

**DOUGLAS FRANCISCO**

**ASPECTOS AGRONÔMICOS, TEOR DE IPOLAMIDA E VERBASCOSÍDEO DE  
CLONES DE GERVÃO-ROXO [*Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl]**

**Botucatu**

**2019**



**DOUGLAS FRANCISCO**

**ASPECTOS AGRONÔMICOS, TEOR DE IPOLAMIDA E VERBASCOSÍDEO DE  
CLONES DE GERVÃO-ROXO [*Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl]**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Horticultura.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra Ana Maria Soares Pereira

Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dra Bianca Waleria Bertoni

**Botucatu**

**2019**

F819a

Francisco, Douglas

ASPECTOS AGRONÔMICOS, TEOR DE IPOLAMIDA E  
VERBASCOSÍDEO DE CLONES DE GERVÃO-ROXO [*Stachytarpheta*  
*cayennensis* (Rich.) Vahl] / Douglas Francisco. -- Botucatu, 2019

38 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientadora: Ana Maria Soares Pereira

Coorientadora: Bianca Waleria Bertoni

1. Plantas Medicinais. 2. Fitoterapia. 3. Química vegetal. 4. Biomassa  
vegetal. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências  
Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Título: **“ASPECTOS AGRONÔMICOS, TEOR DE VERMACOSIDEO E IPOLAMIDA DE CLONES DE GERVÃO-ROXO [ *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl]”**

AUTOR: DOUGLAS FRANCISCO  
ORIENTADORA: ANA MARIA SOARES PEREIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof.ª Dr.ª ANA MARIA SOARES PEREIRA  
Biotecnologia / Universidade de Ribeirão Preto



Prof. Dr. FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM  
Horticultura / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu - UNESP

Dr.ª ANDRÉA REIKO OLIVEIRA HIGUTI  
. / Brazbio (Joint Venture between Centroflora Group and Givaudan)



Botucatu, 27 de setembro de 2019.



## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, força primária da criação.

A todo o Além, força de minhas crenças e esperanças.

À minha esposa e filha pela motivação em buscar caminhos melhores.

Aos meus pais e irmã por me incentivarem.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Maria Soares Pereira, pela dedicação e carinho dos quais recebi durante esse período de aprendizado. Agradeço aos seus conselhos e direcionamento que vão além da orientação acadêmica e repercutem às minhas necessidades.

À Prof<sup>a</sup> Dra. Bianca Waleria Bertoni pelo apoio durante as fases do experimento, principalmente por suas contribuições na estatística, e sempre atenciosa.

Às empresas Anidro do Brasil Extrações S.A. e Parcerias por me disponibilizarem o período em que pude cursar as disciplinas e conduzir o experimento do mestrado.

Aos meus parceiros de trabalho: Raquel P. Silveira Capaz, Andréa R. Higuti, Priscylla Moro, Hans Jorg Blaich, Paula Moura e Lucas Ferenzini, pelo conhecimento compartilhado, incentivo e apoio prestados.

Ao Lucas Junqueira de Freitas Morel pelo apoio técnico nos laboratórios da Biotecnologia de Plantas Medicinais da UNAERP e auxílio na interpretação das análises químicas.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, pela estrutura de corpo docentes e física e, pela oportunidade da pós-graduação.





*“É verdade, sem mentira, certo e muito verdadeiro.  
O que está em baixo é como o que está em cima e o que está em cima é  
como o que está em baixo, para realizar os milagres de uma coisa única.  
Assim como todas as coisas foram e procedem do Um, pela mediação do Um,  
assim todas as coisas nasceram desta coisa única, por adaptação.  
O Sol é seu pai, a Lua é sua mãe, o vento o trouxe no seu ventre; a Terra o  
alimenta; o pai de tudo, o Thelemeu do mundo universal, está aqui.  
A sua força permanece inteira quando se converte em terra.  
Tu separarás a terra do fogo, o sutil do espesso, suavemente e com grande  
habilidade; subirá da terra ao céu e de novo descera à terra, deste modo recebe a  
força das coisas superiores e inferiores.  
Por este meio obterás a glória do mundo e toda obscuridade fugirá de ti.”.*

**Hermes Trismegistus** – A Tábua de Esmeralda.



## RESUMO

O gervão-roxo [*Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl] é uma espécie nativa de ampla ocorrência no Brasil e de uso medicinal, comumente encontrada em bordas de matas e beiras de estradas. Existem poucos estudos sobre esta espécie, principalmente informações agronômicas, onde as plantas medicinais se diferenciam de outras culturas agrícolas pela necessidade de inter-relacionar a produção de massa-seca com a produção de princípio ativo. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar aspectos agronômicos e o teor de ipolamida e verbascosídeo em 15 clones de *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl oriundos de 4 municípios brasileiros, e cultivados em Botucatu/SP. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados contendo 6 blocos e 15 tratamentos que foi constituído por clones. Foram avaliados massa fresca e seca de parte aérea e raiz, teor de ipolamida e verbascosídeo no extrato seco de parte aérea. Para os teores dos princípios ativos e produção de massa seca, os resultados no clone BR e BT foram superiores em relação aos demais clones (A2, A3, A7, A9, A15, P4, P6, P7, P8, P11, P14, P16 e P19) sendo respectivamente, teor de 5,16% de ipolamida e 4,91% de verbascosídeo, e de 6,19% de ipolamida e 3,85% de verbascosídeo.

**Palavras-chave:** Verbenaceae. Iridóide. Substâncias majoritárias. Planta medicinal.



## ABSTRACT

Gervão-roxo [*Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl] is a native species, widely found in Brazil and with medicinal use. It is commonly found on the edges of forests and roadsides. There are few studies about this species, especially focused on agronomic information, where medicinal plants differ from other crops due to the need to interrelate dry mass production with active ingredient content. Thus, the aim of this study was to evaluate the agronomic aspects and the ipolamide and verbascoside content in 15 *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl clones from four Brazilian municipalities, cultivated in Botucatu/SP. The experimental design was in randomized blocks containing 6 blocks and 15 treatments that consisted of clones. Evaluations were carried out on fresh and dry mass from the aerial part and from the root, ipolamide and verbascoside contents in the dry extracts from the aerial part. For the active ingredient contents and dry mass production, the results from clones BR and PT were superior compared to the other clones (A1, A2, A3, A4, A5, P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7 and P8), resulting in 5.16% ipolamide and 4.91% verbascoside content, and 6.19% ipolamide and 3.85% verbascoside, respectively.

**Keywords:** Verbenaceae. Iridoid. Major substances. Medicinal plant.



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Descrição botânica e morfológica.....	16
2.2 Principais atividades farmacológicas e metabólitos secundários isolados de <i>Stachytarpheta cayennensis</i> .....	17
2.3 Informações gerais de <i>Stachytarpheta cayennensis</i> .....	18
3 OBJETIVOS.....	20
4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
5.1 Coleta das estacas e preparo das mudas.....	21
5.2 Preparo da área.....	22
5.3 Instalação do experimento .....	23
5.4 Avaliações.....	24
5.4.1 Preparo dos extratos.....	24
5.4.2 Análise quantitativa de ipolamida e verbascosídeo por HPLC.....	24
5.5 Análises estatísticas .....	25
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	26
6.1 Aspectos agronômicos.....	26
6.2 Teores de ipolamida e verbascosídeo .....	29
7 CONCLUSÕES.....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33









## 1 INTRODUÇÃO

A espécie *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, também conhecida como gervão-roxo, nativa do Brasil e com ocorrência em 21 estados, é largamente utilizada como planta medicinal por apresentar propriedades anti-inflamatória, anti-ulcerogênica, antimalárica, ansiolítica, entre outras.

Estas atividades farmacológicas estão relacionadas principalmente a presença das substâncias majoritárias ipolamida e verbascosídeo. Existem poucos estudos sobre esta espécie, os quais se limitam às investigações fitoquímicas, com escassez de informações sobre as características agrônômicas. O gervão-roxo apresenta crescimento subarborescente e ciclo semi-perene, sua ocorrência é principalmente em vegetação da Mata Atlântica e comumente em bordas de matas, beiras de estradas e áreas perturbadas.

Apesar da facilidade de se encontrar a espécie *S. cayennensis* em seu habitat natural, visto sua ampla ocorrência no Brasil, o extrativismo não é o meio mais recomendado para a obtenção quando se deseja o fornecimento contínuo e seguro da planta. E no que tange ao cultivo, os fatores ambientais e genéticos são preponderantes para a produção de massa seca e teores dos princípios ativos. Os estudos nesse campo vêm ganhando notoriedade, uma vez que as plantas medicinais requerem cuidados especiais na seleção de clones potenciais, como a estabilidade, adaptabilidade e os fatores que influenciam na produtividade da massa e dos princípios ativos.

Em vista disto e considerando a espécie em estudo, a escassez de informações agrônômicas para seu cultivo e a possibilidade de oferecê-la à indústria, o objetivo deste estudo foi avaliar diferentes acessos de *S. cayennensis* e selecionar clones potenciais e estáveis para produção de massa seca e teores de ipolamida e verbascosídeo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Descrição botânica e morfológica

*Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl

Sinonímia: *Verbena cayennensis* Rich.

Classe: Equisetopsida C. Agardh

Subclasse: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superordem: Asteranae Takht.

Ordem: Lamiales Bromhead

Família: Verbenaceae J. St.-Hil.

Gênero: *Stachytarpheta* Vahl

Fonte: Missouri Botanical Garden. 30 Out 2019

(<http://www.tropicos.org/Name/22000772>)

A família Verbenaceae possui cerca de 34 gêneros e 1115 espécies (STEVENS, 2010), amplamente distribuída em regiões temperadas e tropicais (JUDD et al., 2009). A característica desta família se manifesta por apresentar hábitos herbáceos, arbustivos ou, raramente, arbóreos, sendo as folhas decussadas, flores zigomorfas e frutos carnosos ou secos. Seus frutos geralmente possuem duas ou quatro sementes, dividindo-se com frequência, na maturidade, em dois ou quatro segmentos (MARX et al., 2010).

No Brasil ocorrem 16 gêneros e entre 250 a 310 espécies (LORENZI e SOUZA, 2008; SALINEMA et al., 2010). Dentre as espécies pertencentes ao gênero *Stachytarpheta* destaca-se a *S. cayennensis* por sua ampla utilização como planta medicinal.

A espécie *S. cayennensis* pode ser encontrada em diversos países, incluindo Bahamas, Brasil, Gana, Haiti, Índia, Jamaica, Camarões, Malásia, México, Antilhas e Nigéria (SCHWONTKOWSKI, 1993). É conhecida popularmente como gervão-roxo, rinchão, rincão, gervão, chá-do-brasil, chá-de-burro, ervão, orgibão, uregão, urgevão, verbena e aguaranpondá.

Santos (2015) descreveu a espécie *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl como subarbusto de 0,5 a 1,5 metros de altura, ramificado dicotomicamente, de ramos quadrangulares com faces levemente arredondadas, pubescentes, com dois lados opostos mais densos que os outros. As folhas com pecíolo 1 a 2 mm comprimento, pubescente; lâmina 1,3 a 6,5 × 0,5 a 3 cm, elíptica a elíptica-oval, base atenuada ou longo atenuada, ápice agudo, margem crenado-serreada, levemente enrolada,

cartácea, face adaxial glabra, abaxial pubescente, glândulas sésseis. A espiga é laxa, de raque 14 a 25 × 0,2 a 0,3 cm, pubescente a hirsuta; brácteas 4 a 6 × 0,5 mm, estreito-elípticas a estreito-triangulares, lenhosas, margem membranácea desde a base, ciliada, ápice longo-atenuado, glabrescente. As flores apresentam cálice de 4 a 6 × 1,5 mm, reto, embebido nas escavações da inflorescência, membranáceo a cartáceo, 5-denteado, quatro dentes maiores e um menor, externamente pubescente; corola 6 a 7 mm comprimento, curva, azul, violeta ou ocasionalmente branca, fauce branca; estames inseridos na metade do tubo da corola, glabros na área de inserção; ovário 1,5 a 2 × 0,3 mm, oblongo, estilete ca. 3 mm comprimento. Seus frutos de 3 a 4 × 1 mm, levemente reticulados e marrons.

## **2.2 Principais atividades farmacológicas e metabólitos secundários isolados de *Stachytarpheta cayennensis***

Tradicionalmente, a espécie *S. cayennensis* é utilizada para tratar inflamação, dor, febre, distúrbios hepáticos e renais, helmintíase, constipação, hipertensão, estresse e diabetes (WENIGER e ROBINEAU, 1988; RODRIGUEZ e CASTRO, 1996; CANO e VOLPATO, 2004).

Em outros países, como por exemplo na Nigéria, há também informações etnobotânicas do uso de extratos das folhas de *S. cayennensis*, como remédios sedativos, ansiolíticos e antipsicóticos (BURKILL, 1966, AKANMU et al, 2005). Em Gana, os extratos das folhas são empregados na medicina tradicional para o tratamento da doença mental (BURKILL, 1966) e no Peru a espécie é utilizada para o tratamento da malária (KVIST et al., 2006).

Vários autores estudaram e confirmam uso popular desta espécie destacando as atividades anti-helmíntica (ALICE et al., 1991), anti-inflamatória (VELA et al, 1997), anti-nociceptiva (PENIDO et al, 2006), anti-ulcerogênica (ALMEIDA et al, 1995), antimalárica (OKONKON et al, 2008) e antidiarréica (KVIST et al, 2006). Verificou-se atividade anti-inflamatória e gastroprotetora de extrato etanólico de folhas de *S. cayennensis*, rico em ipolamida e verbascosídeo, sendo estes compostos possivelmente os responsáveis por esta atividade (PENIDO et al., 2006).

Estudos fitoquímicos realizados com *S. cayennensis* demonstraram a presença de ipolamida, beta-hidroxipolamida, verbascosídeo, isoverbascosídeo, esteroides, triterpenos (KOOIMAN, 1975; SCHAPOVAL et al., 1998; ADEBAJO et al., 2007) e

alcaloides (ALICE et al., 1991). Diversos autores associam esses compostos a várias atividades farmacológicas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Atividades farmacológicas de extratos obtidos de folha e parte aérea de *Stachytarpheta cayennensis* e substâncias ativas.

Parte da planta utilizada	Extrato	Atividade	Substância ativa	Referência
Folha	metanólico	imunomoduladora e antimalárica (associado a artesunato)	NI	OKOYE et al., 2014
Folha	etanólico e n-butanólico	anti-inflamatória e antinociceptiva	ipolamida e acteosídeo	SHAPOVAL et al., 1998
Folha	etanólico	antiplasmódica e antimalárica	NI	OKOKON et al., 2008
Parte Aérea	aquoso fracionado com n-butanólico	Leishmaniose tegumentar	verbascosídeo e isoverbascosídeo	MAQUIAVELI et al., 2016
Folha	etanólico, n-butanólico e aquoso	sedativa e ansiolítica	NI	OLAYIWOLA et al., 2013
Folha	metanólico e aquoso	anti-diabética	6beta-hidroxiipolamida, ipolamida, isobenzossídeo e glibenclamida	ADEBAJO et al., 2007
Parte Aérea	etanólico	anti-inflamatória e antiprotetora	ipolamida e verbascosídeo	PENIDO et a., 2006
Parte Aérea	aquoso	Anti-inflamatória e motilidade gastrointestinal	ipolamida	MESSIAVELA et al., 2004

NI = não informado.

### 2.3 Informações gerais de *Stachytarpheta cayennensis*

Atualmente há controvérsas quanto ao crescimento da planta quando submetida ao cultivo e colheitas sucessivas, sendo mais aceito como uma planta anual ou bianual e altura de 60 a 150 cm (HASELWOOD e MOTTER, 1966). Lorenzi e Matos (2002) descrevem a espécie como um subarbusto semi-perene, ereto, muito ramificado, de 70-100 cm de altura, com inflorescências terminais espigadas e com poucas flores de cor azul.

Na literatura não foram encontradas informações sobre o cultivo desta espécie, apenas tem sido relatado a importância agrônômica como plantas espontâneas e indesejadas em alguns cultivos agrícolas.

Além de planta espontânea, esta espécie foi introduzida em outros países tropicais como planta ornamental devido à coloração azul das flores e por ser atrativa de borboletas e outros insetos polinizadores (PIER, 2015; LORENZI e MATOS, 2002). Porém, em outros países, essa planta é considerada invasora por apresentar tolerância ambiental e resistência na competição com a flora nativa. Pier (2015) relata que a espécie *S. cayennensis* (Rich.) Vahl tornou-se invasora em ilhas do Pacífico, sendo considerada uma ameaça na Austrália e a invasão tem aumentado na Flórida (EUA).

### **3 OBJETIVOS**

Avaliar no município de Botucatu/SP a produção de fitomassa e teores de ipolamida e verbascosídeo de 15 clones provenientes de 4 municípios brasileiros.

### **4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Coletar acessos de *S. cayennensis* nos estados de São Paulo (Botucatu e Barra do Turvo), Minas Gerais (Araxá) e Goiás (Palmelo);
- Plantar 15 clones, coletados em 4 municípios brasileiros, no município de Botucatu-SP;
- Avaliar a adaptabilidade, a produção de fitomassa seca e teores de ipolamida e verbascosídeo em clones de gervão-roxo plantados em Botucatu-SP.



## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Coleta das estacas e preparo das mudas

As coletas das estacas de *S. cayennensis* (Rich.) Vahl ocorreram nos municípios de Araxá/MG, Palmelo/ GO, Barra do Turvo/ SP e Botucatu/ SP, onde foram obtidos 5, 8, 1 e 1 clones de cada local respectivamente (Tabela 2).

**Tabela 2.** Denominação dos clones de *Stachytarpheta cayennensis* por acessos coletados em Araxá/MG, Palmelo/GO, Barra do Turvo/SP e Botucatu/SP.

Origem (município)	Quantidade de acessos	Código dos clones
Araxá/MG	5	A1, A2, A3, A4 e A5
Palmelo/GO	8	P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7 e P8
Barra do Turvo/SP	1	BR
Botucatu/SP	1	BT

Para o preparo das mudas foram utilizadas estacas com comprimento de aproximadamente 20 cm, provenientes de ramos saudáveis e acondicionadas em sacos plásticos de polietileno negro contendo substrato lcompostado pelo Grupo Centroflora (Tabela 3).

**Tabela 3.** Composição química do material vegetal compostado do Grupo Centroflora (Botucatu/SP), 13/09/2017.

pH	M.O.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	N	K <sub>2</sub> O	Ca	Mg	S	C	C/N	Na	B	Cu	Mn	Zn
CaCl <sub>2</sub>	g/dm <sup>3</sup>	% ao natural						mg/kg						
8,6	36	0,3	1,7	0,3	2,0	0,6	0,2	20	12/1	213	88	14	3,4	38

As mudas foram mantidas em casa de vegetação, a irrigação foi realizada por microaspersores suspensos por um período de 5 vezes ao dia, por 3 min/irrigação, controlada por temporizador (7 mm/dia). Após 2 meses as mudas dos 15 clones foram transplantados à campo.

A identificação botânica das plantas coletadas foi realizada pela Prof<sup>a</sup> Fatima Regina Golçalvez Salimena, da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), especialista na taxonomia de Verbenaceae. As exsicatas foram depositadas no Herbario de Plantas Mediciniais da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), HPMU com os vouchers: nº 2577HPMU, 2589HPMU, 3221HPMU e 3222HPMU. Na Figura 1, observa-se o aspecto geral da espécie, bem como suas flores.



**Figura 1.** *Stachytarpheta cayennensis* : (a) aspecto geral da planta, (b) flores e (c) flores visitadas por borboleta. FONTE: Arquivo pessoal.

## 5.2 Preparo da área

A área de cultivo em Botucatu/SP foi na Área Experimental da empresa Anidro do Brasil Extrações S.A., sendo previamente coletadas amostras de solo e submetidas ao Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para análises químicas do solo.

Não foi feito calagem, uma vez que a análise do solo (Tabela 4) apresentou saturação de base (V%) de 72%, e apesar da ausência de estudos sobre a saturação de base ideal para a cultura, considerou-se V% = 70% como ideal. Além disso, para adubação, aplicou-se 0,05 kg/m<sup>2</sup> de fosfato natural reativo na cova de plantio e 0,1 kg/m<sup>2</sup> de torta de mamona em cobertura no solo.

**Tabela 4.** Resultados da análise química do solo da Área Experimental da Anidro do Brasil Extrações S.A. (Botucatu/SP), 13/09/2017.

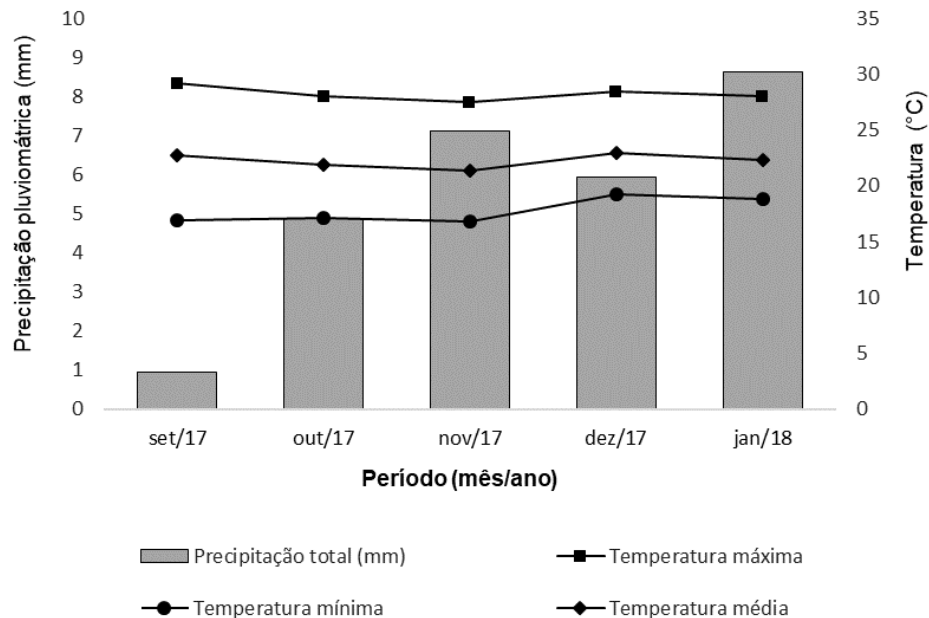
pH	M.O.	P <sub>resina</sub>	Al <sup>3+</sup>	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
CaCl <sub>2</sub>	g/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>			mmolc/dm <sup>3</sup>						mg/dm <sup>3</sup>				
6,1	31	34	0	2,7	36	7	45	68	72	7	0,41	1,3	19	3,4	3,0

As capinas foram manuais e ocorreram a cada 15 dias durante setembro/2017 a janeiro/2018. Na área foi instalado sistema de irrigação por aspersão, o qual mantinha seu funcionamento a depender das condições climáticas, comumente entre uma a duas vezes ao dia por 5 min.

### 5.3 Instalação do experimento

O transplântio à campo ocorreu em 25/09/2017 e espaçamento de 0,5 m entre plantas e 0,5 m entrelinhas. O delineamento experimental foi em blocos casualizados contendo 6 blocos e 15 tratamentos (clones A1, A2, A3, A4, A5, P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, BR e BT), totalizando 90 parcelas, cada uma constituída por uma planta.

Segundo a classificação climática de Köppen, o município de Botucatu apresenta tipo de clima Cwa, isto é, clima mesotérmico (com inverno seco e verão úmido associado ao clima subtropical úmido). Os dados de precipitação pluviométrica, temperatura do ar e umidade relativa do ar utilizados no presente estudo são provenientes da Estação Meteorológica da Fazenda Lageado, da Faculdade de Ciências Agrônômicas-UNESP, Campus de Botucatu. As observações foram realizadas no período de setembro/2017 a janeiro/2018 (Figura 2).



**Figura 2.** Dados climáticos obtidos junto à estação meteorológica situada na Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA/UNESP), Campus de Botucatu. Período de setembro/2017 a janeiro/2018.

## 5.4 Avaliações

A colheita de *S. cayennensis* foi realizada 4 meses após o plantio das mudas e foram avaliados a altura da planta e massa fresca da parte aérea e das raízes dos clones. A secagem foi realizada nos locais da instalação do experimento em estufa com circulação de ar a 50°C (TECNAL®, TE-394/3). Após a secagem, as plantas foram pesadas e acondicionadas em sacos plásticos, vedados e em local arejado.

A moagem, preparação dos extratos e análises químicas das plantas ocorreram no Departamento de Biotecnologia de Plantas Medicinais da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), Campus de Ribeirão Preto.

### 5.4.1 Preparação dos extratos

A droga vegetal de *S. cayennensis* foi moída em moinho (Marconi®, modelo MA 680) e peneirada em malha de 24 mesh (Bertel®).

A droga vegetal foi peneirada em tamis com 40 mesh e uma alíquota (0,5 g) foi submetida a extração por infusão com uma solução aquosa (10 ml de água a 98°C), sendo a maceração realizada por 10 minutos.

### 5.4.2 Análise quantitativa de ipolamida e verbascosídeo por CLAE

Para a determinação dos teores de ipolamida e verbascosídeo foram utilizados padrões autênticos obtidos da Phytolab®. Após o processo de filtragem da torta, o extrato aquoso foi liofilizado, posteriormente pesado resultando no extrato seco que foi analisado em CLAE (Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência).

O extrato seco (3 mg) foi solubilizado em 1 mL de metanol (grau HPLC), filtrado usando filtro seringa 45 µ e a solução (20 µL) foi injetada em HPLC analítico Shimadzu (Kyoto, Japão), figuras 10 e 11, em coluna analítica de fase reversa Luna C-18 250 mm x 46 mm, 5 µm (Phenomenex) acoplada a detector de arranjo de diodo SPD-M10A. Como sistema fase móvel, foi utilizado: Água + CH<sub>3</sub>COOH 0,1% (A) e metanol (B), utilizando um gradiente de 10 a 70%B (0 até 32 minutos); de 70 a 10%B (32 até 35 minutos); 10%B (35 até 40 minutos) com vazão de 1 mL/min. por 40 min. e a detecção foi realizada com UV a 330 nm para o verbascosídeo, e a 230 nm para ipolamida. As análises foram realizadas em triplicata.

A quantificação de verbascosídeo e ipolamida nos extratos foi realizada isoladamente e cada padrão analítico (ipolamida e verbascosídeo - Phytolab®) foi

solubilizado em metanol (grau CLAE) nas concentrações de 500; 250; 125; 62,5; 31,25 e 15,625 µg/mg realizadas em triplicata.

### **5.5 Análises estatísticas**

Os dados de quantificação dos metabólitos secundários foram submetidos à análise de variância e, quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Konnott a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2008). Para verificar possível correlação entre a produção de verbascosídeo e ipolamida foi realizada a análise de correlação simples.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 Aspectos agrônômicos

Após 75 dias do plantio (DAP) das mudas a campo, observou-se 5% de perda no número de plantas cultivadas. A mortalidade de plantas ocorreu apenas com duas plantas do clone A5, fato que foi , atribuído à dificuldade de sobrevivência a campo e adaptação deste clone proveniente de Araxá/MG. Durante o experimento foi possível observar diferenças no desenvolvimento vegetativo entre os clones, acentuando-se nos BR, BT, P5, P6 e P7, conforme Figura 3.

---

#### Clones cultivados em Botucatu/SP

---

P7



BR



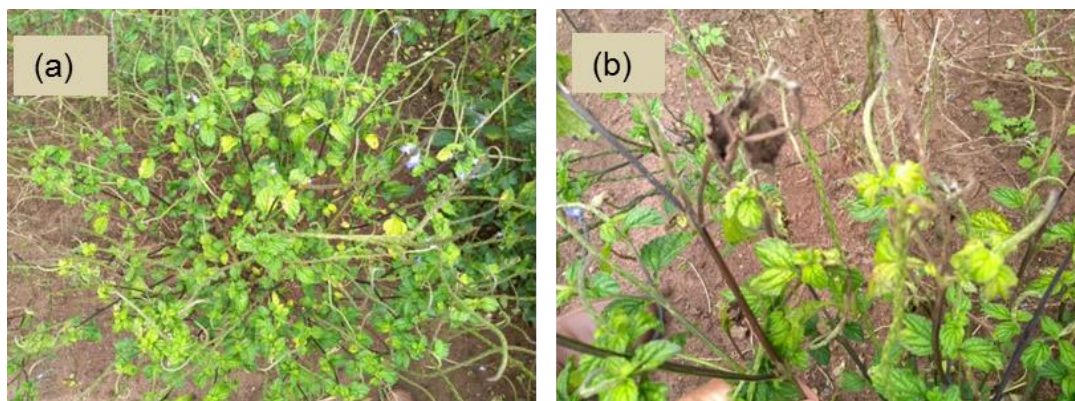
BT





**Figura 3.** Comparação do crescimento entre clones de *Stachytarpheta. cayennensis* cultivados em Botucatu (Grupo Centroflora). P5, P6 e P7 oriundos de Palmelo/GO; BR originário de Barra do Turvo/SP; BT advindos de Botucatu/SP. FONTE: Arquivo pessoal.

Foi observado sintomas de murcha de fusário (fungo de solo) em plantas com 105 DAP, conforme figura 16, folhas amareladas e murchas, necrose no ápice dos ramos (Figura 4). Inicialmente ocorreu amarelecimento das folhas mais novas, em seguida generalizou-se por toda a planta e as folhas encarquilham. As hastes florais enrolam, o crescimento da planta foi paralisado, as folhas murcharam e em seguida houve necrose apical até envolver toda a planta, levando-a a morte. A identificação da doença foi realizada junto às Clínicas Fitopatológica e Entomológica do Departamento de Proteção de Plantas da Faculdade de Ciências Agrônômicas – FCA UNESP, Botucatu/SP, pela equipe do Prof<sup>o</sup>. Dr. Edson Luiz Furtado.



**Figura 4.** Plantas de *Stachytarpheta . cayennensis* com 105 DAP e sintomas de fungo de solo, (a) folhas amareladas e hastes florais enroladas e (b) necrose apical, folhas amareladas e hastes florais encarquilhadas, cultivadas em Botucatu/SP. FONTE: Arquivo pessoal.

A colheita em Botucatu/SP foi realizada com 120 DAP das mudas e a mortalidade nesse período foi de 25% (Tabela 4). Todas as plantas advindas do clone A5 morreram e não apresentaram sintomas de doenças, sendo a causa mais provável a dificuldade de sobrevivência a campo por falta de adaptação as condições ambientais próprias de Botucatu.

Todas as plantas oriundas dos clones BR, BT, A2, P2, P5 e P6 sobreviveram, enquanto a mortalidade dos clones A4, P4, P3, P7 e P8 foi de 17% e para o clone A3 foi de 33%. Entre os clones avaliados constatou-se que os A5, A1 e P1 foram os mais susceptíveis a perdas, apresentando mortalidade acima de 80% (Tabela 5).



**Tabela 5.** Dados de altura, massa, número de ramos e mortalidade dos clones de *Stachytarpheta cayennensis* cultivados em Botucatu/SP.

Clone	Altura (cm)	Massa fresca (g)		Massa seca (g)		Números de ramos primários por planta	% mortalidade
		Parte aérea	Raiz	Parte aérea	Raiz		
A5	-	-	-	-	-	-	100%
A1	49,50c	22,55c	2,94d	10,82d	1,35d	2,25c	83%
A2	53,33c	56,98c	3,43d	19,95d	1,48d	4,83c	0
A3	60,50c	38,19c	2,11d	19,79d	0,69d	2,33c	33%
A4	49,00c	45,93c	10,09c	18,08d	1,25d	2,58c	17%
BR	106,17a	836,15a	33,49a	382,24a	14,36a	23,00a	0
BT	86,00b	551,75a	23,70a	179,87b	7,31b	14,83b	0
P1	34,00c	8,91c	0,49d	4,99d	0,09d	2,50c	83%
P2	75,50b	215,92b	7,96c	83,32c	2,72c	6,00c	0
P3	57,50c	150,68b	6,18c	53,45c	4,38c	4,66c	17%
P4	68,16b	273,88b	14,25b	101,11c	4,17c	7,41c	17%
P5	45,67c	52,26c	4,01d	18,13d	0,98d	2,66c	0
P6	57,16c	142,59b	9,34c	40,55c	3,26c	5,66c	0
P7	79,33b	232,05b	12,90b	79,07c	4,21c	7,66c	17%
P8	42,17c	80,72c	6,77c	29,74d	1,81d	4,16c	17%
CV(%)	16,34	25,39	17,39	25,90	22,17	18,04	

As médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, sendo: A1, A2, A3, A4 e A5 clones advindos de Araxá/MG; P1 a P8 oriundos de Palmelo/GO; BR originário de Barra do Turvo/SP; BT correspondente aos clones do acesso Botucatu/SP e B são plantas da bordadura.

Diferenças significativas foram observadas para a altura e número de ramos primários dos clones, sendo que os clones BR e BT obtiveram destaque. Para a altura, as plantas do clone BR apresentaram maior crescimento, seguido dos clones BT, P2, P4 e P7 os quais não diferiram estatisticamente entre si. As plantas mais ramificadas foram dos clones BR e BT, com média de 23 e 14 ramos por planta, respectivamente. Os demais clones apresentaram poucos ramos, variando entre 2 a 7 ramos por planta. O clone BR, em relação os parâmetros descritos na Tabela 4, foi significativamente superior aos demais.

## 6.2 Teores de ipolamida e verbascosídeo

Ao comparar o teor de ipolamida e verbascosídeo entre todos os clones analisados verificou-se que os clones BR, BT, P5 e P7 foram significativamente superiores para ambos princípios ativos. Associando estes resultados com a Tabela 5, observou-se que o clone BR é superior aos demais devido apresentar maior produção em fitomassa seca de parte aérea. Seguido disto, está o clone BT que a exceção do BR, foi significativamente superior aos demais.

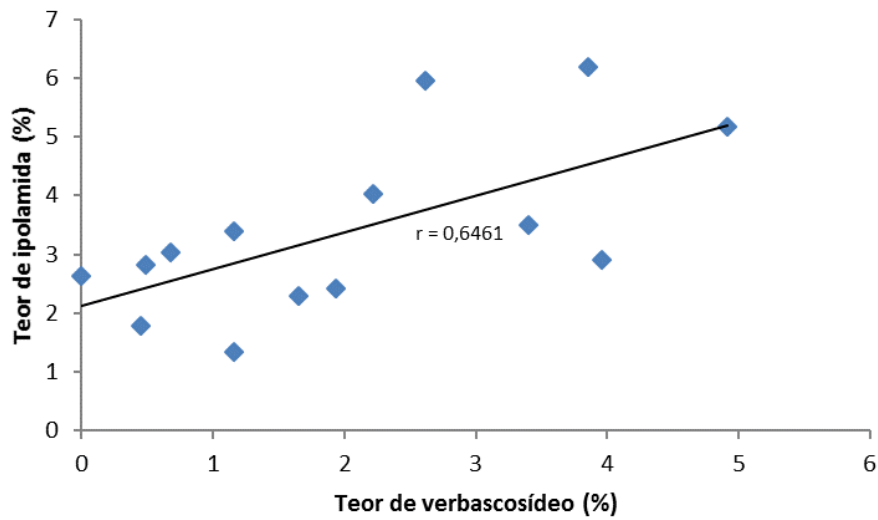
Avaliando isoladamente estes princípios ativos, verificou-se que os clones BR, BT, P1, P3, P4, P5, P6 e P7 apresentaram maior teor de verbascosídeo, enquanto para ipolamida os mais produtivos foram BR, BT, P5 e P7 (Tabela 6).

**Tabela 6.** Massa seca e teor de verbascosídeo e ipolamida entre clones de *Stachytarpheta cayennensis* cultivados em Botucatu/SP.

Clone	Teor (base seca)	
	Verbascosídeo (%)	Ipolamida (%)
A1	0,00b	2,633b
A2	4,86b	2,819b
A3	0,674b	3,032b
A4	1,161b	1,343b
BR	4,918a	5,162a
BT	3,855a	6,194a
P1	1,933a	2,424b
P2	1,162b	3,388b
P3	3,405a	3,508b
P4	3,959a	2,915b
P5	2,613a	5,956a
P6	1,647a	2,287b
P7	2,221a	4,019a
P8	0,447b	1,787b
CV(%)	33,13	11,69

As médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, sendo: A1 a A5 clones advindos de Araxá/MG; P1 a P8 oriundos de Palmelo/GO; BR originário de Barra do Turvo/SP; BT correspondente aos clones do acesso Botucatu/SP.

Houve uma correlação positiva e moderada entre o teor do verbascosídeo e o ipolamida nos clones de *Stachytarpheta cayennensis* avaliados nesse trabalho. Assim, à medida que o teor de ipolamida aumenta ocorre um incremento de verbascosídeo (figura 5).



**Figura 5.** Correlação moderada entre a produção de verbascosídeo e ipolamida em *Stachytarpheta cayennensis*.

O clone BR apresentou massa seca da parte aérea de 382,24 g/planta o que foi significativamente superior em relação aos demais. O clone BT teve massa seca de 179,87 g/planta, cerca de metade da massa de BR, e apesar disto, destacou-se em relação aos demais clones. As produções de massa seca mais baixas foram encontradas nos clones de Araxá/MG (A1, A2, A3 e A4) e em alguns clones advindos de Palmelo/GO (P1, P5 e P8), variando entre 4,99 a 29,74 g/planta.

## **7 CONCLUSÕES**

Os clones advindos do Estado de São Paulo (BR e BT) foram superiores em produção de massa seca e teores de ipolamida e verbascosídeo, nas condições ambientais de cultivo em Botucatu/SP;

O clone BR apresentou a melhor interação entre produção de massa seca e teor dos princípios ativos, sendo indicado para o cultivo no município de Botucatu/SP.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ADEBAJO, A.C.; OLAWODE E.O.; OMOBUWAJO O.R.; ADESANYA S.A.; BEGROW F.; ELKHAWAD A.; AKANMU M.A.; EDRADA R.; PROKSCH P.; SCHMIDT T.J.; KLAES M.; VERSPOHL E.J. Hypoglycaemic constituents os *Stachytarpheta cayennensis* leaf. **Planta med.** 73(3), p.214-50, Feb. 2007.

AKANMU M.A.O.; OLAYIWOLA G.; UKPONMWAN O.E.; HONDA K. Acute Toxicity and Sleep-Wake EEG Analysis of *Stachytarpheta cayennensis* (Verbenaceae) in Rodents. **African Journal of Traditional Complimentary and Alternative Medicine.** 2005;2:222–232

ALICE C.B.; VARGAS V.M.F.; SILVA G.A.A.B.; DE SIQUEIRA N.C.S.; SCHAPOVAL E.E.S.; GLEVE J.; HENRIQUES J.A.P.; HENRIQUES A.T. Screening of plants used in South Brazilian folk medicine. **Journal of Ethnopharmacology.** 1991;35:165–171.

ALMEIDA CE.; KAMIKOWSKI M.G.; FOLETO R.; BALDISSEROTTO B. Analysis of the Antidiarrhoeic Effects of Plants Used in Popular Medicine. **Revista de Saude Publica.** 1995;29:428-433.

BURKILL H.M. ***Stachytarpheta cayennensis: The useful plants of West Africa.*** Royal Botanical Gardens: Keids; 1966.

CANO J.H.; VOLPATO G. Herbal mixture in the traditional medicine of Eastern Cuba. **J Ethnopharmacol.** 2004;90:293–316.

CARDOSO, C.O.N.; KIMATE, H.; FERNANDES, N.G. Nota sobre a ocorrência de *Fusarium oxysporum phaseoli* (Schlecht) Kendrick & Snyder causando murcha vascular do feijoeiro. In: DESENVOLVIMENTO DE FITOPATOLOGIA E MICROBIOLOGIA DA ESALQ, 1966. Piracicaba. **Anais d E.S.A. “Luiz de Queiroz”.** Piracicaba, 1966. p.1-4.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium,** v.6, p.36-41, 2008.

HASELWOOD E.L.; MOTTER G.G. **Handbook of Hawaiian Weeds.**Honolulu: University of Hawaii Press; 1966. p. 334.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético.** 3 ed. Porto Alegre, Artmed, 2009.

KVIST L.P.; CHRISTENSEN S.B.; RASMUSEN H.B.; MEJIA K.; GONZALEZ A. Identification and Evaluation of Peruvian Plants used to Treat Malaria and Leishmaniasis. **Journal of Ethnopharmacology.** 2006;106:390–402.

KOOIMAN P. The occurrence of iridoids glycosides in the verbenaceae. **Acta Bot Neerl.** 1975;24:459–68.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p.532.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 2 ed. Nova Odessa. Plantarum. 1088 p. 1999.

MAQUIAVELI, C.D.; OLIVEIRA, E.Sá.A.M.; VIEIRA, P.C.; DA SILVA, E.R. *Stachytarpheta cayennensis* extract inhibits promastigote and amastigote growth in *Leishmania amazonenses* via parasite arginase inhibition. *J.Ethnopharmacol.* 4; 192, 108-113, Jul. 2016.

MARX, H.E.; O'LEARY, N.; YUAN, Y.; LU-IRVING, P.; TANK, D.C.; MULGURA, M.E. & OLMSTEAD, R. 2010. A molecular phylogeny and classification of Verbenaceae. *American Journal of Botany* 97: 1647–1663.

MESIA-VELA S.; SOUCCAR C.; LIMA-LANDMAN M.T.; LAPA A.J. Pharmacological study of *Stachytarpheta cayennensis* Vahl in rodents. **Phytomedicine**. 11(7-8), Nov. 2004.

OKOYE, T.C.; AKAH, P.A.; EZIKE, A.C.; UZOR, P.F.; ODON, U.E.; IGBOEME, S.O.; ONWUKA, U.B.; OKAFOR, S.N. Immunomodulatory effects of *Stachytarpheta cayennensis* leaf extract and its synergistic effect with artesunate. **BMC Complement Altern Med**. 14,376, Oct. 2014.

OKOKON J.E.; ETTEBONG E.; ANTIA B.S. *In vivo* Antimalarial Activity of Ethanolic Leaf Extract of *Stachytarpheta cayennensis*. **Indian Journal of Pharmacology**. 2008;40:111–113.

OLAYIWOLA, G.; UKPONMWAN, O.; OLAWODE, D. Sedative and anxiolytic effects of the extracts of the leaves of *Stachytarpheta cayennensis* in mice. **Afr Trad Complement Altern Med**. 10(6), 568, Oct. 2013.

PENIDO C.; COSTA K.A.; FUTURO D.O.; PAIVA S.R.; KAPLAN W.A.; FIGUEIREDO M.R.; HENRIQUES M.G. Anti-inflammatory and Anti-ulcerogenic Properties of *Stachytarpheta cayennensis*(L.C. Rich) Vahl. **Journal of Ethnopharmacology**. 2006;104:225–233.

PIER, 2015. Pacific islands Ecosystems at Risk. Honolulu, USA: HEAR, University of Hawaii. <http://www.hear.org/pier/index.html>.

RODRIGUEZ S.M.; CASTRO O. Evaluation farmacologica y quimica de *Stachytarpheta jamaicensis*(verbenaceae) **Revista de Biol Trop**. 1996;44:353–9.

SALIMENA, F.R.G.; THODE, V.; MULGURA, M.; OLEARY, N. **Verbenaceae**. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

SANTOS, J. S. Filogenia e diversidade do gênero *stachytarpheta* vahl (verbenaceae).2015. Tese (Doutorado \_ Programa de Pós-graduação em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PF.

SCHAPOVAL E.E.S.; DE VARGAS M.R.; CHAVES C.G.; BRIDI R.; ZUANAZZI J.A.; HENRIQUES A.T.: Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis*. **J Ethnopharmacol** 1998, 60(1):53–59.

SCHWONTKOWSKI D. Herbs of the Amazon-Traditional and Common Uses. New York: Pub: **Science Student Brain Trust Publishing**; 1993.

STEVENS, P.F. **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 9, June 2008, 2001.

VELA N.S.; SOUCCAR C. Landman Inhibition of Gastric Acid Secretion by Three Aqueous Extracts and Purified Extracts of *Stachytarpheta cayennensis*. **Planta medica**. 1997;63:36–39.

WENIGER B.; ROBINEAU L. Elements para una Farmacopea Caribena, La Habana. **Seminario Tramil**. 1988;3:243–5.

