



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**



NADIME BARBOSA OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE QUÍMICA DOS ALCALOIDES DE *Erythrina velutina* Willd E OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO EXTRATIVO POR DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Salvador, BA
2024

NADIME BARBOSA OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE QUÍMICA DOS ALCALOIDES DE *Erythrina velutina* Willd E OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO EXTRATIVO POR DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmácia, da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Renata Biegelmeyer da Silva Rambo.
Coorientador: Dr. Douglas Fernando Rambo.

Salvador, BA
2024

Dados internacionais de catalogação-na-publicação
(SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Oliveira, Nadime Barbosa.

Avaliação da variabilidade química dos alcaloides de *Erythrina velutina* Willd e otimização do método extrativo por delineamento experimental / Nadime Barbosa Oliveira. - 2024.
130 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Biegelmeyer da Silva Rambo.

Coorientador: Prof. Dr. Douglas Fernando Rambo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador,

1. Farmacologia. 2. Alcalóides. 3. Plantas medicinais - Uso terapêutico. 4. *Erythrina velutina*. I. Rambo, Renata Biegelmeyer da Silva. II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD - 615.321

CDU - 615.322



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA



TERMO DE APROVAÇÃO

Nadime Barbosa Oliveira

**“AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE QUÍMICA DOS
ALCALOIDES DE Erythrina velutina Willd E OTIMIZAÇÃO DO
MÉTODO EXTRATIVO POR DELINEAMENTO
EXPERIMENTAL”**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmácia.

Aprovada em 29 julho de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Renata Biegelmeyer da Silva Ramos
Universidade Federal da Bahia
Orientadora

Dr. Liz Oliveira dos Santos
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Dr. Ygor Jessé Ramos dos Santos
Universidade Federal da Bahia

APOIO FINANCEIRO - Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), chamada MCTIC/CNPq N° 28/2018-Universal, processo número 424058/2018-9.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil(CAPES) - Código de Financiamento 001.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus por me permitir avançar cada etapa com muita perseverança, dedicação e resiliência. À minha família pelo suporte, em especial à minha mãe pelas orações incessáveis e às minhas irmãs pelo respeito e cuidado nos momentos mais desafiadores nessa trajetória, juntamente à minha querida Lupita pela companhia em todos os instantes.

À minha orientadora, Dra. Renata Biegelmeier da Silva Rambo, pela atenção e cuidado durante toda a minha jornada acadêmica. Uma orientação com muito respeito, paciência e empatia. É uma educadora muito atenta aos detalhes e as particularidades de cada discente. Tenho grande afeição pela pessoa e profissional, representa um grande exemplo para mim.

Ao meu coorientador, Dr. Douglas Fernando Rambo, pela confiança desde o início da monitoria voluntária até a conclusão dessa etapa. Sou grata pela disponibilidade, paciência e dedicação durante a resolução dos desafios encontrados. Representa grande exemplo de profissional acadêmico com elevada experiência industrial.

Aos colegas do LAPEMM, em especial a minha amiga Márvia Cunha pela dedicação em cada ensinamento, companheirismo e pelas sábias palavras nos momentos mais árduos da minha trajetória pessoal/profissional. Obrigada pelos momentos de descontração, sensibilidade e cuidado.

Aos meus professores, José Fernando e Regina Nascimento (minha grande amiga e confidente) pelo grande incentivo no êxito desse projeto. Sou grata pelos esclarecimentos em toda minha trajetória acadêmica. Minha admiração vai além do cotidiano na universidade.

Ao LAPEMM, estrutura física, utensílios e equipamentos; à coordenação do Programa de Pós-graduação em Farmácia da UFBA.

“Não tente adivinhar o que as pessoas pensam a seu respeito. Faça a sua parte, se doe sem medo. O que importa mesmo é o que você é”.

Mahatma Gandhi

RESUMO

O gênero *Erythrina* L., pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), compreende cerca de 130 espécies distribuídas em diversos países. São majoritariamente empregadas na recuperação de áreas devastadas, e de forma notável, seu uso tradicional envolve controle de infecções, tratamentos hepáticos, além da ampla utilização como agente ansiolítico/tranquilizante. Nessa conjuntura, encontra-se a espécie *Erythrina velutina* Willd. (mulungu), na qual possui dentre os metabólitos produzidos, os alcaloides tetracíclicos (eritrínicos) de forma abrangente, que através da estrutura policíclica, se destacam no âmbito de pesquisa por intermédio das atividades biológicas identificadas essencialmente no sistema nervoso central (SNC). É notável a ampla variabilidade química presente em todo gênero, contudo verifica-se ausência de registros oficiais, o que condiciona a comercialização de espécies diferentes com a mesma nomenclatura. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a variabilidade química de *E. velutina* em diferentes locais de coleta e farmacógenos, efetuando a otimização do método extrativo através do delineamento experimental. Para desenvolvimento do estudo, foram coletadas amostras em três localidades distintas da Chapada Diamantina: município de Boninal, e distritos de Mulungu e Barriguda. O material vegetal foi extraído, e o método foi desenvolvido por meio da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de díodos (CLAE/DAD) empregando fase móvel A composta de água:trietilamina (99,9:0,1) ajustada em pH 3,0 com ácido trifluoracético, e acetonitrila:trietilamina (99,9:0,1) como fase B em modo gradiente de eluição. O perfil analítico exibiu determinada congruência nos picos identificados em amostras de flores nas árvores de estudo com intensidade elevada, exceto para a árvore de Mulungu. Contudo, as amostras de cascas de caule demonstraram resultados promissores em termos de intensidade e similaridade. Em seguida, a caracterização química por meio de GC-EM revelou dados acerca dos marcadores químicos presentes nos diferentes locais de coleta, nos quais, foram identificados erisodina, eritrinina, erisotrina/isômero dienóide, eritralina, erisotina, e especialmente erisovina que foi detectada em todos os farmacógenos analisados. Por fim, o processo extrativo foi otimizado através da estratégia Box-Behnken e o ponto ótimo gerado foi definido com 3,63 horas, 0,59mm de granulometria e 126,06 proporção planta:solvente. Em suma, as metodologias empregadas foram eficazes para identificar o perfil químico dos alcaloides de *E. velutina* coletada no estado da Bahia, reafirmando os dados etnobotânicos de utilização de cascas de caule na maioria dos tratamentos, como resultante do elevado quantitativo dos componentes investigados e variabilidade química.

Palavras-chave: *Erythrina velutina*. Perfil químico. Box-Behnken.

ABSTRACT

The genus *Erythrina* L., belonging to the family Fabaceae (Leguminosae), comprises about 130 species distributed in several countries. In short, they are mostly employed in the recovery of devastated areas, and notably, their traditional use involves infection control, liver treatments, in addition to its wide use as an anxiolytic/tranquilizing agent. At this juncture, the species *Erythrina velutina* Willd. (mulungu) is found, in which it has among the metabolites produced, the tetracyclic alkaloids (erythrin) in a comprehensive way, which through the polycyclic structure stand out in the field of research through the biological activities identified essentially in the central nervous system (CNS). The wide chemical variability present in the entire genus is remarkable, but there is a lack of official records, which conditions the commercialization of different species with the same nomenclature. In this context, the present work aimed to evaluate the chemical variability in *E. velutina* in different collection sites and pharmacogens, optimizing the extractive method through the experimental design. For the development of the study, samples were collected in three different localities of Chapada Diamantina: municipalities of Boninal, Mulungu and the district of Barriguda. The plant material was extracted, and the method was developed by high-performance liquid chromatography coupled with a diode detector (HPLC/DAD). The mobile phase was composed as water:triethylamine (99.9:0.1) adjusted at pH 3.0 with trifluoroacetic acid (phase A), and acetonitrile:triethylamine (99.9:0.1) as phase B in gradient elution mode. The analytical profile exhibited a certain congruence in the peaks identified in flower samples in the study trees with high intensity, except for the Mulungu tree. However, the stem bark samples showed promising results in the terms of intensity and similarity. Then, the chemical characterization by GC-MS revealed data about the chemical markers present in the different collection sites, in which erysodine, erythrinin, erysothrin/dienoid isomer, erythralin, erysothine, and especially erysovine were identified, which was detected in all the pharmacogens analyzed. Finally, the extractive process was optimized through the Box-Behnken strategy, and the optimal point generated was defined with 3.63 hours, 0.59 mm of particle size and 126.06 plant:solvent ratio. In summary, the methodologies employed were effective to identify the chemical profile of the *E. velutina* alkaloids collected in the state of Bahia, reaffirming the ethnobotanical data of the use of stem bark in most treatments, as a result of the high quantity of the investigated components and chemical variability.

Keywords: *Erythrina velutina*. Chemical profile. Box-Behnken.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árvore <i>Erythrina velutina</i> Willd, município Barriguda- Chapada Diamantina.....	26
Figura 2. <i>Erythrina velutina</i> Willd. (Fabaceae). A. Folhas; B. Flor; C. Caule; D. Semente.....	27
Figura 3. 4'-O-metilsigmoidina.....	29
Figura 4. 2',4'-dihidroxi-6-prenil-7-etoxiisoflavanona	29
Figura 5. Estrutura geral dos alcaloides eritrínicos e suas subclassificações.	31
Figura 6. Alcaloides eritrínicos isolados a partir de farmacógenos de <i>E. velutina</i> por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-EM).....	35
Figura 7. Alcaloides eritrínicos isolados a partir de folhas e sementes de <i>E. velutina</i> através da cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas.....	36
Figura 8. Estrutura básica dos alcaloides eritrínicos e reações de fragmentação das subclasses dienóide e alcenóide.....	38
Figura 9. Modelo geral processos e sistemas.	45
Figura 10. Localização das árvores de estudo.	51
Figura 11. Árvores de <i>Erythrina velutina</i> Willd. utilizadas no estudo de variabilidade química....	56
Figura 12. Cromatograma do teste inicial realizado com concentração Fase A: Água:Ácido Trifluoroacético (99,94:0,06 v/v) e Fase B: Acetonitrila:Ácido Trifluoroacético (99,94:0,06 v/v).	61
Figura 13. Cromatograma do teste final realizado com concentração Fase A: Água:Trietilamina (99,94:0,1 v/v) com ajuste de pH 3,0 utilizando Ácido Trifluoroacético e Fase B: Acetonitrila:Trietilamina (99,94:0,1 v/v).	61
Figura 14. Perfil cromatográfico exibido a 230nm dos diferentes farmacógenos coletados na árvore de Boninal (E1).	64
Figura 15. Perfil cromatográfico exibido a 230nm do extrato das cascas de caule de <i>E. velutina</i> , coletadas em Boninal.....	65
Figura 16. Perfil cromatográfico exibido a 230nm do extrato das cascas de raiz de <i>E. velutina</i> , coletadas em Boninal.....	66
Figura 17. Perfil cromatográfico exibido a 230nm do extrato das flores de <i>E. velutina</i> , coletadas em Boninal.....	67
Figura 18. Perfil cromatográfico exibido a 230nm do extrato das flores de <i>E. velutina</i> , coletadas em Mulungu.....	68

Figura 19. Perfil cromatográfico exibido a 230nm do extrato de <i>E. velutina</i> , coletadas em Barriguda.	70
Figura 20. Perfil cromatográfico exibido a 230nm do extrato das flores de <i>E. velutina</i> coletadas em Barriguda.	71
Figura 21. Perfil cromatográfico exibido a 230nm do extrato das folhas de <i>E. velutina</i> . A. Coleta realizada em Boninal- 23/09/2019; B. Coleta realizada em Mulungu- 21/04/2019; C. Coleta realizada em Barriguda- 14/11/2020.	73
Figura 22. Perfil cromatográfico exibido a 230nm do extrato das flores de <i>E. velutina</i> , coletadas em Boninal em 10/2019. A. Coleta realizada em Boninal; B. Coleta realizada em Mulungu; C. Coleta realizada em Barriguda.....	75
Figura 23. Perfil cromatográfico exibido a 230nm do extrato das cascas de caule de <i>E. velutina</i> , coletadas em 11/2020. A. Coletas realizadas em Boninal; B. Coletas realizadas em Barriguda.....	77
Figura 24. Perfil de fragmentação da erisotina/erisosalvina obtido através da análise GC-EM.....	81
Figura 25. Mecanismo de fragmentação via RDA apresentado para os isômeros erisotina/erisosalvina.	82
Figura 26. Mecanismo de fragmentação via Segmentação α apresentado para os isômeros erisotina/erisosalvina.	83
Figura 27. Cromatograma obtido através da injeção de amostras de flores da árvore de Boninal.	84
Figura 28. Perfil de fragmentação da erisodina/erisovina obtido através da análise GC-EM.....	85
Figura 29. Mecanismo de fragmentação via RDA apresentado para os isômeros erisodina/erisovina.	85
Figura 30. Perfil de fragmentação da eritrinina obtido através da análise GC-EM.....	86
Figura 31. Perfil de fragmentação da eritralina obtido através da análise GC-EM.....	86
Figura 32. Perfil de fragmentação da erisotrina/isômero Dienoide obtido através da análise GC-EM.	87
Figura 33. Mecanismo de fragmentação via Clivagem α -alílica apresentado para os alcaloides dienoides identificados em <i>E. velutina</i>	88
Figura 34. Perfil cromatográfico de <i>E. velutina</i> obtido através de GC-EM dos diferentes farmacógenos coletados na árvore de Barriguda (E3).....	90
Figura 35. Perfil cromatográfico de <i>E. velutina</i> obtido através de GC-EM dos diferentes farmacógenos coletados na árvore de Mulungu (E2).....	93

Figura 36. Perfil cromatográfico de <i>E. velutina</i> obtido através de GC-EM dos diferentes farmacógenos coletados na árvore de Boninal (E1).	96
Figura 37. Perfil cromatográfico obtido a 230nm de <i>Erythrina velutina</i> . Flores coletadas em novembro de 2019.	100
Figura 38. Perfil cromatográfico das flores de <i>Erythrina velutina</i> obtido a 230nm com extrações em diferentes solventes.	101
Figura 39. Perfil cromatográfico das flores de <i>Erythrina velutina</i> obtido a 230nm em diferentes formas de extrações	103
Figura 40. Gráficos com dados de área dos picos majoritários identificados nos experimentos preliminares	104
Figura 41. Gráficos de superfície de resposta exibindo as variáveis tempo (X_1), proporção Planta:Solvente (X_2) e tamanho de partícula (X_3) para determinação de teor de alcaloides em <i>E. velutina</i> .	108
Figura 42. Cromatogramas obtidos em comprimento de onda 230nm, através dos experimentos similares realizados em dias alternados	109
Figura 43. Cromatogramas obtidos em comprimento de onda 230nm, através dos experimentos com 5 horas de maceração e proporção planta:solvente em 1:60.	110
Figura 44. Cromatogramas obtidos em comprimento de onda 230nm, através dos experimentos com 5 horas de maceração e proporção planta:solvente em 1:20	111
Figura 45. Cromatogramas obtidos em comprimento de onda 230nm, através dos experimentos com 8 horas de maceração e proporção planta:solvente em 1:40.	111
Figura 46. Cromatogramas obtidos em comprimento de onda 230nm, através dos experimentos com 8 horas de maceração e tamanho de partícula entre 0,59-0,75mm.	113
Figura 47. Cromatogramas obtidos em comprimento de onda 230nm, através dos experimentos com 2 horas de maceração e proporção planta:solvente em 1:40.	114
Figura 48. Cromatogramas obtidos em comprimento de onda 230nm, através dos experimentos com 2 horas de maceração e tamanho de partícula entre 0,59-0,75mm.	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Alcaloides eritrínicos isolados em <i>E. velutina</i>	32
Tabela 2. Alcaloides eritrínicos isolados em todo o gênero da classe Dienóide com suas respectivas fragmentações.	39
Tabela 3. Alcaloides eritrínicos isolados em todo gênero da classe Alcenóide com suas respectivas fragmentações.	40
Tabela 4. Descrição das coordenadas geográficas dos locais de coleta.	50
Tabela 5. Coletas realizadas com respectivas datas.....	50
Tabela 6. Composição das Fases A/B durante o desenvolvimento da metodologia CLAE/DAD..	52
Tabela 7. Gradiente de eluição das fases A e B.....	53
Tabela 8. Variáveis envolvidas no delineamento experimental.	54
Tabela 9. Rendimentos em mg dos extratos obtidos em cada farmacógeno coletado.....	59
Tabela 10. Alcaloides eritrínicos isolados através das árvores de estudo.	80
Tabela 11. Alcaloides eritrínicos identificados na árvore de Barriguda através de GC-EM.....	89
Tabela 12. Alcaloides eritrínicos identificados na árvore de Mulungu através de GC-EM.	92
Tabela 13. Alcaloides eritrínicos identificados na árvore de Boninal através de GC-EM.	95
Tabela 14. Experimento fatorial Box-Behnken gerado a partir do software Minitab®.....	105
Tabela 15. Análise de variância (modelo de superfície de resposta).....	106
Tabela 16. Área total de alcaloides (experimental) versus área total de alcaloides (predita)....	107

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Acetil-CoA	Acetil coenzima A
ALCB	Herbário Alexandre Leal Costa
GC-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE/DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detector de diodos
DAD	Diodos
FDA	Food and Drug Administration
FEAs	Frações enriquecidas em alcaloides
GABAA	Receptor do ácido gama-aminobutírico (subtipo A)
HIV-1	Vírus da Imunodeficiência Humana, tipo 1
LTE	Labirinto em T elevado
LAPEMM	Laboratório de pesquisa em Matéria Médica
nAChRs	Receptores nicotínicos de acetilcolina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
RDA	Retro Diels-Alder
RENAME	Registro Nacional de Medicamentos
RENISUS	Relação Nacional de plantas de interesse do SUS
RMN	Espectroscopia por ressonância magnética nuclear
ROS	Espécies reativas de oxigênio
TR	Tempo de retenção
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

SNC	Sistema nervoso central
SUS	Sistema Único de Saúde
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido Trifluoracético
TNF	Fator de necrose tumoral
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1.Planta Medicinais no Brasil e Farmacovigilância.....	22
2.2. O Gênero <i>Erythrina</i>	23
2.3. <i>Erythrina velutina</i> Willd.....	25
2.3.1 Distribuição e Morfologia.....	25
2.3.2 Substâncias bioativas.....	28
2.3.3 Farmacologia.....	41
2.3.4 Delineamento experimental e Otimização de método extrativo em alcaloides.....	45
3. OBJETIVOS	47
3.1 Objetivo Geral	48
3.2 Objetivo Específico	48
4 MATERIAIS E MÉTODOS	49
4.1. Coleta.....	50
4.2. Preparação dos extratos com Fração enriquecida em Alcaloides.....	52
4.3. Análise química das Frações enriquecidas em Alcaloides.....	52
4.4. Otimização do método extrativo.....	54
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1. Processo de separação e identificação das amostras.....	57
5.2. Processo extrativo (STASS OTTO).....	58
5.3. Desenvolvimento de metodologia para análise química através de CLAE/DAD das frações enriquecidas em alcaloides.....	59
5.4. Avaliação da Variabilidade Química.....	62
5.4.1 Perfil químico árvore do município de Boninal (Identificação E1).....	62
5.4.2 Perfil químico árvore do distrito de Mulungu (Identificação E2).....	67
5.4.3 Perfil químico árvore do distrito de Barriguda (Identificação E3).....	69
5.4.4 Variabilidade entre amostras de Folhas (Boninal, Mulungu e Barriguda).....	71
5.4.5 Variabilidade entre amostras de Flores (Boninal, Mulungu e Barriguda).....	74

5.4.6	Variabilidade entre amostras de cascas de Caule (Boninal e Barriguda).....	76
5.5	Identificação de alcaloides eritrínicos das FEAs através de GC-EM.....	79
5.5.1	Caracterização química dos alcaloides identificados nos diferentes farmacógenos da árvore de Barriguda.....	89
5.5.2	Caracterização química dos alcaloides identificados nos diferentes farmacógenos da árvore de Mulungu.....	91
5.5.3	Caracterização química dos alcaloides identificados nos diferentes farmacógenos da árvore de Boninal.....	94
5.6	Delineamento experimental e otimização de método extrativo.....	99
5.6.1	Mesmo experimento em dias alternados.....	109
5.6.2	Experimentos com 5 horas de maceração.....	110
5.6.3	Experimentos com 8 horas de maceração.....	111
5.6.4	Experimentos com 2 horas de maceração.....	113
6.	CONCLUSÕES	117
	REFERÊNCIAS	119

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da civilização a utilização de plantas medicinais tem sido uma prática extremamente difundida. Tal aplicabilidade foi constituída mediante a necessidade de manutenção da saúde, sendo integralizada através dos conhecimentos de muitas gerações. (BORCARD et al., 2015; MATOS et al., 2020, PEDROSO, 2021; PATRÍCIO et al., 2022). Ao longo do tempo muitas comunidades já utilizavam seu amplo campo etnobotânico para obtenção de matérias-primas vegetais a fim de tratar inúmeras doenças, atentando-se ao cultivo sustentável da região. Inicialmente, as plantas eram utilizadas em sua forma integral, frescas ou secas e moídas. Posteriormente, evoluíram para produtos fitoterápicos tradicionais e medicamentos fitoterápicos. Hoje, considera-se a fitoterapia uma das principais áreas terapêuticas da medicina complementar mundial. Embora a prática do uso de plantas medicinais tenha sido sistematizada por muitos anos devido à grande influência cultural indígena, africana, asiática e europeia, a Organização Mundial da Saúde (OMS) oficializou essa prática em 1978 (CARDOSO et al., 2019; HARAGUCHI et al., 2020; MAGALHÃES et al., 2021).

No processo de descoberta de produtos naturais, além de utilizar a matéria-prima vegetal em sua totalidade, o isolamento de moléculas deste complexo fitoquímico pode ser direcionado para a análise de novas ações terapêuticas ou para a criação de protótipos que auxiliarão no desenvolvimento de novos fármacos. A indústria farmacêutica já produziu muitos medicamentos convencionais a partir de moléculas isoladas de plantas ou outros organismos vivos (PEDROSO, 2021).

O território brasileiro possui um vasto campo de pesquisa, e com isso, surge a necessidade de elucidação exata de espécies botânicas e o domínio dos usos tradicionais para que posteriormente sejam estudadas a composição do extrato bruto e análise química das espécies. O uso de fitoterapia e plantas medicinais é regulamentado pela Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e pela Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. A partir disso, alguns programas brasileiros se apresentaram de forma efetiva nesse processo de ampliação. Um exemplo ativo ocorre na implementação do programa Farmácia Viva, no qual foi institucionalizado para preparo, prescrição e dispensação de fitoterápicos, além da orientação do uso correto de plantas na rede pública de saúde (HEINRICH, 2014; PATRÍCIO et al., 2022).

Analisando a legislação brasileira, verificam-se conceitos distintos acerca dos produtos tradicionais fitoterápicos e medicamentos fitoterápicos. Considera-se produto tradicional fitoterápico aquele obtido exclusivamente com matéria-prima vegetal ativa, sendo distinguido por sua eficácia baseada em dados científicos de uso seguro e efetivo por no mínimo 30 anos. Em compensação, os medicamentos fitoterápicos além de serem obtidos nas mesmas condições,

possuem a eficácia e segurança associadas à identificação de marcadores químicos e necessidade de testes pré-clínicos e clínicos. Ressalta-se a notoriedade da qualidade assegurada dos fitoterápicos associada a apresentação do quantitativo dos componentes químicos com suas respectivas funções na fórmula, e de forma complementar, todos os certificados analíticos de matérias-primas e produtos acabados devem ser difundidos com metodologias, resultados e especificações. Os relatórios de segurança e efetividade tem por obrigatoriedade a utilização do mesmo derivado vegetal, contendo a prescrição terapêutica e posologia para aprovação preliminar e conclusão do registro em território nacional (BRASIL, 2014).

Dentre as inúmeras espécies de plantas utilizadas para fins medicinais, 83 estavam inseridas na Farmacopeia Brasileira até o ano de 2019. Todavia, um estado de alerta precisa ser monitorado nesse cenário de utilização, pois alguns indivíduos utilizam de forma indiscriminada, sem avaliação dos potenciais riscos que são gerados mediante os graus de toxicidade envolvidos. O senso comum reforça a ideia de que podem ser amplamente úteis no tratamento de diversas desordens clínicas. Tudo isso reitera a importância da identificação correta das espécies, e disseminação de informações mais profundas à população (BRASIL, 2018c; BRASIL, 2019; MATOS et al., 2020).

Assim, quanto maior forem os registros, maiores serão as estratégias para controle do uso e expansão da fitoterapia baseada no uso racional, sendo assim, vários documentos oficiais já foram publicados. Muitas espécies de plantas ainda necessitam de sucessivos estudos para geração de dados conclusivos referentes ao desempenho farmacológico. A relação Nacional de plantas de interesse do SUS (RENISUS) evidenciou uma lista com 71 espécies vegetais que apresentam potencial para gerar produtos a serem utilizados nos serviços de saúde, mantendo a ênfase na orientação de pesquisas acerca dos fitoterápicos acessíveis para uso. Em consequência do amplo uso tradicional, uma das espécies de *Erythrina* (*Erythrina mulungu* Mart.) esteve incluída nessa lista, despertando interesse em uma posterior aplicação na prática de prescrição do SUS (BRASIL, 2009; OLIVEIRA, 2018; DA SILVA, 2020).

O gênero *Erythrina* L. da família Leguminosae (Fabaceae) está presente em diversas regiões tropicais e subtropicais. Sua ocorrência é vista em todo território brasileiro, com exceção de Roraima, sendo encontrada significativamente nos estados da Bahia, Rio de Janeiro e São Paulo (na floresta pluvial). Na Bahia estão distribuídas geograficamente as espécies *E. velutina*, *E. verna*, *E. fusca* e *E. speciosa*. (GILBERT, 2012; MARTINS, 2014; SCHLEIER, 2016; FERREIRA, 2020; MARTINS, 2024).

Erythrina velutina Willd. usualmente conhecida por mulungu, pau-de-coral, sanaduí ou suinã, é uma árvore com aproximadamente 15 metros de altura, possui folhas de até 12 cm de

comprimento, e suas flores apresentam coloração alaranjada/avermelhada. Nota-se a capacidade de fixar nitrogênio em decorrência da associação com bactérias, sendo liberado em seguida através da decomposição das folhas. Associado a isso, verifica-se elevada resistência à seca, o que influencia em sua aplicação na recuperação de áreas devastadas (CARVALHO, 2009; GILBERT, 2012; OLIVEIRA, 2016; CARMO, 2019). Verifica-se, com base nos últimos dados da literatura, que metabólitos como alcaloides, flavonoides e terpenos são produzidos em plantas desse gênero. Entretanto, a presença dos alcaloides tetracíclicos, denominados eritrínicos, vem incentivando a pesquisa de diversas espécies de *Erythrina*, constituindo o principal marcador fitoquímico presente no gênero (MERLUGO, 2015; PALUMBO, 2016; RAMOS, 2020).

Cabe destacar que não existem registros oficiais de espécies de *Erythrina* como medicamento fitoterápico, desde que não esteja associada a espécies de outros gêneros botânicos. Existem registros de fitoterápicos com algumas espécies deste gênero inclusas, como por exemplo, Flor da Noite Composta® (*Dorstenia arifolia* lam., *Cereus jamacaru* dc., *Erythrina velutina* willd., *Himatanthus lancifolius* (mull.arg.) woodson), e Maracujina® (*Passiflora alata* Curtis, *Erythrina velutina* willd. e *Crataegus rhipidophylla* Gand). Por muitas vezes, a identificação é efetuada de forma incorreta o que ocasiona inconsistência quanto à utilização medicinal devido à ausência de informações que atestem o uso correto de cada espécie (MARTINS, 2014). Observa-se, que algumas espécies são comercializadas com o nome popular de mulungu mesmo possuindo composição química distinta. Tal fato, reitera importância da avaliação de variabilidade química dos alcaloides como marcadores da espécie.

É necessário portanto fundamentar os constituintes químicos em *E. velutina*, especialmente os alcaloides tetracíclicos, já que o uso popular é evidenciado em muitas localidades da região nordeste. Logo, a identificação da variabilidade química destes metabólitos aprimora a caracterização dos marcadores da espécie, avaliando concomitantemente com as interações no meio ambiente. Para tal fim, é possível utilizar diversas técnicas analíticas para identificação e quantificação dos metabólitos, além da descoberta de novos compostos.

A partir de dados anteriores, verifica-se diversos trabalhos de caracterização química utilizando sementes de *E. velutina* por intermédio das análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-EM). Até o presente momento, não existem dados publicados acerca da variabilidade química desses metabólitos em diferentes matrizes de estudo (folhas, raízes e flores), especialmente empregando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Outro parâmetro importante nessa conjuntura é que trabalhos anteriores não citam

coletas realizadas no estado da Bahia para a referida espécie. Neste sentido, torna-se relevante desenvolver um método analítico por CLAE/DAD para controle de qualidade, bem como analisar e estabelecer um perfil químico para os farmacógenos de *E.velutina* coletados no estado da Bahia.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Plantas Medicinais no Brasil e Farmacovigilância

Existem vantagens associadas ao uso de plantas medicinais devido à vasta biodiversidade no Brasil, especialmente na região nordeste. Por meio do ecossistema heterogêneo que ocupa 826.411 km² de extensão, a região Nordeste possui na maior parte de sua dimensão um clima semiárido (seco e quente), com vegetação xerófila, fornecendo uma rica fonte de compostos bioativos com potencial para pesquisa (NUNES et al, 2016). O estado da Bahia possui biomas característicos da Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, ocupando cerca de 37,7% por cento da região nordeste. Neste contexto, observa-se na mesorregião oeste do Estado, a Chapada Diamantina com área de 41.994km² (Latitudes 11°36' e 13°56'S; Longitudes de 40°40' e 43°56'W; Altitudes 400 - 2.000m), caracterizada por de um bioma diferenciado, com solos de fertilidade relativa (DA SILVA, 2000; MOURA, 2007; DE ALCÂNTARA SANTOS, 2022).

A presença assídua da diversidade biológica de plantas medicinais por metro quadrado na região da mata atlântica já foi objeto de estudo para disseminação de informações essenciais na educação em saúde, além de fomentar ações de preservação florestal. Outro indicativo é a consolidação das políticas nacionais de uso dos produtos naturais no eixo do Sistema Único de Saúde (SUS) (TRIBOS, 2015; BRASIL, 2016).

Dentro dessa perspectiva, avaliam-se quatro iniciativas governamentais formuladas para este processo de consolidação. Primeiramente, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterapia instituída em 2006, lançada para aprimorar a pesquisa e valorização dos amplos conhecimentos tradicionais utilizados. Este, juntamente com o Programa Nacional de Plantas medicinais e Fitoterápicos de 2008, constituem diretrizes para garantia do acesso seguro, além da promoção do uso racional de forma sustentável. Posteriormente, a presença de algumas plantas no Relação Nacional de Medicamentos (RENAME), e a lista de 71 espécies publicada pela Relação Nacional de Plantas de Interesse do SUS (RENISUS) aperfeiçoaram as informações técnico-científicas visando o registro oficial, além da disseminação de uso como medicamentos (BRASIL, 2006; BRASIL, 2009; BRASIL, 2016; CARDOSO, 2019).

Essas iniciativas elevaram a utilização de plantas medicinais como artifício relevante na saúde pública, principalmente devido à observação de mínimos efeitos colaterais durante a utilização, quando comparados aos medicamentos de origem sintética, dentro da empregabilidade correta. Na maior parte dos casos, a ausência de indício dos efeitos adversos dentro dessa circunstância não caracteriza o potencial a ser causado durante a empregabilidade destes medicamentos no cotidiano. Porém, atualmente vem ganhando destaque na atenção primária à saúde em países subdesenvolvidos e elevada disseminação como medicina

alternativa nos países desenvolvidos. Diante da vasta disseminação de uso, é imprescindível atentar-se aos critérios de eficácia e segurança que consequentemente estão relacionados com dados confiáveis acerca da identificação correta da espécie, além da compreensão sobre formas corretas de utilização e dosagem apropriada. Esses dados são fundamentados em paralelo com os estudos de etnobotânica (MOREIRA, 2014; COLET, 2015; LEITE, 2019).

Uma vez estabelecida a eficiência terapêutica, é importante fundamentar os estudos toxicológicos, já que efeitos adversos podem suceder em decorrência do uso isolado, crônico ou até mesmo resultante da associação com outras drogas, sejam elas sintéticas ou de origem natural. Impurezas tóxicas podem estar presentes na composição química da planta ou podem ser oriundas do processo de obtenção dos fitoterápicos, e como resultado a doses excessivas sem precaução, efeitos tóxicos no metabolismo humano podem ser revelados (DE MOURA, 2020; SOARES, 2021; PEDROSO, 2021).

Desse modo, todos os conhecimentos científicos acerca da farmacologia e toxicologia envolvendo plantas medicinais compõem o alicerce dos programas de farmacovigilância instituídos em cada região com o objetivo de advertir acerca dos possíveis riscos, além de difundir informações fidedignas aos profissionais de saúde envolvidos. As medidas de segurança envolvidas no programa de Uso racional de medicamentos também precisam estar evidenciadas no uso racional de plantas medicinais. Em conformidade a isso, todas as instruções de uso precisam estar padronizadas, pautadas em segurança, eficácia e qualidade do produto (RATES, 2001; CASTRO, 2017).

2.2. O Gênero *Erythrina*

Com distribuição nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, o gênero *Erythrina* compreende cerca de 130 espécies cultivadas em diversos países. Pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), são consideradas arbustivas e até mesmo herbáceas, sendo majoritariamente utilizadas para fins ornamentais, além de sua aplicabilidade na melhoria dos solos. Derivado do termo grego “erythros”, o nome *Erythrina* está associado à coloração avermelhada comum na maioria das flores do gênero. Entretanto, em algumas espécies isoladas, observam-se também flores amareladas e alaranjadas. Seguindo a correlação com a cor das flores, o gênero é descrito em muitas regiões como “árvore de coral” (KUMAR, 2010; FAHMY, 2018; FAHMY, 2020; KHURAIJAM, 2021, MARTINS, 2024).

São reconhecidas através dos caules usualmente espinhosos, e pela coloração das flores anteriormente mencionada, que além disso, se apresentam de forma atrativa em decorrência do tamanho, forma e cor diferenciada. As folhas de tamanho avantajado ao completar seu ciclo dão espaço ao surgimento das inflorescências aglomeradas que são polinizadas por pássaros (ADEMA, 1996; MARTINS, 2018; KHURAIJAM, 2021).

O uso tradicional dessas plantas é diversificado, abrangendo o tratamento de várias disfunções. São majoritariamente utilizadas como agentes tranquilizantes ou ansiolíticos, através da infusão das folhas. Além disso, na Indonésia, a decocção do caule é empregada no tratamento da malária. Distintos usos farmacológicos estão associados ao gênero, desde o controle de infecções e inflamações gerais ou até mesmo em tratamentos coadjuvantes em problemas oculares e distúrbios hepáticos. Apesar dessa ampla gama de aplicação, é notável também sua finalidade nas desordens do sistema nervoso central. Em referência a esse dado, em 2012 a atividade anticolinesterásica foi avaliada por Santos et al., através do extrato aquoso das folhas da espécie *E. velutina*, em ensaios in vivo com utilização de camundongos em experimentos dose dependente (TANAKA, 2010; SANTOS, 2012; TIAHJANDARIE, 2014; DE OLIVEIRA, 2014, FAHMY, 2018;).

É notória a relevância de estudos envolvendo receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs), visto que, esse alvo popular tem abrangência em doenças como esquizofrenia, depressão, Parkinson e Alzheimer. A partir do gênero *Erythrina*, foram isolados dois compostos promissores: a erisodina e a dihidro- β -eritroidina. Ambos são considerados antagonistas competitivos de nAChR. Ambas as pesquisas utilizaram *Erythrina velutina* como espécie de estudo. Esses estudos reforçam a aplicabilidade do gênero na atividade anticonvulsivante, associado ao uso no tratamento da epilepsia. Desde 1930 extratos provenientes de sementes eram utilizados na busca por essas respostas (LLOYD, 2000; SANTOS, 2012).

Em outro panorama de investigação, sementes da espécie *Erythrina abyssinica* Lam. foram utilizadas para avaliação da atividade anti-HIV-1, exibindo resultados surpreendentes na redução da variabilidade de células MT-4 infectadas e proteção de 50% contra a citopatogenicidade induzida por HIV-1 (FAHMY, 2020).

No que concerne aos metabólitos secundários em *Erythrina sp.*, estudos anteriores já haviam destacado a presença de cumarinas, triterpenóides, ácidos graxos, saponinas, fitoesteróis, e sobretudo, a presença dominante de flavonoides e alcaloides. Ao efetuar uma análise geral da composição química do gênero, observou-se que a maioria dos compostos

fenólicos com padrão estrutural simples eram isolados através de farmacógenos como casca de caule, raiz e folhas em sua maior totalidade (FAHMY, 2018; SON, 2021).

Em torno de 370 flavonoides já foram identificados e grande parte deles pronunciaram-se de maneira assertiva nos testes de atividade citotóxica em células cancerígenas de diferentes linhagens, além de ação antidiabética, anti-inflamatória e antibacteriana. Dentro dessa classe, ainda foram explorados pigmentos de antocianinas relatados em 21 espécies do gênero, nos quais, glicosídeos de pelargonidina e cianidina foram determinados com alto teor (SCOGIN, 1991; FAHMY, 2018).

Investigados desde o final dos anos setenta, os alcaloides são considerados os principais objetos de estudo deste gênero. Evidencia-se na literatura cerca de 143 alcaloides isolados no gênero *Erythrina sp.* dos diferentes farmacógenos de caule, cascas da raiz, folhas, frutos e sementes, este último ganha destaque pelas altas taxas de distribuição pronunciadas. De modo geral, as ações terapêuticas desse grupo estão relacionadas com o relaxamento da musculatura lisa, bloqueio neuromuscular, além da atuação como anticonvulsivantes e antidepressivos. É notável a elevada progressão de estudos a fim de identificar alcaloides em espécies distintas do gênero *Erythrina*. O isolamento ocorre na maioria das vezes para fomentar os dados associados às ações farmacológicas das espécies, considerando o sistema nervoso central (SNC) um foco estratégico para obtenção posterior de fitofármacos e fitoterápicos através de distintos mecanismos (MAJINDA, 2005; FAHMY, 2020; SON, 2021).

2.3. *Erythrina velutina* Willd.

2.3.1. Distribuição e Morfologia

O território brasileiro abriga cerca de 13 espécies do gênero *Erythrina*, das quais, oito estão localizadas no Nordeste, em especial na região semiárida devido a sua alta resistência à seca e facilidade de crescimento, fato que reitera sua significância durante os processos de arborização. No estado da Bahia, verifica-se a distribuição geográfica das espécies *E. verna*, *E. speciosa*, *E. fusca* e *E. velutina*. Esta última apresenta elevada disseminação de mudas, aplicadas em projetos de regeneração de terras devastadas, beneficiando-se de sua ampla capacidade de fixação de nitrogênio (GILBERT, 2012; DA SILVA, 2013; MARTINS, 2014; SCHLEIER, 2016; RIBEIRO, 2018; RODRIGUES, 2018; FERREIRA, 2020, MARTINS, 2024).

Erythrina velutina Willd., habitualmente conhecida pelos termos populares de suinã, canivete e principalmente “mulungu”, detém as sinônimas de *Erythrina aculeatissima* Desf., *Coralloidendron velutinum* Willd., *Chirocalyx velutinus* Walp e *Erythrina splendida* Diels. É uma espécie arbórea, com pêlos na raiz desenvolvidos, caducifólia e espinhosa. Exibe nas cascas do caule o aspecto ligeiramente áspero, e geralmente alcança cerca de 8-12 metros de altura, salvo algumas exceções com 15 metros (figura 1) (SILVA, 2008; BENTO, 2010; SILVA, 2010; SILVA JUNIOR, 2012; DA SILVA, 2013).



Figura 1. Árvore *Erythrina velutina* Willd, município Barriguda- Chapada Diamantina.

Pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), possui alta adequabilidade e devido a isso, pode ser encontrada em regiões de várzeas, às margens de rios, especialmente na caatinga e até mesmo na região semiárida. Sua distribuição no território brasileiro abrange a região Nordeste, a partir do Estado do Ceará, estendendo-se até os Estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Nestas áreas, é amplamente utilizada para fins artesanais, ornamentais e madeiros. Em suma, a espécie também está distribuída em outras localidades na América latina, destacando-se desde as Antilhas, Venezuela, região Nordeste da Colômbia, até Equador e Peru. (BENTO, 2010; SILVA, 2010; SILVA JUNIOR, 2012, MARTINS, 2024).

As folhas (figura. 2-A) são ternadas (dispostas de três em três) com base simétrica e ápice avantajado. Possuem coloração verde claro, medindo de 6 a 12 cm de comprimento por 5 a 14 cm de largura e são sustentadas por pecíolos com até 14 cm de comprimento. As inflorescências (figura. 2-B) se apresentam na forma fascículo, com três flores dispostas em

pedúnculos muito curtos, possuindo vexilo com coloração alaranjada ou vermelho-rutilante e medindo de 12 a 20 cm de comprimento, bem próxima do formato circular (GILBERT, 2012; DA SILVA, 2013).

O cálice espatáceo (figura. 2-C) é destacado em muitos estudos etnobotânicos, nos quais apontam propriedades expectorantes, hepatoprotectora, além da hipotensiva (CABRAL et al., 2011; DA SILVA, 2013). Outro fato notável, é sua utilização em rituais religiosos (SANTOS et al., 2018).

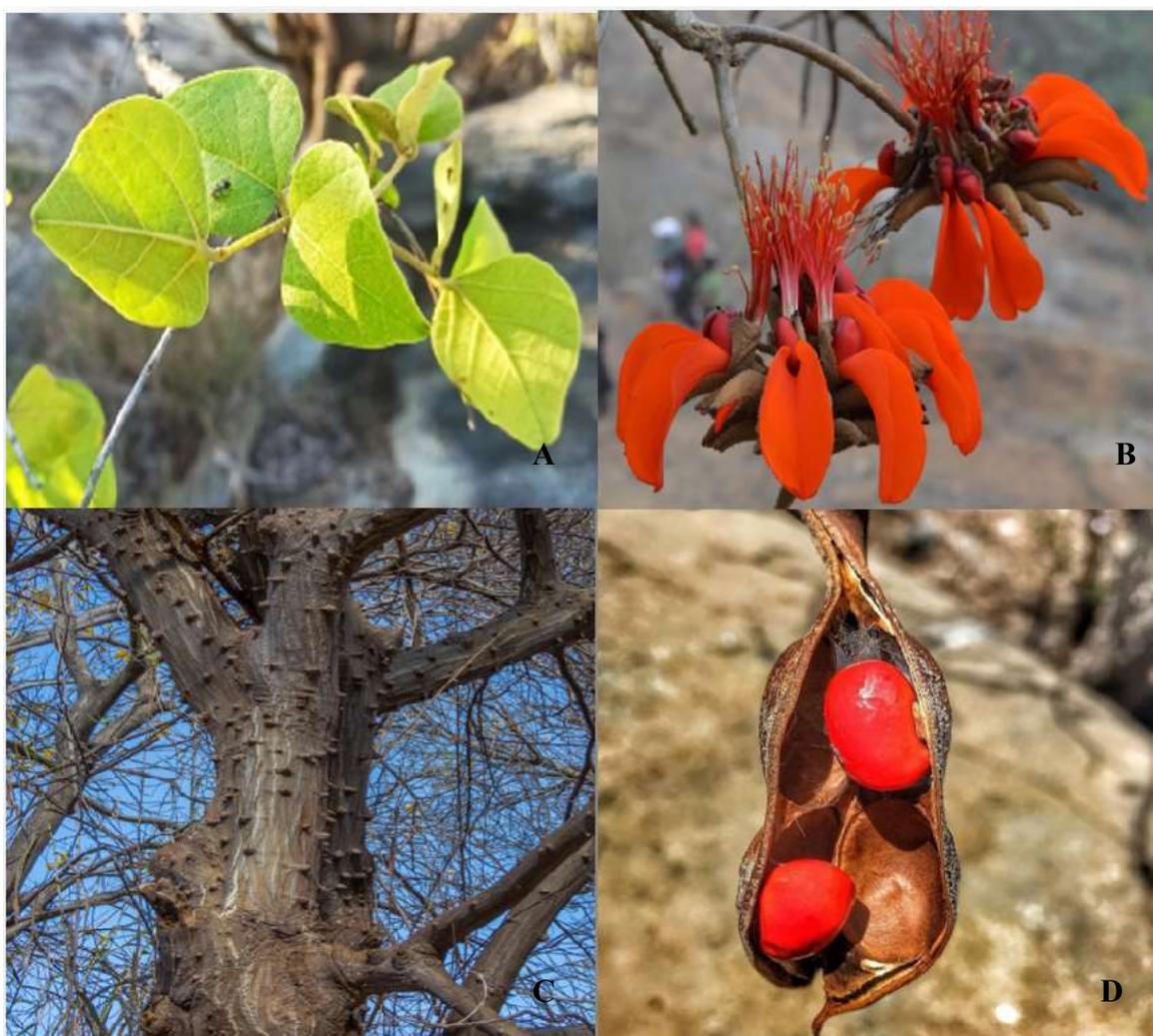


Figura 2. *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae). A. Folhas; B. Flor; C. Caule; D. Semente.

Fonte: BioDiversity 4All.

Os frutos leguminosos (figura. 2-D) possuem comprimento médio de 78mm por 13mm de largura aproximadamente, do tipo folículo com espessura de 9,82mm, e expõem de 1-3 sementes. Com característica estenospermica, a semente possui formato alongado, lateralmente

expandida com a concavidade voltada para baixo. Tem cerca de 12,54mm de comprimento, com coloração vermelho-escuro ou vermelho-alaranjado. Uma característica expressiva das sementes diz respeito ao estreito tamanho que fornece alta dispersão através do vento, além da elevada capacidade de germinação em condições ambientais desfavoráveis. Devido a maior razão superfície/área são mais efetivas na captura de água e tal particularidade é extremamente vantajosa para gêneros botânicos que competem pela região da caatinga, na qual não fornece recurso hídrico em abundância, impedindo a germinação de diversas espécies (SILVA, 2008; SILVA JUNIOR, 2012; DA SILVA, 2013).

Dentro desse contexto, detecta-se na literatura inúmeras pesquisas relacionando compostos bioativos em *Erythrina velutina* utilizando sementes como farmacógeno. Nota-se que as sementes podem ser acondicionadas em ambientes laboratoriais (geladeira, câmara climática fria) por até 255 dias sem apresentar perda significativa nos embriões. Essa circunstância suscita o crescimento de cientistas vinculados à pesquisa fitoquímica da espécie, fundamentando-se na estabilidade fisiológica das sementes (SILVA, 2011).

2.3.2 Substâncias Bioativas

A abordagem contextualizada dos metabólitos secundários desempenha um papel crucial na identificação de novas espécies e na elucidação de seus respectivos grupos químicos. Por meio da fotossíntese, as plantas realizam a síntese orgânica utilizando matérias inorgânicas disponíveis no ambiente. Este processo revela que, apesar de suas particularidades, esses organismos sintetizam carboidratos, ácidos nucleicos, proteínas e gorduras de forma bastante semelhante, com poucas variações. Esse entendimento sublinha a unidade fundamental entre os seres vivos, evidenciando a importância dos metabólitos primários (DEWICK, 2002).

Entretanto, durante o desenvolvimento evolutivo, as plantas alcançaram a habilidade de produzir compostos químicos que são eficientes contra diversas ameaças. Denominados metabólitos secundários, desempenham papel imprescindível para o bem-estar do agente, são considerados uma expressão da individualidade e contribuem dessa forma, para o funcionamento potencializado do ecossistema. Os metabólitos secundários são obtidos através do metabolismo primário, baseado em blocos de construção que são derivados de processos como fotossíntese, glicólise e ciclo de Krebs. Os blocos mais significativos durante a biossíntese são derivados intermediários da Acetil coenzima A (acetil-CoA), ácido mevalônico, ácido chiquímico, e fosfato de metileritritol (DEWICK, 2002; CHACON, 2021).

De fato, a família Fabaceae é caracterizada pela ampla distribuição de alcaloides. Embora a *Erythrina velutina* possua destaque expressivo em decorrência dos alcaloides eritrínicos investigados, outros metabólitos secundários têm sido distinguidos, favorecendo gradativamente a caracterização química da espécie (CHACON, 2021).

Estudos fitoquímicos relacionam a presença de diferentes classes químicas no extrato aquoso de *Erythrina velutina*, variando desde a classe de flavonoides, (em especial isoflavonas e flavanonas), além de cumarinas, alcaloides e saponinas. Desde a descoberta em 1996 de isoflavonóides como erivelutinona (figura. 4) (2',4'-dihidroxi-6-prenil-7-metoxiisoflavona) e 4'-*O*- metilsigmoidina (figura. 3), demais pesquisas ganharam destaque no que concerne a identificação de outros compostos fitoquímicos. Adicionalmente, através de análises em cromatografia gasosa, compostos como ácido fênico, β -sitosterol, lupeol, ácido cinâmico, α -amirina, estigmasterol, e β -amirina foram evidenciados através do extrato etanólico das cascas do caule. De forma complementar, através da hidrodestilação foram obtidos óleos essenciais com coloração distinta, e por intermédio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas foram reconhecidos 64 compostos distribuídos, monoterpenos, sesquiterpenos, e fenilpropanóides de forma majoritária (DA CUNHA, 1996; RABELO, 2001; VIRTUOSO, 2005; DA SILVA, 2013; TEIXEIRA, 2019).

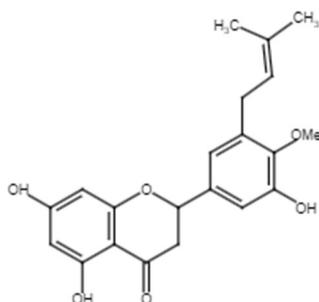


Figura 3. 4'-*O*-metilsigmoidina

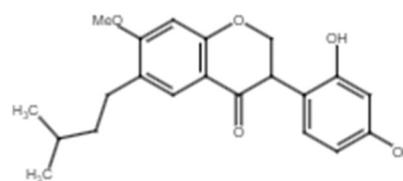


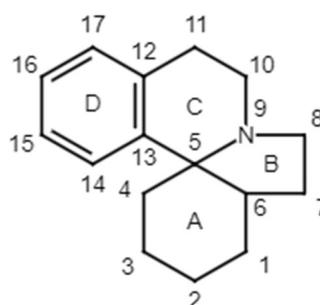
Figura 4. 2',4'-dihidroxi-6-prenil-7-etoxi-isoflavanona

A bioprodução de alcaloides é bastante evidente no gênero *Erythrina*. Tais compostos despertam elevado interesse devido à sucessão de atividades biológicas identificadas, além de possuírem estruturas policíclicas que se tornaram objeto de pesquisa para exploração de novas moléculas-alvo para testes com substâncias sintéticas. Os alcaloides são compostos

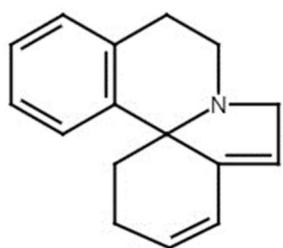
nitrogenados de baixo peso molecular encontrados majoritariamente em plantas, além de serem evidenciados em pequenas proporções nos microrganismos e alguns animais. Sua estrutura molecular contém um ou mais átomos de nitrogênio (ou aminas terciárias) determinante de basicidade, o que facilita isolamento e purificação devido a formação de sais solúveis em água na presença de ácidos minerais, salvo algumas exceções, nas quais o nitrogênio presente faz parte de uma função amida e por consequência torna a molécula neutra. O átomo de nitrogênio é essencialmente originado de um aminoácido e fornece uma classificação distinta a depender de onde o átomo de nitrogênio esteja integrado (CHAWLA, 1995; DEWICK, 2002; PARSONS, 2010).

As vias biossintéticas do chiquimato, acetato ou fosfato de metileritritol fornecem blocos de construção para integração dos alcaloides. Entretanto, alguns átomos de nitrogênio são adquiridos via reação de transaminação ao tempo que o restante da molécula pode ser derivada através das vias acetato e chiquimato. Sendo assim, muitos estudos relacionam a atividade biológica de acordo com a função amina sendo transformada em sistema quaternário através da protonação no pH em meio fisiológico (CHAWLA, 1995; DEWICK, 2002).

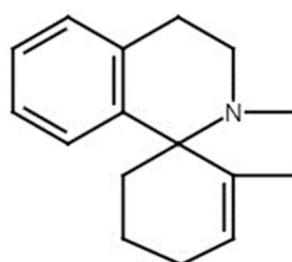
Caracterizados por meio de uma espiroamina tetracíclica, os alcaloides eritrínicos (também denominados alcaloides tetracíclicos) são compostos formados com quatro anéis ligados e descritos como A, B, C e D, segundo a figura 5. Esse esqueleto eritrinano origina três classes principais descritas como dienóides, alcenóides e lactônico demonstradas na figura 5. É possível identificar um sistema dieno conjugado nos anéis A e B na classe dienóide, distinguindo da classificação alcenoide que por sua vez detém uma ligação dupla 1,6 no anel A. Por fim, especificamente na classe lactônica existe a presença do anel lactônico ao invés do benzeno. Ao passar do tempo, foram detectadas outras classificações de menor abrangência, incluindo tetraidroisoquinolinos, benzilisoquinolinos, 16-Azoerithrinanos, quinolizidinos, alcaloides diméricos e glicosídeos (PARSONS, 2010; FAHMY, 2020).



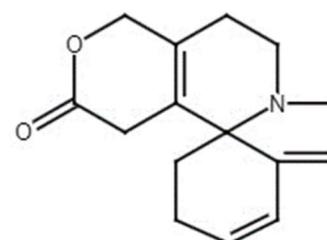
A. Estrutura geral dos alcalóides eritrínicos



B. Classe Dienóide



C. Classe Alcenóide



D. Classe Lactônica

Figura 5. Estrutura geral dos alcalóides eritrínicos e suas subclassificações.

Em suma, nota-se uma elevada variação molecular resultante dos padrões de substituição $-CH_3$, $-CH_3O$, $-OH$, além dos resíduos de glicose usualmente identificados nas porções C3, C8 e C11 do esqueleto principal. Essa diversidade tem despertado o interesse na busca por novos alvos sintéticos em detrimento das distintas propriedades biológicas. Cerca de 143 alcalóides já foram isolados no gênero *Erythrina*, sendo majoritariamente encontrados nas sementes e posteriormente nos demais farmacógenos como cascas do caule, raiz, flores e folhas (OZAWA, 2011; RAMBO, 2019a; FAHMY, 2020; CHACON, 2021).

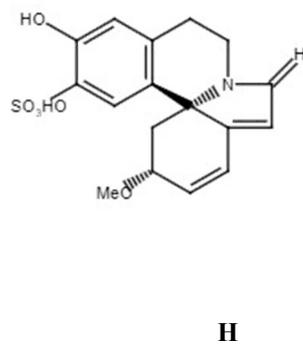
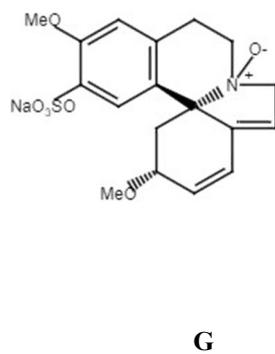
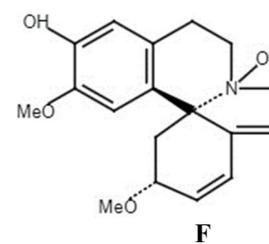
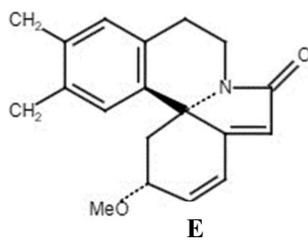
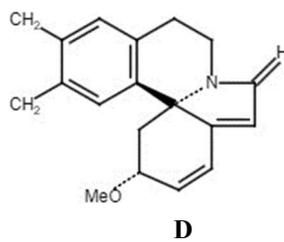
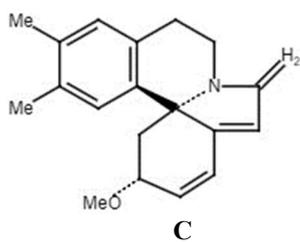
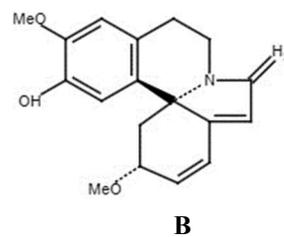
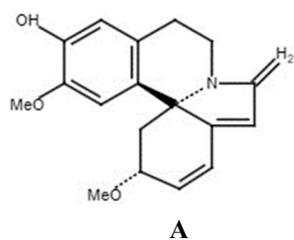
No que diz respeito ao isolamento e elucidação estrutural de alcalóides em *Erythrina velutina*, extratos metanólicos de sementes têm apresentado uma maior diversidade de compostos através da separação cromatográfica associada a identificação com perfil ultravioleta (UV) explorado na literatura, em comparação aos demais farmacógenos. É notória a vasta apresentação de compostos isolados através das sementes principalmente devido a alta estabilidade em relação aos demais. A tabela 1 evidencia os alcalóides já descobertos, vinculados a classificação, farmacógeno e tipo de extrato.

Classificação do Alcaloide	Composto isolado	Farmacógeno	Tipo de extrato	Local de coleta	Referência
Dienóide	Erisodina	Sementes, cascas de caule	Metanólico	São Paulo/Paraíba	Ozawa et al. 2009; Leal, 2018.
	Erisovina	Sementes, cascas de caule	Metanólico/Etanólico	São Paulo/Paraíba	Ozawa et al. 2009; Leal, 2018.
	Erisotrina	Sementes	Metanólico	São Paulo	Ozawa et al. 2009
	Eritralina	Sementes, cascas de caule	Metanólico	São Paulo/Paraíba	Amer et al. 1991b; Ozawa et al. 2009; Leal, 2018.
	8-Oxoeritralina	Sementes	Metanólico	São Paulo	Ozawa et al. 2009.
	Erisodina-N-óxido	Sementes	Metanólico	São Paulo	Ozawa et al. 2009.
	Erisovina Sódio-15- <i>O</i> -sulfato	Sementes	Metanólico	São Paulo	Ozawa et al. 2011.
	Erisopina 15- <i>O</i> -sulfato	Sementes	Metanólico	São Paulo	Ozawa et al. 2011.
Glicosídeo Dienoide	Erisovina-N-oxi-15- <i>O</i> -sulfato de Sódio	Sementes	Metanólico	São Paulo	Ozawa et al. 2011.
	Glucoerisodina	Sementes	Metanólico	São Paulo	Ozawa et al. 2009.
	16- <i>O</i> - β -D-glucopiranosil Cocolina	Sementes	Metanólico	São Paulo	Ozawa et al. 2011.
	(3R)-16- <i>O</i> - β -D-glucopiranosil	Sementes	Metanólico	São Paulo	Todoroki, et al. 2021.
Alcenóide	(3R)-16- <i>O</i> - β -D-glucopiranosil-10,11-desidro-cocolina	Sementes	Metanólico	São Paulo	Todoroki, et al. 2021.
	Eritratina	Sementes	Etanólico/Metanólico	Canadá	Marion, 1952. Amer et al. 1991b.
16-Azoerytrinano	Erisotina/Erisosalvina	Cascas de caule	Etanólico	Paraíba	Leal, 2018.
	Erimelantina	Sementes, cascas de caule	Metanólico/Etanólico	São Paulo/Paraíba	Ozawa et al. 2009; Leal, 2018.

Indólico	Hipaforina	Sementes	Metanólico	São Paulo	Ozawa et al. 2008.
----------	------------	----------	------------	-----------	--------------------

Tabela 1. Alcaloides eritrínicos isolados em *E. velutina*.

A partir dos dados descritos na tabela 1, verifica-se uma ampla diversidade de alcaloides isolados apenas em amostras de sementes, sendo identificados a partir de metodologias validadas para cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-EM). As estruturas desses compostos isolados são demonstradas na figura 6.



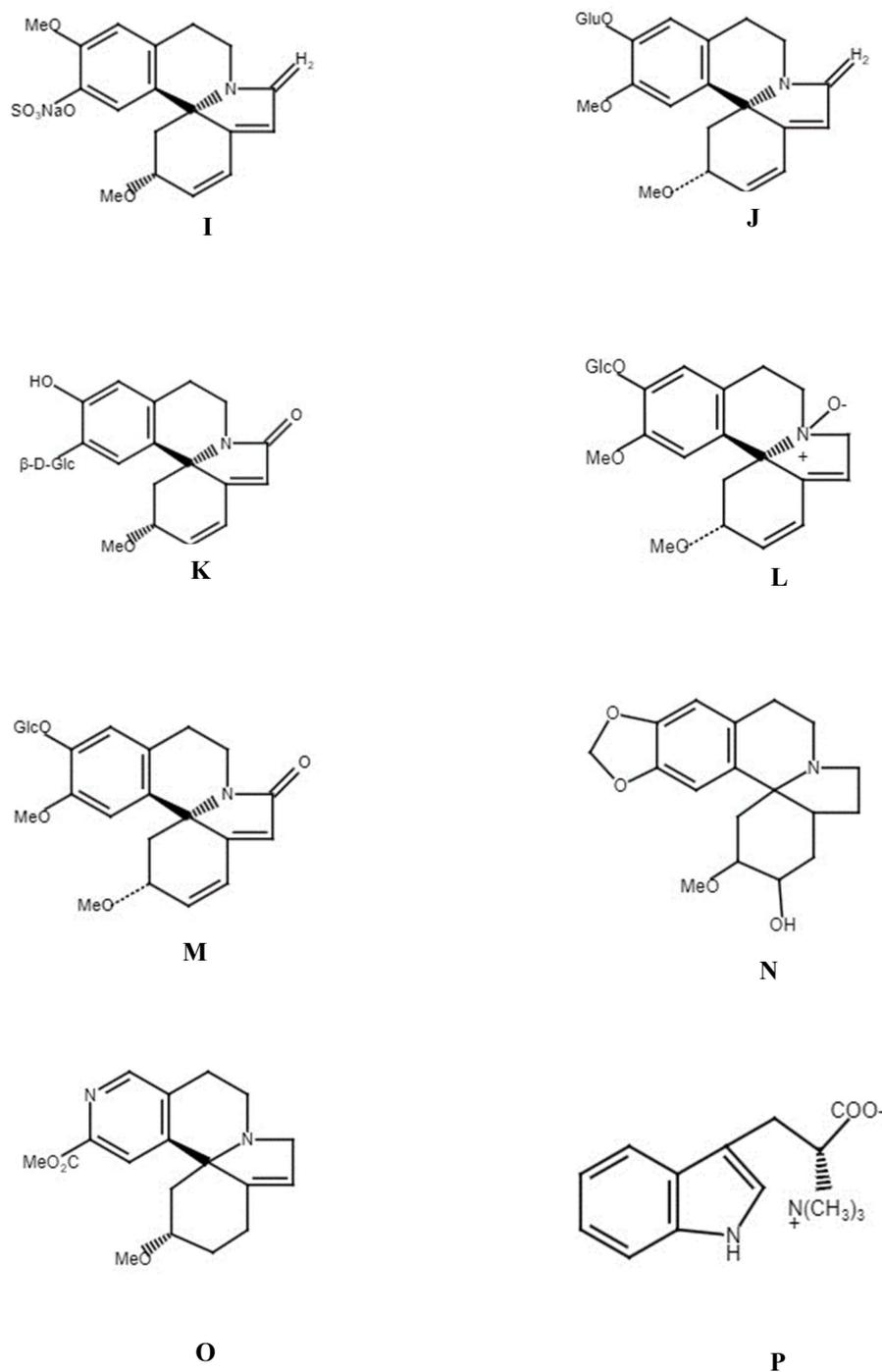


Figura 6. Alcaloides eritrínicos isolados a partir de farmacógenos de *E. velutina* por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-EM). **A.** Erisodina; **B.** Erisovina; **C.** Erisotrina; **D.** Eritralina; **E.** 8-Oxoeritralina; **F.** Erisodina-N-óxido; **G.** Erisovina Sódio-15-*O*-sulfato; **H.** Erisopina-15-*O*-sulfato; **I.** Erisovina-N-oxi-15-*O*-sulfato Sódio; **J.** Glucoerisodina; **K.** 16-*O*-β-D-glucopiranosil Cocolina; **L.** (3R)-16-*O*-b-D-glucopiranosil erisodina-N-óxido; **M.** (3R)-16-*O*-b-D-glucopiranosil-10,11-desidro-cocolina; **N.** Eritratina; **O.** Erimelantina; **P.** Hipaforina.

Outrora, em 2021, Chacon e colaboradores descreveram a diversidade química dos alcaloides presentes no extrato bruto de sementes e folhas coletadas em quatro localidades diferentes da Caatinga, a partir de uma abordagem ômica associada ao perfil metabólico de *E. velutina*. A partir do isolamento efetuado através da cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas, 42 alcaloides eritrínicos foram identificados, sendo 25 anotados (figura. 7) por possuírem espectro de massa análogo ao relatado em gênero *Erythrina* spp. na literatura.

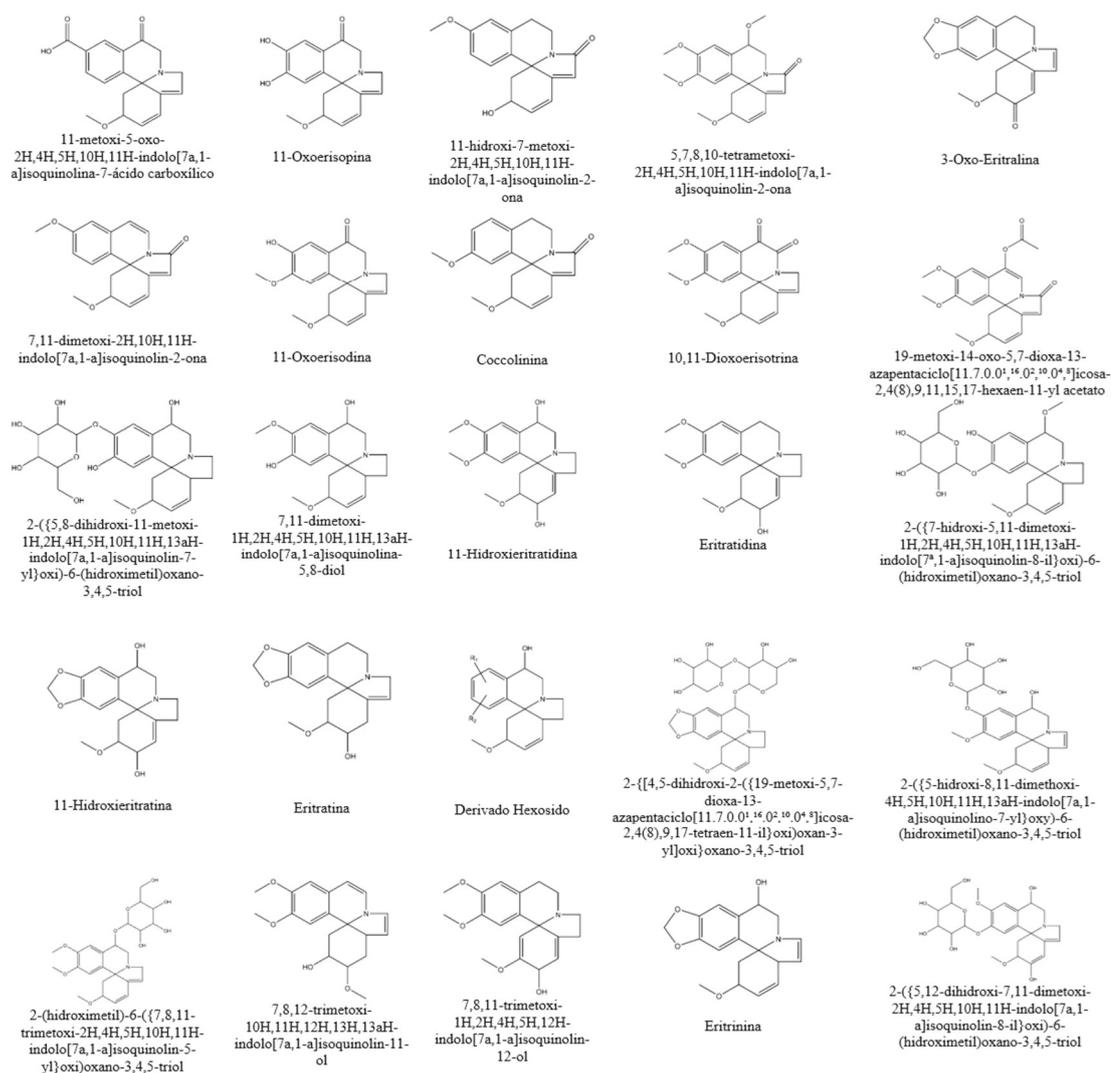


Figura 7. Alcaloides eritrínicos isolados a partir de folhas e sementes de *E. velutina* através da cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas por Chacon e colaboradores em 2021.

Para efetuar a elucidação estrutural dos alcaloides eritrínicos, é necessário avaliar a estrutura do íon precursor e suas respectivas reações de fragmentação. O estudo com produtos naturais deve ser desenvolvido através do conhecimento do sistema global, uma vez que, o mecanismo de fragmentação não deve ser proposto apenas na fundamentação dos grupos funcionais envolvidos (DEMARQUE et al., 2016).

Por intermédio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, é possível efetuar a identificação de alcaloides tetracíclicos ainda que estejam em quantidades muito pequenas, devido a isso, é amplamente utilizada em diversos processos de triagem (CHAWLA et al., 1995).

A caracterização química destes compostos de interesse é realizada com base nos perfis de fragmentação descritos na literatura para as diferentes classes. De acordo com investigações anteriores, a classe alcenóide possui reação característica do tipo retro Diels-Alder (RDA) [$M^+ - 58$] apresentando ruptura do grupo metoxila em C-3 e C4, com perda do radical disposto em C-3 (Figura 8). Essa reação pericíclica envolve a formação de um dieno e um dienófilo de forma inversa ao mecanismo de Diels-Alder. Baseado nisso, identifica-se a projeção de elétrons pela parte exterior do anel e isso fomenta o princípio de que ciclos com ligações duplas tendem a sofrer fragmentação do tipo retro Diels-Alder com formação de um dos íons majoritários durante o processo, podendo ou não ser o pico base do espectro (BOAR et al., 1970; FEITOSA et al., 2012; DEMARQUE et al., 2016).

Para as classes de alcaloides lactônicos e especialmente para alcaloides dienóides, a identificação ocorre a partir de clivagem da metoxila em C-3. Nota-se que em sistemas dienóides ocorre a formação do íon di-alílico estável e determinante na maioria das vezes do fragmento majoritário. Essa formação é proveniente da clivagem α -alílica que transcorre devido a fluidez de ejeção de um elétron nesse tipo de sistema [$M^+ - 31$]. Recorrendo a esse mecanismo, outras estruturas formadas com radical hidroxila na posição 3 também exibem esse tipo fragmentação [$M^+ - 17$] conforme figura 8 (MILLINGTON et al., 1974; CHAWLA et al., 1995; FEITOSA et al., 2012).

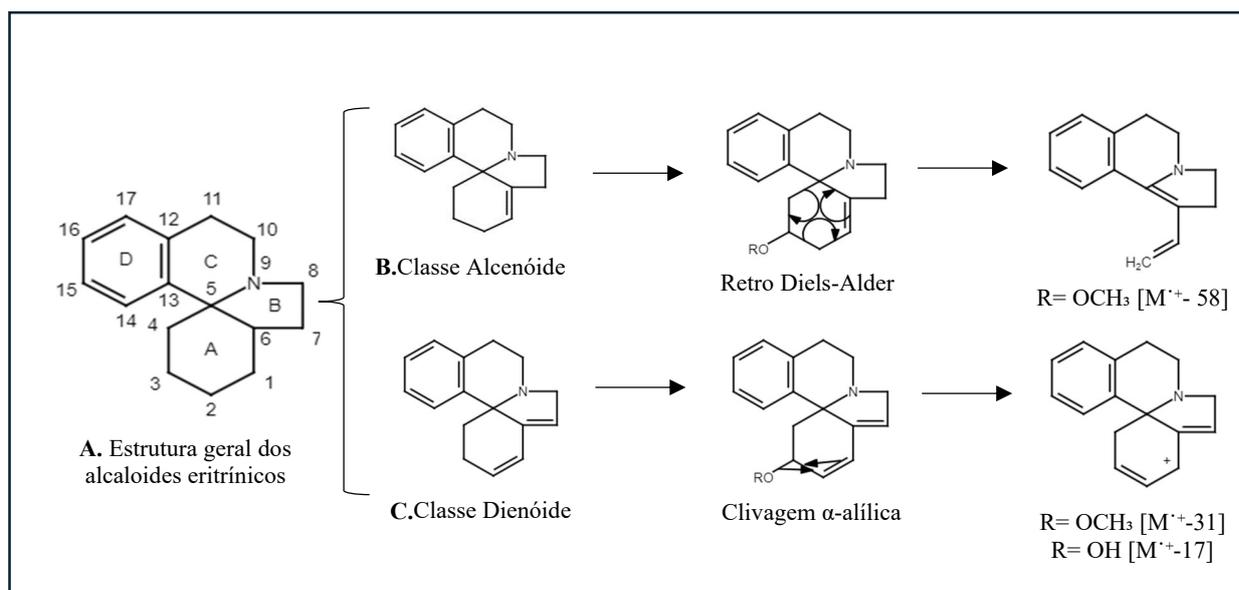


Figura 8. Estrutura básica dos alcaloides eritrínicos (A) e reações de fragmentação das subclasses dienóide (C) e alcenóide (B).

De forma extensiva, as classes dienóide e alcenóide são reconhecidas em todo gênero, portanto, as principais vias de fragmentação exploradas nas pesquisas são estabelecidas de acordo com estas vias. Os perfis de fragmentação evidenciados na literatura estão dispostos nas tabelas 2 e 3.

Por fim, a nomenclatura é disposta conforme prefixos formados através das funções químicas reconhecidas. O prefixo “eryso” indica a presença de um composto fenólico na estrutura, ao passo que, “erythra” denota a estrutura formada através do esqueleto clássico sem a presença de outros núcleos adjacentes inseridos. Além destes, existem alcaloides eritrínicos com prefixo “erythroï” cuja estrutura possui o anel D lactônico (AMER et al., 1991b).

Fundamentando-se nesses dados, é possível caracterizar os alcaloides tetracíclicos das árvores deste estudo de forma correspondente com dados anteriores publicados por AMER et al., 1991b e FEITOSA et al., 2012.

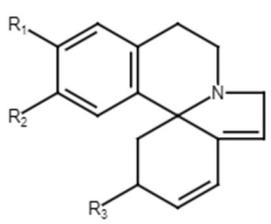
Classe	Alcaloide eritrínico	R1	R2	R3	m/z (intensidade)
 <p>Dienóide R= OCH₃ [M⁺-31] R= OH [M⁺-17]</p>	Eritravina	OCH ₃	OCH ₃	OH	299 (94), 282 (100), 280 (17), 266 (23)
	Eritralina	-O-CH ₂ -O-		OCH ₃	297 (31), 282 (32), 266 (100), 264 (24), 239 (10), 226 (16)
	Erisovina/Erisodina	OCH ₃	OH	OCH ₃	299 (39), 284 (41), 268 (100)
	Erisotrina	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	313(84), 298 (81), 282 (100)
	Erisonina	OH	OCH ₃	OH	285 (100), 268 (89), 266 (21), 254 (11)
	Erisolina	OCH ₃	OH	OH	285 (100), 268 (89), 266 (21), 254 (11)

Tabela 2. Alcaloides eritrínicos isolados em todo o gênero da classe Dienóide com suas respectivas fragmentações (Adaptado de AMER et al., 1991b; FEITOSA et al., 2012).

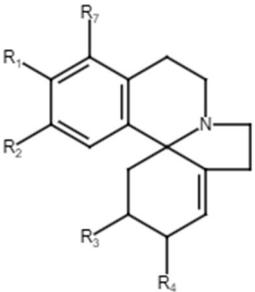
Classe	Alcaloide eritrínico	R1	R2	R3	R4	R7	m/z (intensidade)
 <p>Alcenóide R= OCH₃ [M⁺- 58]</p>	Eritratidina	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	331, 300, 257 (100), 244
	Eritratidinona	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	O	H	272, 271 (100), 243, 242, 228, 215, 214, 197
	Eritroculina	OCH ₃	CO ₂ CH ₃	OCH ₃	H	H	343 (7), 328 (0,5), 312 (13), 285 (100)
	Eritroculinol	OCH ₃	CO ₂ CH ₃	OCH ₃	H	H	315 (3), 284, 257 (100), 238, 226
	Erisosalvina	OCH ₃	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	317 (8), 286 (14), 259 (93), 258
	Erisotina	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	(93), 258 (23), 243 (100), 242 (26)
	Dihidroerisotrina	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	H	315, 284, 257 (100), 256 (30)
	Eritlaurina	OCH ₃	CO ₂ CH ₃	OCH ₃	H	OH	359, 328, 301 (100)
	Eritramina	-O-CH ₂ -O-		OCH ₃	H	H	299 (20), 268 (15), 241 (74), 240 (100)
	Eritratina	-O-CH ₂ -O-		OCH ₃	H	H	331, 300, 273, 257 (100), 256 (30)
	Erisotinona	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	315 (3), 257 (75), 256 (11), 229 (70), 228 (100), 242 (15)
	Erisosalvinona	OCH ₃	OH	OCH ₃	O	H	315 (3), 257 (75), 256 (11), 229 (70), 228 (100), 242 (15)

Tabela 3. Alcaloides eritrínicos isolados em todo gênero da classe Alcenóide com suas respectivas fragmentações (Adaptado de AMER et al., 1991b; FEITOSA et al., 2012).

Considerando todos esses fatores, a caracterização dos alcaloides em árvores localizadas no estado Bahia representa destaque expressivo na identificação da variabilidade química de *E. velutina*, uma vez que, nenhum estudo foi efetuado com amostras dessa região, nem com quatro farmacógenos distintos de forma simultânea. Nesse contexto, este trabalho fará a consolidação desses dados e a partir disso será possível estabelecer um direcionamento mais assertivo na busca por novas opções de fitoterápicos utilizando a espécie em questão, com determinação de parâmetros mais fidedignos para controle de qualidade.

2.3.3 Farmacologia

Considerando a ampla diversidade química associada a elevada abrangência na medicina popular, nota-se um grande interesse na comprovação da atividade terapêutica para posterior produção de fitoterápicos empregando *Erythrina velutina* Willd. A espécie se destaca de forma acentuada pelos efeitos no sistema nervoso central, além de atuar de forma cardiovascular, bactericida e antifúngica (GONÇALVES, 2014).

A atividade farmacológica fundamental exercida no sistema nervoso central está direcionada majoritariamente à presença de alcaloides na composição. Em virtude disso, inúmeros estudos utilizando o extrato bruto (predominantemente alcoólico) demonstraram eficácia na identificação de propriedades antinociceptivas, antiinflamatórias, ansiolíticas/sedativas, além de antibacterianas (CARVALHO, 2009; DA SILVA, 2013; GARZA, 2015).

Exploram-se propriedades antibacterianas com extrato bruto etanólico de *E. velutina*, além da fração hexânica, ambos oriundos de cascas da espécie. Foram evidenciados resultados promissores contra *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes* principalmente quando aplicado o extrato hexânico durante os experimentos de difusão em ágar e concentração inibitória mínima. Compostos como triterpenos e esteróides concentram-se predominantemente na fração mais apolar do extrato, e associados aos demais compostos fitoquímicos presentes em *E. velutina*, auxiliam na atividade farmacológica contra esses microrganismos (VIRTUOSO, 2005; GONÇALVES, 2014).

Sabe-se que devido ao alto consumo de oxigênio, o cérebro é essencialmente vulnerável ao estresse oxidativo, o que propicia a geração de elevadas quantidades de espécies reativas de oxigênio (ROS). Avaliando isso, em 2014 Monte et. al, publicou um estudo demonstrando que o extrato enriquecido em flavonoides de *Erythrina velutina* diminui em 50% a peroxidação lipídica induzindo a uma série de efeitos antioxidantes. Isso foi corroborado através de apenas uma injeção de 10mg/kg de flavonoides isolados em camundongos swiss (albinos), que após finalização do estudo tiveram suas áreas cerebrais avaliadas, principalmente as áreas do hipocampo e córtex pré-frontal (MONTE, 2014).

Avaliando a atividade anti-inflamatória da espécie sob outra perspectiva, extratos hidroalcoólicos foram testados, utilizando na maioria das vezes a casca como farmacógeno, em estudo controle com camundongos. Após induzir a resposta inflamatória através de dextrana ou carragenina, os animais foram posteriormente tratados através da administração do extrato bruto das cascas (200 e 400mg/Kg), e foi observada redução de até 53,1% no edema de patas, quando comparado com estudo controle nas primeiras 24 horas (VASCONCELOS, 2011; GARZA, 2015).

Outrora, atividades antitumorais foram relatadas através do isolamento de alcaloides provenientes de sementes desta espécie. No ano de 2009, Ozawa et. al., demonstrou que o composto N-óxido de erisodina revelou atividade antitumoral quando combinado com o ligante indutor de apoptose relacionado ao fator de necrose tumoral (TNF). Os resultados foram expressos através da administração de 50µg/mL com diminuição do percentual de crescimento em até 18,9% das células cancerígenas. Associado a esse composto, os demais alcaloides já isolados e identificados através de métodos espectroscópicos descritos na literatura na época (erithralina, erisotrina, erisodina, glicoesodina e hipaforina), também exibiram características semelhantes no estudo, reiterando a citotoxicidade destes metabólitos em questão (OZAWA, 2009; 2011).

As propriedades farmacológicas dos alcaloides eritrínicos têm sido avaliadas no sistema nervoso central de forma bastante expressiva. O aumento significativo do tempo de sono foi evidenciado através de estudos dose dependente. Neste trabalho publicado por Ozawa et. al., o tempo de sono foi ampliado em 33% nos camundongos que receberam a administração de 300mg/Kg do alcaloide hipaforina isolado das sementes de *E. velutina*. Outra evidência desse efeito em camundongos foi identificada através da utilização de doses com 200 e 400mg/Kg do extrato hidroalcoólico de *E. velutina* por meio de um estudo modelo de convulsão induzido por estriquina. Por intermédio disso, verificou-se ação depressora no sistema nervoso central (59,2-

66,5% na latência da convulsão e 70,4-71,2% na latência do óbito) associada a potencialização do tempo de sono induzido pelo pentobarbital (VASCONCELOS, 2007; OZAWA, 2008).

O extrato aquoso das folhas de *E. velutina* pode provocar efeitos periféricos e centrais em roedores a depender da dose utilizada. Em uma pesquisa realizada com administração de pentobarbital sódico de forma dose-dependente, ao adicionar 10mg/kg do extrato notou-se determinado bloqueio comportamental dos animais em relação ao habitat no qual foram introduzidos, isso ocorreu em detrimento da interferência no processo mnemônico adquirido através da dose de 10mg/kg. Em contrapartida, ao adicionar doses superiores a 50mg/kg, ações de bloqueio neuromuscular e sedativo foram constatadas, além da diminuição abrupta da atividade motora preliminar (DANTAS, 2004).

Por intermédio da avaliação de ratos submetidos a modelos de ansiedade e depressão, amostras de extratos hidroalcoólicos da casca de *E. velutina* foram administradas, para posterior avaliação do efeito ansiolítico e ação depressiva. O tratamento oral agudo e crônico demonstrou efeito ansiolítico em relação a tarefa inibitória de alguns comportamentos específicos ligados a ansiedade, semelhantemente a droga de referência Diazepam. Para comprovação do estudo, foram observados tempos de latência de até 50 segundos nos experimentos de reatividade quando aplicadas doses de 200 mg/Kg e 400 mg/Kg. Tais resultados foram detectados a partir da observação dos animais expostos ao modelo de labirinto em T elevado (LTE), no qual permite avaliar respostas de defesa do animal associadas a esquiva inibitória relacionada a ansiedade generalizada, e fuga pertinente ao pânico (RIBEIRO, 2006).

Reiterando esses dados, foi executado outro teste utilizando labirinto, nesse caso em cruz elevado, e teste em campo aberto. Foram evidenciados efeitos depressores do sistema nervoso central, associados à ansiedade nesse tipo de teste, em especial na atividade locomotora (diminuição da atividade em 32-37%, de acordo com a concentração avaliada). A eficácia foi comprovada através da administração de altas doses do extrato hidroalcoólico das cascas do caule: 200-400mg/kg via intraperitoneal, e 800 mg/kg por via oral (VASCONCELOS, 2004).

Além das propriedades até agora descritas, outra abordagem significativa acerca dos efeitos terapêuticos de *E. velutina* foi comprovada. Sabe-se que os alcaloides eritrínicos concedem efeitos no sistema nervoso central por meio da inibição seletiva e competitiva dos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs). Por intermédio desse mecanismo, também efetua a ativação dos receptores GABA_A (RAMBO et al., 2019a). Ao decorrer de um estudo utilizando o extrato aquoso das folhas de *E. velutina*, verificaram-se respostas contráteis no íleo de camundongos tratados com 0,025-2,5 mg/mL em dose dependente. Os resultados indicaram que o extrato aquoso impulsionava a ativação do receptor GABA_A, além da liberação de

acetilcolina com aumento da entrada de Ca^{2+} por meio dos canais de Cálcio e liberação das reservas intracelulares (CARVALHO, 2009).

De maneira uniforme, em 2012 foi publicado um ensaio, no qual os extratos provenientes das folhas inibiram consideravelmente a colinesterase dos roedores em forma dose dependente. Dois tipos de extratos foram testados nesse estudo: o extrato bruto (aquoso), e posteriormente o extrato com fração enriquecida em alcaloides. Os extratos administrados por via oral na dose de 400 mg/Kg, promoveram inibição de 32,2% e 29,6% de modo respectivo. Não foram contempladas diferenças tão expressivas entre ambos, demonstrando que os dois possuem potências similares em relação a inibição da colinesterase. Entretanto, ao término do estudo foi sugerido que a atividade anticolinesterase em *E. velutina* está relacionada majoritariamente em decorrência da fração alcaloídica (SANTOS, 2012).

Adicionalmente, Vasconcelos (2014) elaborou um ensaio com extrato bruto (aquoso) das cascas do caule, em que um grupo controle de camundongos foram tratados com água destilada, e o outro grupo recebeu por via oral 5-10 mg/kg do extrato. Após uma hora, os animais foram sacrificados e através da dissecação do cérebro avaliou-se por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) a determinação de aminoácidos. O extrato padronizado de *E. velutina* estimulou a liberação de aminoácidos endógenos, expandindo os níveis gerais no hipocampo, e elevando apenas os níveis de aminoácidos inibitórios no estriado. Em suma, esses resultados ganharam destaque relevante, pois considera-se que doenças neurodegenerativas e convulsões são respectivamente ligadas ao desequilíbrio das concentrações de aminoácidos no sistema nervoso central (VASCONCELOS, 2014).

Tudo isso traz uma concepção promissora acerca do uso terapêutico de *E. velutina*. Com esses estudos difundidos, observa-se elevada potencialidade biotecnológica da espécie para posterior produção de fitoterápicos e/ou fitofármacos. Em síntese, a maior parte dos estudos foram baseados no extrato hidroalcoólico, contudo, muitas perspectivas podem ser exploradas a partir de outras metodologias.

2.3.4 Delineamento experimental e otimização de método extrativo em alcaloides

Durante o desenvolvimento experimental algumas alterações propositais são realizadas nas variáveis introdutórias em processos ou sistemas a fim de observar e distinguir motivos para alterações que podem ser identificadas nas respostas de saída. Baseado nisso, o processo de delineamento busca desenvolver ou aprimorar metodologias, e até mesmo torná-las mais robustas. Ao decorrer dos estudos para verificação de desempenho dos mais variados sistemas, o planejamento experimental pode determinar variáveis influentes, definir os fatores controláveis, a fim de obter respostas próximas ao valor nominal esperado ou com mínimo de variação. Além disso, é possível indicar fatores mais suscetíveis para diminuir as consequências das variáveis incontroláveis. A figura 9 demonstra o modelo geral dos sistemas/processos com as variáveis envolvidas (MONTGOMERY, 2017).

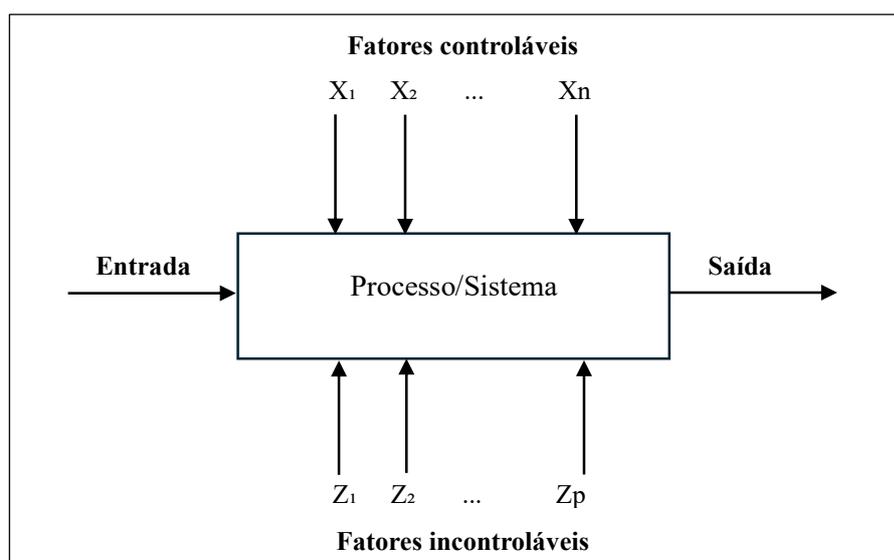


Figura 9. Modelo geral processos e sistemas (Adaptado de MONTGOMERY, 2017).

Neste processo, o tratamento dos dados são indicativos cruciais para elaborar resultados e conclusões na proporção em que a estratégia de experimentação é desenvolvida. Dentre as mais distintas estratégias encontra-se a abordagem com experimento fatorial fracionado que traz variações a partir do design fatorial básico com execução de um subconjunto das estruturas formadas. Os efeitos dos fatores podem ser avaliados sob condições mais práticas e até mesmo econômicas (WANG, 2009; RAMBO, 2019b).

O uso de um design experimental pode aumentar a performance em otimização de métodos extrativos através de uma abordagem científica apropriada. É necessário estudar o processo extrativo e discernir os requisitos ideais a serem inseridos nas condições operacionais. Através dessas observações é possível traçar um design experimental preliminar e logo em seguida iniciar a otimização da metodologia (MONTGOMERY, 2017).

Nessa sistemática, a otimização do método extrativo por delineamento experimental pode efetuar a avaliação da metodologia com condições favoráveis para a extração dos alcaloides. Baseado nisso, o Box–Behnken é um mecanismo apropriado para execução desse aperfeiçoamento, uma vez que, é um método estatístico de segunda ordem, e dessa forma, permite avaliar a influência de diversos fatores nessa extração.

Alguns estudos associam a otimização de metodologias para busca de extrações e fracionamentos mais confiáveis. Em 2016, Klein-Júnior e colaboradores publicaram um estudo relacionando a obtenção de alcaloides indólicos de *P. nemorosa* com menor gasto de tempo e solventes durante a implementação. Para o gênero *Erythrina*, o estudo publicado em 2019 por Rambo e colaboradores buscou otimizar o rendimento dos extratos alcaloídicos em *E. verna* por intermédio do Box–Behnken obtendo parâmetros descritos com proporção planta:solvente em 1:60 (*m/v*), granulometria em 710-1000 μm e tempo de maceração com 5,47 horas. Em virtude disso, a aplicação desta estratégia fatorial, na otimização dos processos de extração em matérias-primas ricas em alcaloides, pode propiciar resultados promissores em amostras de *E. velutina*, trazendo destaque para esse tipo de metodologia que ainda não foi testada em nenhuma outra oportunidade de pesquisa.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver método analítico por CLAE/DAD para avaliação da variabilidade química dos alcaloides de *Erythrina velutina* Willd. em diferentes farmacógenos e locais de coleta, bem como otimização do processo extrativo destes metabólitos. Além disso, objetivou-se efetuar a identificação química dos alcaloides eritrínicos por GC-EM.

3.2 Objetivos Específicos

- Coletar amostras de *E. velutina* (cascas do caule, cascas de raiz, folhas e flores) em diferentes locais e épocas do ano;
- Obter frações enriquecidas em alcaloides (FEAs);
- Desenvolver metodologia analítica através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detector de diodos (CLAE/DAD) para análise química das FEAs;
- Analisar o perfil químico das FEAs por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) e CLAE/DAD;
- Otimizar o método extrativo por delineamento experimental.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O texto que compreende essa seção (páginas entre 50-54) apresenta dados referentes a localização das árvores de estudo com suas respectivas coordenadas geográficas, além, das datas de coletas efetuadas em cada farmacógeno. Todo o processo de preparo dos extratos, análise química através do desenvolvimento analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (diferenças de eluentes testados) e otimização do método extrativo também foi detalhado neste segmento. As particularidades envolvidas na caracterização química por cromatografia gasosa acoplada a espectrofotometria de massas foram especificadas de forma similar. Essas informações apresentam referências das marcas dos equipamentos e reagentes e descrição completa dos processos.

O texto completo desta seção encontra-se suprimido por conter informações em fase de estruturação para publicação em periódico científico. As páginas compreendidas entre 56 - 116 retratam o processo de obtenção das frações ricas em alcaloides desde a fase inicial da coleta em localidades distintas. O processo de desenvolvimento analítico por intermédio da cromatografia líquida acoplada a detector de diodos (CLAE/DAD) foi relatado com demonstração dos diferentes eluentes empregados, e a conclusão dos testes para obtenção do método que fomentou o estudo de variabilidade química em diferentes farmacógenos das árvores estudadas. Para finalizar o processo de avaliação da variabilidade dos alcaloides, as amostras foram submetidas também a análise de identificação por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrofotometria de massas (GC/EM), onde foram detectados compostos com perfil alcaloídico de acordo com perfil de fragmentação exposto na literatura. Finalizando o processo de caracterização química, foi possível efetuar a otimização do método extrativo, traçando o delineamento experimental através do Box-Behnken, iniciando com experimentos preliminares para identificar as variáveis mais influentes no processo e seguindo com o experimental fatorial.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, é possível afirmar que todo o processo desde a coleta, extração e desenvolvimento analítico do método de identificação dos alcaloides eritrínicos para a espécie em questão, apresentou-se de forma eficaz para obtenção dos resultados de variabilidade química investigados neste estudo.

De maneira concisa, obteve-se todos os resultados relacionados as diferenças entre farmacógenos e locais de coleta das árvores de *E. velutina* presentes na região da Chapada Diamantina. Ao decorrer da análise de CLAE/DAD, notou-se variações de rendimento extrativo e pouca variedade em termos qualitativos, já que, os farmacógenos analisados exibiram um perfil químico muito similar com a presença dos mesmos picos de interesse, com ressalva das amostras de folhas coletadas em Barriguda que apresentou uma maior quantidade de compostos. Entretanto, houve destaque para os resultados provenientes da árvore de Boninal, uma vez que foram exibidos com elevada intensidade nos picos alcaloídicos em todas as matrizes avaliadas em comparação as demais localidades.

A caracterização química por meio de GC-EM consolidou o estudo de variabilidade química, revelando alcaloides das subclassificações alcenóide e dienóide nas amostras vegetais analisadas. A partir destas informações foi possível distinguir os marcadores químicos presentes nos diferentes locais de coleta, destacando a erisovina como principal alcaloide nos farmacógenos avaliados. Amostras de folhas, exibiram baixa detecção de alcaloides, ao passo que cascas de caule e flores revelaram uma melhor diversidade neste parâmetro. Avaliando as cascas de caule e flores das árvores distintas, nota-se um certo padrão de similaridade na detecção dos compostos, sem diferença significativa quando avalia-se os mesmos farmacógenos versus localidades distintas. Dentro dessa classificação, o perfil químico pode auxiliar nos estudos consecutivos acerca do emprego da espécie em questão para tratamentos farmacológicos, já que muitos compostos com mesma característica estrutural foram encontrados em diferentes locais de coleta.

Por fim, o delineamento experimental possibilitou otimizar o método extrativo, atingindo condições favoráveis para obtenção de alcaloides provenientes em *E. velutina*, sendo executado pela primeira vez nesta espécie.

Os dados obtidos são promissores para compor a base de estudo dos marcadores químicos a partir dos alcaloides tetracíclicos, considerando especialmente os farmacógenos cascas de caule e flores por apresentarem resultados favoráveis em termos de variabilidade química nas análises de CLAE/DAD e GC-EM. De fato, este trabalho auxilia na distinção da espécie que possui mesmo nome popular de outras do mesmo gênero, direcionando sua utilização de forma mais precisa.

REFERÊNCIAS

- ADEMA, Frits. Notes on Malesian Fabaceae (Leguminosae-Papilionoideae). 1. The genus *Erythrina* L. **Blumea: Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants**, v. 41, n. 2, p. 463-468, 1996.
- AMER, M. E., El-masry, S., Shamma, M., & Freyer, A. J. Three novel glycodienoid alkaloids from *Erythrina lysistemon*. *Journal of Natural Products*, 54(1), 161–166. 1991a.
- AMER, M. E., Shamma, M., & Freyer, A. J. The tetracyclic *Erythrina* alkaloids. *Journal of Natural Products*, 54(2), 329–363. 1991b.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Disponível em: <http://www.mp.sp.gov.br/portal/page/portal/consumidor/legislacao/leg_saude/leg_sau_anvs/Resol-Anvisa.pdf>. Acesso em: 27 agosto. 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. 2006. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. 60 p. Available at http://vsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf. Acesso em 19 de julho de 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. RENISUS. Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS. Espécies vegetais, 2009. Acesso em: 18 abr. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos Brasília: Ministério da Saúde. (Série C. Projetos, Programas e Relatórios), 2009. Acesso em: 18 abr. 2022.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Acesso em: 18 abr. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos – Brasília: Ministério da Saúde, 2016. Acesso em 28 de março de 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Plantas medicinais e fitoterápicos no SUS, 2018c. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-efitoterapicos-ppnmpf/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus>. Acesso em: 23 de novembro de 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Uso de fitoterápicos e plantas medicinais cresce no SUS; Disponível em: Data de acesso: 10 de agosto de 2022.

BERNARDO, Cristiany Oliveira; ASCHERI, José Luis Ramírez; CARVALHO, Carlos Wanderlei Piler de. Efeito do ultrassom na extração e modificação de amidos. **Ciência Rural**, v. 46, p. 739-746, 2016.

BENTO, Sílvia Regina Silva de Oliveira et al. Eficiência dos testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mulungu (*Erythrina velutina* WILLD.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p. 111-117, 2010.

BOAR, R. B.; WIDDOWSON, D. A. Mass spectra of the Erythrina alkaloids: a novel fragmentation of the spiran system. **Journal of the Chemical Society B: Physical Organic**, p. 1591-1595, 1970.

BORCARD, G. G. et al. Estudo etnofarmacológico em entorno de floresta urbana como subsídio para a implantação da Fitoterapia no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 928-936, 2015.

CABRAL, G. A. L.; MACIEL, J. R. Levantamento etnobotânico da coleção de plantas medicinais do jardim botânico do Recife, PE. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 6, n. 2, p. 121 – 129, 2011.

CARDOSO, Jean Carlos et al. Avanços e desafios na produção in vitro de metabólitos secundários de plantas medicinais. **Horticultura Brasileira**, v. 37, p. 124-132, 2019.

CARVALHO, Ana Carla CS et al. Evidence of the mechanism of action of *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae) leaves aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, n. 2, p. 374-378, 2009.

CARMO, Rubens Henrique Holanda do et al. Efeitos do armazenamento na emergência de sementes de mulungu (*Erythrina velutina* Willd). 2019.

CASTRO, Alonso AJ, et al. Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. *J Ethnopharmacol*; 198:81-86, 2017.

CHACON, Daisy Sotero et al. *Erythrina velutina* Willd. alkaloids: Piecing biosynthesis together from transcriptome analysis and metabolite profiling of seeds and leaves. **Journal of advanced research**, v. 34, p. 123-136, 2021.

CHAWLA, Amrik Singh; KAPOOR, Vijay K. *Erythrina* alkaloids. In: **Alkaloids: chemical and biological perspectives**. Pergamon, 1995. p. 85-153.

CHEMAT, Farid et al. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813-835, 2011.

COLET, Cristiane F. et al. Análises das embalagens de plantas medicinais comercializadas em farmácias e drogarias do município de Ijuí/RS. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 17, n. 2, p. 331-339, Jun. 2015.

COLLINS, Carol H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, Pierina S. Fundamentos de cromatografia. In: **Fundamentos de cromatografia**. p. 36-42; 453-453, 2006.

CRISTIANS, S., Mata, R., Bye, R. Phenological and geographical influence in the concentration of selected bioactive 4-phenylcoumarins and chlorogenic acid in *Hintonia latiflora* leaves. *J Ethnopharmacol*, 152(2), 308-313, 2014.

DA CUNHA, Emidio VL et al. Eryvellutinone, an isoflavanone from the stem bark of *Erythrina vellutina*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 6, p. 1371-1373, 1996.

DANTAS, MC de et al. Central nervous system effects of the crude extract of *Erythrina velutina* on rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 129-133, 2004.

DA SILVA, Gildarte Barbosa; AZEVEDO, P. V. Potencial edafoclimático da “Chapada Diamantina” no estado da Bahia para cultivo de Citrus. **Rev. Brasileira de Agrometeorologia**, v. 8, p. 133-139, 2000.

DA SILVA, Márcia MB et al. Anatomy of leaf and stem of *Erythrina velutina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 200-206, 2013.

DA SILVA, Raquel Soares et al. Utilidades do Mulungu (*Erythrina velutina* Willd) /Utilities of Mulungu (*Erythrina velutina* Willd.). *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 3, p. 13779-13785, 2020.

DE ALCÂNTARA SANTOS, Alexandre Clístenes. **Biodiversidade na Bahia**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2022.

DE OLIVEIRA, D.R., Zamberlam, C.R., Gaiardo, R.B., Rego, G.M., Cerutti, J.M., Cavalheiro, A.J., Cerutti, S.M. Flavones from *Erythrina falcata* are modulators of fear memory. *BMC Complement. Altern. Med.* 14, 288, 2014.

DE MOURA, Danielle Feijó et al. A Importância da Biossegurança na Produção e Utilização de Produtos Naturais e Fitoterápicos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 7054-7062, 2020.

DEMARQUE, Daniel P. et al. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 3, p. 432-455, 2016.

DEWICK, P. M. Secondary metabolism: the building blocks and construction mechanisms. In: **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. Reino Unido: Wiley, 3ª ed., p. 7-11, 311, 2002.

DHOOGHE, L. et al. Development and validation of an HPLC-method for the determination of alkaloids in the stem bark extract of *Nauclea pobeguini*. **Talanta**, v. 76, n. 2, p. 462-468, 2008.

DOS SANTOS, Laércio W. et al. Propagação vegetativa de mulungu (*Erythrina velutina* Willd. Fabaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 3, p. 420-426, 2014.

FAHMY, Nouran M. et al. Comprehensive review on flavonoids biological activities of *Erythrina* plant species. **Industrial Crops and Products**, v. 123, p. 500-538, 2018.

FAHMY, Nouran M. et al. Alkaloids of genus *Erythrina*: An updated review. **Natural product research**, v. 34, n. 13, p. 1891-1912, 2020.

FEITOSA, Luís Guilherme Pereira et al. Aplicação de espectrometria de massas com ionização por elétron na análise de alcaloides do mulungu. **Química Nova**, v. 35, p. 2177-2180, 2012.

FEITOSA, Luís Guilherme Pereira. **Caracterização dos alcaloides de *Erythrina verna***. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2014.

FERREIRA, Guilherme Diogo et al. TINTURA DE MULUNGU (*Erythrina velutina*): PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE PARÂMETROS DE QUALIDADE. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, v. 17, n. 1, 2020.

GARCIA-MATEOS, R.; SOTO-HERNANDEZ, M.; KELLY, D. Alkaloids from six *Erythrina* species endemic to Mexico. **Biochemical systematics and Ecology**, v. 26, n. 5, p. 545-551, 1998.

GARZA, Wayne (Ed.). **Fabaceae: Classification, Nutrient Composition and Health Benefits**. Nova Publishers, 2015.

GILBERT, Benjamin; FAVORETO, Rita. *Erythrina* sp. Fabaceae (Leguminosae, Faboideae). **Revista Fitos**, v. 7, n. 03, p. 185-197, 2012.

GONÇALVES, Luciana Oliveira et al. Caracterização genética de mulungu (*Erythrina velutina* Willd.) em áreas de baixa ocorrência. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, p. 290-298, 2014.

GONZÁLEZ, Jisette et al. Ferramentas metodológicas in vitro para o estudo do câncer e seleção de novas substâncias antitumorais. **ScientiaTec**, v. 7, n. 03, 2020.

GOINGUENÉ, S. P.; TURLINGS, T. C. J. The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. *Plant Physiology*, v.129, p.1296-1307, 2002.

GOUVEA, D. R.; GOBBO-NETO, L.; SAKAMOTO, H. T.; LOPES, N. P.; LOPES, J. L. C.; MELONI, F.; AMARAL, J. G. Seasonal variation of the major secondary metabolites present in the extract of *Eremanthus matto-grossensis* Less (Asteraceae: Vernoniae) leaves. **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2139-2145, 2012.

HARAGUCHI, Linete Maria Menzenga et al. Impacto da Capacitação de Profissionais da Rede Pública de Saúde de São Paulo na Prática da Fitoterapia. **Revista brasileira de educação médica**, v. 44, 2020.

HEINRICH, Michael. Ethnopharmacology: quo vadis? Challenges for the future. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 24(2), 99-102, 2014.

KHURAIJAM, Jibankumar Singh et al. A synopsis of the genus *Erythrina* (Fabaceae) in India. In: **Annales Botanici Fennici**. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board. p. 275-283, 2021.

KIM, H. K.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. NMR-based plant metabolomics: where do we stand, where do we go?. *Trends in Biotechnology*. v. 29, n.6, p. 267- 275, 2011.

- KLEIN-JÚNIOR, Luiz C. et al. The use of chemometrics to study multifunctional indole alkaloids from *Psychotria nemorosa* (Palicourea comb. nov.). Part I: Extraction and fractionation optimization based on metabolic profiling. **Journal of Chromatography a**, v. 1463, p. 60-70, 2016.
- KORN, Mauro et al. PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS ASSISTIDOS POR ULTRA-SOM. **Revista Analytica**, n. 03, p. 34-39, 2003.
- KUMAR A, Lingadurai S, Jain A, Barman NR. *Erythrina variegata* Linn: a review on morphology, phytochemistry, and pharmacological aspects. *Pharmacogn Rev.* 4(8):147–152, 2010.
- LANÇAS, Fernando M. Cromatografia líquida com interação hidrofílica (HILIC). **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 49-57, 2010.
- LANÇAS, Fernando M. Aumentando a eficiência das colunas de HPLC por meio da diminuição do diâmetro das partículas da fase estacionária: até onde. **Scientia Chromatographica**, v. 3, n. 1, p. 17-23, 2011.
- LEAL, Natasha Lorena Ferreira da Silva et al. Alcalóides de *Erythrina velutina* Willd: Caracterização por cromatografia gasosa e líquida acoplada a espectrometria de massas. 2018.
- LEITE, Paula M.; CAMARGOS, Layla M.; CASTILHO, Rachel O. Recent progress in phytotherapy: A Brazilian perspective. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 41, p. 101270, 2021.
- LOYD GK, Williams M. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as novel drug targets. *JPharmacol Exp Ther.* 292(2):461–467, 2000.
- MAGALHÃES, P. K. A. et al. Ethnobotanical and ethnopharmacological study of medicinal plants used by a traditional community in Brazil's northeastern. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2021.
- MAJINDA, R.R., Wanjala, C.C., Juma, B.F. Bioactive non-alkaloidal constituents from the genus *Erythrina*. *Stud. Nat. Prod. Chem.* 32, 821–853, 2005.
- MARCHESE, José Abramo; FIGUEIRA, Glyn Mara. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 3, p. 86-96, 2005.
- MARION, Léo. Chapter XIV The *Erythrina* Alkaloids. In: **The Alkaloids: Chemistry and Physiology**. Academic Press, p. 499-511, 1952.
- MARTINS, C. E. N.; FEISTAUER, D.; VIEIRA, A. R. R.; PORFÍRIO-DA-SILVA, V.; QUADROS, S. F. A. de. Crescimento de espécies nativas e produção de material formador da serapilheira em um sistema silvipastoril. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS AGROFLORESTAIS, 5., 2004, Curitiba. SAFs: desenvolvimento com proteção ambiental: anais. Colombo: Embrapa Florestas, p. 192-194, 2004.

MARTINS, Milena Ventrichi et al. Filogenia do gênero *Erythrina* L. (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae) e revisão taxonômica das espécies ocorrentes no Brasil. **The Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 145, n. 4, 2014.

MARTINS, Milena Ventrichi et al. Nomenclatural and taxonomic changes in Brazilian *Erythrina* (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae). **The Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 145, n. 4, p. 398-402, 2018.

MARTINS, M.V. *Erythrina* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB22965>>. Acesso em: 12 jul. 2024

MATOS, Nadaby de Oliveira et al. The registration of the usage of medicinal plants on e-SUS program: a case study in a city in the upper Jequitinhonha Valley. **Rodriguésia**, v. 71, 2020.

MERLUGO, Liara. Análise cromatográfica, constituição química em alcaloides e avaliação do potencial hipotensor de extratos vegetais obtidos de espécies de *Erythrina*. 2015.

MILLINGTON D. S.; STEINMAN, D. H.; RINEHART JR., K. L. Isolation, gas chromatography-mass spectrometry, and structures of new alkaloids from *Erythrina folkersii* and *Erythrina salviiiflora*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 96(6), p. 1909-1917, 1974.

MONTE, A. S. et al. Effect of flavonoids isolated from *Erythrina velutina* on oxidative stress in brain of mice. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 24, n. 2, p. S608, 2014.

MOREIRA, Davyson de L. et al. Traditional use and safety of herbal medicines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 248-257, 2014.

MONTGOMERY, Douglas C. **Design and analysis of experiments**. John wiley & sons, 2017.

MOURA, Flávia de Barros Prado; MARQUES, José Geraldo Wanderley. Conhecimento de pescadores tradicionais sobre a dinâmica espaço-temporal de recursos naturais na Chapada Diamantina, Bahia. **Biota Neotropica**, v. 7, p. 119-126, 2007.

NUNES, F. R. S.; DIAS, H. M. C.; CAVALCANTE, G. M. Investigação das atividades antioxidantes e antimicrobiana de duas espécies arbóreas ocorrentes no bioma caatinga. *Estação Científica*. Macapá, 6(1): p 81-90, 2016.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. Farmacognosia identificação de drogas vegetais. São Paulo: 2ª ed., Editora Atheneu, p 5-14, 2014.

OLIVEIRA, Mychelle Karla Teixeira et al. Desenvolvimento inicial de *Erythrina velutina* sob restrição hídrica. *Pesquisa Florestal Brasileira*, v. 36, n. 88, p. 481- 488, 2016.

OLIVEIRA, Vinícius Bednarczuk de; MEZZOMO, Thais Regina; MORAES, Eliézer Fernanda de. Conhecimento e uso de plantas medicinais por usuários de unidades básicas de saúde na região de Colombo, PR. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, v. 22, n. 1, p. 57-64, 2018.

OZAWA, Masaaki et al. Hypaphorine, an indole alkaloid from *Erythrina velutina*, induced sleep on normal mice. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, n. 14, p. 3992-3994, 2008.

OZAWA, Masaaki et al. TRAIL-enhancing activity of Erythrinan alkaloids from *Erythrina velutina*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 1, p. 234-236, 2009.

OZAWA, Masaaki; KISHIDA, Akio; OHSAKI, Ayumi. Erythrinan alkaloids from seeds of *Erythrina velutina*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 59, n. 5, p. 564-567, 2011.

PALUMBO, C.; F.; GOMES.; GARDIN, N. E.; NAKAMURA, M.; U.; *Erythrina mulungu* Mart. ex Benth e *Erythrina velutina* Willd. Aspectos farmacológicos e perspectiva antropológica de plantas brasileiras. *Arte Med. Ampl*, p. 152-161, 2016.

PARSONS, Andrew F.; PALFRAMAN, Matthew J. *Erythrina* and related alkaloids. **The alkaloids: chemistry and biology**, v. 68, p. 39-81, 2010.

PATRÍCIO, Karina Pavão et al. O uso de plantas medicinais na atenção primária à saúde: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 677-686, 2022.

PEDROSO, Reginaldo dos Santos; ANDRADE, Géssica; PIRES, Regina Helena. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, 2021.

RABELO LA, et al. Homohesperetin and phaseollidin from *Erythrina velutina*. *Biochem. Syst. Ecol*; 29(5): 543-544, 2001.

RADUŠIENĖ, J.; KARPAVIČIENĖ, B.; STANIUS, Ž. Effect of external and internal factors on secondary metabolites accumulation in St. John's worth. *Botanica Lithuanica*, v. 18, n. 2, p. 101-108, 2012.

RAMBO, Douglas F. et al. The genus *Erythrina* L.: A review on its alkaloids, preclinical, and clinical studies. *Phytotherapy Research*, v. 33, n. 5, p. 1258-1276, 2019a.

RAMBO, Douglas F. et al. Box–Behnken experimental design for extraction optimization of alkaloids from *Erythrina verna* Vell. trunk barks and LC Method Validation. **Industrial crops and products**, v. 133, p. 250-258, 2019b.

RAMOS, Renata Magalhães et al. Comparative study of phytochemical composition, cytotoxicity and potentials antioxidant and photoprotector of the bark and leaf of *Erythrina velutina*. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 6, p. 33140-33158, 2020.

RATES, Stela M.K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Maringá, v. 11, n. 2, p. 57-69, Jul.-Ago. 2001.

RIBEIRO, M. D. et al. 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, p. 263-270, 2006.

RIBEIRO, Renata Conduru, et al. Physiological quality of *Erythrina velutina* Willd. seeds (FABACEAE) under different storage conditions, 2018.

RODRIGUES, Dalila Ribeiro et al. Phenotypic, genetic and symbiotic characterization of *Erythrina velutina* rhizobia from Caatinga dry forest. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 503-512, 2018.

SANTOS, Wanderson Praxedes et al. In vitro and ex vivo anticholinesterase activities of *Erythrina velutina* leaf extracts. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 7, p. 919-924, 2012.

SANTOS, Jéssica Juliane Furtado; COELHO-FERREIRA, Márlia; LIMA, Pedro Glecio Costa. Etnobotânica de plantas medicinais em mercados públicos da Região Metropolitana de Belém do Pará, Brasil. **Biota Amazônia**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2018.

SCHLEIER, Rodolfo; QUIRINO, Cristiane Sacuragui; RAHME, Samir. *Erythrina mulungu*—descrição botânica e indicações clínicas a partir da antroposofia. *Arte Médica Ampliada*, v. 36, n. 4, p. 162-167, 2016.

SCHWOB, I.; BESSIERE, J. M.; MASOTTI, V.; VIANO, J. Changes in essential oil composition in Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. *Biochemical systematics and ecology*, v. 32, n. 8, p. 735-745, 2004.

SHULAEV, V.; CORTES, D.; MILLER, G.; MITTLER, R. Metabolomics for plant stress response. *Physiologia Plantarum*. v. 132, p. 199- 2008, 2008.

SCOGIN, Ron. Anthocyanins of the genus *Erythrina* (Fabaceae). **Biochemical systematics and ecology**, v. 19, n. 4, p. 329-332, 1991.

SILVA, César R. et al. Novas fases estacionárias à base de sílica para cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 27, p. 270-276, 2004.

SILVA, Kelina Bernardo et al. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas de *Erythrina velutina* willd., leguminosae-Papilionideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, p. 104-114, 2008.

SILVA, Elizamar Ciríaco da et al. Growth evaluation and water relations of *Erythrina velutina* seedlings in response to drought stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, p. 225-233, 2010.

SILVA, Kelina Bernardo et al. Armazenamento de sementes de *Erythrina velutina* Willd. **Revista Árvore**, v. 35, p. 809-816, 2011.

SILVA JUNIOR, Valter Tavares da et al. *Erythrina velutina* Willd.(Leguminosae-Papilionoideae) ocorrente em caatinga e brejo de altitude de Pernambuco: biometria, embebição e germinação. **Revista Árvore**, v. 36, p. 247-257, 2012.

SILVEIRA, Elielson Rodrigo; CARVALHO, Juliana Cajado Souza; MATOS, Tamara Machado. Da planta ao fármaco: uma abordagem fitoquímica. **Laboratório de Fisiologia Vegetal**, p. 166, 2021.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia – da planta ao medicamento. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2007.

SINGH, H. et al. Investigation of *Erythrina spp.* IX. chemical constituents *Erythrina stricta* bark. **Journal of Natural Products**, v. 44, p. 526-529, 1981.

SOARES, A. J. S. et al. Potencialidades da prática da atenção farmacêutica no uso de fitoterápicos e plantas medicinais. **Journal of Applied Pharmaceutical Sciences**, 2021.

SON, Ninh T.; ELSHAMY, Abdelsamed I. Flavonoids and other non-alkaloidal constituents of genus *Erythrina*: phytochemical review. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 24, n. 1, p. 20-58, 2021.

TANAKA H, Sudo M, Kawamura T, Sato M, Yamaguchi R, Fukai T, Sakai E, Tanaka N. Antibacterial constituents from the roots of *Erythrina herbacea* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Planta Med.* 76(9):916–919, 2010.

TEIXEIRA, Margareth G.; MORAES, Marcílio M. de; DA CAMARA, Claudio AG. Chemical profiles of essential oils and fatty acids from *Erythrina velutina*. **Química Nova**, v. 42, p. 65-70, 2019.

TJAHJANDARIE TS, Pudjiastuti P, Saputr R, Tanjung M. Antimalarial and antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Erythrina crista-galli* L. *J Chem Pharm Res.* 6(4):786–790, 2014.

TRIBOS B, Pintarelli GM, Bini LA, Camargo A, Funez LA, de Gasper AL, Zeni AL. Estudo etnobotânico de plantas utilizadas para fins terapêuticos na região da Mata Atlântica, Sul do Brasil. *J Etnopharmacol*; 164:136-146, 2015.

TODOROKI, Kazuyuki et al. Two *Erythrina* alkaloids and three diarylpropanoids from *Erythrina velutina*. **Tetrahedron**, v. 96, p. 132383, 2021.

VASCONCELOS, Silvânia MM et al. Central activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 56, n. 3, p. 389-393, 2004.

VASCONCELOS, Silvânia MM et al. Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 271-274, 2007.

VASCONCELOS, Silvânia MM et al. Anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *E. mulungu* in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 1155-1158, 2011.

VASCONCELOS, S. M. M. et al. P. 1. g. 075 Effects of *Erythrina velutina* standardised extract on amino acid levels in mouse hippocampus and striatum. **European Neuropsychopharmacology**, n. 24, p. S247, 2014.

VIANI, M. R. Recent developments in environmental metabolomics. *Molecular BioSystems*. V.4, n. 10, p. 980- 986, 2008.

VIRTUOSO, S. et al. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 137-142, 2005.

WANG, Jianlong; WAN, Wei. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: a review. **International journal of hydrogen energy**, v. 34, n. 1, p. 235-244, 2009.

YUBIN, J. I. et al. The extraction, separation and purification of alkaloids in the natural medicine. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 1, p. 338-345, 2014.
ZUANAZZI, J. A. S.; TREMEA, V.; LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES A. T. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from Southern Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology*. v. 29, p. 819–825, 2001.