

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Determinação dos parâmetros para controle de qualidade de *Erythrina verna* vell.**

DOUGLAS FERNANDO RAMBO

Porto Alegre, março de 2011.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Determinação dos parâmetros para controle de qualidade de *Erythrina verna* vell**

Dissertação apresentada por **Douglas  
Fernando Rambo** para obtenção do GRAU  
DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Dra. Amélia T. Henriques

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 31 de março de 2011, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Edna Sayuri Suyenaga

Universidade FEEVALE

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Miriam Anders Apel

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Roger Remy Dresch.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

R167d Rambo, Douglas Fernando

Determinação dos parâmetros para controle de qualidade de *erythrina verna* vell / Douglas Fernando Rambo – Porto Alegre : UFRGS, 2011. – xxi, 101 p. : il.

Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. *Erythrina verna*. 2. Mulungu. 3. Fabaceae. 4. Controle de qualidade : Matéria-prima vegetal. 5. Alcalóides. I. Henriques, Amélia T. II. Título.

CDU: 547.94:615.2.07

Este trabalho foi desenvolvido sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Amélia Henriques no laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia e contou com a colaboração da professora Dr<sup>a</sup>. Lílian Auler Mentz, Msc Eliana Nunes e Dr<sup>a</sup>. Marcia Vignoli-Silva. A pesquisa foi financiada pelo CNPq e CAPES.



*Um sonho que se sonha só, é só um sonho que se sonha só, mas sonho que se sonha  
junto é realidade”*

*Raul Seixas*





## AGRADECIMENTOS

Em especial à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Amélia Henriques por acreditar em meu trabalho, pela orientação, estímulo, compreensão e respeito.

À professora Dr<sup>a</sup>. Lílian A. Mentz, Msc<sup>a</sup>. Eliana Nunes e Dr<sup>a</sup>. Marcia Vignoli-Silva pelo trabalho botânico realizado. Aos professores/amigos dessa faculdade José Ângelo e Miriam Apel pelos bons momentos em que discutimos sobre as perspectivas durante esse período.

Às professoras Dr<sup>a</sup>. Nilvane Teresinha Ghellar Muller, Dr<sup>a</sup>. Fabiane Moreira de Farias, Msc Diogo dos Santos Mirom, Msc Daniel Fasolo pelos ensinamentos e incentivo ao ingresso no programa de Pós-graduação desta Universidade.

À Carolina dos Santos Passos, pelos ensinamentos e paciência ao me receber na universidade. Durante esses dois anos sempre foste o meu braço direito, alguém a quem sempre pude contatar nos momentos de dificuldades ou dúvidas.

Aos grandes amigos/irmãos que arrumei aqui nesse laboratório Cristiano Dalpizolo, Leandro Francescato, Juliana Andrade pelas inúmeras risadas e momentos de alegria que dividimos ao longo desses dois anos de convivência e que, com certeza, não ficarão restritos a esse período.

Aos demais colegas Marina Scopel, Eduardo Konrath, Roger Dresch, Ana Aboy, Tiago, Júlia Bijoldo, Melissa, Rafaela Marin, Cláudia, Grazielle que, não menos importantes que os outros, fizeram desse período um momento inesquecível de minha vida, que com certeza guardarei as melhores lembranças de cada um de vocês.

À minha querida colega Renata Biegelmeyer que ao longo desses dois anos foi se tornando cada vez mais especial em minha vida. À ela fica todo meu agradecimento pelo apoio e incentivo dado nas horas mais difíceis e angustiantes.

Aos meus familiares e pessoas importantes em minha vida, pela compreensão da ausência de meu convívio, pelo apoio incansável e paciência nos momentos de estresse.

Aos amigos de longas jornadas que ficaram nas missões, Jardel, Giancarlo, Jonas, Alessandro, Francklyn, João, Vicente, Diogo, Wilson, Cássio e Gláucio pelos

churrascos nos quais não pude estar presente, agradeço o convite e a amizade que se mantêm apesar da distância.

Para os demais amigos que fiz nessa faculdade, Vitor, Clésio, Lisias, Samuel, César, Madson, Leonardo, Alexandre, dentre tantos outros fica meu grande abraço e agradecimento pelos momentos de descontração e alegria.

À Deus por ter me dado forças e sabedoria para realizar esse trabalho.

Enfim, a todos que participaram de alguma maneira dessa conquista.

## RESUMO

Mulungu (*Erythrina verna* Vell.- Fabaceae) é uma espécie arbórea nativa do Brasil, conhecida popularmente por amansa-senhor, árvore-de-coral, corticeira, suinásuinã, dentre outros. Quimicamente é caracterizada principalmente pela presença de flavonóides, pterocarpanos, alcalóides e outros. Dentre os alcalóides isolados, pode-se citar hipaforina, eritravina, erisotrina, eritartina e seus derivados. Inúmeros artigos científicos descrevem atividades biológicas tais como ansiolítica, anticonvulsivante, antinociceptiva e antibacteriana, além de efeitos tóxicos frente a larvas de camarão *Artemia salina*. O presente trabalho visa estabelecer parâmetros para o controle de qualidade da droga vegetal, casca de *Erythrina verna*, bem como comparar o perfil cromatográfico do extrato alcaloídico de suas diferentes partes e confrontar os dados com outras espécies do mesmo gênero. A descrição botânica macro e microscópica das cascas foi realizada, assim como o estabelecimento dos parâmetros de controle de qualidade, tais como cinzas totais ( $6,47 \pm 0,58\%$ ) e insolúveis ( $1,08 \pm 0,43\%$ ), teor de extrativos ( $12,03 \pm 0,81\%$ ) teor de alcalóides totais ( $0,081 \pm 0,0081\%$ ) e perda por dessecação, tanto pelo método gravimétrico ( $10,54 \pm 0,009\%$ ) quanto por balança de infravermelho ( $10,39 \pm 0,07\%$ ). Também foi estabelecido que as condições mais favoráveis para a produção de extrato bruto de *E. Verna* é a decocção do pó das cascas em solvente hidroalcoólico. Com base no perfil cromatográfico dos alcalóides de *E. verna*, foi possível identificar a presença de eritravina por meio de co-injeção com o produto isolado/identificado, bem como comparar o perfil das diferentes partes da planta e ainda confrontar os dados de *E. verna* a outras espécies do gênero.

**Palavras chave:** *Erythrina verna*, Alcalóides, controle de qualidade



## ABSTRACT

Mulungu (*Erythrina verna* Vell. - Fabaceae) is an arboreal species native of the Brazil, and popularly known as amansa-senhor, árvore-de-coral, corticeira, suiná-suinã, tiricero, among others. Chemically, it is mainly characterized by the presence of, flavonoids, alkaloids and pterocarpanes. Hypaphorine, erythravine, erysothrine, erythartine and its derivatives, are the main isolated alkaloids. Some scientific articles describe biological activities such as anxiolytic, antibacterial, anticonvulsant and antinociceptive. Toxicity against shrimp *Artemia salina* is also described. This work aims to establish parameters for the quality control of raw vegetable bark of *E. verna*, as well as compare the chromatographic profile of the alkaloidic extract obtained from different parts of the plant and compare the data to other related species of the same genus. The macro and microscopic description of the barks was performed, as well as the establishment of quality control parameters such as the total ash ( $6.47 \pm 0.58\%$ ) and insoluble ash ( $1.08 \pm 0.43\%$ ), water-soluble extractives ( $12.03 \pm 0.81\%$ ), total alkaloids content ( $0.081 \pm 0.0081\%$ ) and loss on drying by gravimetric method ( $10.54 \pm 0.009\%$ ) and infrared balance ( $10,39 \pm 0.07\%$ ). It was established that the more favourable condition for the production of crude extract of *E. verna* is the decoction of powdered bark in hydroalcoholic solvent. Based on the chromatographic profile of alkaloids of *E. verna*, it was possible to identify the presence of erythravine through isolated/identified coinjection product, as well as to compare the profile of the different parts of the plant and still confronting data *E. verna* to other species of the genus.

**Keywords:** *Erythrina verna*, Alkaloids, Quality Control



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	7
2.1 OBJETIVO GERAL.....	9
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	9
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	11
3.1 FAMÍLIA FABACEAE.....	13
3.2 GÊNERO <i>Erythrina</i> .....	14
3.3 A ESPÉCIE <i>E.verna</i> .....	22
4. MANUSCRITO I.....	27
5. MANUSCRITO II.....	53
6. DISCUSSÃO GERAL.....	71
7. CONCLUSÕES.....	77
8. REFERÊNCIAS.....	81
9. ANEXOS.....	95





## **1. INTRODUÇÃO GERAL**



Há muitos anos as plantas com propriedades medicinais vêm sendo utilizadas para suprir necessidades de tratamento, e em muitas vezes, as necessidades de assistência médica primária da população. Em nações em desenvolvimento, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 80% da população dependam da medicina tradiional. Além disso, pesquisas relatam que no mercado mundial, cerca de 50% das plantas comercializadas são destinadas a alimentação, 25% a produção de cosméticos, 20% a indústria farmacêutica e 5% a outras atividades, sendo estimado em 10000 o número de espécies vegetais medicinais (Mello, 2007).

Nas últimas décadas, o aumento do consumo dessas espécies se deve a fatores, tanto econômicos, quanto à procura de uma medicina alternativa, das quais podemos destacar o uso de produtos orgânicos, compostos naturais que são considerados produtos menos agressivos à natureza e à saúde das pessoas. Diante de tal mudança, empresas do segmento farmacêutico e alimentício estão adaptando suas linhas de produtos a fim de atender a expectativa de tais consumidores através de pesquisas de novos ingredientes para incorporar aos produtos já existentes ou da elaboração de novas linhas de produtos (Migliato *et al.*, 2007).

Aliada a essa tendência de mercado, está a biodiversidade das florestas brasileiras, que representam a maior fonte de matéria-prima para a produção industrial de medicamentos, sendo que grande parte de suas riquezas encontra-se ainda sem estudos conclusivos.

Como exemplos desses produtos inserem-se os fitoterápicos, que consistem em medicamentos obtidos a partir de plantas medicinais e seus derivados e que devem apresentar efeitos terapêuticos comprovados, composição química definida, garantia de qualidade e segurança de uso para a população (Brasil, 2010). Estima-se que o mercado mundial de fitoterápicos movimente cerca de US\$ 21,7 bilhões por ano. O mercado nacional de fitoterápicos é composto por 119 empresas que possuem registro de seus produtos junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA),

movimentando aproximadamente US\$ 300 milhões por ano (Carvalho *et al.*, 2007; Carvalho *et al.*, 2008).

Levantamentos demonstraram que, até março de 2008, haviam 512 medicamentos fitoterápicos registrados na ANVISA, sendo 80 fitoterápicos associados e 432 simples. Esses medicamentos são produzidos a partir de 162 espécies vegetais que possuem derivados registrados (matéria-prima vegetal e extratos) junto à ANVISA, cabendo destacar que a grande maioria dessas plantas (70%) não são nativas da América do Sul (Carvalho *et al.*, 2007; Carvalho *et al.*, 2008).

Atualmente, o Governo Federal tem estimulado, nos programas de saúde pública, o atendimento primário através do Programa de Saúde da Família (PSF), sob o enfoque da prevenção de estados patológicos. Deste modo, a dita prevenção pode ser viabilizada com a utilização de terapias tradicionais, como o emprego de plantas medicinais com atividades farmacológicas estabelecidas. Cumpre referir que o órgão responsável pela normatização do setor de programas de saúde é a ANVISA, que tem por objetivo proteger e promover a saúde da população, através da garantia da segurança sanitária de produtos e serviços a ela disponibilizados no mercado (Brasil, 1999; Silva *et al.*, 2006). Ultimamente várias foram as políticas públicas relacionadas à saúde, o que corrobora a tese da crescente utilização de plantas medicinais na prevenção e no tratamento de enfermidades (Brasil, 2006a,b).

Recentemente, o Ministério da Saúde publicou, através do Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos, uma lista contendo as 71 plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao SUS (Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS-RENISUS) (Rensisus, 2009). Dentre as espécies descritas na lista supramencionada, encontra-se a leguminosa *Erythrina verna* Vell de sinonímia *Erythrina mulungu* Mart, da família Fabaceae. Trata-se de uma espécie arbórea nativa do sudeste do Brasil, que mede cerca de 15 metros, com flores vermelho-vivo em cacho, folhas compostas, trifoliadas e grandes (em média atingem 12 cm). Popularmente a *E. verna* é conhecida por mulungu, amansa-senhor, bico-de-papagaio, canivete, corticeira, flor-de-coral, suína-suinã, árvore-de-coral, mulungu-

coral, capa-homem, tiririceiro, entre outros (Lorenzi, 1992; Bisby *et al.*, 1994; Onusic *et al.*, 2003, Dantas *et al.*, 2004; Pereira e Machado, 2008).

É de longa data o interesse pelas propriedades dessa planta, já que suas cascas estão inseridas na primeira edição da Farmacopéia Brasileira, que entrou em vigor através do Decreto n° 17.509, de quatro de novembro de 1926. A monografia apresenta a descrição macro e microscópica das cascas da planta, bem como restritas provas de investigação, controle de impurezas e avaliação de sua atividade biológica.

É importante destacar que as informações bibliográficas disponíveis sobre a espécie *E. verna* são escassas restringindo-se, principalmente, à investigação da atividade farmacológica e caracterização de alcalóides das flores. Desta forma, não estão disponíveis nas bibliografias consultadas, dados químicos para a realização do controle de qualidade da droga vegetal preconizada pela farmacopéia Brasileira, as cascas. Os dados disponíveis são referentes aos alcalóides com núcleo eritrínico (derivados do precursor biosintético (*S*)-*Nor*-reticulina - por exemplo: erisotrina, erisotrina-*N*-óxido, eritartina e eritartina *N*-óxido), que são também comuns a outras espécies do gênero *Erythrina*, o que, eventualmente, permitiria a utilização de extratos de espécies distintas da oficial (Bisby *et al.*, 1994; Cornelius *et al.*, 2009, Reimann, 2007).

Agravante considerável são os relatos de que as sementes de *E. verna* apresentam certa toxicidade, podendo levar à problemas desde que existam outros fatores de risco associados, tais como o uso concomitante de outros medicamentos (Lorenzi, 2002). Sendo assim, também é de interesse verificar se a composição química das cascas difere das sementes.

Ao observarmos o mercado de matérias-primas para a produção de fitoterápicos à base de *E. verna*, percebe-se que a grande maioria dos fornecedores comercializa o produto pelo nome popular de mulungu. Isso se torna problemático, já que é sabido que *E. velutina* Willd também é conhecida popularmente como mulungu e apresenta composição química diferenciada (Bisby, *et al.*, 1994).

Esses fatores, combinados ao fato de que a maioria dos fitoterápicos é utilizada pela população sem indicação médica, torna imprescindível o estudo para a definição dos parâmetros de qualidade dos produtos disponibilizados no mercado nacional (Budel *et al.*, 2004).

O estabelecimento de critérios para o controle de qualidade e a padronização de medicamentos à base de plantas é, frequentemente, uma tarefa difícil devido a aspectos relacionados à falta de homogeneidade dos materiais vegetais e à ausência de caracterização botânica, que constituem uma ferramenta necessária para comprovação de espécies autênticas e distinção de adulterantes. A qualidade da matéria-prima também pode ser avaliada por outros aspectos, tais como testes de identificação e caracteres físico-químicos. Além disso, o perfil químico de extratos pode ser útil para a padronização destes extratos complexos, especialmente aqueles que têm componentes ativos indeterminados ou falta de um marcador químico definido (Barni *et al.*, 2009).

## **2. OBJETIVOS**





## 2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho visa estabelecer parâmetros para o controle de qualidade da matéria prima vegetal cascas de *Erythrina verna*, bem como comparar o perfil cromatográfico do extrato de alcalóides de suas diferentes partes e confrontar os dados a outras espécies do mesmo gênero.

## 2.2 Objetivos Específicos

- Descrever as características botânicas das cascas de *Erythrina verna*.
  - Caracterizar macro e microscopicamente o material.
- Determinar os parâmetros físico-químicos para o controle da matéria-prima vegetal.
  - Perda por dessecação;
  - Cinzas totais e insolúveis;
  - Teor de extrativos do material.
- Determinar as condições ideais para a produção de extrato bruto de *E. verna*
  - Otimizar os parâmetros tamanho de partícula, tempo, temperatura, razão massa/solvente, método extrativo e solvente ideal para a produção de extrato bruto.
- Determinar métodos para análise qualitativa e quantitativa da droga vegetal.
  - Desenvolvimento método por CLAE para a análise do perfil químico de *E. verna*;
  - Desenvolvimento de método volumétrico para a determinação do teor de alcalóides totais na droga vegetal.
- Comparar diferentes amostras por CLAE.
  - Analisar as diferentes partes de *E. Verna* quanto à composição do extrato de alcalóides;
  - Confrontar os dados de *E. verna* com diferentes espécies do gênero.



### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**



### 3.1 Família Fabaceae

A família Fabaceae é de ampla distribuição geográfica, além de ser uma das maiores famílias botânicas conhecidas, englobando 32 tribos cujos representantes apresentam os mais variados constituintes químicos. Em classificações mais recentes, autores distribuem as espécies da família em três subfamílias: Papilionoideae, Mimosoideae e Caesalpinioideae (Estrella *et al.*, 2010).

A subfamília Papilionoideae é a maior das subfamílias, é sendo representada por ervas, subarbustos, arbustos, árvores, trepadeiras e lianas. Suas folhas são pinadas, uni, tri ou plurifoliadas com inflorescências racemosas ou paniculadas. Suas flores apresentam corola papilionácea, simetria zigomorfe e prefloração imbricada vexilar, androceu com no máximo 10 estames e ginesceu uni ou pluricarpelar (Rodrigues e Garcia, 2007).

Essa família pode ter sua importância medida no número de elementos a qual é constituída, sendo composta por 730 gêneros (abarcando cerca de 19.400 espécies) a qual se destaca pela grande importância/representatividade que possui na composição de matas nativas. No Brasil, por possuir uma rica diversidade de biomas e ampla extensão territorial, sua importância não poderia ser diferente, chegando a apresentar cerca de 188 gêneros e 2.100 espécies nativas (Dutra *et al.*, 2008; Estrella *et al.*, 2010).

De ocorrência mundial, a família Fabaceae distribui seus indivíduos pelos mais distintos pontos do planeta, abrangendo as regiões frias, temperadas e tropicais. São amplamente conhecidas, além da importância econômica, pelas suas características ornamentais, forrageiras, produtoras de óleos e resinas, inseticidas e principalmente pela presença de substâncias de interesse farmacológico (De Oliveira, 2009). Seus frutos e sementes são muito utilizados como alimentos e, a madeira por ela produzida, está entre as mais valiosas do mundo (*apud* Reis & Martins da Silva, 2008).

Outro aspecto de igual importância refere-se a sua capacidade de se associar-se a bactérias fixadoras de nitrogênio em suas raízes, como *Rhizobium* e ao *Bradyrhizobium*, formando nódulos nas raízes que propiciam diversas estratégias para o aumento do fornecimento de nutrientes, o que as torna uma das alternativas mais utilizadas para reduzir custos na agricultura (Dutra *et al.*, 2008; *apud* Reis & Martins da Silva, 2008).

Dentre os gêneros de destaque nesta família *Erythrina* apresenta grande representatividade graças aos alcalóides presentes na planta, para os quais, são comprovadas atividades farmacológicas, como por exemplo, ansiolítica comparada a fármacos tradicionais (De Oliveira, 2009).

### **3.2 O Gênero *Erythrina***

O gênero *Erythrina* é constituído por plantas robustas, que podem ocorrer em uma ampla variedade de habitats, desde bosques tropicais chuvosos de terras baixas a desertos subtropicais muito áridos e até em bosques montanhosos de coníferas acima de 3.000 metros (Neill, 1993).

A maioria das espécies do gênero é constituída por árvores ou arbustos e poucas são ervas perenes, apresentando flores de coloração vermelha ou alaranjada. As eritrinas encontradas no Brasil são destinadas principalmente ao paisagismo e recuperação ambiental, sendo que suas partes também são utilizadas para a produção de artefatos rurais e musicais, medicamentos, material para tingimento e bóias para pesca (Silva, 2008).

Embora as Fabaceae sejam polinizadas principalmente por abelhas, o gênero *Erythrina* foge a esse padrão, sendo polinizado por beija-flores. Essa característica se deve a suas definições morfo-fisiológicas que estão relacionadas com a síndrome de ornitofilia (néctar abundante e pouco viscoso, ausência de odores, antese diurna e corola tubulosa geralmente laranja ou vermelha). Em ecossistemas naturais, as árvores

servem de suporte para grande número de espécies de orquídeas, principalmente do gênero *Cattleya*, muitas delas em vias de extinção (Costa e De Moraes, 2008; Silva, 2008).

No Brasil podem ser encontradas 11 espécies de *Erythrina* disseminadas pela mata atlântica, cerrado, caatinga do nordeste e floresta amazônica. São elas: *E. amazonica* Krukoff, *E. crista-galli* L., *E. dominguezii* Hassl., *E. falcata* Benth., *E. fusca* Lour., *E. poeppigiana* (Walp.) Cook, *E. similis* Krukoff, *E. speciosa* Andrews, *E. ulei* Harms, *E. velutina* Willd. e *E. verna* Vell. (Lima, 2010).

A flora sul-rio-grandense conta com duas espécies principais: *Erythrina crista-galli* L. (corticeira-do-banhado) e a *Erythrina falcata* Benth (corticeira-do-mato) e ambas não são endêmicas do Brasil. Porém, dos exemplares encontrados no Brasil, destacam-se a *E. velutina* e *E. verna* como as de maior relevância, sendo elas, alvo de pesquisas quanto à sua constituição química e atividade biológica dos compostos presentes (Tabela 1, em anexo) (García-Mateos *et al.*, 1998; Virtuoso *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2008; Costa e De Moraes, 2008; Craveiro *et al.*, 2008).

Pesquisas sobre o gênero sempre se mostraram promissoras e inúmeros alcalóides já foram isolados (Tabela 2, em anexo). Altamirano e Domínguez (1888), confirmado por Ramirez e Rivero (1935), demonstraram a atividade relaxante (*curare-like*) dos extratos de *E. americana*. Décadas depois, Folkers e Major (1937) publicaram o primeiro estudo químico no qual se vincula a substância isolada à atividade farmacológica. O artigo intitulado “*Isolation of Erythroidine, an alkaloid of curare action, from Erythrina americana Mill.*” relata o isolamento do alcalóide na forma de cristal (eritroidina) o qual foi testado quanto a sua atividade relaxante e seus efeitos toxicológicos. Estudo este, complementado por Unna e colaboradores (1943) e mais recentemente por Garín-Aguilar e colaboradores (2000), demonstrou que a administração de 3 mg/kg do extrato metanólico e hexânico além dos alcalóides das sementes reduziram o nível de agressividade de ratos. Além da eritroidina estão relatados em *E. americana* os alcalóides erisodina, erisopina, erisotiopina, 11-hidroxiserisodina, erisovina, 11-β-hidroxiserisovina, 8-oxoerisovina, eritrabissina, 11-β-

metoxieritrabissina, eritrabissina-*N*-Oxido e eritrabissina (García-Mateos *et al.*,1998; *apud* De Oliveira, 2009).

Pesquisas realizadas no gênero abrangem as mais diversas atividades farmacológicas e grupos químicos, cabendo destacar pesquisas realizadas por Pillay e colaboradores (2001) que determinaram que o extrato etanólico e de acetato de etila de *E. caffra*, *E. latissima* e *E. lysistemom* demonstraram alta atividade inibindo a glicoproteína ciclooxigenase, enzima esta, que é responsável pela formação de importantes mediadores biológicos e quando inibida pode aliviar os sintomas de inflamação e dor. *E. lysistemom*, nativa do continente africano, apresenta os alcalóides erisodina e hidróxierisodina em suas flores, os quais apresentam propriedades antioxidantes frente aos radicais DPPH, apresentando IC<sub>50</sub> com valores de 150 e 200 µg/mL, respectivamente, após 30 minutos (Juma e Majinda, 2004). Seus pterocarpanos (erilisina A, cristacarpina e eristagalina) extraídos do extrato metanólico são capazes de inibir, em testes *in vitro*, a enzima tirosina fosfatase 1B, apresentando valores de IC<sub>50</sub> que variam de 1,01 ± 0,3 a 18,1 ± 0,91 g/mL (Dao *et al.*, 2009).

Dentre os demais metabólitos isolados de *E. lysistemom*, pode-se destacar os flavonóides burtinona, lonchocarpol A, lysisteiisoflavanona, senegalenseina bem como os alcalóides erisonina, erisodina, erisopina, erisovina, erisovina-11-metoxi, erisodina-*N*-oxido, eritrabissina, eritristemina, 11β-hidroxierisotrina, 11-β,α-hidroxierisotrina-*N*-oxido e eritrartina-*N*-oxido (Juma e Majinda, 2004; *apud* De Oliveira, 2009).

Em *E. latissima*, nativa do sul do continente africano, Chacha e colaboradores (2005) isolaram os flavonóides erilatissima A-C que apresentaram atividade inibitória frente à *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Candida mycoderma*.

Outra espécie bastante estudada é a *E. senegalensis*, que é oriunda do continente africano e que apresenta atividades antimalárica, analgésica e antiinflamatória *in vivo* no extrato aquoso de suas cascas. A atividade antiparasitária do extrato foi confirmada frente ao protozoário *Plasmodium berghei*, causador da malária, pelo teste de cura no



qual as doses de 50 e 100 mg/kg apresentaram média de sobrevivência de 7, 6 e 8 dias. As atividades analgésicas e antiinflamatórias foram evidenciadas pelos testes de contorções abdominais induzidas por ácido acético e por edema de pata de rato, os quais demonstraram a atividade dos extratos nas concentrações de 50 e 100 mg/kg de extrato aquoso (Saidu *et al.*, 2000).

Atsamo e colaboradores (2011) verificaram a toxicidade subcrônica e aguda do extrato aquoso das cascas de *E. senegalensis* em roedores. No tratamento agudo nenhuma das doses utilizadas induziu a mortalidade ou algum tipo significativo de mudanças comportamentais. Já no teste subcrônico, a dose de 600 mg/kg de extrato foi administrada por uma semana, sendo que ao término do estudo não foi encontrada nenhuma alteração no peso dos órgãos ou em sua atividade funcional.

Ainda, *E. senegalensis* foram isoladas e identificadas as seguintes substâncias: erisonina, erisodina, eritrabissina, hipaforina, alpinumisoflavona,  $\beta$  amyrina, lonchocarpol A, astragalina, auriculatina, lupinifolina, maniladiol, ácido oleanólico, iso-quercitrina, senegalensina, erisenegalenseina M, tectorigenina, dentre outros (Wandji *et al.*, 1995; *apud* De Oliveira, 2009).

Em *E. subumbrans*, nativa da Ásia, estão relatados os seguintes compostos: faseolina, 5-hidroxisofofanona, glabrol, neisoflavona, erisubina F, eribraedina A-B, eritrabissina-1, eritrabissina II, eristagalina A, ericristagalina, erisodina, erisovina, erisolina, erisopina, eritrabissina e outros (Rukachaisirikul *et al.*, 2007; *apud* De Oliveira, 2009). Rukachaisirikul e colaboradores (2007) isolaram os pterocarpanos eribraedina A, eritrabissina II, ericristagalina que são mais ativos que os medicamentos referência vancomicina e oxacilina para o tratamento frente às cepas de *Streptococcus* e *Staphylococcus*, em uma faixa de concentração inibitória mínima (MIC) que varia de 0,39–1,56  $\mu\text{g/ml}$ , inclusive contra as formas multiresistentes dessas cepas.

Ainda quanto aos pterocarpanos presentes no gênero *Erythrina*, Innok e colaboradores (2009 e 2010) creditarem a atividade antibacteriana à presença destes no

extrato dos galhos de *E. fusca* Lour. Para esta espécie, ainda são relatados os seguintes metabólitos: fuscacarpanos (A-C), faseolidina, eritribissina A, eritribissina I, demetilmedicarpina, erivarina D, eripoegina I, hidroxicristacarpona, orientanol A, upinifolina, lonchocarpol, agenisteina, liquiritigenina, isoliquiritigenina, vestitona, 8-oxo-(+) erisodina, erisopina e eritribissina (De Oliveira, 2009; Innok *et al.*, 2009; Innok *et al.*, 2010).

Outros relatos na literatura demonstram que extratos de folhas e cascas de *E. fusca* inibiram o crescimento do vírus do herpes simplex tipo 1 a uma concentração média efetiva de 243 µg/mL e ao vírus herpes simplex tipo 2 a uma concentração média efetiva de 109,5 µg/mL (Pino-Rodríguez *et al.*, 2004).

Dentre as mais variadas atividades relatadas ao gênero *Erythrina*, Djiogue e colaboradores (2009 e 2010) destacam a afinidade aos receptores estrogênicos ( $\alpha$  e  $\beta$ ) dos isoflavonóides isolados em *E. poeppigiana*. Para essa espécie estão relatados na literatura a presença de alpinumisoflavona, angolensina, cristacarpana, eribidina, eripoegina, eripostirena, erisodina, eripoegina F, erisotiopina, erisoína, ericristagalina, eritribissina C, eritribissina,  $\alpha$ -eritribissina,  $\beta$ -eritribissina, eriaristireno, erivarina A e D, folitenol, dimetil medicarpina, *N-Nor* Orientalina, faseolidina, sandwicensina e soforapterocarpana (Tanaka *et al.*, 2002; Tanaka *et al.*, 2003; Tanaka *et al.*, 2004; De Oliveira, 2009). Para os isoflavonóides presentes nesta espécie, Sato e colaboradores (2003 e 2006) relataram a atividade antibacteriana do extrato das cascas, raízes e do composto isolado (3,9-diidroxil-10- $\gamma,\gamma$ -dimetilalil-6 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -desidropterocarpano) frente à *Staphylococcus aureus* meticilina-resistente, este último na concentração inibitória mínima (MIC) de 12,5 µg/ml.

Substâncias como sigmoidina A e scandenona, isoladas das cascas dos galhos de *E. sigmoidea* Hua e *E. eriotricha* Harms apresentaram-se eficazes contra *Staphylococcus aureus* (Nkengfag *et al.*, 1997). Além disso, estão relatadas as seguintes substâncias isoladas para *E. sigmoidea*: abissinona IV, V e VI,  $\beta$ -amirina, astragalina, ducoesterol eritribissina II, eritribissina (B e C), iridina, irigenina, maniladiol, faseolidina, iso-quercitrina e algumas sigmoidinas (*apud* De Oliveira,

2009). Já *E. eriotricha* tem relatos da presença de abissinona V, auriculatina, erioculatina, eriotrichina B, eriotrinol, eriotriochina, eribraedinas, eritrabissina, eritrabissina, sigmoidina A, sigmoidina C, dentre outros (De Oliveira, 2009).

Orihuela e Ishiyama (2006) demonstraram que o decocto (2 g/20 mL) das cascas de *E. falcata* apresenta propriedades abortivas por dificultar a implantação do embrião na parede do útero e pela capacidade de influenciar nos processos de multiplicação celular (processo de mitose diminuindo o número de células embrionárias) de camundongos. Os estudos quanto à composição química de *E. falcata* encontram-se mais iniciais, sendo que até agora foram relatados alanina,  $\beta$ -alanina, ácido aspártico, ácido  $\gamma$  aminobutírico, eritrabissina em sua composição química (De Oliveira, 2009).

Em seu estudo, Cui e colaboradores (2008) demonstraram que o extrato das cascas de *E. abyssinica* apresentou atividade inibitória *in vitro* da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP) com um  $IC_{50}$   $13,9 \pm 2,1$  a  $19,0 \pm 1,8$   $\mu$ M. Essa enzima exerce efeito positivo e negativo nas vias de sinalização de vários processos biológicos. Nesse trabalho, foi relatado o isolamento de doze novas flavanonas.

Considerando o uso de *E. speciosa* pela medicina popular das regiões sul do Brasil, Lollato e colaboradores (2010) verificaram a ação dos extratos aquosos e da fração diclorometano das folhas sobre o comportamento de camundongos. Os resultados encontrados sugeriram que o extrato aquoso diminuiu a locomoção nas doses de 50, 100 e 400 mg/kg e o levantar (50 e 400 mg/kg) no teste de campo aberto, mas não alterou nenhum dos comportamentos avaliados nos testes de labirinto em cruz elevado, *rotarod* e sono induzido. Aliado a esses dados, os pesquisadores também avaliaram a dose letal para 50% da população (DL50), estabelecendo que doses maiores que 2000 mg/kg para ambos os extratos (extrato aquoso e fração diclorometano) foram consideradas tóxicas, informação esta, importante como indicativa da baixa toxicidade aguda desta planta já que dificilmente se administrará uma dose em tal magnitude. Quanto aos alcalóides contidos em *E. speciosa*, há relatos

da presença de erisonina, erisopina, erisodina, erisotrina, eritrartina, nororientalina, erisovina e eritrabissina em suas sementes (Faria *et al.*, 2007; De Oliveira, 2009).

No campo de pesquisas que visam à descoberta de novas substâncias com ação em doenças negligenciáveis, foi demonstrada a atividade *in vitro* do extrato etanólico das folhas de *E. speciosa* frente às formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi* (cepa Y<sup>9</sup>), fato relevante visto o baixo interesse da indústria farmacêutica por esse tema, justificado pelo reduzido potencial de retorno lucrativo para a indústria, uma vez que a população atingida é de baixa renda e presente, em sua maioria, nos países em desenvolvimento (*apud* Faria *et al.*, 2007).

Outro efeito biológico verificado foi a capacidade dos alcalóides presentes em *E. latissima* (semente, vagem e flores) de inibir a ação da lagarta *Spodoptera littoralis* na ingestão de couve (*Brassica pekinensis*) quando suas folhas são molhadas com solução de tais alcalóides (Cornelius *et al.*, 2009), sugerindo uma nova importância para o gênero no controle biológico de pragas. De Oliveira (2009), em sua revisão, relata a presença de eribraedina A, erisodina, erisopina, erisovina, eritrabissina, sigmoidina (A, B,C e F), siringaresinol, neobavaisoflavona, neorautenol, dentre outros.

Como mencionado anteriormente, grande parte dos estudos referentes ao gênero está associada à espécie *E. velutina*, cujas atividades foram extensamente testadas. Marchioro e colaboradores (2005) demonstraram que 300 mg/kg e 600 mg/kg do extrato bruto de suas folhas apresentaram atividade anti-nociceptiva, reduzindo em 88,8% e 96,4%, respectivamente, o número de contorções abdominais produzidas pelo teste de contorções induzidas por ácido acético. Por outro lado, Raupp e colaboradores (2008) atestaram que o tratamento crônico com 100 mg/kg de extrato hidroalcoólico das cascas de *E. velutina* apresentou atividade ansiolítica nos testes de labirinto em T elevado.

Dantas e colaboradores (2004) comprovaram que o extrato aquoso das folhas em baixas doses interfere nos processos de memória diagnosticados por testes como locomoção e habituação, potencialização do tempo de sono induzido por barbitúricos e

teste de memória como esQUIVA INIBITÓRIA. Ozawa e colaboradores (2008) demonstraram que o alcalóide hipaforina isolado das sementes de *E. velutina* aumenta em 33% o tempo de sono REM (movimento rápido dos olhos) em camundongos.

Pesquisas recentes, utilizando testes de contração da porção terminal do íleo de cobaia e envolvimento dos canais de cálcio e potássio, sugerem que o extrato aquoso possui importantes constituintes com atividade farmacológica, relacionadas à ativação dos receptores GABA<sub>A</sub>, liberação de acetilcolina, ativação dos receptores muscarínicos, aumento da entrada de cálcio pelos canais do tipo L e liberação das reservas intracelulares (Carvalho *et al.*, 2009).

Além dessas atividades, Virtuoso e colaboradores (2005) demonstraram que o extrato etanólico das cascas e fração hexânica apresentaram atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*. No que se refere às atividades atribuídas à *E. velutina* estas estão relacionadas a várias substâncias já isoladas, dentre estas destacam-se a erisodina, erisovina, eritribissina, erivelutinona, hesperetina, homoesperetina, hipaforina, faseolidina, sigmoidina, 4'-O-metil-sigmoidina, erisodina-N-óxido, dentre outras (Ozawa *et al.*, 2008; Ozawa *et al.*, 2009; Cabral *et al.*, 2009a; Cabral *et al.*, 2009b; *apud* De Oliveira, 2009).

Dentre as demais espécies do gênero, cabe destacar a presença dos alcalóides 11-acetil erisotrina, eritratidinona e a isoflavona alpinona isolados das cascas dos galhos e das flores de *E. stricta*. Esta planta ainda apresenta em sua fração clorofórmica elevada atividade antioxidante (Hussain, 2002; Umamaheswari *et al.*, 2009; Hussain *et al.*, 2011). Outros metabólitos foram isolados de diversas espécies do gênero, como por exemplo, 10-hidróxi-11-oxoerisotrina, eritarbina, 10,11-dioxoerisotrina, eritartina, erisotramidina, erisotrina-N-óxido, eribidina, naringenina, erisotiopina, eritrinarbina, eritrinina, erisodina, erisovina, erisopina, erisotiopina, erisodina, erisotrina, eritralina, laburnetina, isoerisenegalenseina E, 11-hidroxierisodina, erisovina-N-óxido, orientalina, faseolina e neorautenol em *Erythrina herbacea*, *Erythrina variegata*, *Erythrina arborescens*, *Erythrina addisoniae*, *Erythrina bidwillii* e *Erythrina crista-galli* (Willaman e Schubert, 1961; Ahmad *et al.*,

1979; Saqib *et al.*, 1985; Mayer *et al.*, 1999; Yu *et al.*, 1999, Tanaka *et al.*, 1998; Tanaka *et al.*, 2008; Xiaoli *et al.*, 2006; Wätjen *et al.*, 2007; Wätjen *et al.*, 2008; Cui *et al.*, 2009; De Oliveira, 2009).

### 3.3 A espécie *E. verna*

*Erythrina verna* Vell., popularmente conhecida como mulungu (Figura 1), é uma árvore endêmica de porte médio cujos domínios fitogeográficos encontram-se nos biomas Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica. É encontrada nas regiões Norte (Tocantins, Acre), Nordeste (Maranhão, Bahia), Centro-Oeste (Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal) e Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro) (Lima, 2010).



Figura 1: Árvore de *Erythrina verna* e seus farmacógenos, folhas, flores, casca e madeira.

Suas sinónimas botânicas são *Erythrina flammea* Herzog, *Corallodendron mulungu* (Mart. ex Benth.) Kuntze e *Erythrina mulungu* Mart. ex Benth (Tropicos). Popularmente também é conhecida como amansa-senhor, árvore-de-coral, bico-de-

papagaio, canivete, capa-homem, corticeira, flor-de-coral, suína, suiná-suinã, tiricero (Lorenzi, 1992).

Árvore eminentemente ornamental, que se propaga pelo enraizamento de estacas, presta-se para arborização de jardins e parques. É uma árvore de copa arredondada, um tanto espinhenta, decídua, de 10 a 15 metros de altura, com tronco revestido por grossa casca avermelhada corticosa e fissurada, de madeira leve, mole e macia, com baixa durabilidade quando exposta ao tempo (quando seca apresenta 68,16% de fibras, sendo assim de grande importância para a indústria do papel), seu caule mede de 40 a 50 cm de diâmetro com ramos expandindo-se em copa ampla e espinhos triangulares (Corrêa, 1984, Bittar, 2009).

Apresenta folhas compostas trifoliadas, com folíolos coriáceos medindo de 7 a 10 cm de comprimento, folíolos largos, rombóides; racemos laterais, recurvos, com mais ou menos 30 cm de comprimento; pedúnculo, arredondado que quando novo com pêlos tenuíssimos.

Sua floração dá-se a partir de meados de agosto quando a árvore encontra-se totalmente destituída da folhagem, prolongando-se até o final de setembro, suas flores são vermelhas, em cachos numerosos, com estandarte amplo, recurvo, com 4-5 cm de comprimento, lanceolada, falciforme, asas minúsculas e ovário piloso, reunidas em amplas panículas terminais que surgem quando a árvore já está quase sem folhas. Seus frutos são pequenos do tipo vagem, deiscentes, de 6 a 12 cm de comprimento, com 1 até 6 sementes de cor parda que amadurecem em outubro-novembro com a planta ainda sem folhas (Corrêa, 1984; Lorenzi e Matos, 2002; Bittar, 2009).

Popularmente, decoctos de folhas, sementes e cascas de caule de *E. verna* são usadas para o tratamento de insônia, depressão, bronquite, hepatite, gengivite, inflamações hepáticas e esplênicas, agitação, bem como anticonvulsivante, analgésico, sedativo, anti-térmico, antiasmático, em desordens do sistema nervoso central, inclusive como calmante para aliviar crises de histeria advinda de trauma ou choque e palpitações do coração (Sarragiotto *et al.*, 1981; Almeida, 1993; Cruz, 1995; Wandji *et*

*al.*, 1995; Anderson *et al.*, 1998; Rodrigues e Carvalho, 2001; Vasconcelos *et al.*, 2003; Borges *et al.*, 2005; Chacha *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2006; Flausino *et al.*, 2007a; Flausino *et al.* 2007b; Vasconcelos *et al.*, 2007; Pereira e Machado, 2008; Faggion *et al.*, 2011).

Dentre as atividades farmacológicas descritas para *E. verna*, por Flausino e colaboradores (2007a,b), destaca-se ação ansiolítica testada no extrato bruto das inflorescências e nos alcalóides isolados (eritravina e hidroxieritravina). Os resultados demonstraram atividade nas concentrações de 100 e 200 mg/kg de extrato bruto, 3 e 10 mg/kg de eritravina e 10 mg/kg para hidroxieritravina comparáveis ao diazepam. Cabe salientar que a hidroxierisotrina não apresentou a mesma atividade que os demais alcalóides.

Ainda em se tratando de alcalóides isolados de *E. verna*, Faggion e colaboradores (2011) demonstraram que os compostos eritravina e hidroxieritravina isolados das flores apresentaram atividade anticonvulsivante nos testes de indução por bicuculina, pentilenotetrazol (PTZ), ácido cáínico e *N*-metil D-Aspartato (NMDA), em doses de 1, 2 e 3 µg/µL.

Já Onusic e colaboradores (2002 e 2003) demonstraram que o tratamento crônico e agudo com o extrato hidroalcoólico das inflorescências apresentou atividade ansiolítica. Nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/kg o extrato bruto aumentou o tempo de início da locomoção sem interferir na atividade de locomoção e tempo de transição no modelo claro/escuro similarmente ao medicamento referência diazepam.

Vasconcellos e colaboradores (2003 e 2007) testaram atividades farmacológicas do extrato hidroalcoólico das cascas de *E. verna* e *E. velutina*. Num primeiro momento foi demonstrada a atividade antinociceptiva do extrato bruto de ambas as espécies, nas concentrações de 200 e 400 mg/kg pelo teste de contrações abdominais induzidas por ácido acético. Além disso, ambas as espécies apresentaram atividade anticonvulsivante nas concentrações de 200 e 400 mg/kg, no teste de convulsão induzida pela estriçnina.



Em estudo realizado no ano de 2005, Borges e colaboradores testaram a atividade hepatotóxica do extrato aquoso das cascas, sendo que para isso ratos Wistar foram tratados com o infuso por um período de sete dias (1,264 g/250 mL). As análises cariométrica e estereológicas apresentaram alterações leves não representativas de um perfil hepatotóxico irreversível.

Assim, como as demais pesquisas, Pereira e Machado (2008) também evidenciaram que a administração aguda intraperitoneal do extrato hidroalcoólico das cascas de *E. verna* proporcionou efeito ansiolítico, comparável ao fármaco clonazepam. Neste estudo também ficou determinado que a dose letal (DL<sub>50</sub>) do extrato foi de 1000 mg/kg e a do clonazepam em 50 mg/kg. Sendo assim, ficou estabelecido que as doses efetivas de *E. verna* encontram-se em torno de 10 a 50% da dose letal, diferentemente do clonazepam que apresenta doses efetivas na concentração de 50 a 250 vezes inferior à dose tida como efetiva, comprovando assim, sua segurança terapêutica.

Duarte e colaboradores (2010), em um estudo sobre a qualidade da matéria-prima vendida na cidade de Recife-PE, verificaram que o extrato metanólico dos caules de *E. verna* apresentou alta toxicidade frente ao camarão *Artemia salina*, com dose letal (DL<sub>50</sub>) de 25 µL/mL. Ainda nesse estudo, foi constatado que as amostras utilizadas não apresentaram um padrão químico definido, sugerindo que estas podem não ser correspondentes da espécie autêntica.

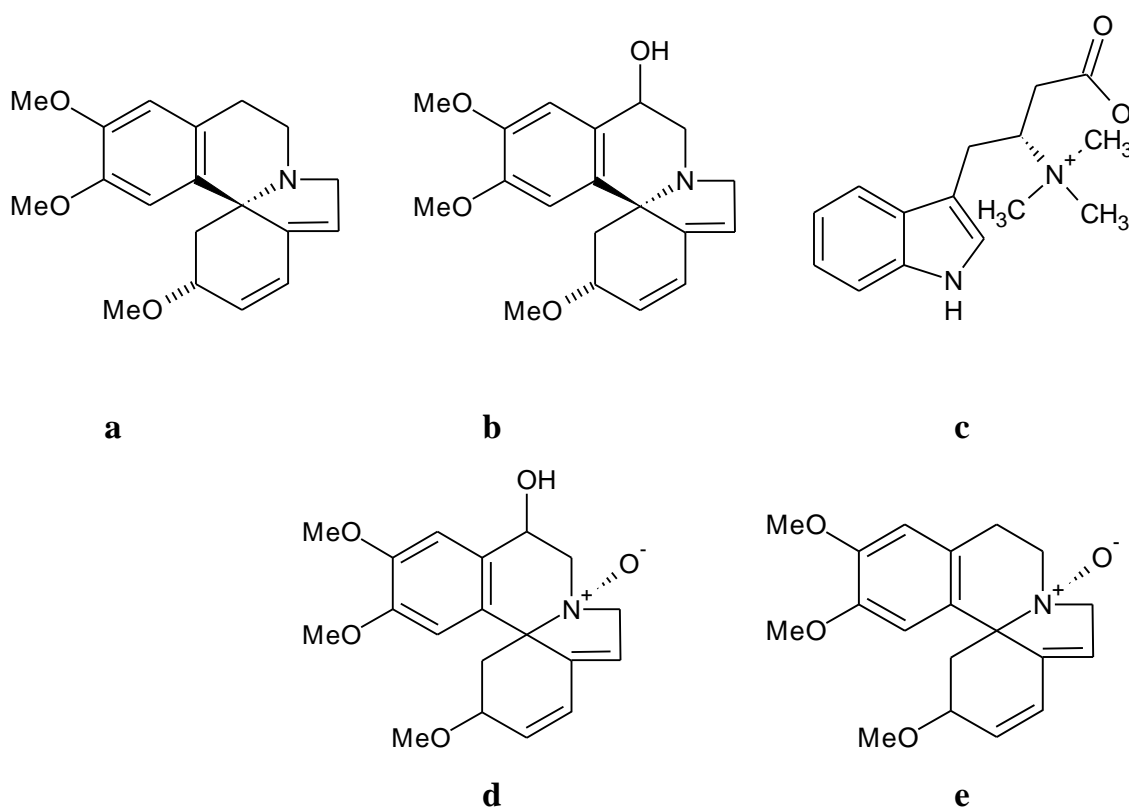
De Oliveira (2009) demonstrou que o extrato da raiz, casca da raiz, caule, casca do caule apresentaram uma inibição significativa para o teste de contrações induzidas por ácido acético na concentração de 100 mg/kg por via oral. Já nos testes de placa quente e ensaio de nocicepção induzida por formalina nenhum dos extratos apresentou atividade. No ensaio de peritonite, todos os extratos e a fração clorofórmica reduziram significativamente o número de células no lavado peritoneal.

Ribeiro e colaboradores (2006) determinaram que o tratamento crônico (50, 100 e 200 mg/kg) e o agudo (100, 200 e 400 mg/kg) de extrato hidroalcoólico das flores de

*E. verna*, não alteraram a habilidade motora de ratos para o teste de nado forçado, demonstrando assim, que sua atividade está desvinculada da atividade antidepressiva.

Ainda se tratando das atividades farmacológicas apresentadas por *E. verna*, Lima e colaboradores (2006) demonstraram a atividade antibacteriana do extrato etanólico das cascas, na concentração de 100 µg/mL, frente a cepas multiresistentes de *Staphylococcus aureus*.

No que tange aos achados químicos, Sarragioto e colaboradores (1981) e Flausino Jr (2007 a e b), isolaram os compostos erisotrina, eritartina, hipaforina, eritartina *N*-óxido e erisotrina *N*-óxido das flores de *E. verna*. As estruturas químicas dos alcalóides estão apresentadas na Figura 2.



**Figura 2:** Estrutura química dos alcalóides (a) erisotrina, (b) eritartina, (c) hipaforina, (d) eritartina *N*-óxido e (e) erisotrina *N*-óxido.





**MORPHOANATOMICAL STUDY OF THE BARK OF *ERYTHRINA VERA* VELL  
AND DETERMINATION OF PHYSICAL-CHEMICAL PARAMETERS FOR  
QUALITY CONTROL OF PLANT-RAW MATERIAL**

Douglas F. RAMBO<sup>a,\*</sup>, Carolina S. PASSOS<sup>a</sup>, Paulo R.H. MORENO<sup>b</sup>, Inês CORDEIRO<sup>b</sup>,  
Eliana NUNES<sup>c</sup>, Lilian A. MENTZ<sup>c</sup>, Marcia VIGNOLI-SILVA<sup>d</sup>, Amélia T. HENRIQUES<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga 2752, 90.610-000, Porto Alegre, RS, Brazil*

<sup>b</sup>*Instituto de Química, USP, Departamento de Química Fundamental, São Paulo, SP, Brazil*

<sup>c</sup>*Departamento de Botânica, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil*

<sup>d</sup>*UFFSCPA, Porto Alegre, RS, Brazil*

**\*Corresponding author**

Address: Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga 2752, 90.610-000, Porto Alegre, RS,  
Brazil

Tel.: 55-51-3308 5258

Fax: 55-51-3308 5437

E-mail: douglasrambofar@hotmail.com

## ABSTRACT

“Mulungu” (*Erythrina verna* Vell.), Fabaceae, is an arboreal species native to southeastern Brazil, used for some medicinal purposes such as nervous system disorders. The plant is characterized by the presence of alkaloids that has demonstrated anxiolytic activity. Due to this activity, this plant is part of the Brazilian National Program of Medicinal Plants and Herbal Medicines (Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS - RENISUS). However, little bibliographic information is available about the species, mainly regarding the acceptance criteria and authenticity of the raw material for phytotherapeutical purposes. This work aims to describe macro and microscopically the *E. verna* barks, and the physical-chemical parameters for the raw material quality control. In addition, the chromatographic profile of its alkaloid fraction and optimization of extraction methods for crude extract production were also performed in order to distinguish it from other similar species.

**Key Words:** *Erythrina verna*, Alkaloids, Quality Control, HPLC

## INTRODUCTION

Frequently, the standardization of herbal medicinal products is a difficult task due to aspects related with the lack of homogeneity in plant material, and the absence of botanical characterization, which is an important tool for authentication of the genuine species and distinction of adulterants. The quality of the raw-material is also related with other aspects, such as identification tests and the physicochemical characters. Moreover, extracts with well defined constituents are a requirement for consistency in quality control and the chemical profile can be a useful tool for the standardization of these complex extracts, specially those that have undetermined active constituents or chemical marker.

“Mulungu” (*Erythrina verna* Vell.), Fabaceae, is an arboreal species native to southeastern Brazil, used for some medicinal purposes such as nervous system disorders. Among the pharmacological activities described to *E. verna*, stand out the anxiolytic effect in mice models, both crude extract<sup>1,2,3</sup> and isolated compounds, erythravine and hydroxyerithravine<sup>3</sup>.

In addition, others central nervous system (CNS) effects were described for extracts obtained from *E. verna* and *Erythrina velutina* Willd. hydroalcoholic extracts showed antinociceptive activity in three experimental models of pain in mice after intraperitoneal acute treatment<sup>4</sup>. In a subsequent investigation<sup>5</sup>, it was demonstrated that oral and intraperitoneal acute treatments with water-alcohol extracts from stem bark of *E. verna* and *E. velutina* displayed depressant effects on the CNS, characterized by a decrease in the locomotor activity of female mice on the open field and elevated T maze tests.

It is long-standing the interest by this plant properties, since it is described in the first Brazilian Pharmacopeia, which entered into force by Decree n° 17.509, of 4 november 1926. The monograph presents the description of macro and microscopic plant barks, as well as their research evidence, control of impurities and evaluation of their biological activities<sup>6,7</sup>.

The first chemical study of *Erythrina* species was published in 1937<sup>8</sup>. This paper started a series of works that lead to the isolation and identification of several types of substances from the bark and leaves, among them the alkaloids erythravine, erysothrine and

erythartine. Subsequently, additional works have enabled the identification of other metabolite groups of in *E. verna*, such as flavonoids and terpenes<sup>9,10</sup>.

For the national market of herbal medicines, it was noticed that the vast majority of the suppliers of the raw material, *Erythrina* barks, sell the product only by the denomination of “mulungu”. This becomes a problem, since it is known that *E. velutina* is also known popularly as “mulungu”, presenting differentiated qualitative and quantitative chemical composition<sup>11</sup>. Bisby (1994)<sup>11</sup> reported the presence of erysodine, erysovine and erythraline in *E. velutina* and in *E. verna*, erysothrine, erysothrine *N*-oxide, erythartine and erythartine *N*-oxide.

Due to scarce botanical and physicochemical studies of *E. verna*, it is essential to determine specifications that regulate and insure quality of such raw-material. Considering this point, the present study was undertaken to develop a botanical characterization and physicochemical quality control tests of *E. verna*.

The species is a medium height well-branched tree native to Southern Brazil, where it occurs in the States of São Paulo and Minas Gerais. It is also found in some forests near the basin of the Paraná river and in regions of the Brazilian cerrado<sup>12,13</sup>. Popularly, *E. verna* is known as mulungu, amansa-senhor, bico-de-papagaio, canivete, corticeira, flor-de-coral, suína-suinã, árvore-de-coral, mulungu-coral, capa-homem and tiriceiro<sup>12</sup>. In folk medicine, decoctions of its barks and flowers are employed to treat health conditions as agitation, asthma, inflammatory processes, cough and disorders of the nervous system, such as insomnia, anxiety and depression<sup>14,15</sup>.

## **MATERIALS AND METHODS**

### ***Plant Material***

Barks from young and older branches of *E. verna* were collected at the Botanical Garden of São Paulo (São Paulo-SP) in May 2009. A sample was identified and the voucher was deposited in the Herbarium of the Instituto de Botânica as Cordeiro 3091.



### ***Botanical Description***

Young and older barks were softened in equal parts of water, ethanol and glycerin for about two weeks. Transverse, longitudinal and tangential sections were done with razor blades and the slices were mounted in glycerin jelly<sup>16</sup>. Barks were also powdered and slices prepared after cleared in solution of chloral hydrate and glycerin. The illustrations were done with a stereomicroscope Wild M5A and an optic microscope Olympus CB equipped with a drawing apparatus. Histochemical tests were realized to detect cell walls of cellulose with toluidine blue<sup>17</sup>, lignin with phloroglucinol<sup>18</sup>, lipids with Sudan IV<sup>18</sup>, starch grains with Lugol reactive<sup>19</sup>, and mucilage with Chinese ink<sup>20,21,22,23,24</sup>.

### ***Impurities***

The powdered barks of *E. verna* were submitted to impurities tests to determine the water-soluble extractives and weight loss upon drying. The referred tests were carried out according to the Brazilian Pharmacopoeia (1988)<sup>25</sup> and Bundesvereinigung (1986)<sup>26</sup>, and the weight loss was measured also by infrared balance. This assay was performed in triplicate for samples of 1 g, employing an infrared balance model Bel Mark Top Ray page 220 g. The temperature specified in the batch job was 105 °C. The minimum temperature was set in 50 °C in the beginning of the process. The parameter analysis was an increase of 0.20 °C every 10 seconds. The result was automatically supplied by the balance software. Moreover, the extractive conditions were optimized regarding the particle size, extractor solvent, and extraction time and temperature.

### ***Optimization of extractive conditions***

The material was ground and classified accordingly with their particle diameter. Subsequently, the samples were submitted to static maceration in methanol:water (70:30; v/v) and the yields were compared aiming to establish the optimum particle size distribution. After the determination of the optimum particle size, different extractive methods were evaluated.

The method chosen was based on conventional production of plant extractives. The extracts were prepared in a ratio of 1:10 (w/v) of plant material: solvent (methanol/water, 70:30 v/v) and the conditions tested consisted of static maceration (in a Erlenmeyer flask for 15 minutes), decoction (70 °C for 15 minutes, coupled to a reflux condenser), infusion (solvent extractor at 70 °C and allow cooling for 15 minutes in a closed flask with a watch glass), turbo extraction (for 15 minutes in a Blender) and ultrasonication (15 minutes).

The effect of time was evaluated by comparing the extraction yields of the maceration process after 24, 48 and 72 hours and the temperature influence by comparing the maceration on room temperature with the decoction at 40 °C and 60 °C for 1 hour. All methods was executed in triplicate.

### ***Chromatographic conditions***

HPLC analysis were performed on a Waters Alliance 2690 chromatograph using a photodiode array detector (DAD; UV/VIS Waters 996) and a Luna C18(2) column (Phenomenex; 5 µm, 250 x 4.6 mm) with a save guard column. UV spectra were recorded in the range of 200 to 400 nm. The mobile phase in channel (A) was water:trifluoroacetic acid (100:0.025;v/v) and in channel (B) acetonitrile. The gradient profile was: 0–10 min at 95:5% of (A:B); 10–30 min to 75:25%; 30–45 min to 65:35%; 45–60 min to 45:55% and 60–70 min to 100% acetonitrile of flow rate of 0.8 mL·min<sup>-1</sup>. The injected volume was 10 µL. The chromatographic peaks were detected and their identities were confirmed by co-chromatography and by comparison of the UV spectra with standards of the alkaloids using a DAD detector.

### ***Preparation of samples***

Samples of 1 g of bark *E. verna* were extracted with three portions of 10 mL of methanol/water (70:30) under static maceration in cycles of 6 hours, then the resulting solution was concentrated in vacuum to dryness. The dry crude extract obtained, was

resuspended in 150 mL of HCl 2 mol/L, transferred to a separation funnel and washed with two portions of 25 mL of hexane: ethyl acetate (1: 1).

For the selective extraction of alkaloids, extract was pH adjusted to 9-10 with ammonium hydroxide 25%, and partitioned 5 times with 25 mL of dichloromethane. After, the dichloromethane was eliminated resulting in a fraction of total alkaloids.

The alkaloid fraction contained in the round bottom flask was diluted with 500  $\mu$ L methanol, filtered through a PVDF membrane 0,45  $\mu$ m, then transferred to a vial for the chromatographic analysis.

## RESULTS

### *Drug Description*

#### *Macroscopical*

Currently barks of only two native Brazilian medicinal plants are collected and marketed in Brazil by the herbal industry, one from *Erythrina verna* Vell. and the other from *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (= *S. barbatimam* (Vell.) Mart.), Leguminosae-Mimosoideae, nowadays Fabaceae (APG III), the latter popularly known as “barbatimão”, which is listed in the fourth edition of the Brazilian Pharmacopoea<sup>27</sup>. In this sense, the comparison of two closed species is important for differentiating the material used to produce drugs safely. Other barks cited in the Brazilian Pharmacopoea are derived from importation to be commercialized in the country, *Cinchona pubescens* Vahl (Rubiaceae)<sup>22</sup>, *Cinnamomum verum* J.S. Presl (Lauraceae)<sup>22</sup> and *Rhamnus purshiana* DC. (Rhamnaceae)<sup>28</sup>. Macroscopically, the barks from the two Fabaceae species differ from each others by the form, appearance, texture and color, even considering that the bark of “barbatimão” in more developed stems may have a whitish appearance due to the presence of mosses.

The cortex of *E. verna* is sold in irregular size and shape pieces (Fig. 1.A-E). The bark fragments of the branches are thin, curved, pale brown-gray, with a very irregular and furrowed outer surface, and a whitish fibrous inner surface. The bark fragments of the older branches are light and thicker, less curved, brownish-gray to black, with irregular surface, showing deep longitudinal slits (Figure 1.C-D). The old bark shows crater form scars up to

1.0 cm in diameter and verrucous prominences, arranged irregularly (Figure 1.C); tapering (= conic) small and plain thorns may also occur. The inner surface of the latter fragments is often covered with woody, smooth and yellowish plates, interrupted by finely ribbed and whitish-cream regions (Figure 1.D). The cross section shows the cortex with an outer region corresponding to the darker cork and an inner whitish region, corresponding to the cortical parenchyma. In the lateral view, the outer cortex has the same color as the outer surface and the inner cortex is like the inner surface (Figure 1.E). Over the outer surface of young and old fragments there can also occur gray-green plaques of lichens. The fracture is fibrous in young barks and smoother in old barks.

The bark of “barbatimão” is reddish and very woody-fibrous, whereas the bark of mulungu has a brown color and is very soft and light. Internally the “barbatimão” bark is striate and has a reddish-brown color, while the bark of mulungu has a smooth surface and a whitish-yellow color. The macroscopic description agrees with those reported by Oliveira et al. (1991) and Brazilian Pharmacopeia 1ed. (1929) and 2ed (1959)<sup>29,30,31</sup>.

### ***Microscopical***

In front view, the young cortex of *E. verna* shows cells organized in different ways, and often they are square, thin-walled, rarely with lipid droplets and often aligned in rows with varying number of layers (Figure 1.F). The phellogen is composed of up to four layers of small tangentially flattened cells, with straight walls and dense protoplast.

In old barks, the cork cells showed many forms, more voluminous, tangentially flat, with straight walls and a few lipid droplets (Figure 1.G). In cross section, the cortex is formed by the cork, phellogen, chlorenchyma, cortical parenchyma and phloem (Figure 1.H). The cork shows a variable number of layers of small square cells, tangentially flattened, thick-walled, arranged in radial rows, some of them containing lipid droplets and other showing dense protoplast. The outer cells are generally smaller and with more deformed organization. The phellogen has cells as described for the front view, and is formed by a variable number of layers. According to the development of the bark, the cork shows several sets of alternating layers with the phellogen.

Often, more externally, several formations of phellogen are seen. The inner cork shows cells with a smaller volume. The chlorenchyma, when present, is formed by a few layers and shows polygonal cells with thick rounded, cell wall, with lipid droplets and a few chloroplasts. The cortical parenchyma cells are in general polygonal, with a larger volume than the chlorenchyma ones and with thinner walls and larger intercellular spaces and with simple and/or composed starch grains of small size and with few lipid droplets. More internally, the cortical parenchyma shows cells with greater definition, often with rectangular walls, higher volume and regular arrangement. Stone cells occur scattered in this tissue, most often grouped, with strongly lignified walls, with a large lumen and with evident canaliculi and pits. Fiber bundles are also common and are usually accompanied by a crystal idioblast bundle sheath, containing calcium oxalate crystals with different sizes and shapes. These crystals also occur in parenchyma cells. Sometimes the fibers show the stratification of the parietal layers and one can see lignified groups of cells and fibers, which in this case, are also accompanied by a crystal bundle sheath.

Parenchyma rays are irregularly distributed throughout the cortex and are formed in its outer limit by a row of rounded cells, with a larger volume than the internal ones and sometimes containing crystals. The internal cells are disposed in a regular and longitudinal way, in two to five rows and are usually elongated, rich in starch grains and show a few lipid droplets (Figure 1.H). Internally to the cortex, usually alternate with the parenchyma rays, there are regions formed by phloem, bundles of fibers, parenchyma and an amorphous substance (Figure 1.H). The bundles of fibers with small caliber and with a variable number of cells are accompanied by a crystal bundle sheath with irregular distribution.

Internally to the phloem fibers we found sieve tubs, which are few and very small, with dense contents. The parenchyma cells are roundish, with thick walls and have a greater volume than the other cells of the cortex and are very rich in lipid droplets. The amorphous substance has a variable form, without clear definition, and has usually a parallel arrangement to the cork and a yellow to orange content (Figure 1.H). Rarely orange, voluminous and thick-walled isolated cells occur in this parenchyma. In longitudinal tangential view, the cork cells are rectangular, with straight walls and arranged in rows, often with oblique end walls (Figure 2.D).

Crystal bundle sheaths appear intercalated with the cork cells and generally bound the parenchyma rays. The crystal bundle sheath is formed by up to four layers of square cells, with straight and slender walls and almost all cells have usually large solitary crystals with different forms, centrally located or disposed along one side of the cell wall (Figure 2.D). The parenchyma rays, composed by 2-6 cell rows, are ovoid-fusiform, with rounded cells, the outer one with a larger volume and the inner with a smaller and denser protoplast, rich in starch grains and with more developed intercellular spaces. Fiber bundles with a small caliber are accompanied by a crystal bundle sheath (Figure 2.D). In a radial longitudinal section the cortex shows the cork as described for the other sections, with a largest number of layers in the older cortex (Figure 2.A). The cortical parenchyma cells show various forms, with thin walls, starch grains and rarely lipid droplets. Isolated crystal idioblasts occur scattered in the cortex, and also clusters of stone cells and crystal bundle sheath, parenchyma rays, fiber bundles, among other characteristics as described above (Figure 2.B and Figure 2.C).

Microscopically, in cross section, the bark cells of “barbatimão” presents a tabular form and a regular arrangement, with reddish and thickened cell walls, while in mulungu the cells are of different shapes, and the cell walls are thin and show no staining. However, Metcalfe & Chalk (1950)<sup>32</sup>, for different *Erythrina* species, say that the cells of the outer cork are cubic and with thin walls. In this study we observed different cellular forms in the cork and Oliveira *et al.* (1991)<sup>30</sup> mention the same features found here. The cortex is highly developed and parenchymatous in the “mulungu” and “barbatimão” barks. Metcalfe & Chalk (1950)<sup>32</sup>, for the *Erythrina* genus, affirm that the bark cortex is formed by abundant parenchyma. The occurrence of parenchyma rays for *E. verna* was mentioned by Oliveira *et al.* (1991)<sup>30</sup> and by Brazilian Pharmacopeia 2ed (1959)<sup>31</sup>. Metcalfe & Chalk (1950)<sup>32</sup> reported for different species of *Erythrina* the occurrence of multiseriate rays, usually with 4-10 or more rows, no less than 4, with no sclerified cells, which is consistent with that here found for mulungu bark, which has rays formed by 2-6 cell rows with thin walls.

However, the Brazilian Pharmacopeia 2ed (1959)<sup>31</sup> mentions only 2-3 cell rows for this species. The presence of crystal sheath agrees with Oliveira *et al.* (1991)<sup>30</sup> and with Metcalfe & Chalk (1950)<sup>32</sup>, who mention that the crystals are found in the phloem sheath and in the sclerenchyma pericycle, and also often found isolated. In “barbatimão” and in “mulungu” barks the crystal sheath goes along with the phloem and the parenchyma rays, but in the mulungu bark they also occur as crystal idioblasts scattered in the parenchyma. The

same authors reported that the rhombohedral-type crystals are common in the sheath cells near the parenchyma rays, which was here confirmed for “mulungu”.

However, the crystals shapes are different in “barbatimão”, with a polyhedral type. The secondary phloem is formed by fibers, mucilage cells and rhombohedral crystals sheath, as reported by Metcalfe & Chalk (1950)<sup>32</sup>. The Brazilian Pharmacopeia 1ed (1929)<sup>29</sup> informs that no crystals and starch grains are found in “mulungu” bark, but in the second edition of the same Pharmacopoea starch grains are cited in the parenchyma rays and in the internal cortex, as found in this present study<sup>29,31</sup>. The occurrence of stone cells in the cortical parenchyma is also reported by Oliveira *et al.* (1991)<sup>30</sup> and Brazilian Pharmacopeia 1ed. (1929)<sup>29</sup> and 2ed. (1959)<sup>31</sup>; Metcalfe & Chalk (1950)<sup>32</sup> mention that sclerenchyma cells are unevenly distributed in the cortex in Papilionaceae (Fabaceae). Clusters of stone cells are found in the cortical parenchyma of “mulungu” and “barbatimão” barks, however in “barbatimão” such groups can be very dense and also the stone cells can form continuous layers, which are not observed in “mulungu” bark.

Metcalfe & Chalk (1950)<sup>32</sup> mention different types of secretory cavities for Papilionaceae, and for *Erythrina* secretory cells distributed in the cortex and in the phloem. However, for *E. verna* we found only mucilage cells in the cortical region. The same authors report that secreting cells showing brown color due to tannins, proteins, mucilage or other materials are found in the primary and secondary phloem and are rare in the primary cortex in Papilionaceae (Fabaceae). They also mention the presence of mucilage in the fibers or in scattered cells of the cortex, as well as the occurrence of tanniniferous cells. Such information agrees with the mucilage found in “mulungu”. For “barbatimão” bark there is no information about the presence of mucilage

### ***Microscopical description of the impurity***

The xylem, when present as an impurity, have no continuous distribution and is composed of well developed vessel elements of distinct caliber, and the parenchyma cells are rich in lipid droplets.

### ***Organoleptic characteristics***

The drug has a bitter taste and an unpleasant odor, which diminishes by desiccation.

### ***Powdered bark microscopical characteristics***

The powder meets all the requirements for the species, unless the macroscopic characters. The powder has a pale-brown color. With addition of chloral hydrate the characteristics are: fragments of cork, in frontal view (Figure 3.A); fragments of cork with cells filled with starch grains in tangential longitudinal section (Figure 3.B); fragments of cork cells, in cross section (Figure 3C); fragments of isolated cork cells, in cross section (Figure 3.D); fragments of the cortical parenchyma in cross section, containing lipid droplets (Figure. 3.E) and fragments of cortical parenchyma in cross-section, containing starch grains (Figure 3.F), and fragments of cortical parenchyma in cross-section, with crystal idioblasts (Figure 3.G); fragments of cortical parenchyma accompanied by crystal bundle sheath portion, in tangential longitudinal section (Figure 3.H); isolated parenchyma cell containing starch grains (Figure. 3.I); clusters of stone cells, in cross section (Figure 3.J); isolated stone cells, in cross-section (Figure 3.L); fragments of parenchyma rays accompanied by fibers, in tangential longitudinal section (Figure. 3.M); bundles of fibers partially surrounded by a crystal bundle sheath, in longitudinal section (Figure 3.N); bundles of fibers, in longitudinal section (Figure 3.O); fragments of bundles of fibers, in longitudinal section (Figure 3.P); isolated fibers (Figure 3.Q); fragments of crystal bundles, in longitudinal section (Figure 3.R); isolated crystal idioblast (Figure 3.S); simple and compounds starch grains isolated and/or grouped (Figure 3.T); isolated oxalate crystals, with different forms and sizes (Figure 3.U).



### *Quality Control of physicochemical parameters*

Medicinal plants are used as remedies in developed and developing countries, as many as fresh plant or raw material for the pharmaceutical industry, and represent a substantial proportion of the global drug market<sup>20</sup>. The acceptance of a plant-derived drug as pharmaceutical raw material presupposes the existence of well-established quality specifications<sup>33</sup>.

The analysis of medicinal plant materials requires physical-chemical characteristics, and the employment of techniques similar those used for the analysis of synthetic drugs, such as volumetric analysis, gravimetric determinations, gas chromatography, column chromatography, high-performance liquid chromatography and spectroscopic methods<sup>20</sup>.

One of the most important factors in physical-chemical quality control of raw plant material refers to humidity and/or volatile substances present in the plant drugs. High levels of humidity can provide microbial growth, as well as promote the action of enzymes which can lead to the degradation of the plant constituents<sup>24</sup>. Weight loss upon drying is a technique that measures not only the loss of residual water, but also the loss of volatile substances<sup>34</sup>. In a technological point of view, the loss may indicate the efficiency of the drying operation<sup>33</sup>.

The analyses by gravimetric test and infrared determination for *E.verna*, showed respectively  $10.54 \pm 0.009\%$  and  $10.39 \pm 0.07\%$  humidity in the samples of *E. Verna*. These values are appropriated to the limits set by different pharmacopeias consulted (8 a 14%, unless exceptions)<sup>25</sup>. The sample must have a minimum of humidity, and that these levels may vary by the plant part in question.

The method used to quantify the active constituents extractable in plants called water-soluble extractives, displayed levels  $12.03 \pm 0.81\%$  for *E.verna*. This is a method that can be regarded as a characteristic of each plant and can assist in evaluating the raw material quality<sup>20,35</sup>.

The particle size analysis is an important data for the extractable substances, in conjunction with the method of extraction in question. The optimization of extractive variables for maceration demonstrated the influence of particle size<sup>36,37,38</sup>. The bark particles with sizes of 710  $\mu\text{m}$  and higher presented the best yield for extract production than smaller

sizes smaller than 180  $\mu\text{m}$  and those particles in the range of 350-180  $\mu\text{m}$ . The worst yield was obtained with particle sizes between 710-500 and 500-350  $\mu\text{m}$ ; these results might be related to segregation of plant parts that may occur during the milling process (Table 1).

The choice of the extractor solvent is a key part in extractive processes, it should be non toxic, easily disposable, non expensive and also to provide a total extraction for the constituents of interest<sup>39,40</sup>. The aim of this optimization was to establish the conditions for the extract production, preferring hydroalcoholic mixtures as solvents whose better yield was observed in the ratio of 70:30 (MeOH:H<sub>2</sub>O), a proportion that is commonly employed for the production of plant extracts, since more than 80% of the chemical constituents have some solubility in ethanol or methanol blends<sup>39</sup>.

When the goal is to choose the method of extraction, one must be taken in to account, such as the efficiency, cost, time required for extraction, quality of the product, among others<sup>40</sup>. The method of extraction that presented the best results was decoction, followed by ultrasonification and turbo extraction. The results confirmed previous reports in the literature that indicated a more effective extraction for processes using heat, stirring and/or still decreasing particle size. For testing optimum time and temperature, it was noticed an increase in the extract production by increasing time and temperature of extraction, considering the limit of time required for the saturation of the solvent in question and the possibility of degradation of active principles in temperatures exceeding 60 °C<sup>37,41</sup>.

Among the techniques of quality control of products and extraction processes, the chromatographic methods have been greatly emphasized; whose use allows assessing both the qualitative and quantitative analysis<sup>42</sup>.

The alkaloid extract of the *E. verna* bark have also been tested by HPLC and compared with the reference compound (erythravine). The chromatogram of the reference solution is represented in Figure 4, one peak could be observed at retention time of 12.34 min when observed at 280 nm and this peak presented an ultraviolet spectrum presenting maximum absorptions at 229.7 and 281.9 nm.

A representative chromatogram for the alkaloid extract eluted by HPLC is shown in Figure 5. Two prominent peaks can be observed at 12.97 min and 13.39 min with the detector

set at 280 nm and their ultraviolet spectra was characteristic of the erythrinian alkaloids<sup>43</sup>. Both of them presented the same UV profile with maximum absorptions at 229.7 and 281.9 nm.

Because of the coincidence in the UV spectra and a slight difference in the retention time with that observed for erythravine, co-injection of the reference substance confirmed the presence of this alkaloid in the extract in the peak at 12.97 min. This finding is of importance since it has not yet been established a chemical marker for *E. verna*, in order to facilitate the quality control of this raw-material.

### ***Acknowledgements***

Financial support from CNPq/Brazil and master scholarship from CAPES/Brazil.

## REFERENCES

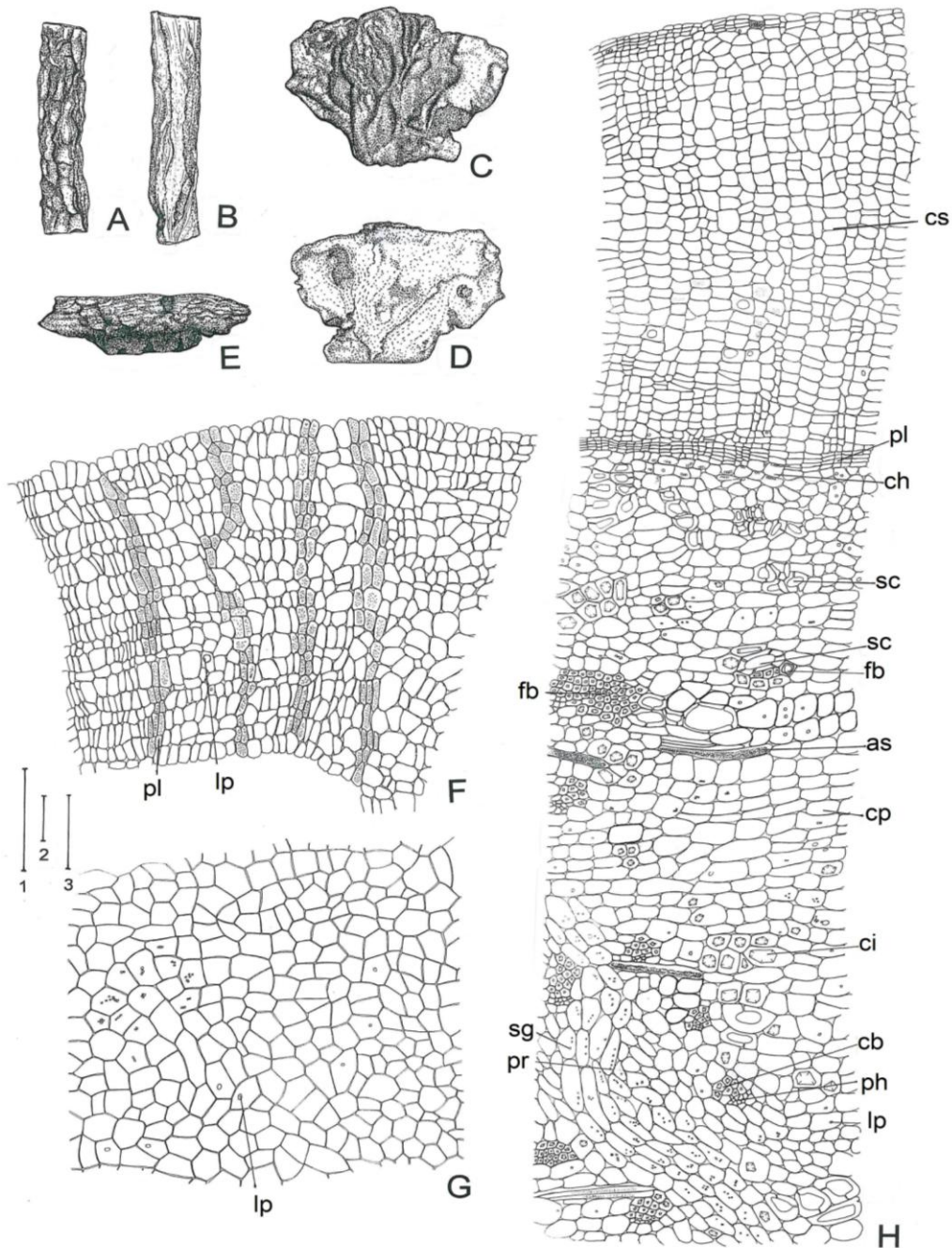
1. Onusic, G.M., Nogueira, R.L., Pereira, A.M.S. & Viana, M.B. (2002) *Braz J Med Bio Res* 35:473-477.
2. Onusic, G.M., Nogueira, R.L., Pereira, A.M.S., Flausino JR, O.A. & Viana, M.B. (2003) *Biol Pharm Bull* v. 26, n 11. p.1538-1542.
3. Flausino,O.A., Pereira, A.M., Bolzani, V.S. & Nunes-de-Souza, R.L. (2007) *Biol Pharm Bull* v.30, n. 2, p. 375-378.
4. Vasconcelos, S.M.M., Oliveira, G.R., Carvalho, M.M., Rodrigues, A.C.P., Silveira, E.R., Fonteles, M.M.F., Sousa, F.C.F. & Viana, G.S. (2003) *Biol Pharm Bull* v. 26, n. 7, p. 946-949.
5. Vasconcelos, S.M., Macedo, D.S., Melo, C.T., Paiva Monteiro, A., Rodrigues, A.C. & Silveira, E.R. (2004) *J Pharm Pharmacol* 56: 389-395.
6. Brandão, M.G.L., Zanetti, N. N. S., Oliveira, G. R. R., Goulart, L.O. & Monte-Mor, R. L. M.(2008) *Rev Bras Farmacogn* 18(1): 127-134.
7. Farmacopéia Brasileira (1929) 1ed.
8. Folkers, K.; Major, R. (1937)*J Am Chem Soc*, v. 59, p. 1850
9. Nkengfack, A.E, Vouffo, T.W., Vardamides, J.C., Kouam, J., Fomum, Z.T., Meyer, M. & Sterner, O.(1994) *Phytochemistry*, v.36, p.1047-1051, 1994.
10. García-Mateos, R., Soto-Hernandez, M. & Kelly, D. (1998) *Biochem Syst Ecol*, v. 26, p.545-551.
11. Bisby, F.A., J. Buckingham, J. B., Harborne & J. L. Zarucchi (1994) *Phytochemical dictionary of the Leguminosae*. v.1, Chapman &Hall Chemical Database, CRC Press, pág 302.
12. Lorenzi, H. (1992) *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. v.1, 2ª Ed. Nova Odessa, SP. Plantarum
13. Dantas, M.C., Oliveira F.S., Bandeira, S.M., Batista, J.S., Silva, C.D., Alves, P.B., Antonioli, A.R. & Marchioro, M. (2004) *J Ethnopharmacol*, v. 94, p.129-133.
14. Pereira, W.F & Machado, M. Q. de M.(2008) *Horizonte Científico (Revista Eletrônica da Universidade Federal de Uberlândia)*, v. 1, n. 9, p. 315-333.
15. Sarragiotto, M.H., Leitão-Filho, H. & Marsaioli, A.J. (1981) *Can J Chemistry*, v 59.
16. Johansen, D.A. (1940) *Plant Microtechnique*. 1ed. New York: McGraw-Hill.
17. Gerlach, D. (1984) *Bothanische Mikrotechnik*. Stuttgart: Georg-Thieme Verlag.

18. Sass, J.E. (1951) *Elements of botanical microtechnique*. New York: McGraw-Hill.
19. Foster, A.S. (1949) *Practical plant anatomy*. Princeton: D. Van Nostrand. (228p.)
20. Who-World Health Organization (1998) *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva.
21. Argueso, A.D.A. (1986) *Manual de técnicas en histología vegetal*. Buenos Aires: Hemisferio Sur.
22. Farmacopéia Brasileira. (2000) 4ed. São Paulo: Atheneu.
23. Kraus, J.E.; Arduin, M. (1997) *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Seropédica, Rio de Janeiro: EDUR.
24. Farias, M.R. (2003) Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. org. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade/UFRGS / Editora da UFSC.
25. Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil, (1988) Ed.IV, Companhia Editora Nacional.
26. Bundesvereinigung Deutscher Apothekerverbände (Hrsg.). *Deutscher Arzneimittel Codex*. (1986) Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986. v. 1: Codex – Probe 4, 9.
27. Farmacopéia Brasileira.(2002) 4ed. São Paulo: Atheneu.
28. Farmacopéia Brasileira. (1996) 4ed. São Paulo: Atheneu.
29. Farmacopéia Brasileira (1929) 1ed
30. Oliveira, F., Akisue, G. & Aakisue, M.K. (1991) *Farmacognosia*. São Paulo: Atheneu.
31. Farmacopéia Brasileira (1959)2ed.
32. Metcalfe, C.R. & Chalk, L. (1950) *Anatomy of the Dicotyledons*. v.2. Leaves, stem and wood in relation to taxonomy, with notes on economic uses. Oxford: Clarendon Press.
33. Palazzo de Mello, J.C. & Petrovick, P.R. (2000) *Acta Farm. Bonaerense* v. 19, n 3. p.211-215
34. Antonelli--Ushirobira,T. M., Yamagutti, E., Uhemura, L. M. & Palazzo de Mello, J. C. (2004) *Acta Farm. Bonaerense* **23** (3): 383-6
35. Barni, S.T., Cechinel Filho,V. & Couto, A.G. (2009) *Rev Bras Farmacogn* 19(4): 865-870
36. Audi, E.A., Mendes de Toledo, C.E., Solera dos Santos, F., Bellanda, P. R., Alves-do-Prado,W., Ueda-Nakamura,T., Nakamura, C. V., Sakuragui, C.M., Bersani-Amado, C.A. & Palazzo de Mello, J. C.(2004) *Acta Farm. Bonaerense* 23 (3): 328-33
37. Gião, M. S., Pereira, C.I., Fonseca, S.C., Pintado,M.E. & Xavier Malcata, F.(2009) *Food Chem* 117 412–416
38. Kaur,P., Chaudhary,A. & Singh,B.; (2009) *J Pharm Biomed* 50 1060–1064

39. Falkenberg, M. B., Santos, R. I. & Simões, C.M.O. (2003) Introdução a análise fitoquímica. in Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª Ed. Editora UFRGS/UFSC, Porto Alegre, 168.
40. Henriques, A.T., Kerber, V.A., Moreno, P.R.H. (2003) Alcalóides: Generalidades e Aspectos Básicos. in Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª Ed. Editora UFRGS/UFSC, Porto Alegre, 662
41. Prista, L. N., Alves, A. C. & Morgado, R. M. R. (1991) *Técnica Farmacêutica e Farmácia Galênica*. Vol. I 4ª edição Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa p. 317-349
42. Marston, A. (2007) *Phytochemistry* 68: 2785-97
43. Sangster, A.W.; Stuart, K.L.(1964) *Ultraviolet spectra of alkaloids*. Department of Chemistry, University of the West Indies, Kingston, Jamaica

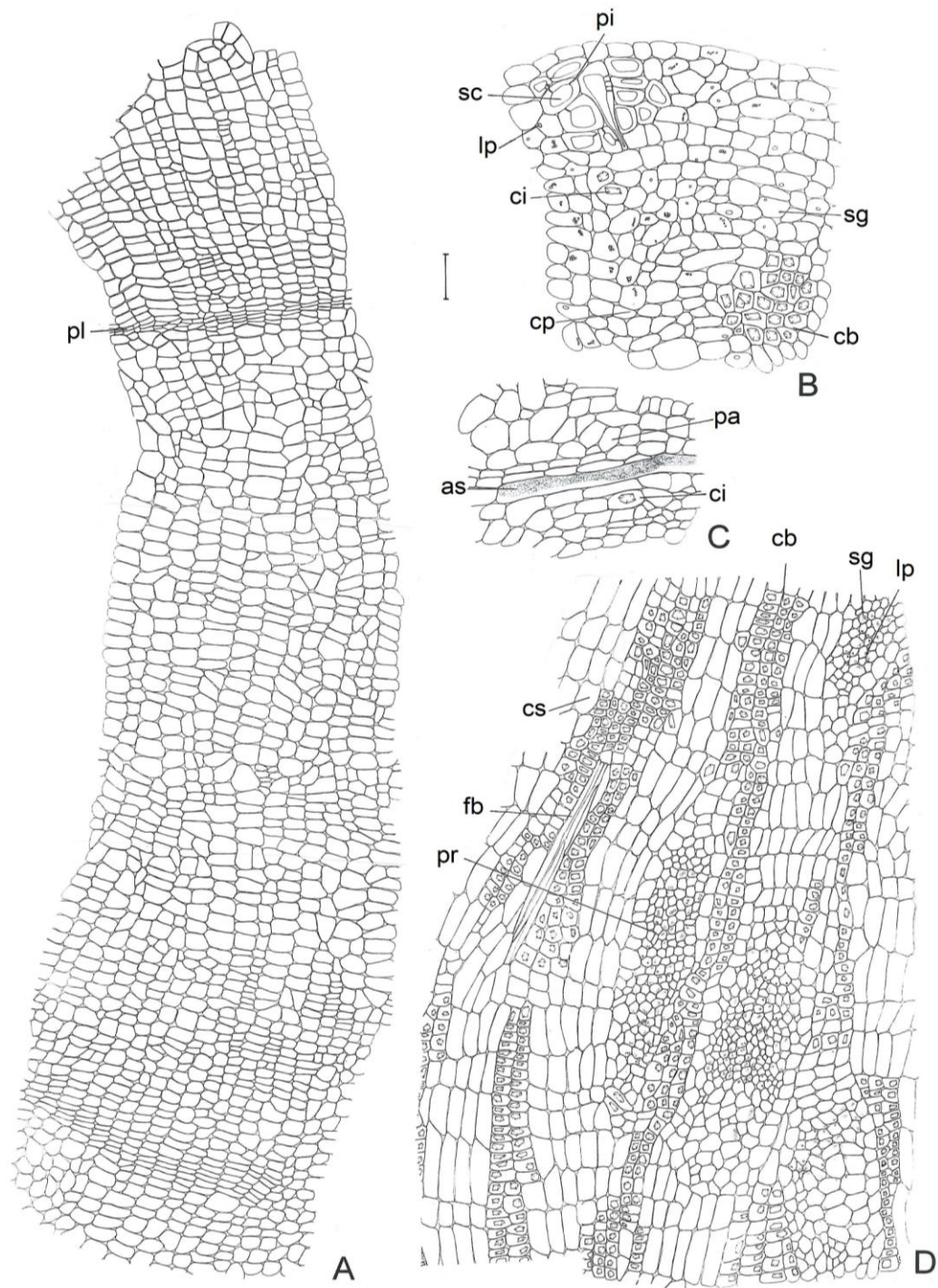
**Table 1.** Particle size and extractive content of *E. verna* barks.

<b>Particle Size (mm)</b>	<b>Extractive content (g/%)</b>
> 710 --	12.03±0.81
500 – 710	11.29±0.45
350 – 500	11.22±0.25
180 – 350	10.40±0.41
< 180	8.59±0.15

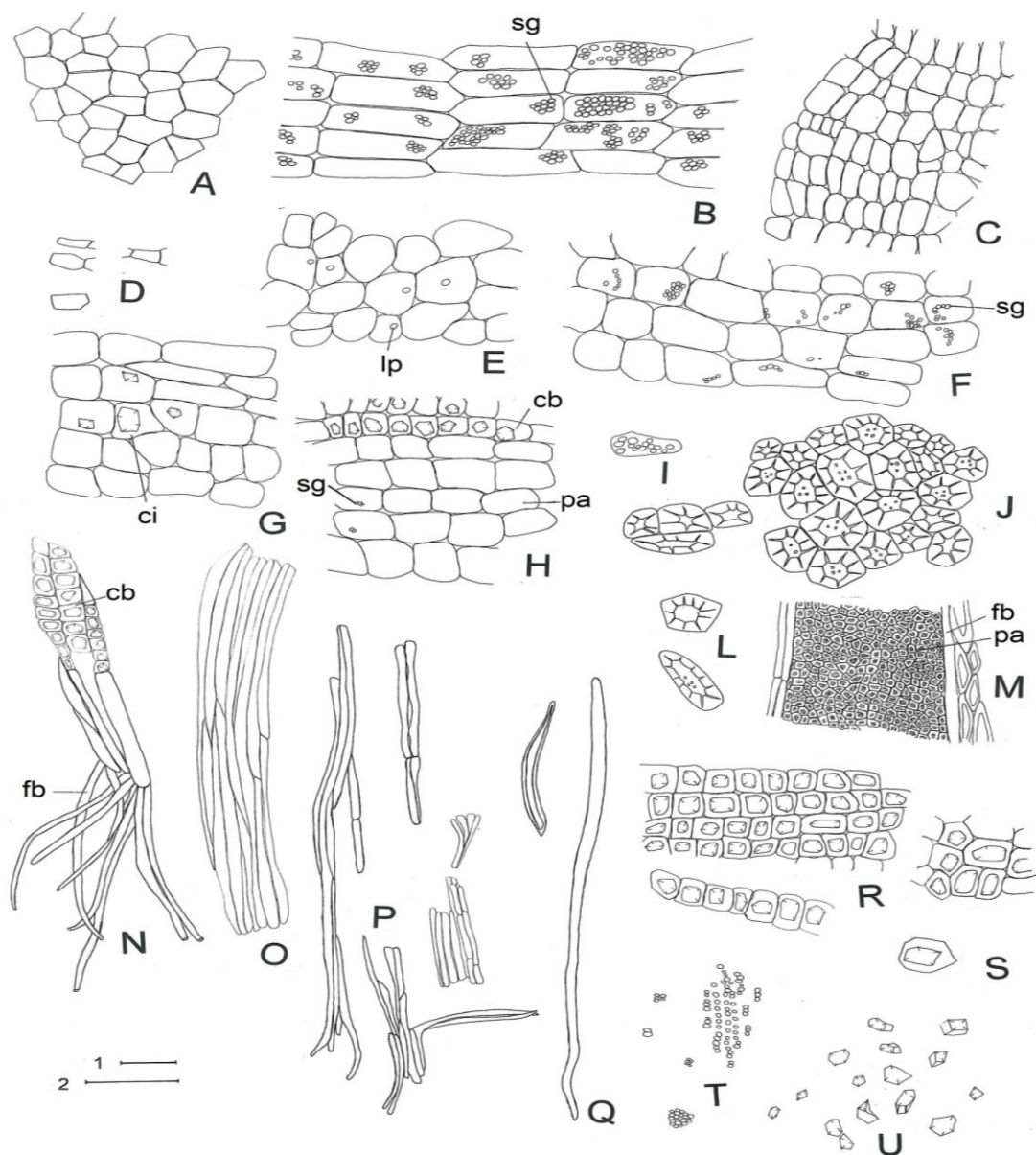


**Figure 1.** *Erythrina verna* Vell. - A. general appearance of the outer surface of the young bark; B. general appearance of the inner surface of the young bark; C. general appearance, in frontal view, of the outer surface of the old bark; D. general appearance, in frontal view, of the inner surface of the old bark; E. general appearance, in lateral view, of the old bark; F. frontal view of cork cells of the young bark; G. frontal view of cork cells of the old bark; H. partial cortex in cross section of the old bark; as: amorphous substance; cb: crystal bundle; ch: chlorenchyma; ci: crystal idioblasts; cp: cortical parenchyma; cs: cork cells; fb: fiber; lp: lipid droplets; ph: phloem; pl: phellogen; pr: parenchyma ray; sc: stone cell; sg: starch grains. A-E: 3 cm (bar 1); F-H: 100  $\mu$ m (F - bar 3 and G-H: bar 2).

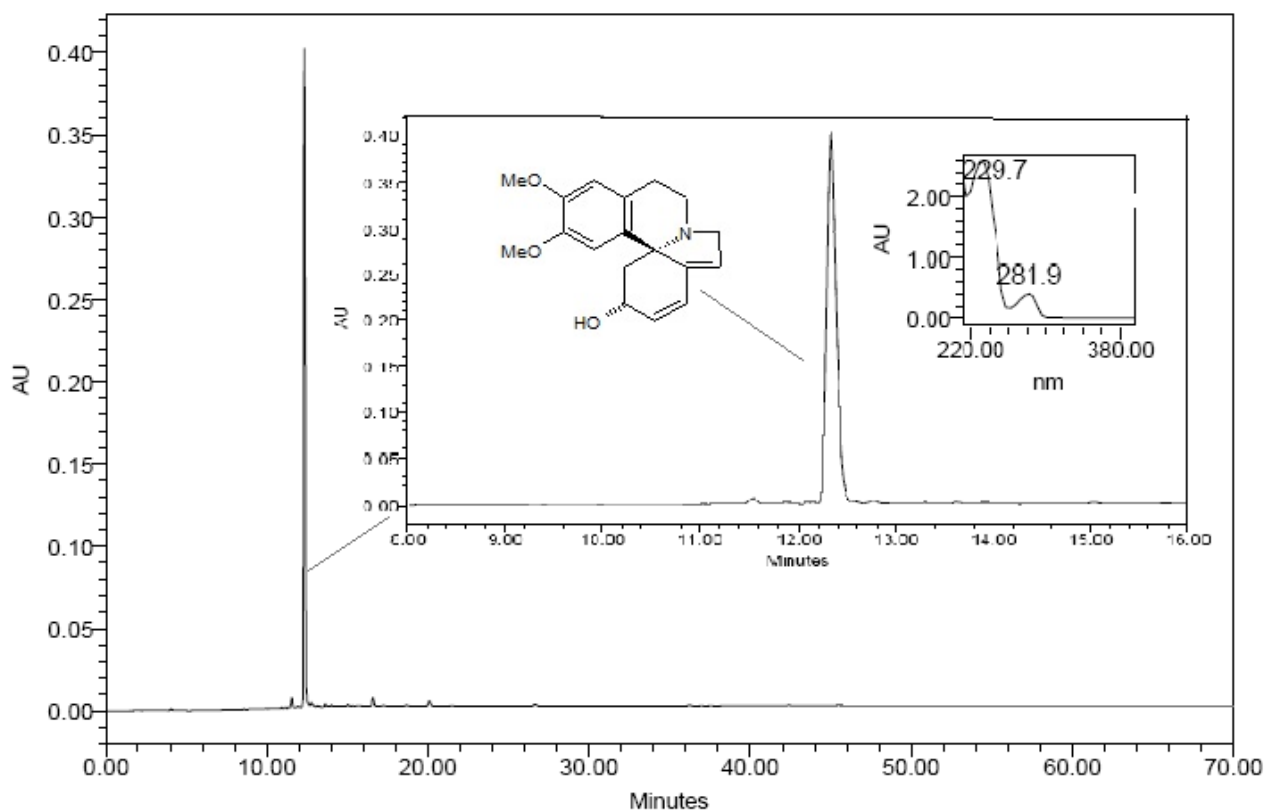




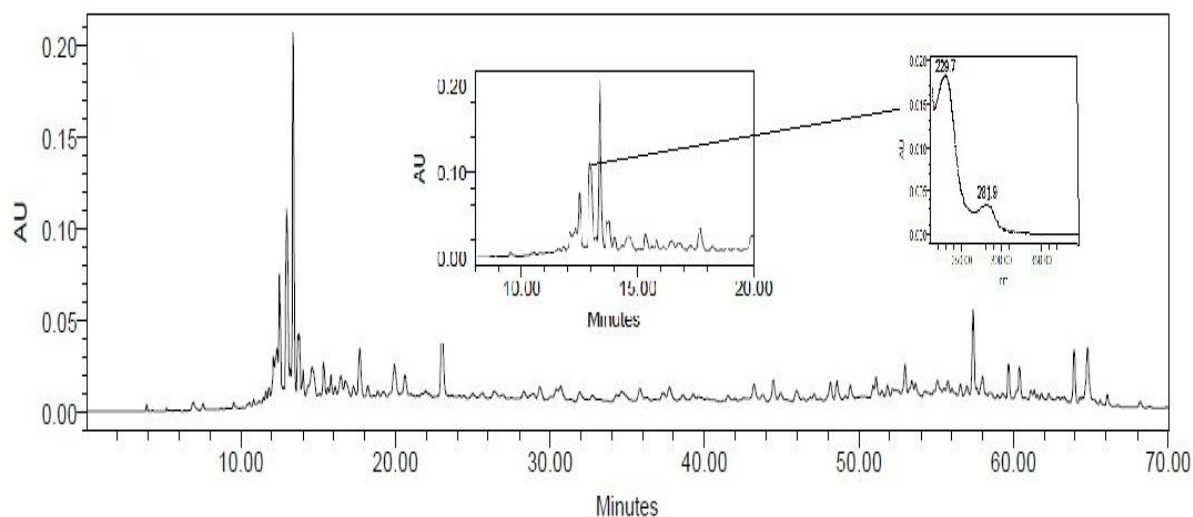
**Figure 2.** *Erythrina verna* Vell. - A. detail of a outer portion of the old bark in radial-longitudinal section; B. detail of a outer portion of the old bark in radial-longitudinal section showing clusters of stone cells and clusters of crystal bundle sheath; C. detail of a outer portion of the old bark in radial-longitudinal section showing amorphous substance; D. detail of a outer portion of the old bark in tangential-longitudinal section; as: amorphous substance; cb: crystal bundle; ci: crystal idioblasts; cp: cortical parenchyma; cs: cork cells; fb: fiber; lp: lipid droplets; pa: parenchyma; pi: pit; pl: phellogen; pr: parenchyma ray; sc: stone cells; sg: starch grains. Scale: 100  $\mu$ m.



**Figure 3.** *Erythrina verna* Vell. - Powdered drug: A. fragments of cork, in frontal view; B. fragments of cork with cells filled with starch grains in tangential longitudinal section; C. fragments of cork cells, in cross section; D. fragments of isolated cork cells, in cross section; E. fragments of the cortical parenchyma in cross section, containing lipid droplets; F. fragments of cortical parenchyma in cross section, containing starch grains; G. fragments of cortical parenchyma in cross-section, with crystal idioblasts; H. fragments of cortical parenchyma accompanied by crystal bundle sheath portion, in tangential longitudinal section; I. isolated parenchyma cell containing starch grains; J. clusters of stone cells, in cross section; L. isolated stone cells, in cross section; M. fragments of parenchyma rays accompanied by fibers, in tangential longitudinal section; N. bundles of fibers partially surrounded by a crystal bundle sheath, in longitudinal section; O. bundles of fibers, in longitudinal section; P. fragments of bundles of fibers, in longitudinal section; Q. isolated fibers; R. fragments of crystal bundle, in longitudinal section; S. isolated crystal idioblast; T. simple and compounds starch grains isolated and/or grouped; U. isolated oxalate crystals, with different forms and sizes; cb: crystal bundle; ci: crystal idioblasts; fb: fiber; lp: lipid droplets; pa: parenchyma; sg: starch grains. Scales: 100  $\mu$ m (A-M e Q-U - bar 2 and N-P - bar 1).



**Figure 4:** Chromatogram of erythravine reference solution. Mobile phase water:acetonitrile, C18 column, 10  $\mu$ L injection volume,  $\lambda$  280 nm detection, peak at 12.34 min.



**Figure 5:** Representative HPLC chromatogram of the alkaloid extract tested, mobile phase water:acetonitrile, C18 column, 10  $\mu$ L injection volume,  $\lambda$  280 nm detection. Arrow shows the alkaloid erythravine.







**COMPARATIVE ANALYSIS OF LC/DAD- FINGERPRINT AND  
PHYSICOCHEMICAL QUALITY PARAMETERS OF SOME MEDICINAL  
ERYTHRINA SPECIES**

Douglas F. RAMBO<sup>a</sup>, Carolina S. PASSOS<sup>a</sup>, Paulo R.H. MORENO<sup>b</sup>, Luiz Alberto Lira SOARES<sup>c</sup>, Inês CORDEIRO<sup>b</sup> and Amélia T. HENRIQUES<sup>a</sup>

*<sup>a</sup>Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga 2752, 90.610.000, Porto Alegre, RS, Brazil*

*<sup>b</sup>Instituto de Química, USP, Departamento de Química Fundamental, SP, Brazil*

*<sup>c</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas, UFPE, Recife, PE, Brazil*

**\*Corresponding author**

Address: Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga 2752, 90.610.000, Porto Alegre, RS,  
Brazil

Tel.: 55-51-3308 5258

Fax: 55-51-3308 5437

E-mail: douglasrambofar@hotmail.com

## ABSTRACT

*Erythrina* comprises more than 100 species, of which 70 are native to America, distributed in tropical and subtropical regions. This genus is well studied due to presence of alkaloids displaying anxiolytic activity. The aim of this work was to establish criteria for physicochemical differentiation of four *Erythrina* species: *E. verna* Vell., *E. velutina* Willd., *E. poeppigiana* (Walp.) Cook and *E. falcata* Benth.. The alkaloid fraction from braks was characterized by liquid chromatography profile of the four species and from different plant parts and collection sites for *E. verna*. The methods of determining total and acid-insoluble ashes, water-soluble extractives, weight loss on drying and total alkaloid assay, combined with LC/DAD results, were effective to differentiate the species.

**Key Words:** *Erythrina verna*, *Erythrina velutina*, *Erythrina poeppigiana*, *Erythrina falcata*, Alkaloids, Quality Control



## INTRODUCTION

Among the Brazilian *Erythrin*as, those with the most outstanding scientific interest are *E. velutina* and *E. verna*. These species are widely investigated for its chemical composition and pharmacological activity. Another two species *E. poepiggiana* and *E. falcata* also used in the folk medicine mainly to treat respiratory diseases and as sedative and anxiolytic<sup>1,2,3,4</sup>.

Popularly, *Erythrina* spp. are referred to have anticonvulsant, anxiolytic, hypotensive and hypnotic activities, related to the presence of alkaloids<sup>5,6,7</sup>. The *Erythrina* genus comprises 11 species in Brazil, of which three are endemic, disseminated along the Atlantic forest, Cerrado, Northeastern semi-arid and Amazonian forest<sup>8</sup>.

There is a wide variability in the qualitative and quantitative chemical composition among *Erythrina* species. These differences may be related to age and plant parts, climatic conditions and geographic location<sup>1,5,6,9</sup>. There are few available studies relating the chemical data with quality control of the plant drug. The information available concerns mainly pharmacological findings or the characterization of the erythrinian alkaloids (- derived from the biosynthetic precursor (*S*)-Nor reticuline –for example erysothrine, erysothrine-*N*-oxide, erythartine and erythartine *N*-oxide), which are also found in other parts of the plant and are common to all species of the *Erythrina* genus<sup>10,11</sup>.

In the national market of raw-materials, almost all *Erythrina* derivatives are commercialized under traditional name “mulungu” and this situation can generate of a problem of public health care<sup>10</sup>. So, it is of utmost importance the establishment of criteria for quality control and standardization of herbal medicines as well as the determination of the LC-chemical profile, a useful tool to distinguish closely related species.

## MATERIALS AND METHODS

### *Plant material*

Trunk barks from of *E. verna* were collected in Belo Horizonte-MG and in São Paulo–SP at the Botanical garden, and at the Campus of the Universidade de São Paulo. The samples

were identified and vouchers were deposited, respectively, as Cordeiro 3102 and Kato 001 in the herbarium of the Instituto de Botânica de São Paulo. Flowers and leaves were also collected in São Paulo Botanical Garden and deposited under the same name. The barks of *E. falcata* were collected in Botanical Garden of São Paulo and the sample was identified at name Cordeiro 3092. *E. poeppigiana* was deposited at name Cordeiro 3091 and *E. velutina* collected in Laranjeiras-SE, which identity was confirmed at the herbarium of the Universidade Federal de Sergipe by comparison with vouch specimen number ASE4126.

### ***Impurities***

The powdered barks (710  $\mu\text{m}$ ) were submitted to impurities tests to determine the contents of total ashes, acid-insoluble ashes, water-soluble extractives, and weight loss upon drying. The referred tests were carried out according to Brazilian Pharmacopoeia (1988)<sup>12</sup> and the water-soluble content was performed according to Bundesvereinigung (1986)<sup>13</sup>.

### ***Loss on dry***

The weight loss was determined in triplicate. The powdered sample (3g) was transferred to weight filter, previously dried for 30 minutes; the same conditions were applied for the analyzed samples. The samples were dried in a stove at 100-105 ° C for 5 hours before first weighing. The test was completed when two successive weightings did not differ more than 5 mg. The moisture was calculated in relation to air dried drug.

### ***Total and insoluble ash***

In a crucible previously calcined during 30 minutes at a temperature of 450 °C, samples of exactly 1 g were incinerated in a muffle at 450 ° C ( $\pm 25$  ° C) for 4 hours. The process was repeated in cycles of one hour until a constant weight.

On the total ash residue were added 25 ml of hydrochloric acid (70 g/L) and boiled for 5 minutes in a glass covered flask. After boiling, the cover glass was washed with 5 mL of

boiling water, and the washing water added to the boiling liquid. The liquid fraction was filtered in ash-free filter paper. The crucible was washed with boiling water until the effluent presented neutral pH. The paper filter was transferred to the original crucible and charred in a Bunsen flame. The crucible was incinerated at 600 °C in the muffle until constant weight. The residue was calculated in relation to air dried drug. All experiments were performed in triplicate.

### ***Water-soluble extractives***

Exactly 1.0 g of drug was weighed and boiling in 100.0 g of water for 10 minutes. After cooling the initial weight was reconstituted with water. The resulting solution was filtered. Aliquots of 20.0 mL of the filtrate, exactly weighed, were placed in pre-weighed weighing-filters. The solvent was evaporated in a boiling water bath. After this operation, the weightings-filters were transferred to the drying oven, preheated to 105°C, where they were kept for 2 hours. Then, the weighing-filters were cooled in a desiccator's and weighted again. This procedure was repeated until the difference between the measures were less than 5 mg, then weight constant.

### ***Total alkaloids contents***

Bark samples (10g) were previously extracted by stirring for 10 minutes in 100 mL of ethyl ether. After, it was added a few ml of ammonium hydroxide 10% until pH = 9-10. It is left under agitation for a period of 1 hour and then moved the entire content to a percolator, which was percolated with 3 additional portions of 50 mL of ethyl ether or until negative reaction to alkaloids (Dragendorff reactive). The total extract was evaporated under vacuum to the dryness and then heated for 15 minutes in a drying oven at 105 ° C.

The obtained residue was dissolved in 5 mL of dichloromethane and added 20 mL with a volumetric pipette of standardized sulphuric acid 0.01 mol.L<sup>-1</sup>. The dichloromethane was evaporated in a water bath at 60°C and the solution cooled. It was added 4 drops of methyl red. Then the solution was titrated with standardized sodium hydroxide 0,02 mol.L<sup>-1</sup>. Based on the hydroxide consumption the total alkaloids content was calculated.

## *LC analysis*

### *General experimental procedures*

LC analysis was performed on a Waters Alliance 2690 chromatograph using a photodiode array detector (DAD; UV/VIS Waters 996) and a Luna C18(2) column (Phenomenex; 5  $\mu\text{m}$ , 250 x 4.6 mm) with a save guard column. UV spectra were recorded in the range of 200 to 400nm. The mobile phase in channel (A) was water: trifluoroacetic acid (100:0.025;v/v) and in channel (B) acetonitrile. The gradient profile was: 0–10 min at 95:5% of (A:B); 10–30 min to 75:25%; 30–45 min to 65:35%; 45–60 min to 45:55% and 60–70 min to 100% acetonitrile of flow rate of 0.8 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ . The injected volume was 10 $\mu\text{L}$ . The chromatographic peaks were detected and their identities were confirmed by co-chromatography and UV spectral comparison with standards of alkaloids using a DAD detector.

### *Sample preparation*

Samples (1g) were extracted with 20 mL of hydrochloric acid 2% under static maceration in cycle of 24 hours. Then, the solution was transferred to separation funnel and washed with two portions of 10 mL of hexane: ethyl acetate (1:1). For the selective extraction of alkaloids, pH was adjusted for 9-10 with ammonium hydroxide 25%, only after the basification there was partitioned 5 times with 25 mL of dichloromethane. In the sequence, the dichloromethane was eliminated resulting in fraction of total alkaloids. The alkaloid fraction contained in the round bottom flask was reconstituted on 500  $\mu\text{L}$  of methanol, filtered at membrane PVDF 0.45 $\mu\text{m}$  and transferred to a vial for LC analysis.

## **RESULTS AND DISCUSSIONS**

The safe and effective use of pharmaceutical products requires several quality assurance steps in the production. Therefore, the physicochemical analyze is important for both raw materials and finished product<sup>14</sup>.

The need of establishment of acceptance criteria is intensely debated to ensure the safety of plant products as their correct identification and formulation. However, the development and validation of analytical methods for raw herbal material is still scarce in the literature<sup>14</sup>.

Plant extracts from *Erythrina spp.* are commercialized due to their anxiolytic properties. However, few studies concerning the quality control from the plant material and its derivatives are available for several species marketed in Brazil. Therefore, the establishment of quality parameters plays an important role because the use of such extracts requires criteria, due to the risk of side-effects.

The methods employed for total ashes content, acid-insoluble ashes, water-soluble extractives, weight loss upon drying and total alkaloids content determinations were fast and efficient for primary quality control of plant material. The results achieved are summarized in the Table 1.

The determination of total ashes and acid-insoluble ashes, for the barks of *Erythrina* species, showed levels varying of 4.99% to 12.9% of total ashes enables the verification of inorganic non-volatile impurities that may be attributed to the presence of contaminants in the samples. The results for the analyses of acid-insoluble ashes were 0.8 to 1.08%. The detection of levels up to 1% of acid insoluble ashes are considered acceptable once the plants are not rich in silicic acid or silicates<sup>15,16</sup>.

One of the parameter in physicochemical quality control of raw plant materials refers to humidity and/or volatile substances present in the plant drugs. High levels of humidity can provide microbial growth, as well as promote the action of enzymes which can lead to the degradation of the constituents of the plant<sup>17</sup>. The values obtained, about 10%, is appropriate to the limits set by different pharmacopeias and acceptable in a technological point of view<sup>18</sup>. The sample must have a minimum of humidity, being that these levels may vary by plant part.

The method used to quantify the constituents extractable in vegetable, water-soluble extractives showed variations of 9.05-17.04%. This results can be regarded as characteristic of each plant and can assist in evaluating the quality of raw material<sup>19,20</sup>.

The total content of alkaloids demonstrated a small variability of free alkaloids in bark of the analyzed *Erythrina* species. The content of alkaloids in samples was ranged from 0.071 to 0.081% (w/w). The results of this study were similar to the data for free alkaloids in the seeds of the genus, reported by Garcia-Mateos<sup>1</sup> (0.1%; w/w) and by Folkes and Koniuszy<sup>17</sup> (between 0.2% and 0.4%). The results are in agreement with the fact that trunk barks, roots and seeds are preferential sites for accumulation of such alkaloids.

Among the techniques of quality control of products and extractive processes, is given great emphasis to the chromatographic methods, whose use enables to assess both the qualitative and quantitative composition<sup>21</sup>.

The alkaloid extract of the barks, leaves and flowers from *E. verna* have also been compared by HPLC. The LC-profiles are presented in Figure 1. The chromatogram of *E. verna* trunk barks showed one group of alkaloids where two major peaks were noticed, at 12.97 min and 13.39 min, whose ultraviolet spectra displayed maximum absorptions at 229.7 and 281.9 nm, characteristic of the erythrinian alkaloids<sup>22</sup>. The first one was identified as erythravine by co-injection with authentic substance. The flowers presents at least two prominent elution peaks with retention time near to 12.26 min with ultraviolet spectra maximum absorptions at 229.7 and 277.1 nm; and, the leaves, one peak at 17.50 min with UV absorptions at 229.7, 277.1 and 310.5 nm characteristic of apoerysodine skeleton. On the basis of the UV spectra and retention times, it is possible to segregate the plant parts that are being used in the herbal extracts.

The sample of trunk barks from *E verna* obtained from different collection sites were compared by LC/DAD. The two samples collected in São Paulo presented the three main peaks super imposable. On the other hand, the third sample, collected in Minas Gerais, showed in the same chromatogram region an intense additional peak with the same erythravine UV chromophore (Figure 2).

The comparative analysis by LC of the alkaloid extractives from barks of *E. verna*, *E. velutina*, *E. poeppigiana* or *E. falcata* is shown in Figure 3. The chromatogram of *E. poeppigiana* presents one prominent peak at 15.13 minutes with ultraviolet spectrum with maximum absorption at 234 and 281, besides a small erythravine peak at 12.7nm. The chromatogram from *E. falcata* alkaloids differed from other *Erythrina* by presenting more

non-polar substances. Thus, it presents two major peaks around 58 minutes and UV spectra with maximum absorptions at 267.6nm and 281.9 nm typical to the tetrahydroerysodine skeleton.

*E. verna* and *E. velutina*, differed on quantitative and qualitative compositions of its trunk bark alkaloids. *E. velutina* showed a chromatogram with two peaks with retention time 10.37 and 12.79 min and UV spectra with maximum absorptions respectively at 281.9 nm and at 281 and 229.7 nm. The last and most intense peak corresponded to erythravine. Thus *E. velutina* seems to be most relevant for use, since it's containing higher amount of the alkaloid erythravine for which it has been proven the anxiolytic activity<sup>6</sup>.

To conclude, the LC methodology developed in this work allowed to performing the comparative analysis of four species of *Erithryna* widely used in traditional medicine with the same name "mulungu". Additionally, the LC fingerprints were able to differentiate the several parts of the drug material of *E. verna*. The both results will be helpful to establish quality parameters for authentication of raw materials, extractives as well as final products containing such the specie, reducing the possibility of adulteration.

### **Acknowledgements**

Financial support from CNPq/Brazil and master scholarship from CAPES/Brazil.

1. García-Mateos, R., Soto-Hernandez, M. & Kelly, D. (1998) *Biochem Syst Ecol*, v. 26, p.545-551.
2. Cui, L.; Thuong, P. T.; Lee, H. S.; Ndinteh, D. T.; Mbafor, J. T.; Fomum, Z. T.; Oh, W. K.(2008) *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 16, p. 10356–10362
3. Craveiro, A.C.S., Carvalho,D.M.M., Nunes, R.S., Fakhouri, R., Rodrigues, S.S. & Teixeira-Silva, F. (2008) *Rev Bras Farmacogn*, v. 18, supl., p.739-743.
4. Costa, R. A. C. V.; de Moraes, A. B. B.(2008) *Biotemas*, v. 21, n. 2, p.51-56
5. Onusic, G.M., Nogueira, R.L., Pereira, A.M.S., Flausino JR, O.A. & Viana, M.B. (2003) *Biol Pharm Bull* v. 26, n 11. p.1538-1542.

6. Flausino, O.A., Pereira, A.M., Bolzani, V.S. & Nunes-de-Souza, R.L. (2007) *Biol Pharm Bull* v.30, n. 2, p. 375-378.
7. Vasconcelos, S. M. M.; Lima, N. M.; Sales, G. T. M.; Cunha, G. M. A.; Aguiar, L. M. V.; Silveira, E. R.; Rodrigues, A. C. P.; Macedo, D. S.; Fonteles, M. M. F.; Sousa, F. C. F.; Viana G. S. B. (2007) *J Ethnopharmacology*, v. 110, p. 271–274
8. Lima, H.C. de 2010. *Erythrina* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB022965>).
9. Marchioro, M.; Blank, M. F. A.; Mourão, R. H. V. (2005) *Fitoterapia*, v. 76, p. 637–642
10. Bisby, F.A., J. Buckingham, J. B., Harborne & J. L. Zarucchi (1994) *Phytochemical dictionary of the Leguminosae*. v.1, Chapman & Hall Chemical Database, CRC Press, pág 302
11. Cornelius, W. W.; Akeng'a, T.; Obiero, G. O.; Lutta, K. P. (2009) *Rec Nat Prod*, v. 3, n. 2, p. 96-103
12. Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil, (1988) Ed.IV, Companhia Editora Nacional.
13. Bundesvereinigung Deutscher Apothekerverbände (Hrsg.). *Deutscher Arzneimittel Codex*. (1986) Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986. v. 1: Codex – Probe 4, 9.
14. Bara, M.t.; Ribeiro, P.A.; Arantes, M do C.B., Amorim, L.L.S.S.; de Paula, J.R. (2006) *Rev Bras Farmacogn* 16(2): 211-215
15. Michelin, D.C., Finati, S.C.G., Sacramento, L.V.S., Vilegas, W. & Salgado, H.R.N. (2010) *Rev Bras Farmacogn* 20(1): 18-22
16. Frasson, A.P.Z., Bittencourt, C.F. & Heinzmann, B.M. (2003) *Rev Bras Farmacogn*, v.13, n.1, p.35-39
17. Folkers, K.; Koniuszy, F. *J Am chem Soc*, v.62, p. 436-431, 1940.



18. Palazzo de Mello, J.C. & Petrovick, P.R. (2000) *Acta Farm. Bonaerense* v. 19, n 3. p.211-215
19. Who-World Health Organization (1998) *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva.
20. Barni, S.T., Cechinel Filho, V. & Couto, A.G. (2009) *Rev Bras Farmacogn* 19(4): 865-870
21. Marston, A. (2007) *Phytochemistry* 68: 2785-97
22. Sangster, A.W.; Stuart, K.L.(1964) *Ultraviolet spectra of alkaloids*. Department of Chemistry, University of the West Indies, Kingston, Jamaica

Table 1. Chemical and physicochemical data for *Erythrina* species

SAMPLE	ALKALOID CONTENT (%) <sup>a</sup>	LOSS ON DRY (%) <sup>a</sup>	EXTRACTABLE CONTENT(%) <sup>a</sup>	TOTAL ASH (%) <sup>a</sup>	ACID INSOLUBLE ASH (%) <sup>a</sup>
<i>Falcata</i>	0.071±0.0013	11.07±0.03	9.05±2.14	12.59±0.47*	0.93±0.007
<i>Poeppigiana</i>	0.077±0.0064	10.33±0.10	17.04±2.16*	4.99±0.05*	0.80±0.2
<i>Velutina</i>	0.071±0.0011	8.83±0.30*	12.53±2.1	6.95±0.3	0.84±0.1
<i>Verna</i>	0.133±0.0021*	10.54±0.009	10.67±1.41	6.47±0.58	1.08±0.43

<sup>a</sup> Values are means of triplicate analyses. \* Significant statistic difference (ANOVA, test-t, p<0.05)

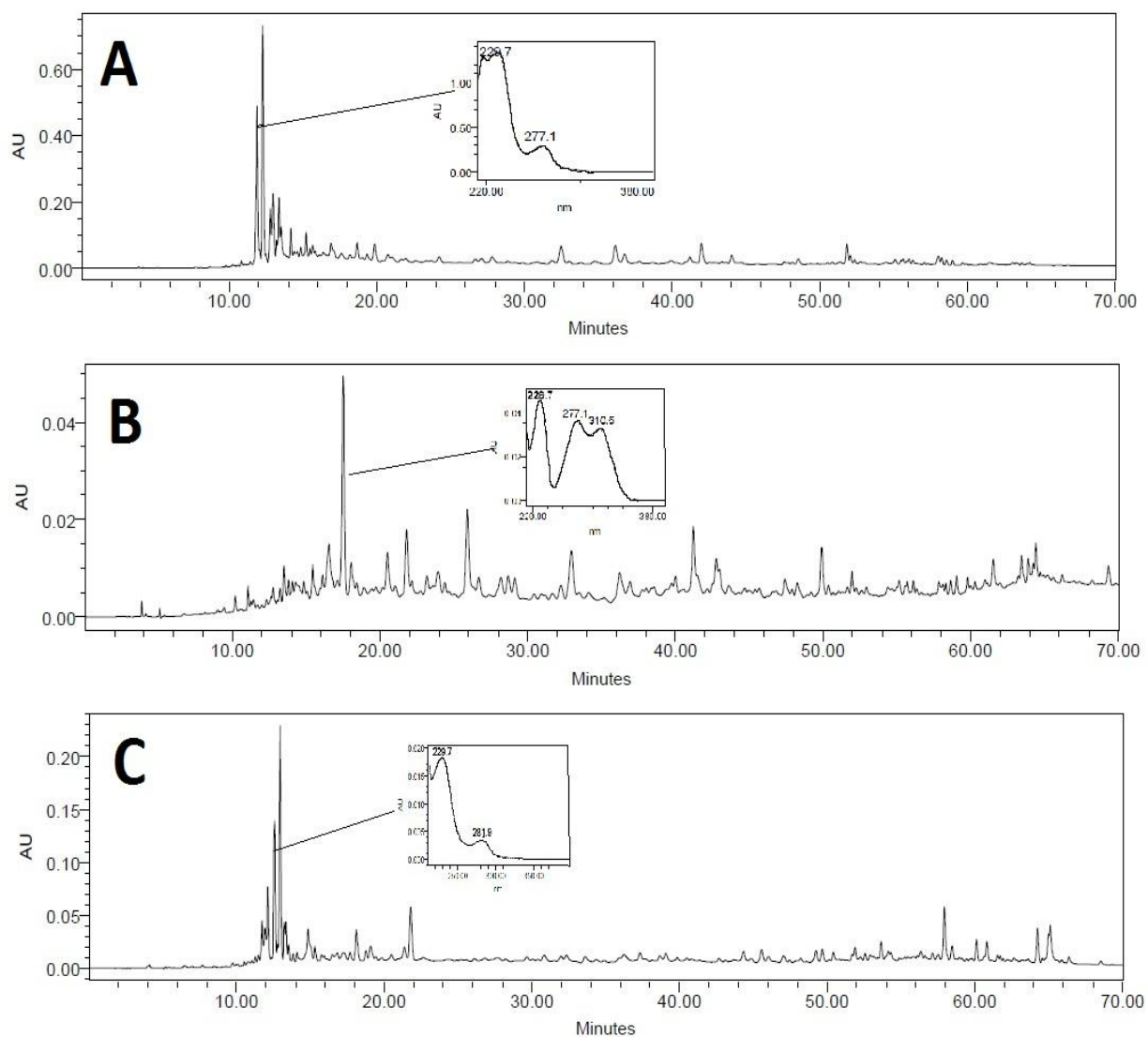


Figure 1: Representative chromatogram of different parts, flowers (A), leaves (B) and barks (C) of *E. verna* tested by LC-UV/DAD mobile phase water:acetonitrile, C18 column, 10  $\mu$ L injection volume,  $\lambda$  280 nm detection.

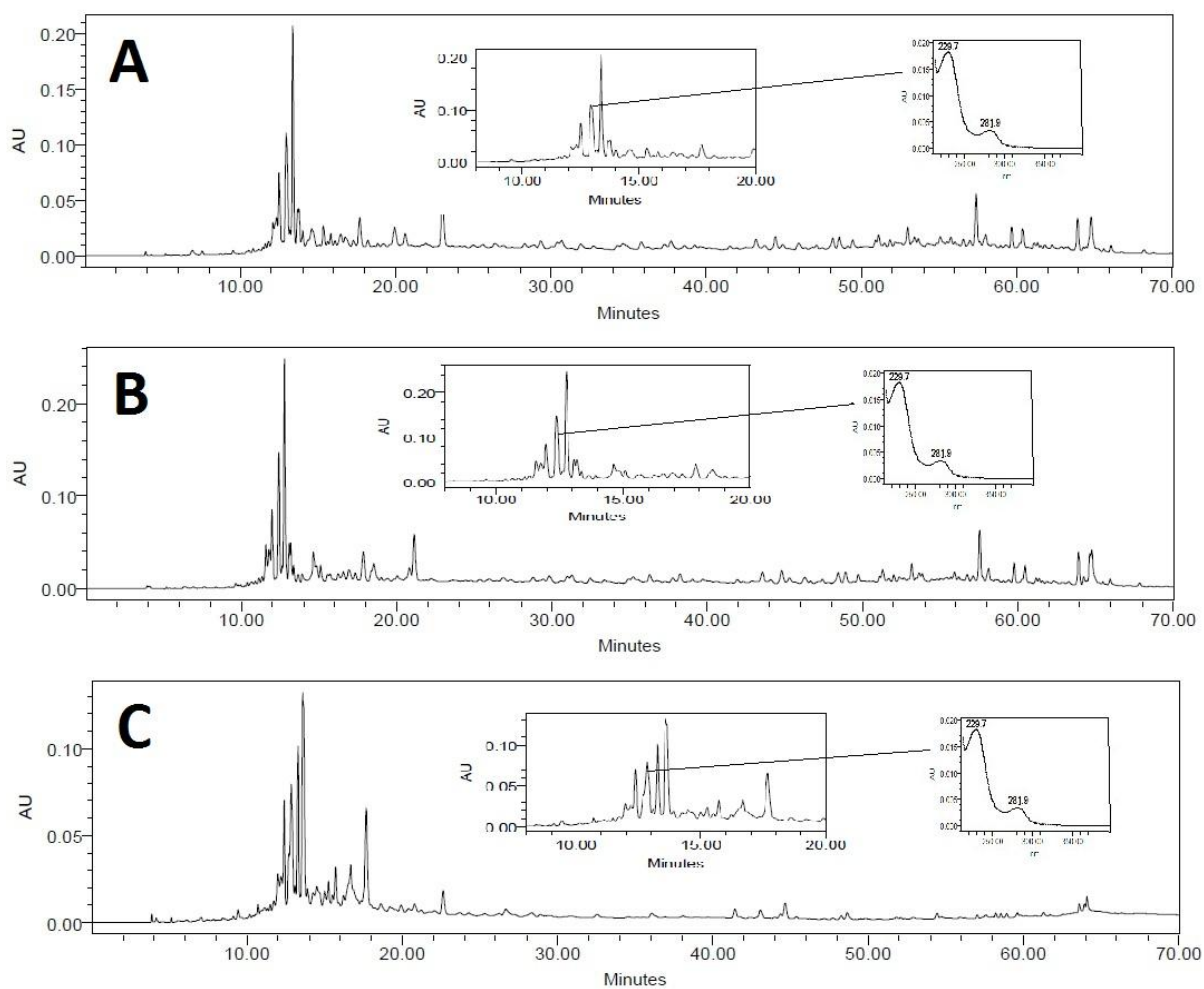


Figure 2. Representative chromatogram of trunk bark extracts of *E. verna* from different sites of collection. Sample from São Paulo (A and B) and Minas Gerais(C) LC-UV/DAD mobile phase water:acetonitrile, C18 column, 10  $\mu$ L injection volume,  $\lambda$  280 nm detection.

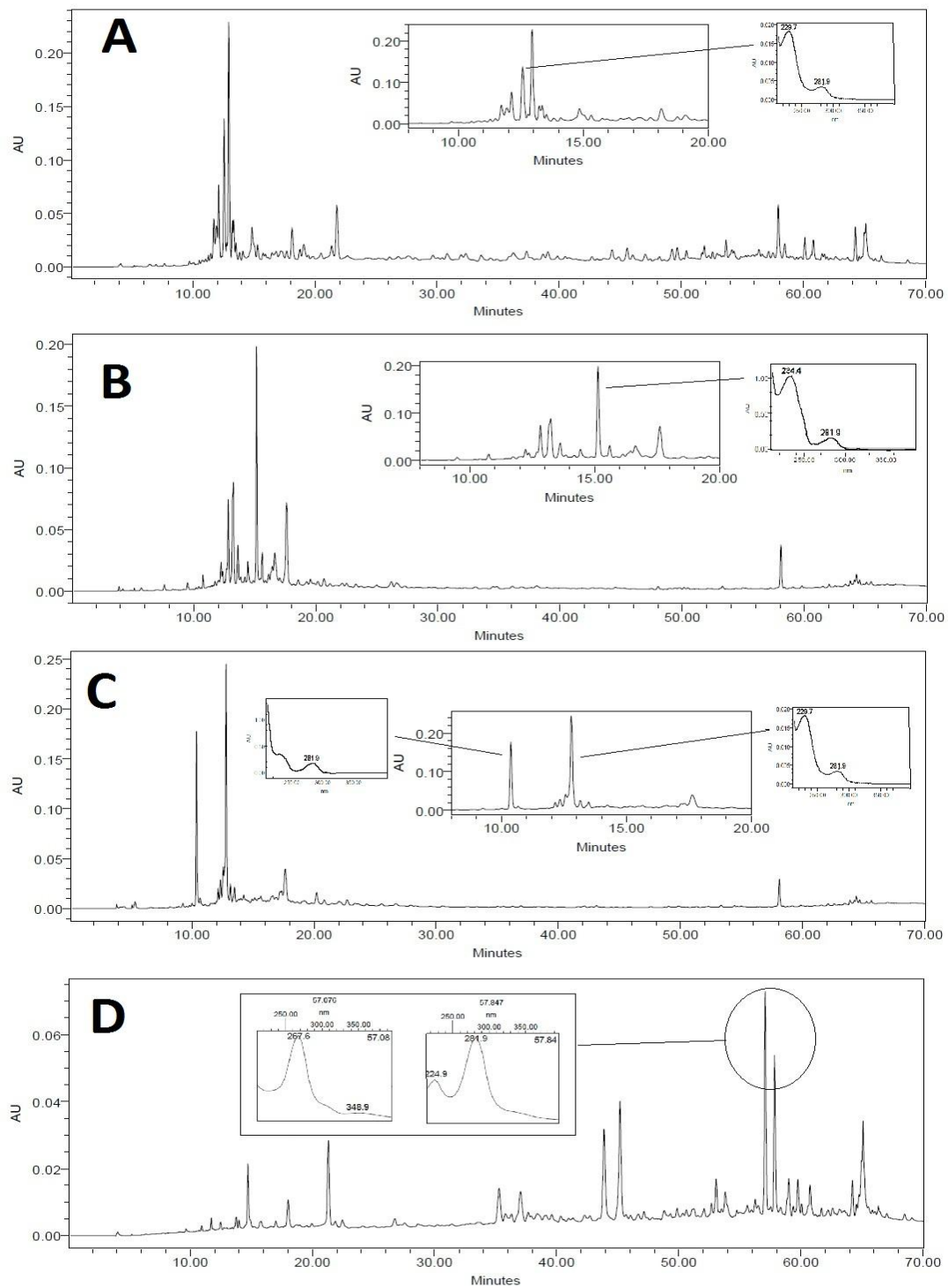


Figure 3: Representative chromatogram of *E. verna* (A), *E. poeppigiana*(B), *E. velutina* and *E. falcata* alkaloid extract tested by LC, mobile phase water:acetonitrile, C18 column, 10  $\mu$ L injection volume,  $\lambda$  280 nm detection.



## **6. DISCUSSÃO GERAL**





O presente trabalho objetivou a determinação de parâmetros para o controle de qualidade da matéria prima-vegetal cascas de *Erythrina verna*, bem como comparar o perfil químico do extrato de alcalóides de suas partes e de outros exemplares do gênero, uma vez que são escassos os dados referentes ao controle de qualidade de tais plantas.

Com os resultados parciais obtidos, pretende-se colaborar para elaboração de uma monografia analítica para esta droga vegetal, que estabelecerá bases para seu controle de qualidade. Estes parâmetros tornam-se relevantes tendo em vista a sua presença na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde, a qual tem por finalidade orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da relação de fitoterápicos disponíveis para uso da população, com segurança e eficácia comprovadas (Rensis, 2009).

A etapa primordial para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal é sua descrição botânica. Aspectos macro e microscópicos foram analisados para confirmar a identidade da planta, etapa esta muito importante, já que uma identificação errônea pode inviabilizar todo trabalho posterior. A avaliação foi feita comparando com a única outra droga vegetal nacional farmacopeica, o barbatimão, pertencente à mesma família vegetal e constituída pelas cascas (Maciel *et al.*, 2002; Sonáglio *et al.*, 2003).

Com o material devidamente caracterizado, foi realizado o controle físico-químico, no qual foram analisados parâmetros como teor de cinzas totais e insolúveis, teor de extrativos, perda por dessecação e teor de alcalóides totais. Estes são considerados métodos rápidos e eficientes para controle de qualidade prévio de *Erythrina verna*.

Um dos mais importantes fatores relacionados a matérias-primas vegetais diz respeito ao teor de umidade nelas contido, já que altos níveis de umidade podem acarretar a desestabilização do material por meio da ação de microrganismos que possam crescer ou ainda pela ação de enzimas da própria planta (Falkenberg e Dos

Santos, 2003). As cascas de *E. verna* apresentaram teores que ficaram próximos aos revelados por Almeida (2010) para as cascas de *E. falcata*.

Tecnologicamente, esse parâmetro é de extrema importância, uma vez que se pode prever a estabilidade dos produtos com base em sua perda por dessecação. Vários compêndios oficiais preconizam limites entre 8-14%, dependendo da parte da planta em questão, como valores aceitáveis para o teor de umidade para matérias-primas vegetais. Dessa forma, o material analisado encontrou-se dentro dos limites (Farias, 2003; Farmacopéia Brasileira, 1988; Antonelli-Ushirobira, 2004; Michelin, 2010).

Quanto ao teor de cinzas totais e insolúveis, *E. verna* apresenta valores inferiores aos encontrados na literatura para uma espécie do mesmo gênero, *E. falcata*. Além disso, esses teores são capazes de nos dar uma idéia quanto ao tipo de tratamento que o material teve nos processos pré venda, já que altos valores permitem observar a presença de substâncias inorgânicas não voláteis, como sujidades e outros contaminantes que possam estar agregados ao material. Complementarmente, teores de até 1% de cinzas insolúveis em ácido são considerados normais para materiais de origem vegetal, exceto em plantas ricas em silicatos (Michelin, 2010; Frasson, 2003, Almeida, 2010).

A etapa de determinação do teor de extrativos além de ser útil para avaliar a qualidade mínima do material pesquisado, pode ser de grande utilidade para a seleção de cultivos com maior capacidade de produção de metabólitos de interesse, visto que possibilita a seleção das espécies vegetais que apresentam o maior resultado. (Argueso, 1986; Barni, 2009).

Uma vez adaptado o método para a quantificação por titulometria dos alcalóides totais livres de *E. verna*, comparou-se amostras de diferentes origens, com dados descritos na literatura. Autores como Garcia-Mateos (1998), relataram a presença de 0,1% de alcalóides totais livres nas sementes do gênero *Erythrina*. Já Folkers e Koniuszy (1940), em seu estudo sobre espécies do gênero, reportaram quantidades que podem variar de 0,01 a 0,4% de alcalóides totais nas sementes. Dentre as espécies

estudadas, a espécie de maior rendimento foi *E. glauca* Willd que apresentou 0,4% de alcalóides. Bem como *E. velutina* que apresentou teores que variaram de 0,19 a 0,32%, sendo estes superiores aos encontrados em nosso estudo, diferenças estas, que podem ser resultantes de fatores edáficos, climáticos, idade, localização e outros.

Um método por CLAE foi desenvolvido para análise do perfil químico de cascas de *E. verna*. Analisando os espectros de ultravioleta observou-se a presença de alcalóides aromáticos dos tipos erisodina e eritramina e também, alcalóides do tipo eritroidina (Sangster e Stuart, 1964; Reimann, 2007). Através da co-injeção do alcalóide isolado foi possível identificar um dos alcalóides majoritários, a eritravina.

Para este alcalóide isolado é relatada por Flausino Jr (2007 a e b) uma importante atividade ansiolítica, que justifica o uso popular de *E. verna* como calmante. Entretanto, é necessária a análise dos outros alcalóides presentes no extrato, bem como verificar se há um efeito sinérgico potencializando sua atividade.

Comparando o perfil químico das cascas com o das flores observou-se uma semelhança qualitativa dos alcalóides. Entretanto, analisando o cromatograma referente às folhas evidenciou-se quantidades inferiores de alcalóides, além de diferenças no perfil comparado às demais partes da planta. Assim, pode-se inferir que há um acúmulo preferencial de alcalóides nas flores, seguido das cascas e folhas. Também foi comparado por CLAE o perfil de alcalóides totais dos extratos de *E. verna* coletada em diferentes locais em São Paulo e também em Minas Gerais, sendo que nesta última um alcalóide majoritário, não presente nas outras, foi detectado.

Adicionalmente foi realizada a análise comparativa dos perfis químicos de cascas de *E. verna* com *E. velutina*, *E. poeppigiana* e *E. falcata*. Isto se torna relevante tendo em vista que o mercado de matérias-primas para a produção de fitoterápicos à base de *E. verna* comercializa o produto pela denominação de mulungu. Isso se torna problemático já que é sabido que *E. velutina*, além de outras, também é conhecida popularmente como mulungu, dependendo da Região onde é utilizada.

Observaram-se diferenças qualitativas e quantitativas dos alcalóides presentes em *E. verna* e *E. velutina*, confirmando o que foi relatado por Bisby e colaboradores (1994). Enfatizando a necessidade de diferenciação destas espécies para utilização como matéria-prima para produtos fitoterápicos, *E. velutina* apresentou maior de eritravina, o que pode ser um diferencial em favor desta espécie.

Tendo em vista que outras espécies do gênero podem ser adicionadas como adulterantes com a finalidade de aumentar o rendimento, o perfil químico de *E. verna* foi comparado a outros do mesmo gênero, *Erythrina poeppigiana* e *Erythrina falcata*, entretanto, mostraram perfil diferenciado.

## **7. CONCLUSÕES**



Diante dos resultados obtidos nesse trabalho pode-se concluir que:

- Foi possível estabelecer características morfológicas e anatômicas para a identificação da espécie *E. verna*;
- O teor médio encontrado de cinzas totais foi de 6,47% e 1,08% para cinzas insolúveis, respeitando os limites especificados nas Farmacopéias;
- O teor de perda por dessecação pelo método gravimétrico foi de 10,54%, e com a termobalança com infravermelho foi de 10,39%;
- O teor de extrativos foi de 10,67%;
- As condições ideais para a produção de extrato bruto de *E. verna* foram a decocção do pó das cascas com solvente hidroalcoólico;
- O método analítico desenvolvido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência mostrou-se satisfatório, sendo ele eficiente na representação do perfil químico dos alcalóides do gênero *Erythrina*, tornando-se útil no controle de qualidade desta planta;
- Foi possível identificar a presença de eritravina no extrato de alcalóides de *E. verna*, *E. velutina* e *E. poeppigiana*;
- O perfil químico dos extratos de *E. verna*, *E. velutina*, *E. poeppigiana* e *E. falcata* se diferenciam qualitativamente e quantitativamente.









Ahmad, V. U.; Najmus-Saqib, Q.; Usmanghani, K.; Miana, G. A. Isolation of erysotrine and 11-hydroxyerysotrine from the leaves of *Erythrina herbacea* linn. **Journal of Chemical Society** v.1, n.1 p. 79-80, 1979.

Almeida, E. R. **Plantas medicinais brasileiras, conhecimentos populares e científicos**. Hemus editora Ltda. São Paulo. 1993.

Almeida, E.E. Caracterização farmacognóstica da espécie *Erythrina falcata* Benth., Fabaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** v.20,n.1, p.100-1005, 2010.

Altamirano, D. **Gaceta Medica de Mexico**, v. 23, p. 369, 1888.

Anderson, D. C., Siqueira-Batista, R., Quintas, L. E. M. **Plantas medicinais – do cultivo à terapêutica – 2ª ed.** Editora Vozes. Petrópolis. 1998.

Antonelli-Ushirobira, T. M.; Yamagutti, E.; Uhemura, L. M.; Palazzo de Mello, J. C. Controle de Qualidade de Amostras de *Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Duck **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23 n.3, p. 383-6, 2004.

Argueso, A.D.A. **Manual de tecnicas en histologia vegetal**. Buenos Aires: Hemisferio Sur. 1986.

Atsamo, A. D.; Nguenefack, T. B.; Datté, J. Y.; Kamanyi, A. Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC. (Fabaceae) in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, doi:10.1016/j.jep.2011.01.023, 2011.

Barni, S. T.; Cechinel Filho, V.; Couto, A. G. Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria-prima farmacêutica. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 4, p. 865-870, 2009.

Bisby, F.A.; Buckingham, J.; Harborne, J. B.; Zarucchi, J. L. **Phytochemical dictionary of the Leguminosae**. Chapman & Hall Chemical Database: CRC Press, 1994. p. 302.

Bittar, J.P. *Erythrina verna*. 2009. 6f. Monografia (Conclusão de curso em Fitoterapia) Unifesp, 2009.

Borges, R. de S.; Lopes, R. A.; Paz, K. da; Regalo, S. C. H.; Sala, M. A.; Petenusci, S. O. Hepatotoxicidade de plantas medicinais. VII. Ação da infusão de *Erythrina mulungu*

Mart. Ex Benth no rato. **Investigação- Revista Científica da Universidade de Franca**. v.5, n. 1/6, p. 9-13, 2005.

Brasil. Congresso Nacional. *Lei no. 9.782, de 26 de janeiro de 1999*. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Poder Legislativo, Brasília, DF, 27 jan. 1999.

\_\_\_Ministério da Saúde. *Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 14 de 31.3.2010*. **Diário Oficial da União**, 31 março 2010.

\_\_\_ Ministério da Saúde. *Portaria no. 971, de 03 de maio de 2006*. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, Brasília, DF, 04 mai. 2006a.

\_\_\_ Presidência da República. *Decreto no. 5813 de 22 de junho de 2006*. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, Brasília, DF, 23 jun. 2006b.

Budel, J. M.; Duarte, M. R.; Santos, C. A. M. Parâmetros para análise de carqueja: comparação entre quatro espécies de *Baccharis* spp. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 1, 2004.

Cabral, A. G. S.; De Medeiros, V. M.; Leal, S. S.; Fernandes, H. M. B.; Tavares, J. F.; Da Silva, M. S.; Barbosa-Filho, J. M. Constituintes químicos isolados das cascas do caule de *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae) **32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2009a.

Cabral, A. G. S.; De Medeiros, V. M.; Leal, S. S.; Fernandes, H. M. B.; Tavares, J. F.; Da Silva, M. S.; Barbosa-Filho, J. M. Flavonóides de *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae) **32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2009b.

Carvalho, A. C. B.; Nunes, D. S. G.; Baratelli, T. G.; Mahmud, N. S.; Shuqair, S. A. Q.; Netto, E. M. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v. 5, n. 11, p. 26-32, 2007.

Carvalho, A. C. B.; Balbino, E. E.; Maciel, A.; Perfeito, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18 n. 2, p. 314-319, 2008.

Carvalho, A. C. C. S.; Almeida, D. S.; Melo, M. G. D. C.; Cavalcanti, S. C. H.; Mar, R. M. Evidence of the mechanism of action of *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae) leaves aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.122, p. 374–378, 2009.

Chacha, M.; Bojase-Moleta, G.; Majinda, R. R. T. Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima*. **Phytochemistry**, v.66, p.99-104, 2005.

Cordell, G. A.; Shamna, M.; Saxton, J. E.; Smith, G. F. **Dictionary of alkaloids**. Chapman e Hall, London, v. 1, 611f. 1989.

Cornelius, W. W.; Akeng'a, T.; Obiero, G. O.; Lutta, K. P. Antifeedant Activities of the Erythrinaline Alkaloids from *Erythrina latissima* against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Records of Natural Products**, v. 3, n. 2, p. 96-103, 2009.

Corrêa, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**, Brasil: Ministério da Agricultura. v. 5, p. 262, 1984.

Costa, R. A. C. V.; de Moraes, A. B. B. Fenologia e visitantes florais de *Erythrina crista-galli* L. (Leguminosae: Faboideae) em Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biotemas**, v. 21, n. 2, p.51-56, 2008.

Craveiro, A. C. S.; Carvalho, D. M. M.; Nunes, R. S.; Fakhouri, R.; Rodrigues, S. S.; Teixeira-Silva, F. Toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina* em animais experimentais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, supl., p. 739-743, 2008.

Cruz, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**, 5th Ed. Bertrand –Rio de Janeiro. 1995.

Cui, L.; Thuong, P. T.; Lee, H. S.; Ndinteh, D. T.; Mbafor, J. T.; Fomum, Z. T.; Oh, W. K. Flavanones from the stem bark of *Erythrina abyssinica*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 10356–10362, 2008.

Cui, L.; Thuong, P. T.; Fomum, Z. T.; Oh, W. K. A new Erythrinan alkaloid from the seed of *Erythrina addisoniae*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 32, n. 3, p. 25-328, 2009.

Dantas, M. C.; Oliveira, F. S.; Bandeira, S. M.; Batista, J. S.; Silva, C. D.; Alves, P. B.; Antonioli, A. R.; Marchioro, M. Central nervous system effects of the crude extract of *Erythrina velutina* on rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 129-133, 2004.

Dao, T. T.; Nguyen, P. H.; Thuong, P. T.; Kang, K. W.; Na, M.; Ndinteh, D. T.; Mbafor, J. T.; Oh, W. k. Pterocarpanes with inhibitory effects on protein tyrosine phosphatase 1B from *Erythrina lysistemon* Hutch. **Phytochemistry**, v.70, p.2053-2057, 2009.

De Oliveira, M. S. G. Estudo Fitoquímico e Avaliação Antinociceptiva e Anti-inflamatória de *Erythrina mulungu* (Fabaceae). 2009. 168 f. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2009.

Djiogue, S.; Halabalaki, M.; Alexi, X.; Njamen, D.; Fomum, Z. T.; Alexis, M. N.; Skaltsounis, A. L. Isoflavonoids from *Erythrina poeppigiana*: evaluation of their binding affinity for the estrogen receptor. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 1603–1607, 2009.

Djiogue, S.; Njamen, D.; Halabalaki, M.; Kretschmar, G.; Beyer, A.; Mbanya, J. C.; Skaltsounis, A.L.; Vollmer, G. Estrogenic properties of naturally Occurring prenylated isoflavones in U2OS human osteosarcoma cells: structure-activity relationships. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, doi:10.1016/j.jsbmb.2010.04.014, 2010.

Duarte, M.; Rocha, D; Paz, R.; Rodrigues, R.; Câmara, C.; Ramos, C. Perfil químico e toxicidade de espécimes de *Erythrina verna* comercializadas em Pernambuco. 2010 Disponível em: <http://www.sigeventos.com.br/jepex/inscricao/resumos/0001/R1587-3.PDF> acessado em 14 de março de 2011.

Dutra, V. F.; Garcia, F. C. P.; de Lima, H. C.; de Queiroz, L. P. Diversidade florística de Leguminosae Adans. em áreas de campos rupestres. **Megadiversidade**, v. 4, n. 1-2, p. 117-125, 2008.

Estrella, M.; Cabezas, F. J.; Aedo, C.; Velayos, M. The Papilionoideae (Leguminosae) of Equatorial Guinea (Annobón, Bioko and Río Muni). **Folia Geobotanica**, v. 45, p. 1–57, 2010.

Faggion, S. A.; Cunha, A. O. S.; Fachim, H. A.; Gavin, A. S.; Dos Santos, W. F.; Pereira, A. M. S.; Belebani, R.O. Anticonvulsant profile of the alkaloids (+)-erythravine and (+)-11- $\alpha$ -hydroxy-erythravine isolated from the flowers of *Erythrina mulungu* Mart ex Benth (Leguminosae–Papilionaceae). doi:10.1016/j.yebeh.2010.12.037, 2011.

Falkenberg, M. B.; Dos Santos, R. Introdução à análise fitoquímica. In.; Simões, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (Org.). **Farmacognosia da Planta ao**

**Medicamento.** 5. ed. Porto Alegre: EDUFRGS; Florianópolis: EDUFSC, 2003. cap. 10, p. 229-245.

Faria, T. J.; Cafêu, M. C.; Akiyoshi, G.; Ferreira, D. T.; Galão, O. F.; Andrei, C. C. Alcalóides de flores e folhas de *Erythrina speciosa* Andrews. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 525-527, 2007.

Farias, M.R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. org. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade/UFRGS / Editora da UFSC. 2003.

Farmacopéia Brasileira 1<sup>a</sup>.edição, 1929.

Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil, Ed.IV, Companhia Editora Nacional. 1988.

Flausino, Jr. O.; Santos, L. A.; Verli, H., Pereira, A. M.; Bolzani, V. S.; Nunes-de-Souza, R. L. Anxiolytic Effects of Erythrinian Alkaloids from *Erythrina mulungu*. **Journal of Natural Products.** v. 70, p. 48-53, 2007<sup>a</sup>.

Flausino, Jr. O. A.; Pereira, A. M.; Bolzani, V. S.; Nunes-de-Souza, R. L. Effects of Erythrinian Alkaloids Isolated from *Erythrina mulungu* (Papilionaceae) in Mice Submitted to Animal Models of Anxiety. **Biological of Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 2, p. 375—378, 2007<sup>b</sup>.

Folkers, K.; Major, R. Isolation of Erythroidine, an alkaloid of curare action, from *Erythrina americana* Mill. **Journal of the American Chemical Society**, v. 59, p. 1850, 1937.

Folkers, K.; Koniuszy, F. Isolation and characterization of the new alkaloids, *Erythraline* and *Erythratine*. **Journaul of American chemistry Society**, v.62, p. 436-431, 1940.

Frasson, A. P. Z.; Bittencourt, C. F. & Heinzmann, B.M.Characterização físico-química e biológica do caule de *Caesalpinia férrea* Mart. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.13, n.1, p.35-39, 2003.

García-Mateos, R.; Soto-Hernandez, M.; Kelly, D. Alkaloids from six *Erythrina* species endemic to Mexico. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 26, p. 545-551, 1998.

Garín-Aguilar, E.; Luna, J. E. R.; Soto-Hernández, M.; del Toro, G. V.; Vázquez, M. M. Effect of crude extracts of *Erythrina americana* Mill. on Naggressive behavior in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, p. 189–196, 2000.

Hussain, S.S. A new alkaloid from flowers of *Erythrina stricta*. **Journal of Sciences**, v.13, n. 1, p.35-38, 2002.

Hussain, M. M.; Dastagir, M. G.; Billah, A. H. M. M.; Ismail, M. Alpinum isoflavona de *Erythrina stricta* Roxb. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 10, n. 1, p. 88 – 90, 2011.

Innok, P.; Rukachaisirikul, T.; Suksamrarn, A. Flavanoids and Pterocarpanes from the Bark of *Erythrina fusca*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 9, p. 993—996, 2009.

Innok, P.; Rukachaisirikul, T.; Phongpaichit, S.; Suksamrarn, A. Fuscacarpanes A–C, new pterocarpanes from the stems of *Erythrina fusca*, **Fitoterapia**, doi:10.1016/j.fitote.2010.01.009, 2010.

Juma, B. F.; Majinda, R. R. T. Erythraline alkaloids from the flowers and pods of *Erythrina lysistemon* and their DPPH radical scavenging properties. **Phytochemistry**, v. 65, p. 1397–1404, 2004.

Lima, H. C. de *Erythrina* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB022969>), 2010. Acessado dia 3 junho de 2011.

Lollato, G.; Scarminio, I. S.; Moreira, E. G. Behavioral effects of aqueous and dichloromethane extracts of *Erythrina speciosa* Andrews, Fabaceae, leaves in mice. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 6, p. 939-944, 2010.

Lorenzi, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 1992. v. 1, 2ª Ed.

Lorenzi, H; Matos, F. F. A. **Plantas Mediciniais no Brasil**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. 2002.

Lorenzi, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2 ed. São Paulo: Nova Odessa, 2002. v. 2. 384p.

Maciel, M. A. M.; Pinto, A. C.; Veiga Jr., V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.



- Maier, U. H.; Rödl, W.; Deus-Neumann, B.; Zenk, M. H. Biosynthesis of *Erythrina* alkaloids in *Erythrina crista-galli*. **Phytochemistry**, v. 52, p. 373-382, 1999.
- Marchioro, M.; Blank, M. F. A.; Mourão, R. H. V.; Antonioli, A. R. Anti-nociceptive activity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves. **Fitoterapia**, v. 76, p. 637– 642, 2005.
- Michelin, D. C.; Finati, S. C. G.; Sacramento, L. V. S.; Vilegas, W.; Salgado, H. R. N. Controle de qualidade da raiz de *Operculina macrocarpa* (Linn) Urb., Convolvulaceae **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.20, n.1, p. 18-22, p.2010.
- Migliato, K. F.; Moreira R. R. D.; Mello, J. C. P.; Sacramento, L. V. S.; Corrêa, M. A.; Salgado, H. R. N. Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n.1, p. 94-101, 2007.
- Neill, D. A. The genus *Erythrina*: taxonomy, distribution and ecological differentiation. *Erythrina* in the new and old worlds. **Missouri Botanical Garden Bulletin**, St Louis, n. 63, p. 166, 1993.
- Nkengfack, A. E.; Vouffo, T. W.; Vardamides, J. C.; Kouam, J.; Fomum, Z. T.; Meyer, M.; Sterner, O. Phenolic metabolites from *Erythrina* species. **Phytochemistry**, v. 46, n. 3, p. 573 578, 1997.
- Onusic, G. M; Nogueira, R. L.; Pereira, A. M. S., Viana, M.B. Effect of acute treatment with a water-alcohol extract of *Erythrina mulungu* on anxiety-related responses in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p.473-477, 2002.
- Onusic, G. M.; Nogueira, R. L.; Pereira, A. M. S.; Flausino Junior, O. A.; Viana, M. B. Effects of Chronic Treatment with a Water–Alcohol Extract from *Erythrina mulungu* on Anxiety-Related Responses in Rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 11. p. 1538-1542, 2003.
- Orihuela, P. A.; Ishiyama, V. Postcoital ingestion of the aqueous extract of *Erythrina falcata* Benth prevents pregnancy in the mouse. **Contraception**, v. 73, p. 307– 310, 2006.
- Ozawa, M.; Honda, K.; Nakai, I.; Kishida, A.; Ohsaki, A. Hypaphorine, an indole alkaloid from *Erythrina velutina*, induced sleep on normal mice. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, p. 3992–3994, 2008.

Ozawa, M.; Etoh, T.; Hayashi, M.; Komiyama, K.; Kishida, A.; Ohsaki, A. TRAIL-enhancing activity of Erythrinan alkaloids from *Erythrina velutina*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, p. 234–236, 2009.

Padwa, A.; Wang, Q. Synthesis of the tetracyclic framework of the *Erythrina* alkaloids using a [4+2]-cycloaddition/Rh(I)-catalyzed cascade of 2-imidofurans. **Journal of Organic Chemistry**, v. 71, n. 19, p. 7391-7401, 2006.

Pereira, W. F.; Machado, M. Q. M. Estudo comparativo do efeito ansiolítico da *Erythrina verna* (mulungu) e o clonazepam (rivotril) em modelo animal de ansiedade. **Horizonte Científico (Revista Eletrônica da Universidade Federal de Uberlândia)**, v. 1, n. 9, p. 315-333, 2008.

Pillay, C. C. N.; Jager, A. K.; Mulholland, D. A.; Van Staden, J. Cyclooxygenase inhibiting and anti-bacterial activities of South African *Erythrina* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n. 3, p. 231-237, 2001.

Pino-Rodríguez, S.; González-Guevara, J. L.; García-Torres, M.; Carballo-González, M. T.; Echemendia-Arana, O. A.; Garrido-Garrido, G.; González-Lavaut, J. A.; Molina-Torres, J.; Prieto-González, S. Preliminary phytochemical screening and *in vitro* antiherpetic activity of *Erythrina fusca* Lour. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 4, p. 453-8, 2004.

Ramírez, E.; Rivero, M. D. Contribución al estudio de La acción farmacodinâmica de la *Erythrina* americana. **Anales Institute Biology**, v. 6, p. 301–305, 1935.

Raupp, I. M.; Sereniki, A.; Virtuoso, S.; Ghislandi, C.; Cavalcante e Silva, E. I.; Trebien, H. A.; Miguel, O. G.; Andreatini, R. Anxiolytic-like effect of chronic treatment with *Erythrina velutina* extract in the elevated plus-maze test. **Journal of Ethnopharmacology**, v.118, p 295-299,2008.

Renisus: Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS. **Ministério da Saúde**, fev. 2009. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>>. Acesso em: 7 jun. 2009.

Reimann, E. **Synthesis pathways to *Erythrina* alkaloids and *Erythrina* type compounds** In: Herz, W.; Falk, H.; Kirby, G.W. Progress in the Chemistry of organic Natural products Springer Wien New Youk, v. 88, 2007.

Reis, I. P. dos, Martins da Silva, R. C. V. Levantamento, no herbário IAN, das Papilionoideae (Leguminosae) ocorrentes no estado do Pará. **VI Seminário de**

**Iniciação Científica da UFRA e XII Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA Amazônia Oriental. 2008**

Ribeiro, M. D.; Onusic, G. M.; Poltronieri, S. C.; Viana, M. B. Effect of *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in rats submitted to animal models of anxiety and depression. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, n. 2, p. 263-270, 2006.

Rodrigues V. E., Carvalho, D. A. **Plantas medicinais do cerrado**. Universidade Federal de Lavras: Lavras. 2001

Rodrigues, I. M. C.; Garcia, F.C.P. Papilionoideae (Leguminosae) arbóreas e lianas na estação de pesquisa, treinamento e educação ambiental (EPTEA), Mata do Paraíso, Viçosa, Zona da Mata Mineira. **Revista Árvore**, v.31,n.3. p.521-532, 2007.

Rukachaisirikul, T.; Innok, P.; Aroonrerk, N.; Boonamnuaylap, W.; Limrangsun, S.; Boonyon, C.; Woonjina, U.; Suksamrarn, A. Antibacterial Pterocarpan from *Erythrina subumbrans*, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 171–175, 2007.

Rukachaisirikul, T.; Innok, P.; Suksamrarn, A. *Erythrina* alkaloids and a pterocarpan from the bark of *Erythrina subumbrans*. **Journal of Natural Products**, v.71, p.156-158, 2008.

Saidu, K.; Onah, J.; Orisadipe, A.; Olusola, A.; Wambebe, C.; Gamaniel, K. Antiplasmodial, analgesic, and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the stem bark of *Erythrina senegalensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 275–280, 2000.

Saqib, A. N.; Usmanhai, K.; Ahmad, V. U. Isolation and identification of n-nororientaline from *Erythrina herbacea* L. **Inn. Journal Pharmacy University Karachi**. v. 4, n.1, p. 39-42, 1985.

Sangster, A.w.; Stuart, K.L. Ultraviolet spectra of alkaloids. **Chemical Review**, p. 89-90, 1964.

Sarragiotto, M. E.; Leitão Filho, H.; Marsaioli, A. Erysoitrine-N-oxide and erythrantine-N-oxide, two novel alkaloids from *Erythrina mulungu*. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 59. p. 2771-2775, 1981.

Sato, M.; Tanaka, H.; Yamaguchi, R.; Oh-Uchi, T.; Etoh, H. *Erythrina poeppigiana* - derived phytochemical exhibiting antimicrobial activity against *Candida albicans* and

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, p. 81–85, 2003.

Sato, M.; Tanaka, H.; Tani, N.; Nagayama, M.; Yamaguchi, R. Different antibacterial actions of isoflavones isolated from *Erythrina poeppigiana* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, p. 243–248, 2006.

Silva, M. I. G.; Gondim, A. P. S.; Nunes, I. F. S.; Sousa, F. C. F. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 4, p. 455-462, 2006.

Silva, K. B. Tecnologia de sementes de *Erythrina velutina* Willd. 2008. 138f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2008.

Sonaglio, D.; González Ortega, G.; Petrovick, P.R.; Bassani, V.L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (Org.). **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: EDUFRGS; Florianópolis: EDUFSC, 2003. cap. 13, p. 289-326.

Tanaka, H.; Tanaka, T.; Etoh, H. Erythrinian alkaloid from *Erythrina bidwillii*. **Phytochemistry**, v.48, n.8, p. 1461-1463, 1998.

Tanaka, H.; Oh-Uchi, T.; Etoh, H.; Shimizu, H.; Tateishi, Y. Isoflavonoids from the roots of *Erythrina poeppigiana*. **Phytochemistry**, v. 60, p. 789–794, 2002.

Tanaka, H.; Oh-Uchi, T.; Etoh, H.; Sako, M.; Sato, M.; Fukai, T.; Tateishi, Y. An arylbenzofuran and four isoflavonoids from the roots of *Erythrina poeppigiana*. **Phytochemistry**, v. 63, p. 597–602, 2003.

Tanaka, H.; Sato, M.; Oh-Uchi, T.; Yamaguchi, R.; Etoh, H.; Shimizu, H.; Sako, M.; Takeuchi, H. Antibacterial properties of a new isoflavonoid from *Erythrina poeppigiana* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Phytomedicine**, v. 11, p. 331–337, 2004.

Tanaka, H.; Hattori, H.; Tanaka, T.; Sakai, E.; Tanaka, N.; Kulkarni, A.; Etoh, H. A new *Erythrina* alkaloid from *Erythrina herbacea*. **Journal of Natural Medicine**. v. 62, p. 228-231, 2008.

Umamaheswari, M.; Asokkumar, K.; Sivashanmugam, A. T.; Remyaraju, A.; Subhadradevi, V.; Ravi, T.K. *In vitro* xanthine oxidase inhibitory activity of the fractions of *Erythrina stricta* Roxb. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, p. 646–648, 2009.

Unna, K.; Kniazuk, M.; Greslin, J. G. Pharmacologic action of *Erythrina* alkaloids I.  $\beta$ -erythroidine and substances derived from it. **Journal of the American Chemical Society**, p. 39-52, 1943.

Vasconcelos, S. M. M.; Oliveira, G. R.; De Carvalho, M. M.; Rodrigues, A. C. P.; Silveira, E. R.; Fonteles, M. M. F.; Sousa, F. C. F.; Viana, G. S. B. Antinociceptive Activities of the Hydroalcoholic Extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in Mice. **Biological of Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 7, p. 946—949, 2003.

Vasconcelos, S. M. M.; Lima, N. M.; Sales, G. T. M.; Cunha, G. M. A.; Aguiar, L. M. V.; Silveira, E. R.; Rodrigues, A. C. P.; Macedo, D. S.; Fonteles, M. M. F.; Sousa, F. C. F.; Viana G. S. B. Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 271–274, 2007.

Virtuoso, S.; Davet, A.; Dias, J. F. G.; Cunico, M. M.; Miguel, M. D.; Oliveira, A. B.; Miguel, O. G. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, n. 2, p. 137-142, 2005.

Wandji, J.; Awanchiri, S. S.; Fomum, Z. T.; Tillequin, F.; Libot, F. Isoflavones and alkaloids from the stem bark and seeds of *Erythrina senegalensis*. **Phytochemistry**, v. 39, n.3, p. 677-681, 1995.

Wätjen, W.; Kulawik, A.; Suckow-Schnitker, A. K.; Chovolou, Y.; Rohrig, R.; Ruhl, S.; Kampkötter, A.; Addae-Kyereme, J.; Wright, C. W.; Passreiter, C. M. Pterocarpans phaseollin and neorautenol isolated from *Erthrina addisoniae* induce apoptotic cell death accompanied by inhibition of ERK phosphorylation. **Toxicology**, v. 242, p. 71-79, 2007.

Wätjen, W.; Suckow-Schnitker, A. K.; Rohrig, R.; Kulawik, A.; Addae-Kyereme, J.; Wright, C. W.; Passreiter, C. M. Prenylated flavonoid derivatives from the bark of *Erythrina addisoniae*. **Journal of Natural Product**, v. 71, p. 735-738, 2008.

Wandji, J.; Awanchiri, S. S.; Fomum, Z. T.; Tillequin, F.; Libot, F. Isoflavones and alkaloids from the stem bark and seeds of *Erythrina senegalensis*. **Phytochemistry**, v. 39, n.3, p. 677-681, 1995.

Willaman, J. J., Schubert, B. G. **Alkaloid bearing plants and their contained alkaloids**.1961.

Xiaoli, L.; Naili, W.; Sau, W. M.; Chen, A.S.C.; Xinsheng, Y. Four new isoflavonoids from the stem bark of *Erythrina variegata*. **Chemical Pharmacy Bulletin**, v.54, n.4, p. 570-573, 2006.

Yu, D.L.; Guo, J.; Xu, L.Z.; Yang, S.L. Erythrinarine, a novel nor-A ring *Erythrina* alkaloid from *Erythrina arborescens*. **Chinese Chemical Letters**, v. 10, n. 2, p. 139-142, 1999.



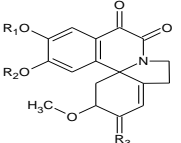
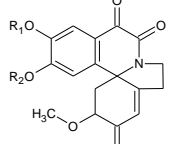
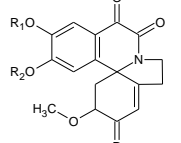
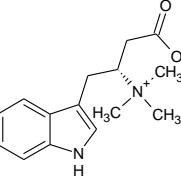
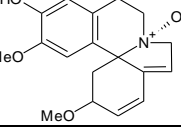




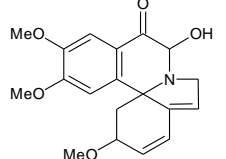
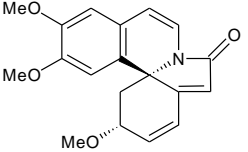
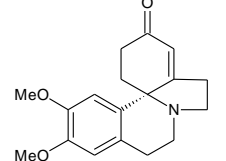
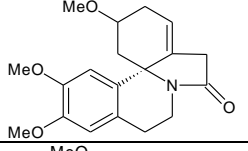
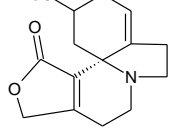
**Tabela 1:** Lista das atividades farmacológicas descritas para de *Erythrina verna* e *Erythrina velutina*

<b>Espécie</b>	<b>Composto Isolado/fração</b>	<b>Farmacógeno</b>	<b>Atividade</b>	<b>Referências</b>
<i>Erythrina velutina</i>	Hipaforina	Sementes	Indutora do sono	Ozawa <i>et al.</i> , 2008
<i>Erythrina velutina</i>	Erisotrina	Sementes	TRAIL (fator de necrose tumoral)	Ozawa <i>et al.</i> , 2009
<i>Erythrina velutina</i>	Extrato hidroalcoólico	cascas (stem bark, cascas dos galhos)	Ansiolítico	Raupp <i>et al.</i> , 2008
<i>Erythrina velutina</i>	Extrato bruto	Cascas	Moderada atividade frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	Virtuoso <i>et al.</i> , 2005
<i>Erythrina velutina</i>	Extrato bruto	Folhas	Anti-nociceptivo	Marchioro <i>et al.</i> , 2005
<i>Erythrina velutina</i>	Extrato bruto	Folhas	Sedativo e bloqueador neuromuscular	Dantas <i>et al.</i> , 2004
<i>Erythrina velutina e verna</i>	Extrato bruto	cascas	Anti-nociceptivo Atividade depressora do SNC	Vasconcellos <i>et al.</i> , 2003
<i>Erythrina velutina e verna</i>	Extrato hidroalcoólico	cascas	Anticonvulsivante e indutor ao sono	Vasconcellos <i>et al.</i> , 2007
<i>Erythrina verna</i>	eritravina e hidroxieritravina	inflorescências	Ansiolítico	Flausino <i>et al.</i> , 2007 <sup>a</sup>
<i>Erythrina verna</i>	Extrato hidroalcoólico	inflorescências	Ansiolítico	Onusic <i>et al.</i> , 2003

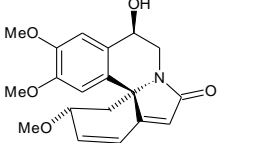
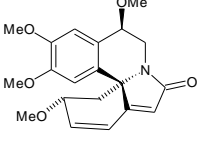
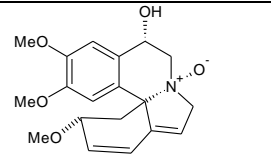
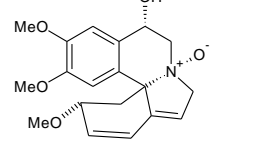
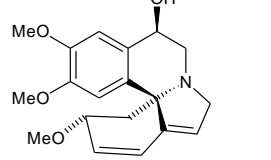
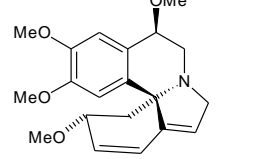
**Tabela 2:** Tabela contendo alguns dos alcalóides presentes no gênero *Erythrina*.

<b>Espécie</b>	<b>Parte Planta</b>	<b>Alcalóide</b>	<b>Estrutura</b>	<b>Referência</b>
<i>Erythrina subumbrans</i>	Casca	(+)-10,11-Dioxoeritratina	$R_1$ e $R_2 = \text{CH}_2$ , $R_3 = \beta\text{OH}$ , H 	Rukachaisirikul <i>et al.</i> , 2007
		(+)-10,11-Dioxoepieritratidina	$R_1$ e $R_2 = \text{CH}_3$ , $R_3 = \text{OH}$ 	
		(+)-10,11-Dioxoeritratidinona	$R_1$ e $R_2 = \text{CH}_3$ , $R_3 = \text{O}$ 	
<i>Erythrina velutina</i>	Sementes	Hipaforina		Ozawa <i>et al.</i> , 2008
		Erisodina-N-óxido		Ozawa <i>et al.</i> , 2009

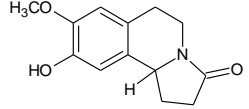
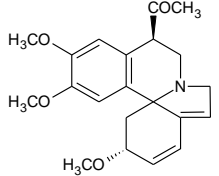
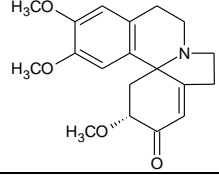
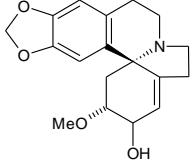
Continuação Tabela 2:

<i>Erythrina herbacea</i>	Flores	10-Hidroxi-11-Oxoerisotrina		Tanaka <i>et al</i> , 2008
		Eritarbina		
	Sintético	3-Dimetoxieritratidinona		Padwa e Wang, 2006
		Erisotramidina		
		Coculoidina		

Continuação Tabela 2:

<i>Erythrina lysistemon</i>	Flores e vagens	(+)-11 $\beta$ -Hidroxiersotramidina		Juma <i>et al.</i> , 2004
		(+)-11 $\beta$ -Metoxierisotramidina		
		(+)-11 $\alpha$ -Hidroxierisotrina-N-oxido		
		(+)-11 $\beta$ -Hidroxierisotrina-N-oxido		
		(+)-11 $\beta$ -Hidroxierisotrina		
		(+)-Eritritemina		

Continuação Tabela 2:

<i>Erythrina arborescens</i>	Galhos	Eritrinarbina		Yu <i>et al.</i> , 1999
<i>Erythrina stricta</i>	Flores	11-Acetil erisotrina		Hussain <i>et al.</i> , 2002
		Eritratidinona		
<i>Erythrina glauca</i>	Sementes	Eritratina		Cordel <i>et al.</i> , 1989