., Schaper, A. A., Lim, L. Y., & Locher, C. (2023). A modified Folin-Ciocalteu assay for the determination of total phenolics content in honey. *applied sciences*, 13(14), 1-17. <https://doi.org/10.3390/app13042135>
- Li, S., Xia, J., Sun, L., Li, Z., Shen, Q., Yang, F., Zang, W., Chen, J., & Bai, Y. (2024). Effects of UV-A/B/C on flavonoids and related synthetic enzymes in *Tetrastigma hemsleyanum*. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1-9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1477280>
- Long, C. (2005). Swaziland's Flora - siSwati Names and uses. Swaziland National Trust Commission. <http://www.sntc.org.sz/flora/chrislong.asp>.

- Ludwiczuk, A., Skalicka-Wozniak, K., & Georgiev, M. I. (2017). Terpenoids. In S. Badal & R. Delgado (Eds.), *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and strategies* (pp. 233-266). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00011-1>
- Mirsha, S., & Sharma, U. (2022). Phytochemical composition, pharmacological properties, and therapeutic activities of genus: *Grewia*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 11(4), 263-271. <https://doi.org/10.22271/phyto.2022.v11.i4d.14470>
- Mahomed, A. E., Karrar, M. A., Salih, A. E., Bashir, A. K., Ali, M. B., & Khalid, S. A. (1990). Pharmacological Activities of *Grewia bicolor* roots. *Journal of Ethnopharmacological*, 39(2), 285-292. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(90\)90079-9](https://doi.org/10.1016/0378-8741(90)90079-9)
- Makkar, H. P. S., Blümmel, M., Borowy, N. K., & Becker, K. (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(2), 161–165. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610205>
- Maroyi, A. (2013). Traditional use of medicinal plants in south-central Zimbabwe: Review and perspectives. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9, 3. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-3>
- Martins, M. E. (2014). Coeficiente de correlação amostral. *Revista de Ciência Elementar*, 2(1), 1-4. <https://doi.org/10.24927/rce2014.042>
- Masisi, K., Masamba, R., Lashani, K., Li, C., Kwapu, T. E., & Gaobotse, G. (2021). Antioxidant, cytotoxicity and cytoprotective potential of extracts of *Grewia flava* and *Grewia bicolor* berries. *KPI Journal*, 24(1), 24. <https://doi.org/10.3831/KPI.2021.24.1.24>
- Mehmood, A., Ishaq, M., Usman, M., Zhao, L., Ullah, A., & Wang, C. (2020). Nutraceutical perspectives and value addition of phalsa (*Grewia asiatica* L.): A review. *Journal of Food Biochemistry*, 43, e13228. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13228>
- Meo, S. D., & Venditti, P. (2020). Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants: Review article. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 9829176. <https://doi.org/10.1155/2020/9829176>

- Michala, A.-S., & Pritsa, A. (2022). Quercetin: A molecule of great biochemical and clinical value and its beneficial effect on diabetes and cancer. *diseases*, 10(3), 37. <https://doi.org/10.3390/diseases10030037>
- Michalak, M. (2022). Antioxidants of plant origin: importance in skin health and in the aging process. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(20), 20585. <https://doi.org/10.3390/ijms23020585>
- Miera, B. S., Cañadas, R., González-Miquel, M., & González, E. J. (2023). Recovery of phenolic compounds from orange peel waste by conventional and assisted extraction techniques using sustainable solvents. *Frontiers in Bioscience Elite*. 15(4), 030. <https://doi.org/10.31083/j.fbe1504030>
- Mishra, A., Kumar, S., Bhargava, A., Sharma, B., & Pandey, A. K. (2011). Studies on *in vitro* antioxidant and antistaphylococcal activities of some important medicinal plants. *Cellular & Molecular Biology*. 57(2), 1213-1218. <https://doi.org/10.1170/T897>
- Mitić, S., Stojanović, B., Stojković, M., Mitić, M., & Pavlović, J. (2013). Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of different apple cultivars. *Bulgarian Chemical Communications*, 45(3), 326-331.
- Mizzi, L., Chatzitzika, C., Gatt, R., & Valdramidis, V. (2020). HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids with overlapping peaks. *Food Technology and Biotechnology*, 58(1), 12-19. <https://doi.org/10.17113/ftb.58.01.20.6395>
- Mohamed, S. (2014). Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovascular disease- Review. *Trends in Food Science & Technology*, 35(2), 114-128. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.11.001>
- Mongalo, N. I., McGaw, L. J., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2022). Isolation and characterization of antimicrobial and anti-inflammatory triterpenoids from the acetone extract of *Grewia flava* DC. (*Malvaceae*) roots. *South African Journal of Botany*, 149, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.048>
- Monteiro, J. M., Albuquerque, U. P., & Araújo, E. L. (2005). Taninos: Uma Abordagem da Química à Ecologia. *Química Nova*, 28, 892-896. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029>

- Moreira, I. C., Roque, N. F., Contini, K., & Lago, J. H. (2007). Sesquiterpenos e hidrocarbonetos dos frutos de *Xylopia emarginata* (Annonaceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 17(3), 55-58. <https://doi.org/101590/S0102-695X2007000300011>
- Mudau, H. S., Mokoboki, H. K., Ravhuhali, K. E., & Mkhize, Z. (2022). Effect of soil type: Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals in some browse species leaves found in savannah biome of South Africa. *Molecules*. 27(5), 1462. <https://doi.org/10.3390/molecules27051462>
- Mueller-Harvey, I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health: Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2010-2037. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2577>
- Nasrin, M., Dash, P. R., & Ali, M. S. (2015). *In vitro* antibacterial and *in vivo* cytotoxic activities of *Grewia paniculata*. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5(2), 98-104.
- Ndhkala, A. R., Moyo, M., & Staden, J. V. (2010). Natural antioxidants: Fascinating or mythical biomolecules? *Molecules* 15(10), 6905-6930. <https://doi.org/10.3390/molecules15106905>
- Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*. 66(17), 2012-2031. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.04.023>.
- Oleszek, W. (2002). Chromatographic determination of plant saponins: Review. *Journal of Chromatography A*, 967(2), 147-162. <https://doi.org/10.1016/S00219673%2802%2900619-3>
- Pillai, M. K., Sibongalitsembe Simiselweyinkhosi, N., & Thwala, J. M. (2025). Antioxidant potential of extracts from *Grewia bicolor* : A traditional Swazi medicinal plant. *Plant Biotechnology Persa*, 7(4), 74-88. <https://doi.org/10.61186/pbp.7.4.11>
- Platzer, M., Kiese, S., Tybussek, T., Herfellner, T., Schneider, F., Schweiggert-Weisz, U., & Eisner, P. (2022). Radical scavenging mechanisms of phenolic compounds: a quantitative structure-property relationship (QSPR) study. *Frontiers in Nutrition*, 9, 882458. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.882458>

- Pramodini, D. G., Rafiq, D. M., Ahmed, S. H., Khasim, D. S., & Goud, C. M. (2021). *In vitro* antioxidant activity of ethanolic extract of *Grewia flavescens* whole plant extract. *Indo American Journal Of Pharmaceutical Science*. 2021.<https://doi.org/10.5281/zenodo.5482870>
- Prathyusha, T. N., Panchakshari, V., Guravaiah, M., Sridevi, N., & Sekaran, C. B. (2013). Studies on Phytochemical and antibacterial activity of methanol, ethanol and acetone extracts of *Grewia orientalis* leaves. *International Journal of Phytomedicine*, 5(2), 211-216.
- Prevedello, M. T., & Comachio, G. (2021). Antioxidants and their relationship with free radicals and chronic non communicable Diseases: A literature review. *Brazilian Journal of Development*, 7(6), 55244-55283. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-096>
- Pundlik, S. P. (2021). The phytochemical determination from leaf samples of two *Grewia* species. *Journal of Scientific Research*, 65(7), 87-89. <https://doi.org/10.37398/JSR.2021.650718>
- Pękal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*. 7(8), 1776-1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>.
- Qamar, M., Akhtar, S., Ismail, T., Wahid, M., Barnard, R. T., Esatbeyoglu, T., & Ziora, Z. M. (2021). The chemical composition and health-promoting effects of the *Grewia* species—A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 13(12), 4565. <https://doi.org/10.3390/nu13124565>
- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors: Review. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 219-236. <https://doi.org/10.2147/ciia.s12159903>
- Rana, Z. H., Alam, M. K., & Akhtaruzzaman, M. (2019). Nutritional composition, total phenolic content, antioxidant and α -amylase inhibitory activities of different fractions of selected wild edible plants. *Antioxidants*, 8(7), 203. <https://doi.org/10.3390/antiox8070203>
- Ranjha, M. M., A. N., Ashraf, S., Khawar, L., Safdar, M. N., & Jabbar, S. (2020). Extraction of polyphenols from apple and pomegranate peels employing different extraction techniques for the development of functional date bars. *International*

- Journal of Fruit Science*, 20(4), 1201-1221.
<https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1782804>
- Ravikumar, B. S., Rekha, N. D., & Ravikiran, S. (2020). Phytochemical analysis of methanolic leaves extract of *Grewia flavescens* and their biological activity. *Journal of Advanced Scientific Research*, 11(4), 52-57.
<https://sciensage.info/index.php/JASR/article/view/1644>
- Rawat, A., & Narain, S. (2018). Taxonomy, cultivation, phytochemistry and traditional use of *Grewia L. (Tiliaceae)*. *Environment and Ecology*, 36(4), 975-988.
- Razmavar, S., Abdulla, M. A., Ismail, S. B., & Hassandarvish, P. (2014). Antibacterial activity of leaf extracts of *Baeckea frutescens* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *BioMed research International*, 2014(1), 521287.
<https://doi.org/10.1155/2014/521287>
- Rehman, J., Khan, I. U., & Asghar, M. N. (2013). Antioxidant activity and GC-MS analysis of *Grewia optiva*. *E3 Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research*, 4(2), 14-21.
- Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic compounds. In E. M. Yahia (ED.), *postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables*, (pp. 253-271). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>
- Rusciano, D., & Bagnoli, P. (2024). Oxigênio, o paradoxo da vida e o olho: Review. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 29(1), 319.
<https://doi.org/10.31083/j.fbl2909319>
- Sadeer, N. B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations: Review. *Antioxidants*, 9(8), 709.
<https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
- Saeed, N., Khan, M. R., & Shabbir, M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant of extracts *Torilis leptophylla L.* *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 12, 221.
<https://doi.org/http://www.biomedcentral.com/1472-6882/12/221>

- Salam, R., & Rafe, R. (2020). *In vitro* antioxidant study and determination of flavonoids, flavonols, total phenolic and proanthocyanidins content of *Grewia abutilifolia* leaf extracts. *Phytothérapie*, 18(3), 140-147. <https://doi.org/10.3166/phyto-2018-0102>
- Salamah, N., & Farahana, L. (2014). Antioxidant activity assay of ethanolic extract of *Centella Asiatica* (L.). Urb herb using phosphomolybdate method. *Pharmacia*, 11(1), 1-6. <https://doi.org/10.14499/pharmacia.v11i1.349>
- Sati, N. M., & Ahmed, F. A. (2018). Botanical overview and chemical composition of some *Grewia* spp. “Gudeim plant” in Sudan. *Open Science Journal*, 3(2), 1-12. <https://doi.org/10.23954/osp.v3i2.1591>
- Sebaugh, J. L. (2011). Guidelines for accurate EC₅₀/IC₅₀ estimation. *Pharmaceutical Statistics*, 9(2), 128–134. <https://doi.org/10.1002/pst.426>
- Seraglio, S. K., Schulz, M., Nehring, P., Betta, F. D., Valese, A. C., Gonzaga, L. V., Vitali, L., Costa, A. C. O. (2018). Determinação de compostos fenólicos por LC-MS/MS e capacidade antioxidante de acerola em três estádios de maturação comestíveis. *Revista CSBEA*. 4(2), 96-103. <https://doi.org/10.5965/24473650412018096>
- Shagal, M. H., Kubmarawa, D., & Idi, Z. (2012). Phytochemical screening and antimicrobial activity of roots, stem-bark and leave extracts of *Grewia mollis*. *African Journal of Biotechnology*, 11(97), 11350-11353. <https://doi.org/10.5897/AJB11.3938>
- Shahidi, F., & Zhongb, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757-781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Sheel, R., Nisha, K., & Kumar, J. (2014). Preliminary phytochemical screening of methanolic extract of *Clerodendron infortunatum*. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 7(1), 10-13. <https://doi.org/10.9790/5736-07121013>
- Shomali, A., Das, S., Arif, N., Sarraf, M., Zahra, N., Yadav, V., . . . Hasanuzzaman, M. (2022). Diverse physiological roles of flavonoids in plant environmental stress responses and tolerance. *Plants*, 5(2), 29-32. <https://doi.org/10.3390/plants11223158>
- Silva, G. O., Abeyesundara, A. T., & Aponso, M. M. (2017). Extraction methods, qualitative and quantitative techniques for screening of phytochemicals from plants. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 5(2), 29-32.

- Singh, P. A., Kim, J. Y., & Lee, Y. S. (2022). Phenolic compounds in active packaging and edible films/coatings: natural bioactive molecules and novel packaging ingredients. *Molecules*, 27(21), 7513. <https://doi.org/10.3390/molecules27217513>
- Singh, S., & Yadav, A. K. (2014). Evaluation of immunomodulatory activity of *Grewia asiatica* in laboratory animals. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(6), 2820-2826.
- Sousa, C. M., Silva, H. R., Vieira-Júnior, G. M., Ayres, M. C., Costa, C. S., Araújo, D. S., . . . Chaves, M. H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quimica Nova*, 30(2), 351-355. <https://doi.org/10.1590/S010040422007000200021>
- Still, P., González-Cestari, T., Pan, L., Chai, H., Fuchs, J., Ninh, T. N., . . . Kinghorn, A. (2012). Alkaloids from *Grewia paniculata* with cytotoxic and non-competitive nicotinic receptor antagonistic activities. *Planta Medica*, 78(4), 309-312. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1320246>
- Sultana, S., Lawag, I. L., Lim, L. Y., Foster, K. J., & Locher, C. (2024). A critical exploration of the total flavonoid content assay for honey. *methods and protocols*, 7(6), 1-17. <https://doi.org/10.3390/mps7060095>
- Sun, W., & Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic potential of phenolic compounds in medicinal plants—natural health products for human health. *Molecules*, 28(4), 2-43. <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>
- Swain, S., Bej, S., Mandlata, C. P., Bishoyi, A. K., Sahoo, C. R., & Padhy, R. N. (2023). Recent progress on phytochemistry and pharmacological activities of *Grewia asiatica* L. (Tiliaceae) and traditional uses. *South African Journal of Botany*, 155, 274-287. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.02.016>
- Tairo, V. E. (2021). Comparison of nutritional and anti-nutritional qualities of *Grewia forbesii* Hav. ex Mast. and *Grewia bicolor* Juss. Fruits from Kitapilimwa Forest Reserve in Iringa District. *Tanzania Journal of Science*, 47(4), 1436-1441. <https://doi.org/10.4314/tjs.v47i4.9>
- Talpur, M. K., Talpur, F. N., Balouch, A., Nizamani, S. M., Surhio, M. A., Shah, M. R., . . . & Afridi, H. I. (2017). Analysis and characterization of anthocyanin from phalsa

- (*Grewia asiatica*). *Journal of Food Processing & Technology*, 5(3), 299-305.
<https://doi.org/10.15406/mojfpt.2017.05.00127>
- Tarasevičienė, Ž., Vitkauskaitė, M., Paulauskienė, A., & Černiauskienė, J. (2023). Wild stinging nettle (*Urtica dioica* L.) Leaves and roots chemical composition and phenols extraction. *Plants*, 12(2), 1-13. <https://doi.org/10.3390/plants12020309>
- The Green Institute. (29 de August de 2023). *Grewia flavescens*. Obtido de *Grewia flavescens*. <https://thegreeninstitute.org>
- Turatbekova, A., Babamuradova, L., Tasheva, U., Saparbaeva, N., Saibnazorava, G., Turayeva, M., & Yakubov, Y. (2023). A brief review on biological and chemical activities of flavonoids in plants. *E3S Web of Conferences*, 434, 03026 <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202343403026>
- Ullah, W., Gul, G. U., & Siddiqui, B. S. (2012). Ethnic uses, pharmacological and phytochemical profile of genus *Grewia*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 14(3), 185-195. <https://doi.org/10.1080/10286020.2011.639764>
- Valle, J. C., Buide, M. L., Whittall, J. B., Valladares, F., & Narbona, E. (2020). UV radiation increases phenolic compound protection but decreases reproduction in *Silene littorea*. *PLOS ONE*, 15(5), e0231611. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231611>
- Vincken, J.-P., Heng, L., de Groot, A., & Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68(3), 275-297. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.10.008>
- War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H. C. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant signaling & behavior*, 7(10), 1306-1320. <https://doi.org/10.4161/psb.21663>
- Wibowo, D. A., Nailufar, F., & Tjandrawinata, R. R. (2021). Antidiarrheal effect of dlbs1y62, a bioactive fraction of *Uncaria gambir* roxb. dried sap extract, in wistar rats. *Journal of Experimental Pharmacology*, 2021(13), 669-675. <https://doi.org/10.2147/JEP.S299001>
- Wilhelmy, C., Pavez, C., Bordeu, E., & Brossard, N. (2020). A review of tannin determination methods using spectrophotometric detection in red wines and their

- ability to predict astringency. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 42(1), 1-9. <https://doi.org/10.21548/42-1-3852>
- Yan, J., Zeng, H., Chen, W., Zheng, S., Luo, J., Jiang, H., . . . Wu, J. (2023). Effects of tree age on flavonoids and antioxidant activity in *Torreya grandis* nuts via integrated metabolome and transcriptome analyses. *Food Frontiers*, 4(2), 358-367. <https://doi.org/10.1002/fft2.211>
- Yang, D., Wang, T., Long, M., & Li, P. (2020). Quercetin: its main pharmacological activity and potential application in clinical medicine. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 8825387. <https://doi.org/10.1155/2020/8825387>
- Yin, X., Chen, K., Cheng, H., Chen, X., Feng, S., Song, Y., & Liang, L. (2022). Chemical stability of ascorbic acid integrated into commercial products: Review on bioactivity and delivery technology. *Antioxidants*, 11(1), 153. <https://doi.org/10.3390/antiox11010153>
- Zagoskina, N. V., Zubova, M. Y., Nechaeva, T. L., Kazantseva, V. V., Goncharuk, E. A., Katanskaya, V. M., . . . Aksenova, M. A. (2023). Polyphenols in plants: Structure, biosynthesis, abiotic stress regulation, and practical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 138. <https://doi.org/10.3390/ijms241813874>
- Zahoor, M., Bari, W. U., Zeb, A., & Khan, I. (2020). Toxicological, anticholinesterase, antilipidemic antidiabetic and antioxidant potentials of *Grewia optiva* Drummond ex Burret extracts. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 31(6), 20190220. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2019-0220>
- Zehiroglu, C., & Sarikaya, S. B. (2019). The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 4757- 4774. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03952-x>
- Zia-Ul-Haq, M., Stanković, M. S., Rizwan, K., & Feo, V. D. (2013). *Grewia asiatica* L., a food plant with multiple uses. *Molecules*, 18(3), 2663-2682. <https://doi.org/10.3390/molecules18032663>
- Ćorković, I., Gašo-Sokač, D., Pichler, A., Šimunović, J., & Kopjar, M. (2022). Dietary polyphenols as natural inhibitors of α -amylase and α -glucosidase. *Life*, 12(11), 1692. <https://doi.org/10.3390/life12111692>