



# Estudo da variabilidade química de extratos aquosos e etanólicos de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. devido a condições de cultivo

**Palavras-Chave:** *Plectranthus amboinicus*, Plantas medicinais, Metabolômica.

**Autores/as:**

GABRIELA FERREIRA DA SILVA [UNICAMP]

GUILHERME PEREZ PINHEIRO [UNICAMP]

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> ALEXANDRA CHRISTINE HELENA FRANKLAND SAWAYA [UNICAMP]

---

## INTRODUÇÃO

*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. é uma espécie herbácea da família Lamiaceae que, apesar de ter origem asiática, está amplamente distribuída no mundo. No Brasil, é conhecida como malvarisco, malva-do-reino ou hortelã-da-folha-graúda. O uso tradicional da espécie está associado ao tratamento de sintomas de transtornos respiratórios, como tosse, gripe e febre. Embora a maior parte das propriedades terapêuticas da planta estejam atribuídas ao óleo essencial, seus extratos têm demonstrado atividade antibacteriana, antitumoral, anticonvulsivante, expectorante, antidiarreica dentre outras. Porém as poucas informações que se têm sobre a composição de seus extratos na literatura são inconsistentes de autor para autor e desconsideram fatores ambientais que podem interferir nesta composição. Tendo em vista este cenário, o presente trabalho estudou a variabilidade química dos extratos hidroalcoólicos de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. devido às condições de temperatura, luminosidade e irrigação.

## METODOLOGIA

As mudas de *Plectranthus amboinicus* foram estaqueadas, enraizadas, transferidas para vasos e aleatoriamente separadas para diferentes grupos para os ensaios de temperatura, luminosidade e irrigação.

Três grupos de mudas foram separadas para o ensaio de temperatura, sendo um grupo cultivado a 16 °C, outro a 28 °C e o terceiro a 38 °C. Os dois primeiros grupos tiveram tratamento com duração de 15 dias, enquanto o tratamento a 38 °C teve duração de 9 dias. Este último ensaio foi interrompido mais cedo porque a partir do 8º as plantas apresentaram manchas escuras nas

folhas, sinais visíveis de estresse causado pela alta temperatura, que inclusive poderia levar a morte das plantas com a continuidade do experimento.

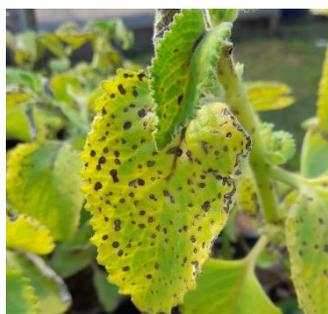
No ensaio de luminosidade, um grupo não teve nenhuma proteção ao sol, o segundo grupo ficou com a proteção de um sombrite (luz solar de 75%) e o outro teve proteção de dois sombrites (50% de proteção à luz) durante 15 dias.

Para o ensaio de irrigação as mudas da espécie também foram separadas em três grupos. Um grupo foi irrigado somente nos dois primeiros dias do ensaio com quantidade decrescente de água. O segundo grupo foi irrigado com 150 mL de água, enquanto o terceiro foi deixado com o solo constantemente encharcado mantendo-se os vasos com as mudas em bandejas cheias de água. A duração para este ensaio foi de 38 dias para os três grupos, prazo no qual as plantas do tratamento de seca apresentaram os primeiros sinais de estresse.

Ao fim dos ensaios as folhas das plantas foram retiradas e cada planta teve suas folhas coletadas, congeladas e armazenadas de acordo com o tratamento recebido. Em decorrência do agravamento da pandemia, o acesso aos laboratórios fora limitado, o que atrasou a realização dos ensaios, por isso ainda não foi possível obter dados da análise dos extratos. Após testes de extração com amostras de droga vegetal de *Plectranthus amboinicus* empregando-se como solvente água, etanol e metanol em diferentes concentrações, notou-se que os extratos hidroalcoólicos 50% extraíam um conjunto ideal de compostos.

A análise dos extratos hidroalcoólicos será feita em cromatografia líquida de ultra alta resolução usando coluna C18 e injetando 3 µL de amostra. A detecção será feita por espectrometria de massas com ionização por ESI modo positivo e negativo nas seguintes condições: capilar + 3KV, cone + 30 V, temperatura da fonte 150 °C, temperatura de 350 °C. Os resultados dos cromatogramas serão extraídos por software on-line XCMS e analisados por métodos quimiométricos para determinar os principais *features* (*m/z*, tempo de retenção) que variam com os tratamentos. Estes serão submetidos a análise em equipamento de alta resolução e fragmentação (MS/MS) visando sua identificação em comparação com literatura e bancos de dados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO



**Figura 1.** Ensaio de temperatura: manchas indicativas de estresse no cultivo a 38 °C

No ensaio de temperatura, as mudas cultivadas a 38 °C apresentaram manchas escuras como sinais de estresse, o que indica que a espécie não é resistente a altas temperaturas, apesar de ser globalmente distribuída. Diante dessa situação de estresse espera-se que este grupo tenha composição química diferente dos demais grupos deste ensaio.

Observando-se as plantas do ensaio de luminosidade notou-se que as plantas cultivadas com a proteção de 2 sombrites ficaram com folhas mais expandidas que as plantas

sob exposição total do sol, uma vez que a expansão das folhas é um comportamento fisiológico vegetal próprio para aumentar a assimilação de gás carbônico e aumentar a captação de luz.

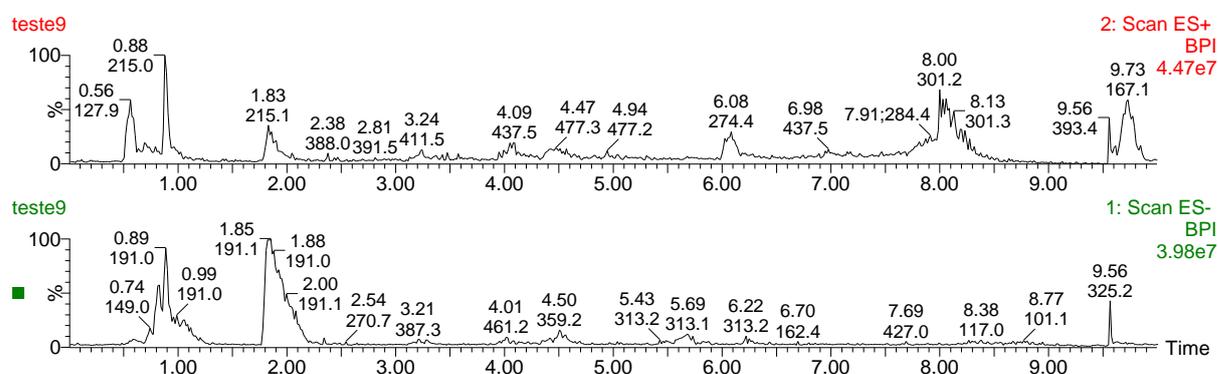


**Figura 2.** Ensaio de irrigação: Comparação entre as folhas de *Plectranthus amboinicus* com irrigação regular (à esquerda), mantidas na seca (centro) e mantidas encharcadas (à direita)

Após o término do ensaio de irrigação, notou-se que as mudas mantidas na seca apresentaram folhas murchas, com o pecíolo e os bordos levemente arroxeados. Provavelmente esta diferença na coloração se deve pelo acúmulo de antocianinas nas folhas, o que ocorre quando a planta está sobre excesso de luz solar ou com deficiência hídrica.

Devido ao agravamento da pandemia, os experimentos sofreram atrasos pela restrição

acesso ao laboratório, por isso ainda não foi possível fazer as análises da composição química dos extratos hidroalcoólicos. Contudo o método cromatográfico foi desenvolvido utilizando-se a droga vegetal das folhas de *Plectranthus amboinicus* de trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa. Com essa droga obteve-se um extrato de etanol 50%, com concentração de 3 mg/mL, uma vez que este extrato permitiu a extração de compostos com a solubilidade em água e em etanol, sem risco de saturação da coluna cromatográfica. Os solventes orgânicos testados foram acetonitrila ou metanol para a composição da fase A e ácido fórmico a 0,1% como fase B. Após a eluição de diferentes regimes gradientes, a condição cromatográfica escolhida que proporcionou a melhor separação dos picos teve como fase A ácido fórmico 0,1% e fase B acetonitrila HPLC, iniciando com 5% de B, em 3 min atinge 25% de B e em 5 min, 50% B. Em 7,5 min B atinge 100% e se mantém até 8,5 min para voltar às condições iniciais em 8,6 min até 10 min. A detecção foi feita por espectrometria de massas com ionização por ESI modo positivo e negativo nas seguintes condições: capilar + 3KV, cone + 30 V, temperatura da fonte 150 °C, temperatura de 350 °C. Este método será utilizado para a análise das folhas coletadas quando for possível.



**Figura 3.** Cromatogramas por UHPLC-MS com ESI em modo positivo (superior) e negativo (inferior) de uma amostra de extrato de *P. amboinicus*.

## CONCLUSÕES

Observando-se que a deficiência hídrica levou à mudança aparente nas folhas, espera-se que seus extratos apresentem variação na composição química em comparação ao grupo de mudas regadas regularmente e às mudas mantidas encharcadas. No ensaio de temperatura é esperado que as mudas cultivadas a 38 °C possuam diferente composição química dos demais grupos deste ensaio, uma vez que as altas temperaturas causaram estresse nas plantas ao ponto de pôr em risco a sua sobrevivência. Os compostos presentes nas folhas de *P. amboinicus* podem ser detectáveis em extratos de 3 mg/mL de pó liofilizado das folhas, com solvente de etanol 50%. Após final do estudo espera-se que seja possível analisar a influência da temperatura, luminosidade e irrigação nos extratos de *Plectranthus amboinicus* a partir das principais *features m/z* detectadas.

## BIBLIOGRAFIA

- Arumugam, G., Swamy, M. K., & Sinniah, U. R. (2016). *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance. *Molecules*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/molecules21040369>
- Bhattacharjee, P., & Majumder, P. (2013). Investigation of phytochemicals and anti-convulsant activity of the plant *Coleus amboinicus* (Lour.). *International Journal of Green Pharmacy*, 7(3), 211–215. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.120223>
- Cirillo, V., D'Amelia, V., Esposito, M., Amitrano, C., Carillo, P., Carputo, D., & Maggio, A. (2021). Anthocyanins are key regulators of drought stress tolerance in tobacco. *Biology*, 10(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/biology10020139>
- De Medeiros Gomes, J., Terto, M. V. C., do Santos, S. G., da Silva, M. S., & Tavares, J. F. (2021). Seasonal variations of polyphenols content, sun protection factor and antioxidant activity of two lamiaceae species. *Pharmaceutics*, v. 13 (1), p. 1–16. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010110>
- Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v. 30(2).
- Magalhães, K. do N., Guarniz, W. A. S., Sá, K. M., Freire, A. B., Monteiro, M. P., Nojosa, R. T., Bieski, I. G. C., Custódio, J. B., Balogun, S. O., & Bandeira, M. A. M. (2019). Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. *Journal of Ethnopharmacology*, 237(August 2018), 314–353. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.03.032>
- Laila, F., Fardiaz, D., Yuliana, N. D., Damanik, M. R. M., & Nur Annisa Dewi, F. (2020). Methanol Extract of *Coleus amboinicus* (Lour) Exhibited Antiproliferative Activity and Induced Programmed Cell Death in Colon Cancer Cell WiDr. *International Journal of Food Science*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/9068326>
- Rao, B. S. S., Shanbhoge, R., Upadhya, D., Jagetia, G. C., Adiga, S. K., Kumar, P., Guruprasad, K., & Gayathri, P. (2006). Antioxidant, anticlastogenic and radioprotective effect of *Coleus*

aromaticus on Chinese hamster fibroblast cells (V79) exposed to gamma radiation. *Mutagenesis*, 21(4), 237–242. <https://doi.org/10.1093/mutage/gel023>

Rodríguez-Cámbara, Y. A., Jiménez-Rodríguez, D., Rodríguez-Chanfrau, J. E., Gracial-Serrano, M., Festary-Casanovas, T., Luaces-Argüelles, M. C., Gómez-Peire, J., Tuero-Iglesias, Á. D., & García-García, I. (2016). Efficacy of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (French oregano) tablets in patients with common cold: A randomized, double-blind, placebo-controlled study | Eficacia de las tabletas de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Orégano francés) en pacien. *Revista Bionatura*, 1(4), 177–183. <https://doi.org/10.21931/RB/2016.01.04.4>

Volkenburgh, E. V. (1999). Leaf expansion – an integrating plant behaviour. *Plant, Cell and Environment*.