

VARIAÇÃO SAZONAL DOS CONSTITUINTES FENÓLICOS DE *LEONOTIS NEPETIFOLIA*

Vitor H. Miguês.

Departamento de Ciências e Tecnologias I, R. Silveira Martins, 2555 - Cabula, Salvador - BA, 41150-000.
vhmiguês@gmail.com

Palavras-Chave: compostos fenólicos, quimiometria, fitoquímica

Introdução

Leonotis nepetifolia, popularmente conhecida como "cordão-de-frade" ou "mari-mari", é uma planta da família Lamiaceae amplamente utilizada em diversas culturas devido às suas propriedades medicinais. Nativa de regiões tropicais da África e Ásia, essa espécie tem sido tradicionalmente empregada na medicina popular por suas propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antipiréticas e antidiabéticas (AHMAD et al., 2017). Além disso, seu uso no tratamento de infecções respiratórias, malária e dores musculares tem sido documentado ao longo de várias gerações (PRAVEEN et al., 2013).

A importância de *L. nepetifolia* também reside em seu potencial bioativo. Estudos recentes têm destacado sua atividade antioxidante, antibacteriana e antifúngica, evidenciando o papel dessa planta como uma fonte promissora de compostos bioativos naturais (KUMAR et al., 2018). Extratos de suas folhas e flores contêm flavonoides, terpenoides e alcaloides que, além de contribuírem para suas propriedades medicinais, oferecem uma base sólida para o desenvolvimento de novos fitoterápicos (KOTANI et al., 2020).

Apesar do seu uso disseminado e das evidências iniciais de suas propriedades terapêuticas, muitos dos mecanismos de ação dos compostos de *Leonotis nepetifolia* ainda não são completamente compreendidos, o que torna necessário um aprofundamento nos estudos científicos sobre a planta. Esse contexto reforça a relevância de explorar o potencial medicinal de *L. nepetifolia*, tanto para validar seu uso na medicina tradicional quanto para ampliar seu espectro de aplicações farmacêuticas (SINGH et al., 2016).

A caracterização fitoquímica realizada com espécimes coletados na Índia revelou a presença de carboidratos, aminoácidos, proteínas, além de diversos metabólitos secundários tais como: óleos fixos, óleos voláteis, terpenoides, saponinas, flavonoides, fitoesteróis e alcaloides.¹³Muitas das propriedades medicinais apresentadas pela espécie *L. nepetifolia* e demais espécies medicinais estão vinculadas aos metabólitos secundários. Sabe-se, ainda, que esta classe de compostos possui uma biossíntese altamente complexa e sujeita a alterações qualitativas e quantitativas na sua produção em função de variáveis como temperatura, grau de exposição solar, estresse hídrico, escassez de nutrientes, ataque de insetos e poluição.¹⁴Tendo em vista a variabilidade de fatores que modificam a produção de metabólitos secundários em espécies vegetais e a correlação direta destes com as propriedades medicinais faz-se necessária a realização de estudos que investiguem o impacto provocado pelo ambiente de cultivo sobre atividades biológicas de plantas medicinais. Desta forma, este trabalho teve por objetivo avaliar a variação sazonal dos compostos fenólicos presentes na espécie cultivadas no estado da Bahia.

Material e Métodos

Preparo de extratos

Foram coletadas amostras de folhas *Leonotis nepetifolia* em Senhor do Bonfim/Ba no período de Janeiro a dezembro de 2023 e foram trazidas para Salvador/Ba e tratadas na Universidade do Estado da Bahia, onde foram secadas em estufa com circulação de ar a 40 °C por 48 horas. Logo após, as amostras foram fragmentadas em moinho de facas. O material foi submetido ao processo de maceração, em frascos de vidro de boca larga com 1000 mL, utilizando etanol:água (7:3) como solvente extrator. Os extratos permaneceram em maceração por sete dias, com agitação diária. Finalizando o período de extração, foram filtrados através de gaze e papel filtro e concentrados em rotaevapor (Laborota 4000 eco) para redução de volume. Os extratos foram transferidos para recipientes limpos e identificados. Em seguida, as amostras foram secas a temperatura ambiente.

Ensaio colorimétricos

O conteúdo fenólico total dos extratos foi determinado usando FeCl_3 de acordo com a adaptação de Mole e Waterman (1987) do método de Hagerman e Butler (1978). Os taninos hidrolisáveis foram quantificados usando KIO_3 (1998) e medidos pelo ensaio de precipitação de proteínas envolvendo albumina sérica bovina (1998). O conteúdo de flavonóides totais foi determinado por uma modificação do método da Pharmacopoeia Helvetica (1998). Nos quatro métodos, todas as amostras foram analisadas em triplicata e as curvas padrão foram construídas com ácido tânico (Merck) para fenólicos totais, taninos hidrolisáveis e ensaio de precipitação de proteínas. Rutina (Sigma-Aldrich) foi usada para preparar a curva padrão para quantificação total de flavonóides.

Análise estatística

A análise de componentes principais (PCA) e a análise de cluster (HCA) foram feitas usando o pacote de software Origin para estudar a interação entre dados climáticos e conteúdo de polifenóis. A técnica de ligação completa do vizinho mais próximo pelo algoritmo de Benzécri (1980) foi usada como índice de similaridade. O agrupamento hierárquico foi realizado de acordo com o método de minimização de variância de Ward (1963). Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

Resultados e Discussão

A região de estudo está situada em zona de transição climática, caracterizada pelos tipos semiárido, na sua parte leste, e seco a sub-úmido na área oeste, onde é atravessado pela serra da Jacobina. Apresenta uma temperatura média anual de 23,3°C, oscilando entre a máxima de 28,3°C e mínima de 19,2 °C. A totalidade do território municipal está inserida no Polígono das Secas e o nível de precipitação pluviométrica é baixo, com média de 550 mm ao ano [19].

Ainda, segundo Machado [19] as condições climáticas do município de Senhor do Bonfim influenciam diretamente as características da vegetação. Assim, juntamente com a Caatinga arbórea aberta das áreas mais baixas de clima semiárido, aparece a floresta estacional nas zonas serranas de clima sub-úmido, com grande variedade de espécies vegetais.

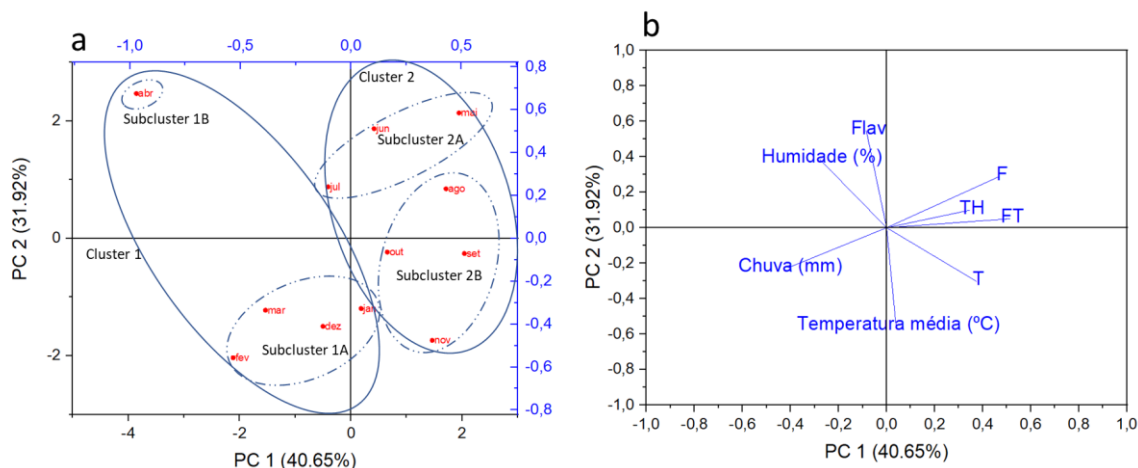
Os resultados da quantificação dos metabólicos e dados climáticos (precipitação, umidade, temperatura média) (INMET) [23] são mostrados na TABELA 1.

TABELA 1: Concentração de fenólicos totais (FT), taninos (T), fenóis (F), taninos hidrolisáveis (TH) e flavonoides (Flav), em mg g de matéria seca (\pm desvio padrão), das folhas de *L. nepetifolia* e dados climáticos

Mês	FT	T	F	TH	Flav	Chuva (mm)	Humidade (%)	Temperatura média (°C)
jan/18	85,73 \pm 2,31	50,60 \pm 0,20	35,13	97,52 \pm 2,36	18,12 \pm 0,65	100	66	30
fev/18	75,80 \pm 1,31	43,20 \pm 0,69	35,3	82,45 \pm 2,13	17,45 \pm 1,02	120	73	30
mar/18	88,77 \pm 1,20	48,15 \pm 1,23	40,62	88,01 \pm 1,25	18,22 \pm 0,89	110	60	28
abr/18	90,17 \pm 2,76	49,36 \pm 0,69	40,81	88,45 \pm 2,36	21,05 \pm 1,25	90	89	26
mai/18	79,60 \pm 0,61	52,15 \pm 0,48	27,45	95,45 \pm 1,56	20,12 \pm 0,96	70	76	26
jun/18	86,37 \pm 1,04	49,35 \pm 1,45	37,02	97,66 \pm 2,89	19,15 \pm 1,33	60	88	25
jul/18	75,27 \pm 0,15	51,12 \pm 1,23	24,15	97,96 \pm 3,25	18,25 \pm 2,35	50	75	27
ago/18	82,93 \pm 1,16	48,96 \pm 0,99	33,97	95,12 \pm 2,24	19,01 \pm 0,45	33	60	27
set/18	76,23 \pm 0,78	49,45 \pm 0,78	26,78	94,15 \pm 2,36	18,78 \pm 0,89	33	55	29
out/18	75,30 \pm 1,04	51,26 \pm 0,46	24,04	96,45 \pm 2,36	18,99 \pm 1,27	39	54	30
nov/18	63,60 \pm 0,69	50,12 \pm 0,39	33,48	96,45 \pm 1,36	17,62 \pm 0,23	50	61	31
dez/18	89,75 \pm 1,45	49,88 \pm 0,76	39,87	99,45 \pm 2,45	18,24 \pm 0,94	83	67	32

As análises de PCA e HCA pelo método de Ward (12 amostras x 8 variáveis = 96 dados) revelaram uma alta variabilidade química ao longo de meses. Para avaliar a contribuição relativa de cada componente na variabilidade total dos dados, uma explicação foi a discriminação dos autovalores, onde apenas PCs com autovalores maiores que 1 são considerados importantes. Assim, dois PCs são significativos para explicar a variabilidade dos dados e, juntos, representam 72,57% da variabilidade dos dados. A FIGURA 1 mostra a posição relativa dos meses de amostragem no espaço discriminante em relação a um sistema diaxial originado no PCA.

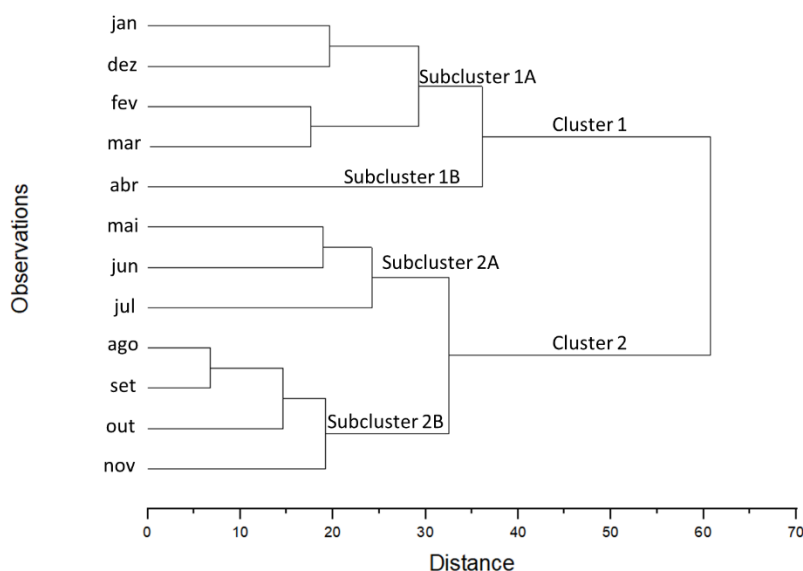
Figura 1. Gráfico de dispersão do componente principal dos meses de amostragem para *L. nepetifolia* durante o período seco (cluster 2) e chuvoso (Cluster 1) épocas às quais os subagrupamentos. Em (a) diagrama de dispersão e em (b) gráfico de loadings.



A interpretação da PCA é frequentemente realizada por análise gráfica das pontuações (associadas aos objetos) e carregamentos (representados pelas variáveis: analitos). Os gráficos obtidos representam as amostras em um sistema cartesiano, cujos eixos são os PCs.

De acordo com a projeção do gráfico de pontuação PC1 e PC2, todas as amostras de *S. coronata* foram agrupadas e os resultados estão de acordo com a HCA (FIGURA 2). A projeção das cargas nos PCs fornece o gráfico de cargas, mostrado na Figura 1B. Este gráfico permite avaliar a contribuição de cada variável na separação de grupos. A correlação entre as variáveis é descrita pelo ângulo cosseno entre as cargas vetoriais. As cargas positivas mais significativas foram relacionadas à Temperatura média, Taninos (T), fenólicos totais (FT), taninos hidrolisáveis (TH) e fenólicos (F), no PC1, enquanto humidade, F, TH e FT podem ser os principais fatores responsáveis pela variação das amostras de *L. Nepetifolia*.

Figura 2: Dendrograma representando as relações de similaridade da composição química entre os meses de amostragem para *L.nepetifolia* a que pertencem os aglomerados: I, amostras coletadas durante a estação chuvosa; II, amostras coletadas durante o estação seca.



Foram encontrados dois tipos de clusters (FIGURA 2), o cluster 1 incluiu amostras coletadas durante estação chuvosa (janeiro a abril/2018 e dezembro/2018 e foi caracterizada pelos mais baixos níveis de fenóis ($26,92 \pm 2,60 \text{ mg g}^{-1}$), fenólicos totais ($74,66 \pm 6,95 \text{ mg.g}^{-1}$), flavonóides ($18,61 \pm 1,39 \text{ mg g}^{-1}$), taninos ($47,68 \pm 5,10 \text{ mg g}^{-1}$) e taninos hidrolisáveis ($91,17 \pm 7,11 \text{ mg g}^{-1}$); cluster 2 incluiu amostras coletadas durante a estação seca (Maio a novembro/2018) e revelou baixos níveis de chuva ($14 \pm 11,5 \text{ mm}$), umidade ($67,04 \pm 12,8\%$) e temperatura ($25,00 \pm 1,15 \text{ }^\circ\text{C}$). No presente estudo, os meses de amostragem da estação seca podem ser separados em subclusters (2A), caracterizado por uma elevada porcentagem de fenóis ($37,47 \pm 6,38 \text{ mg g}^{-1}$), taninos hidrolisáveis ($97,02 \pm 1,37 \text{ mg g}^{-1}$) e flavonoides ($19,17 \pm 0,93 \text{ mg g}^{-1}$), e o subcluster 2B, com os mais altos níveis de fenólicos totais ($86,22 \pm 4,68 \text{ mg g}^{-1}$) e taninos ($50,58 \pm 3,87 \text{ mg g}^{-1}$). Da mesma forma, a estação chuvosa foi separada nos subclusters 1A, apresentando elevada concentração de taninos ($49,90 \pm 1,37 \text{ mg g}^{-1}$) e taninos hidrolisáveis ($91,86 \pm 8,02 \text{ mg g}^{-1}$); e no subcluster 2B, que apresenta elevada concentração de fenólicos totais ($90,17 \pm 2,76 \text{ mg g}^{-1}$), flavonoides ($21,05 \pm 1,25 \text{ mg g}^{-1}$) e fenólicos ($40,81 \pm 1,23 \text{ mg g}^{-1}$).

A correlação de Pearson (TABELA 2) mostrou que os níveis de fenóis e flavonóides não foram influenciados por diferentes características ambientais das áreas estudadas, mostrando que não há ação direta ou efeito do nível de precipitação na síntese desses compostos. No entanto, pode-se inferir que a ausência de chuvas estimula a síntese de compostos fenólicos durante os períodos sazonais, pois a maior concentração foi observada no período seco. O aumento gradual da concentração de fenóis durante os períodos sazonais pode ser justificado pelo estresse hídrico sofrido pela planta ou como resultado indireto da fenologia das espécies que apresenta uma concentração crescente de fenóis à medida que as folhas envelhecem (SILVA, NEVES, 2014).

Conclusões

A variabilidade química de fenóis, taninos e flavonoides em *L. nepetifolia* foi determinada por análises que incluem colorimetria e análises multivariadas. Tais dados podem refletir a influência ambiental no teor dos compostos presentes nas folhas da espécie. As análises demonstraram que a estação seca é a detentora de maior concentração dos compostos em relação a estação chuvosa. Desse modo, pode-se inferir que a concentração de fenóis totais aumentou ao longo dos períodos sazonais, sendo indiretamente influenciada pela pluviosidade e temperatura e diretamente pela fenologia da planta.

Essas variações podem ser reflexo de a planta ter sido submetida a uma situação de estresse, aumenta suas defesas, levando a um aumento na produção de compostos fenólicos em resposta a estímulos ambientais. Dessa forma, esses resultados podem contribuir para compreender o metabolismo dos compostos fenólicos nessa espécie.

Agradecimentos

Agradeço a UNEB por todo apoio no desenvolvimento do projeto..

Referências

Hagerman AE, Butler LG. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. J Agric. Food Chem. 1978; 26(4): 809-12.



Willis RB, Allen PR. Improved method for measuring hydrolysable tannins using potassium iodate. *Analyst*. 1998; 123(3): 435-9.

Petry RD, De Souza KCB, Bassani VL, Petrovick PR, González-Ortega G. Doseamento do teor de flavonóides totais em extratos hidroalcoólicos de *Passiflora alata* Dryander (maracujá). *Revista Brasileira de Farmácia* 1998; 79(1/2) 7-10

Silva JO, Neves FS. Insect herbivores associated with evergreen tree *Goniorrhachis marginata* Taub. (Leguminose: Caesalpinioideae) in tropical dry forest. *Braz. J. Biol.* 2014; 74 (3): 623-31.

AHMAD, R. et al. Phytochemical investigation of *Leonotis nepetifolia*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2017.

PRAVEEN, G. et al. Ethnobotanical review of *Leonotis nepetifolia*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 2013.

KUMAR, S. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of *Leonotis nepetifolia*. *International Journal of Green Pharmacy*, 2018.

KOTANI, M. et al. Phytochemical profile and bioactivity of *Leonotis nepetifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020.

SINGH, P. et al. Therapeutic potentials of *Leonotis nepetifolia*: A review. *Journal of Herbal Medicine*, 2016.