



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae)

MÁRCIA MARIA BARBOSA DA SILVA

RECIFE 2012

MÁRCIA MARIA BARBOSA DA SILVA

ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae)

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em ciências farmacêuticas.

Área de concentração: obtenção e avaliação de produtos naturais e bioativos

Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares
Co-orientador: Prof. Dr. Haroudo Satiro Xavier

RECIFE. 2012

Catalogação na publicação
Bibliotecária: Gláucia Cândida, CRB4-1662

S586e Silva, Márcia Maria Barbosa da.
Estudo farmacognóstico de *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae) /
Márcia Maria Barbosa da Silva. – Recife: O autor, 2012.
71 folhas : il. ; 30 cm.

Orientador: Luiz Alberto Lira Soares.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco,
CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.
Inclui bibliografia.

1. Controle de Qualidade. 2. Fabaceae. I. Soares, Luiz Alberto Lira
(Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2012-230)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Recife, 08 de agosto de 2012

Dissertação a ser defendida no dia 31 de agosto de 2012 e cuja Banca Examinadora será constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Luís Alberto Lira Soares
(Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr^a Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel
(Universidade Federal Rural de Pernambuco)

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr^a Evani de Lemos Araújo (Faculdade
Pernambucana de Saúde)

Assinatura: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr^a. Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

Prof^a. Dr^a. Nereide Stela Santos Magalhães

VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Lima Leite

Aos meus exemplos de perseverança, meus pais e meu marido, por toda paciência, amor, incentivo e empenho em mais esta conquista.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e pelo privilégio que me foi dado em compartilhar tamanha experiência.

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto de Lira Soares, orientador desta dissertação, por todo empenho, sabedoria, compreensão e, acima de tudo, exigência.

À Profa. Dra. Karina Perrelli Randau, a qual tenho inestimável admiração, pela amizade, incentivo, confiança e colaboração. Gostaria de salientar a sua competência, participação com discussões, correções, sugestões que fizeram com que concluíssemos este trabalho.

Ao Prof. Dr. Haroudo Satiro Xavier, pela sua co-orientação, amizade e competência incomuns.

À Profa. Dra. Rejane Pimentel, pela colaboração e uso das dependências do Laboratório de Fitomorfologia Funcional do Departamento de Biologia da UFRPE.

À Profa. Flávia Silva, pela imensa colaboração.

Ao meu amigo e colega de trabalho Asaph Cabral, por sua disposição e ajuda sem igual.

Aos meus familiares que sempre me deram amor e força, valorizando meus potenciais.

Ao meu marido pela paciência, principalmente compreensão da minha ausência em função dos estudos.

Aos meus sobrinhos fonte de juventude e alegria.

Aos amigos Alan Lucena, Alex Lucena, Evanilson Alves e Rafaela Damasceno, Tereza Milha e Adenilda Lima pela amizade, pelo apoio nas horas de descrença e pela cumplicidade.

Aos colegas do Laboratório de Farmacognosia da UFPE e a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução dessa dissertação de Mestrado.

Já sei olhar o rio por onde a vida passa sem me precipitar e nem perder a hora, escuto o silêncio que há em mim e basta, outro tempo começou pra mim agora...”

Ana Carolina e Seu Jorge.

RESUMO

O desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos compreende desde a identificação da espécie vegetal, avaliação de suas atividades microbiológicas, biológicas, farmacológicas e toxicológicas e a determinação dos parâmetros de qualidade, até a produção e controle de qualidade da forma farmacêutica, além da avaliação de sua estabilidade. No que pese o papel de destaque no sistema brasileiro de saúde destes produtos, tanto do ponto de vista econômico quanto cultural, ainda existem diversos problemas no que diz respeito ao controle de qualidade das matérias primas que os origina. Nesse contexto encontra-se *Erythrina velutina* Willd., popularmente conhecida como mulungu, canivete, corticeira e suinã e amplamente empregada como calmante, sedativo, controle da insônia e auxiliar no tratamento de processos inflamatórios. A espécie não apresenta monografia em códigos oficiais ou dados suficientes que suportem seu controle de qualidade. Portanto, o propósito deste estudo foi caracterizar, anatomicamente, folha e caule de *Erythrina velutina* e avaliar a qualidade da matéria prima vegetal da casca do seu caule. Para isso, o material vegetal identificado foi submetido à análise macro e microscópica, e adicionalmente, o mesmo foi adotado como referência para a avaliação de amostras conhecidas como mulungu, através do perfil fitoquímico, umidade residual, cinzas e materiais estranhos. Os resultados da anatomia vegetal contribuem como ferramenta para caracterização botânica desta espécie, uma vez que existe uma diferenciação estrutural nos sulcos na região das nervuras na face abaxial da epiderme e canais secretores associados ao floema nos feixes vasculares do caule, que podem diferenciá-la das demais espécies semelhantes e de mesma denominação vulgar. O perfil fitoquímico foi similar em todas as amostras analisadas sugerindo se tratar da mesma droga vegetal. Considerando a análise fisicoquímica das amostras, a umidade apresentou-se dentro do limite preconizado pelos códigos oficiais. Para o parâmetro teor de cinzas totais e insolúveis em ácido, duas amostras encontraram-se fora dos padrões estabelecidos, provavelmente devido à presença em excesso de terra e/ou areia como substâncias inorgânicas não voláteis e de constituintes silicosos contaminantes. Uma das amostras apresentou teor elevado de impurezas. Conclui-se que os testes realizados fornecem subsídios iniciais para o estabelecimento de padrões de qualidade da matéria prima vegetal de *E. velutina*.

Palavras-chave: Controle de qualidade, *Erythrina velutina*, Fabaceae, Morfoanatomia.

ABSTRACT

The development comprises of herbal medicines from the identification of plant species, evaluation of their microbiological, biological, pharmacological and toxicological activities and the determination of quality parameters, to production and quality control of the dosage form to the assessment of its stability. In spite of the role in the Brazilian health system for these products, both economically and culturally, there are still several problems with regard to quality control of raw materials that originate them. In this context is *Erythrina velutina* Willd. It is popularly known as suinã, mulungu, canivete and cork tree, and used as a tranquilizer, sedative, insomnia control and aid in the treatment of inflammatory processes. The species has no official monograph in codes or insufficient data to support their quality control. Therefore, the purpose of this study was to characterize anatomically the leaf and stem of *Erythrina velutina* and evaluate the quality of the vegetable raw material from the bark of its stem. For this, the identified plant material was subjected to macroscopic and microscopic analysis, and additionally it was adopted as a reference for the evaluation of samples known as Mulungu, through the phytochemical profile, residual moisture, ash and foreign materials. The results of the plant contribute anatomy as a tool for characterization of botanical species, since there are differences in structural deep in the region of the ribs under the epidermis and secretory associated channels in vascular bundles in the phloem of the stem which can distinguish it the other species of the same name and similar vulgar. The phytochemical profile was similar in all samples suggesting it was the same plant drug. Considering the physical-chemical analysis of samples, the moisture was within the limit suggested by the codes official. For the parameter ash content and total acid-insoluble, two samples met the minimum quality standards, probably due to over-ground and / or inorganic substances such as sand and non-volatile constituents silica contaminants. The samples showed a high content of impurities. It is concluded that the initial tests may provide information to establish the quality standards of raw material from *E. velutina*.

Keywords: Quality control, *Erythrina velutina*, Fabaceae, Morphoanatomy.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
2.1 GERAL	16
2.2 ESPECÍFICOS.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 <i>Erythrina velutina</i> Willd.....	17
3.2 Aspectos Botânicos.....	17
3.3 Aspectos Fitoquímicos.....	18
3.4 Aspectos Biológicos.....	23
3.5 Atividade Farmacológicos.....	24
3.5.1 Atividade Sedativa.....	24
3.5.2 Atividade Anticonvulsivante.....	24
3.5.3 Atividade Anestésica.....	25
3.6 Aspectos Toxicológicos.....	25
3.7 Análise Morfo-anatômica de Drogas Vegetais.....	25
3.8 Qualidade de Drogas Vegetais.....	27
4. CAPÍTULO I	29
4.1 Anatomy of the leaf and stem of <i>Erythrina velutina</i>	29
5. CAPÍTULO II.....	44
5.1 Caracterização fitoquímica, fisicoquímica e avaliação da qualidade das cascas do caule de <i>Erythrina velutina</i> Willd (Fabaceae).....	44
6. CONCLUSÃO.....	64
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química típica dos alcaloides do gênero *Erythrina*..... 19

Figura 2. Algumas substâncias isoladas do gênero *Erythrina*..... 20

Artigo I

Figura 1. *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): Individual in the field; Adaxial surface of imparipinnate leaf; Abaxial surface of leaf; Flowery branch; Stem aspect.....32

Figure 2. Stem of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): a. Cross-sectional view of the primary structure; b. Thickened epidermis covered by cuticle and crystal in the subepidermal parenchyma, followed by angular collenchymas; c. Damaged ramified trichomes (*) and glandular claviforme ; d. Ramified trichome in detail.....33

Figura 3. Stem of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): Cross-sectional view showing initiation of periderm subepidermal; Groups of fibers (band) over the phloem; Vascular bundles with fiber cap over the phloem (f), cambium (c) followed by xylem (x) and secretory cavities inside the phloem (*); Secretory cavities in the phloem; Groups of fibers; Prismatic crystals in the outer cortical pare.....34

Figura 4. Petiole of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): Cross-sectional view of the petiole showing vascular bundle collateral and spaces in the cortical parenchyma; Tricoma branched incomplete; Styloid crystals in xylem cell; Prismatic crystals in the phloem; Styloid and prismatic crystals into the collenchyma; Fiber caps surrounded by a sheath of crystal.....35

Figura 5 Leaf of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): Front view of adaxial surface showing capitate glandular trichomes; Paracytic stomata on adaxial surface; Branched trichomes on the abaxial surface; Paracytic stomata and glandular and capitate trichomes on the ribs on the abaxial surface; Adaxial leaf epidermis surface; Abaxial leaf epidermis surface.....36

Figure 6. Leaf of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): Dorsiventral mesophyll and branched trichomes on the abaxial surface; Abaxial leaf epidermis with large grooves; Prismatic crystals into the bundle sheath (arrows); Open collateral vascular.....37

Figure 7. Stem and leaf of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): structure and histochemistry: a. ferric chloride in secretory cavities inside the phloem, b. Dragendorff reagent presence the alkaloids in parenchyma cells and secretory cavities, c. ferric chloride in branched trichomes, d. Dragendorff reagent in glandular and tector trichomes, e - f. Sudam III in cuticle, g. Dragendorff reagent in capitate glandular trichome, h. control, i. ferric chloride in branched trichomes, j. Sudam III in branched trichomes.....38

Artigo II

Figura 1. Curvas de retenção e passagem das cascas do caule de *Erythrina velutina*. **a** amostra1; **b** amostra 2; **c** amostra 3; **d** amostra 4.....56

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Estruturas químicas de alcaloides do gênero <i>Erythrina</i>	20
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados dos ensaios de Perda por dessecação, Cinzas totais e Cinzas insolúveis as amostras de <i>Erythrina velutina</i>	57
--	----

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos compreende desde a identificação da espécie vegetal, avaliação de suas atividades microbiológicas, biológicas farmacológicas e toxicológicas e a determinação dos parâmetros de qualidade, até a produção da forma farmacêutica. Estes medicamentos possuem um papel de destaque no sistema brasileiro de saúde, tanto do ponto de vista econômico quanto cultural (PETROVICK et al., 1997; OLIVEIRA et al., 2001). Estima-se que o Brasil tenha mais de 22% do total de espécies vegetais do planeta. Devido a essa diversidade, o país tem um grande potencial a ser explorado para obtenção de medicamentos à base de insumos vegetais. A utilização tradicional de algumas espécies vegetais pela medicina popular confirma essa direção (CALIXTO, 2000; LÓPEZ, 2006).

O potencial da biodiversidade de gerar benefícios econômicos tem sido cada vez mais valorizado pelos meios acadêmico e industrial, uma vez que esta pode ser fonte de matéria-prima para a medicina e diversos setores da indústria, como o farmacêutico, alimentício e químico (ODALIA-RÍMOLI, 2000). Muitas empresas despertaram interesse nesses benefícios e estão incorporando os preceitos do desenvolvimento sustentável no delineamento de novas estratégias, desenvolvimento de novos produtos e exploração de novos mercados (FERRO et al., 2006; VILLAS BÔAS & GADELHA, 2007).

Apesar dos avanços e incentivo às pesquisas dos medicamentos de origem vegetal, ainda existem diversos problemas no que diz respeito ao controle de qualidade das matérias primas que os origina. Muitas das espécies vegetais utilizadas popularmente como fitoterápicos ou derivados destes, ainda não possuem monografias oficiais que comprovem sua autenticidade e por isso são inúmeras vezes confundidas com outras espécies de mesma denominação popular e facilmente adulteradas (COUTO, 2000; TOLEDO et al., 2003; SONAGLIO et al., 2004).

No Brasil o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, lançado no final de 2008 pelo Ministério da Saúde estimula e financia a inovação tecnológica e o desenvolvimento de novos medicamentos à base de plantas medicinais (BRASIL, 2001, 2003a, 2009).

A caracterização físico-química da droga vegetal e dos extratos obtidos a partir desta, faz parte do conjunto das especificações de qualidade na obtenção de um fitoterápico. Dentre as espécies promissoras para a produção de drogas vegetais e fitoterápicos, encontram-se as plantas do gênero *Erythrina* que são amplamente conhecidas pelo seu potencial farmacológico. Apesar de sua vasta utilização regional e de seu potencial farmacológico, a espécie *Erythrina velutina* até o momento não possui especificações oficiais em monografias, portanto o objetivo geral deste trabalho foi a avaliação de parâmetros de caracterização para drogas vegetais que permitam o estabelecimento de especificações de qualidade para *Erythrina velutina*.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Estudar a caracterização farmacognóstica: anatômica, fitoquímica e fisicoquímica da matéria prima de *Erythrina velutina*.

2.2 Específicos

- Descrever macro e microscopicamente a folha e casca do caule de *E. velutina*;
- Efetuar a triagem fitoquímica da casca do caule evidenciando os principais grupos de metabólitos secundários;
- Determinar a caracterização fisicoquímica das cascas do caule;
- Verificar a adequabilidade sanitária de diferentes amostras vegetais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Erythrina velutina* Willd.

Constituída por mais de 650 gêneros e 18.000 espécies, a família Fabaceae (Leguminosae) encontra-se amplamente distribuída em todo o mundo, especialmente em regiões tropicais e subtropicais. Segundo Joly (1998), esta família representa uma das maiores famílias entre as dicotiledoneas. Dentre os gêneros nativos mais frequentes, destacam-se: *Phaseolus*, *Crotalaria*, *Erythrina*, *Andira*, *Sophora*, *Indigofera*, *Mucuna*, entre outros (JUDD, 1999).

O gênero *Erythrina* compreende cerca de 115 espécies de ocorrência tropical atingindo também regiões quentes-temperadas. Está dividido em cinco subgêneros e em vinte e seis seções. No Brasil são conhecidas 12 espécies, das quais 8 se encontram no nordeste. Este é o caso da espécie *Erythrina velutina*, popularmente conhecida como mulungu, canivete, corticeira e suinã. Apresenta a sinonímia botânica: *Coralodendron velutinum* Willd., *Erythrina aculeatissima* Desf., *Erythrina splendida* Diels e *Chirocalyx velutinus* Walp (LORENZI & MATOS, 2008).

O nome científico *Erythrina velutina*, tem origem no grego *erythros*, em virtude da coloração avermelhada das inflorescências, e *velutina*, do latim, devido à textura aveludada para o epíteto específico oriundo do indumento delicados e pelos macios das folhas. O nome vulgar mulungu vem do tupi *mussungú* e do africano *mulungu* significando pandeiro, provavelmente devido ao som produzido pela batida do seu tronco oco (EPAMIG, 1993).

3.2 Aspectos Botânicos

Erythrina velutina é uma espécie arbórea (árvore) aculeada ou espinhenta, de comportamento decíduo de mudança foliar. As árvores maiores atingem dimensões próximas a 15 m de altura e 80 cm de DAP (diâmetro à altura do peito, medido a 1,30 m do solo) na idade adulta. O tronco é reto a levemente tortuoso. O tronco e os ramos são pouco aculeados. O fuste é geralmente curto, medindo até 5 m de comprimento. É dicotômica, com a copa ampla, aberta e arredondada. Sua Casca mede até 25 mm de espessura. A casca externa ou ritidoma é lisa a levemente áspera. Possui Folhas compostas trifoliadas, sustentadas por pecíolo de 6 cm a 14 cm de comprimento; os

folíolos são orbiculares, oval-rômbeos ou triangulares, medindo de 6 cm a 12 cm de comprimento por 5 cm a 14 cm de largura, de consistência cartácea, com a face ventral apenas pulverulenta e dorsal, de cor verde mais clara, revestida por densa pilosidade feltrosa (EPAMIG, 1993). As Inflorescências ocorrem em fascículos axilares, medindo de 12 cm a 20 cm de comprimento, com três flores. Estas possuem o vexilo alaranjado ou vermelho-rutilante, com lâmina quase orbicular e cálice espatáceo. O Fruto é do tipo legume um tanto curvo, de ápices e bases agudas, internamente não-septado, com 1 a 3 sementes bicolores, denominadas miméticas, vermelho-escura e vermelho-alaranjada. São também subquadrangulares ou oblongas, com um hilo curto de posição mediana (LORENZI & MATOS, 2008; CARVALHO, 2008).

O período de floração varia entre meados de julho estendendo-se até fevereiro e os frutos maduros são encontrados entre os meses de setembro a março, nas diferentes Unidades da Federação (JOLY, 1998; CARVALHO, 2008).

3.3 Aspectos Fitoquímicos

O gênero *Erythrina* é conhecido pela bioprodução de alcaloides, flavonoides, triterpenos e esteroides, os quais possuem elevado interesse farmacológico.

As plantas do gênero *Erythrina* são a principal fonte dos alcaloides tetracíclicos tipo eritrina (Figura 1), que foram originalmente identificados em 1937 por Folkers e Major.

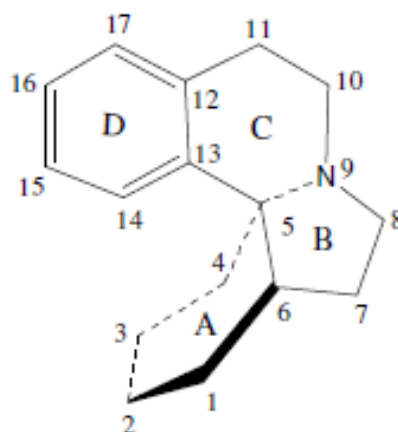
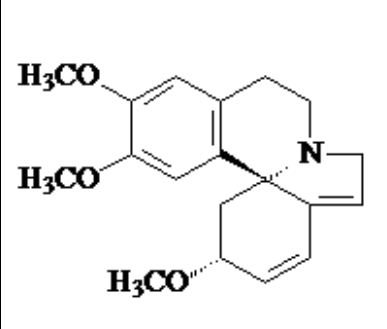
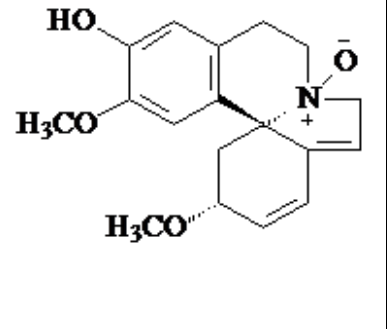
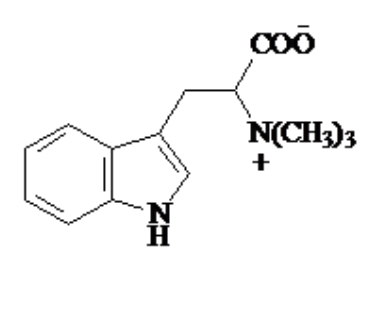
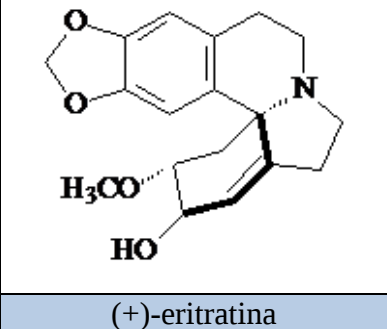
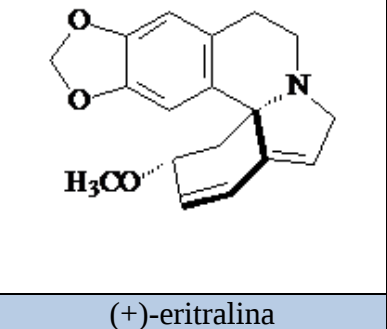
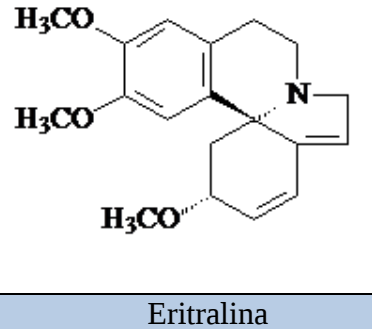
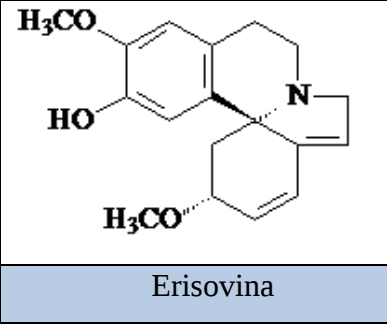
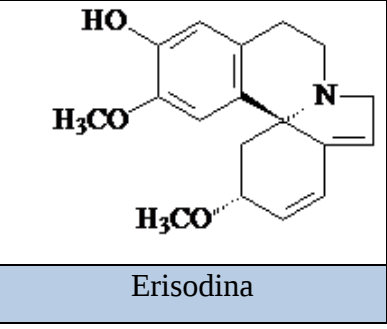


Figura 1. Estrutura química típica dos alcaloides do gênero *Erythrina*.

Segundo Soto-Hernandez e Jackson (1994), existe uma investigação exaustiva a cerca desses alcaloides pelo fato de eles serem bases terciárias, enquanto, os alcaloides com atividade farmacológica semelhantes são sais quaternários. Alguns destes alcaloides (erisotrina, erisodina, erisovina, eritralina, erisopina, erisonina, erisopitina, eritratina, hipaforina) (Quadro 1) foram isolados de *E. variegata* (GHOSAL et al.,1972), sendo que a erisodina e erisopina são os mais amplamente distribuídos (SOTO-HERNANDEZ & JACKSON, 1994).

Quadro 1. Estruturas químicas de alcaloides do gênero *Erythrina*

		
Erisotrina	N-óxido de erisodina	Hipaforina
		
(+)-eritratina	(+)-eritralina	Eritralina
		
Erisovina	Erisodina	

Foram isolados de *Erythrina mulungu* a erisotrina, eritratina, hipaforina, *N*-óxido de erisotrina, *N*-óxido de eritratina, dos quais os três primeiros compostos de ocorrência comum neste gênero (VIRTUOSO, 2005a), enquanto que para os dois últimos compostos foi considerada a possibilidade de se tratar de artefatos. Porém, levando-se em consideração os procedimentos extrativos adotados, bem como os cuidados quanto a identidade e a manipulação do material utilizado, os autores concluíram pela aceitação dos compostos *N*-óxido de erisotrina e de eritratina, como produtos de ocorrência para o metabolismo da espécie (SERRAGIOTTO et al., 1981).

O estudo acerca dos compostos flavonoídicos das *Erythrinas* é mais recente. Em 1977, Deshpande e colaboradores reportaram três novas isoflavonas: eritrininas A, B e C. Até janeiro de 2001, de um total de 350 ocorrências no gênero *Erythrina*, foram reportadas 177 substâncias flavonoídicas diferentes. Observou-se que a classe mais expressiva é formada pelos isoflavonóides. Também se reporta o isolamento das seguintes isoflavonas: osajina, alpinum isoflavona, oxiresveratrol estireno e diidroestilbeno diidroiresveratrol, warangalona, 5,7,4"-triidroxi-6,8-diprenilisoflavona, quatro pterocarpanos já conhecidos (ericristagalina, eritrabissina II, faseolina e faseolidina), uma flavanona (isobavaquina) e um cinamilfenol (erivariestireno) separados das cascas de *E. variegata* (TELIKEPALLI et al., 1990; VIRTUOSO, 2005a).

Nas duas últimas décadas, mais de cinquenta flavonóides foram isolados de várias partes de cerca de quinze espécies do gênero *Erythrina*, sendo que a larga ocorrência de flavanonas preniladas, isoflavonas, pterocarpanos e saponinas triterpenóides dentre os derivados não-alcaloídicos é uma importante característica química (NKENGFAK et al., 1994).

Cumarinas também foram isoladas a partir deste gênero sendo o primeiro relato em *Erythrina stricta* (SINGH et al., 1981), assim como as fenilcumarinas: indicanina A e fenilcumarina ácido robústico das cascas de *E. indica* (NKENGFAK et al., 2000). Desta espécie também foram isoladas isoflavonas como daidzeina e 8-prenildaidzeina (NKENGFAK et al., 1994). Três isoflavonas preniladas foram isoladas de *E. vogelii*, a saber, vogelin A, vogelin B e vogelin C (ATINDEHOU et al., 2002). Algumas substâncias do gênero são exemplificadas na Figura 2.

De *Erythrina velutina* foram isolados os alcaloides (+)-eritralina e a (+)-eritratina (AMER et al., 1991) e o fracionamento químico das cascas de *Erythrina velutina* levou aos flavonóides faseolidina e homoesperetina, sendo que a última ainda não havia sido relatada para espécies de Fabaceae (RABELO et al., 2001), também a erivelutinona (2',4'-dihydroxy-6-prenyl-7-methoxyisoflavanone) como uma goma marrom-amarelada e a 3'-O- etilsigmoidina (DA-CUNHA et al., 1996).

Alcaloides glucodienóides estão sendo isolados das espécies, como por exemplo, (+)-16 β -D-glucoerisopina e (+)-15 β -D-glucoerisopina das sementes de *E. latissima* (WANJALA & MAJINDA, 2000).

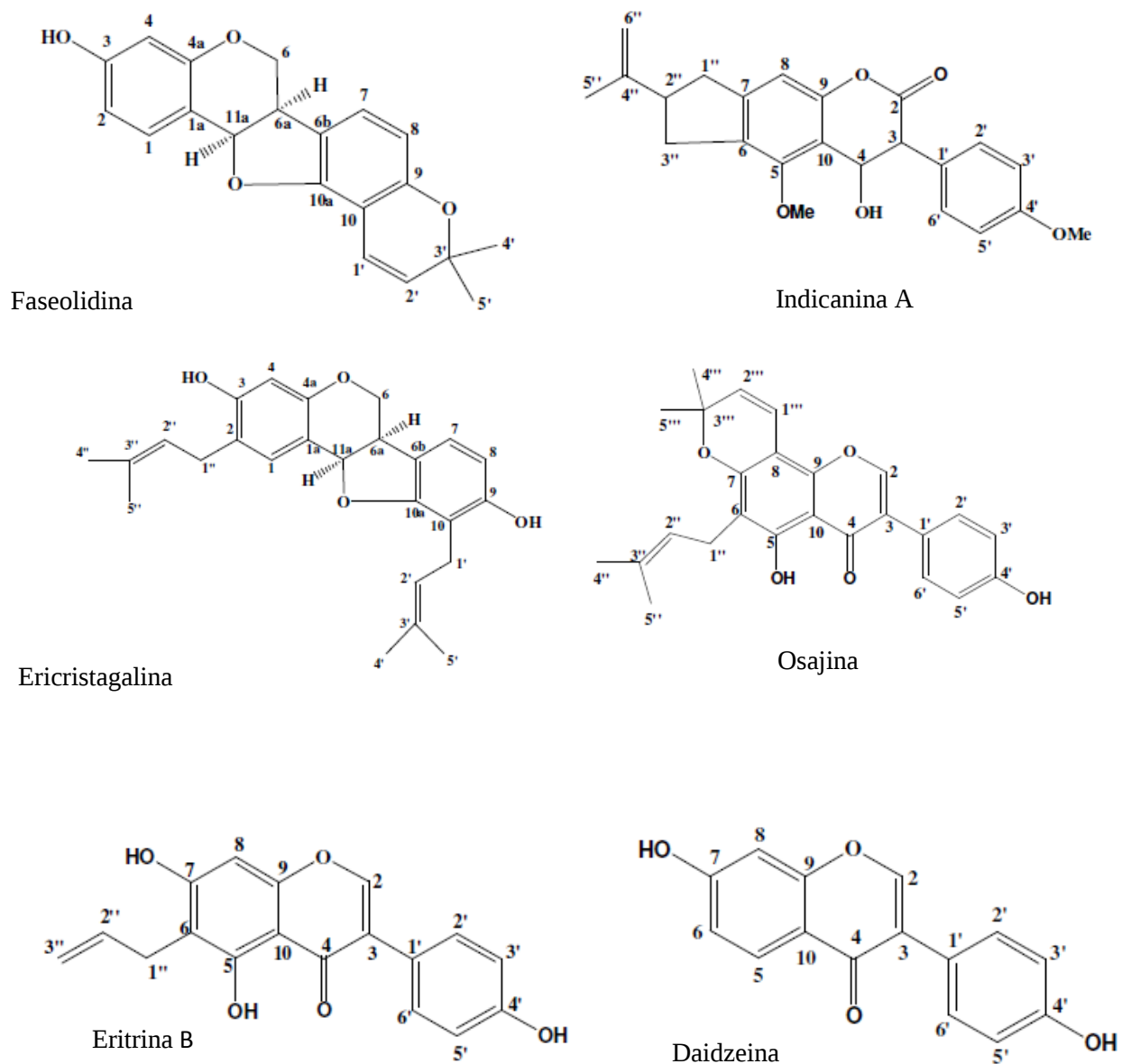


Figura 2. Estruturas químicas de algumas substâncias isoladas do gênero *Erythrina*.

3.4 Aspectos Biológicos

O gênero *Erythrina* tem provado ser uma fonte de espécies contendo agentes antimicrobianos que pertencem a várias classes estruturais de flavonoides. Raízes de *Erythrina variegata* mostraram atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Mycobacterium smegmatis* (TELIKEPALLI et al., 1990).

O extrato da planta africana *Erythrina abyssinica* evidenciou atividade contra leveduras e fungos sendo que a eritroabissina-I e faseolina tiveram atividade antilevedura contra *Sacharomyces cerevisae* e *Candida utilis* com CIM (Concentração Inibitória Mínima) entre 25-50 µg/mL e atividade antifúngica contra *Sclerotinia lebertiana*, *Mucor mucedo*, *Rhizopus chinensis* com CIM entre 6-25 µg/mL (NAKANISHI, 1982).

Os extratos metanólico e diclorometano de *Erythrina vogelii* mostraram propriedades antifúngicas contra *Cladosporium cucumerinum* (ATINDEHOU et al., 2002).

A sigmoidina B e o calopocarpano isolados das cascas do caule de *Erythrina burttii* demonstraram atividade contra fungos e *Staphylococcus aureus* (YENESEW et al., 2005).

Watjen e colaboradores (2007) relataram que pterocarpanos prenilados (faseolidina e neorautenol), isolados de *Erythrina addisoniae*, exibiram uma proeminente toxicidade em células H4IIE, induzindo apopticamente a morte celular. Esse efeito poderia ser responsável pela ação anticarcinogênica do extrato vegetal.

De acordo com os estudos de Virtuoso e colaboradores (2005b) as cascas do caule de *Erythrina velutina*, utilizando os métodos de difusão em disco e concentração inibitória mínima para o extrato etanólico bruto e difusão em disco para a fração hexânica, demonstraram atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*.

3.5 Aspectos Farmacológicos

3.5.1 Atividade Sedativa

Os estudos farmacológicos do gênero *Erythrina* foram iniciados em 1877 com a descoberta da ação curarizante semelhante à d-tubocurarina dos extratos das sementes de *E. americana*, por Domínguez e Altamirano (HARGREAVES et al., 1974). Fato que despertou o interesse de muitos cientistas que acabaram comprovando ações semelhantes entre as espécies. Daí em diante novas investigações foram realizadas com intuito de isolar e identificar os constituintes químicos deste gênero. Essas resultaram na identificação dos alcaloides tetracíclicos característico do gênero *Erythrina*, os alcaloides eritrínicos, aos quais foram atribuídas as atividades curarizante, espasmolítica e depressora do sistema nervoso central (FLAUSINO JÚNIOR, 2007).

Vasconcelos e colaboradores (2004) verificaram propriedades antinociceptivas e sedativas nos extratos hidroalcoólicos das cascas do caule de *Erythrina velutina*. Em seus estudos, os autores evidenciaram que o extrato possui efeito do tipo ansiolítico no labirinto em T similar ao diazepam.

Dantas et al., (2004) observaram que o extrato aquoso das folhas de *E. velutina* aumentou o tempo de sono induzido pelo pentobarbital, em todas as doses utilizadas, de maneira dose-dependente, indicando um efeito sedativo e hipnótico.

3.5.2 Atividade Anticonvulsivante

Os extratos das hidroalcoólicos das cascas do caule de *E. velutina* e *E. mulungu* mostraram um aumento significativo na latência da convulsão no modelo induzido por estriknina, sendo *Erythrina velutina* mais potente que *E. mulungu* neste aspecto (VASCONCELOS et. al., 2007).

3.5.3 Atividade Anestésica

No extrato aquoso das folhas de *E. velutina* foi evidenciado efeito analgésico cuja potência foi equiparável à da morfina em um dos modelos de indução de dor (MARCHIORO et al., 2005).

Santos e colaboradores (2007) demonstraram a ação relaxante em ducto deferente de ratos do extrato aquoso das folhas de *E. velutina*.

3.6 Aspectos Toxicológicos

O extrato aquoso das folhas de *E. velutina* administrado agudamente, também mostrou-se atóxico por V.O. em ratos, com ausência de letalidade ou efeitos adversos após a administração da dose limite de 5g / kg (CRAVEIRO et al., 2008).

4. Análise anatômica de Drogas Vegetais

Somente a nomenclatura científica caracteriza uma única espécie. É imprescindível, portanto, que todo o material adquirido pelos laboratórios seja analisado por profissionais capacitados, atestando a autenticidade e a qualidade da matéria-prima (FARIAS et al., 1985).

A anatomia vegetal estuda a estrutura interna das plantas. Uma das atribuições do Farmacognosta é realizar análise anatômica de drogas vegetais, visando a sua identificação. Dessa forma são utilizadas técnicas de microscopia, que permitem o estudo das células, tecidos e órgãos dos vegetais.

Brito (1996) assinala a importância da análise anatômica para o controle de qualidade da matéria-prima, uma vez que esta análise fornece parâmetros que contribuem na identificação e padronização de insumos farmacêuticos, permitindo a diferenciação com adulterantes de drogas e entre espécies botanicamente próximas.

Farias (2001) discute que os estudos botânicos contribuem para a identificação inequívoca de uma espécie vegetal e, por meio da análise de características morfológicas (macroscópicas) e anatômicas (microscópicas), podem-se ressaltar características consideradas peculiares da espécie. Esses autores destacam a importância dos marcadores morfológicos de uma determinada espécie, pois são aqueles

relacionados à forma ou a um padrão fenotípico de uma dada característica. Esses marcadores servem para discriminar as espécies, se houver dificuldade de distinção entre elas, facilitando a comercialização das mesmas e evitando a venda de um produto pelo outro (ERBANO & DUARTE, 2012).

Dentre as espécies com difícil distinção estão as representantes do gênero *Erythrina*, tais como *E. cristagalli*, *E. falcata*, *E. speciosa* e *E. verna*, estas apresentam grande importância farmacêutica sendo utilizados na medicina popular.

De acordo com Metcalfe & Chalk (1950), tricomas ramificados com pedúnculo unisseriado é característico para o gênero *Erythrina*, no entanto, segundo Ferreira & Assumpção (1978) *E. cristagalli* não apresenta epiderme ornamentada com tricomas. A literatura relata que as espécies *E. velutina*, *E. falcata* e *E. speciosa* também apresentam tricomas ramificados com pedúnculo unisseriado.

Estômatos do tipo paracítico e anisocítico foram relatados para *E. speciosa* e *E. falcata* por Almeida (2010, 2011). Nesta última espécie, além de estômatos paracíticos, são relatados estômatos anomocíticos. Foram relatados ainda que essas espécies apresentam uma maior quantidade de estômatos na face abaxial da epiderme.

Células contendo cristais no parênquima cortical e/ou medular são classificadas como cristalíferas, segundo Metcalfe & Chalk (1950). Células cristalíferas são encontradas no parênquima cortical externo e interno e medular de *E. velutina*, sempre com predominância do tipo estilóide. Diferentemente de outras espécies deste gênero, *E. velutina*, assim como em *E. speciosa*, *E. falcata* e *E. verna*, apresenta uma bainha de células cristalíferas envolvendo as fibras sobre os feixes vasculares, ao longo das nervuras.

Feixe vascular bicolateral no formato de arco fechado foi encontrado em *E. falcata* (ALMEIDA, 2010); em *E. cristagalli*, Gratieri- Sossela (2005) relatou feixe do tipo arco semi fechado. É característico destas espécies apresentar camadas de células aclorofiladas ou com poucos cloroplastos na linha que separa os parênquimas paliçádico e esponjoso, ou entre as camadas de paliçádico como ocorre em *E. cristagalli*. Não foi citada a presença de cavidades secretoras para estas espécies. Calotas de fibras sobre o xilema e floema, bem com cristais nas células da bainha dos feixes vasculares foram descritos para *E. cristagalli*.

Na região do floema em *E. falcata* e *E. cristagalli* foi relatada a presença de cristais prismáticos.

5. Qualidade de drogas vegetais

Tradicionalmente as espécies vegetais são bastante utilizadas para a cura de doenças e por isso, a cada dia, mais plantas medicinais e fitoterápicos têm sido colocados à disposição no mercado. Apesar do aumento no consumo de diferentes produtos à base de plantas medicinais, fatores como a precariedade na fiscalização da produção e da venda têm comprometido a qualidade dos mesmos (NASCIMENTO, 2005).

Os parâmetros de controle de qualidade, variam de espécie para espécie e podem ser encontrados nas monografias contidas nas farmacopeias (FARIAS, 2001). O que dificulta o trabalho é a ausência de padrões e de monografias farmacopeicas para inúmeras espécies vegetais que são amplamente utilizadas pela população.

Garantir a qualidade do material vegetal é fundamental, através da consideração dos seus aspectos botânicos, químicos e farmacológicos. Assim, além dos constituintes de substância ativa e intensidade das atividades farmacológicas e toxicológicas, outros aspectos de qualidade devem ser avaliados (BRASIL, 2007; BADANAI, 2011), como as informações específicas que abrangem desde a aquisição da matéria prima vegetal e transformações tecnológicas sofridas por esta, até a análise do produto final (FARIAS, 2001; VASCONCELOS, 2011).

A legislação brasileira busca intensificar o registro de fitoterápicos através das normas e resoluções como as Resoluções de Diretoria Colegiada, (RDCs) 14/2010 e 210/2003, mas apesar do aumento dessas exigências o que se pode constatar é que muitos fitoterápicos encontrados no comércio não são padronizados, ou seja, não apresentam controle adequado do teor de substâncias ativas, apresentam diversos contaminantes bem como a ausência de informações na rotulagem (ZUIN, 2004). Uma análise minuciosa dos materiais visando à obtenção de produtos de qualidade é indispensável, pois uma matéria-prima ruim pode oferecer riscos à saúde do consumidor. Muitos produtores desconhecem os cuidados que devem ser considerados nas diversas etapas de produção da matéria-prima vegetal, sobretudo por não contarem com a orientação de profissionais capacitados para auxiliá-los (OLIVEIRA, 1991; ZARONI et al., 2004).

Sendo assim, o principal objetivo deste estudo foi a determinação e avaliação de parâmetros de qualidade que permitam estabelecer especificações iniciais de qualidade

que auxiliem o controle sanitário e que sejam empregados como referência para assegurar a reprodutibilidade de estudos posteriores.

Para sua apresentação o presente trabalho foi dividido em dois capítulos:

1. Morpho-anatomy of the leaf and stem of *Erythrina velutina*
2. Caracterização fitoquímica, físicoquímica e avaliação da qualidade das cascas do caule de *Erythrina velutina* WILLD (Fabaceae).

Capítulo I

Anatomy of the leaf and stem of *Erythrina velutina*

(submetido à Revista Brasileira de Farmacognosia)

Anatomy of leaf and stem of *Erythrina velutina*

Márcia M. B. da Silva¹, Asaph S. C. O. Santana¹, Rejane M. M. Pimentel², Flávia C. L. Silva³, Karina P. Randau¹, Luiz A. L. Soares^{1*}

¹Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Ciências Farmacêuticas Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50740-521, Recife-PE, Brasil.

²Laboratório de Fitomorfologia Funcional, Departamento de Biologia/Botânica. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife- PE, Brasil.

³Laboratório de Botânica Aplicada, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Olho Sítio d'Água da Bica s/n, 58175-000, Cuité-PB, Brasil.

*lals@pq.cnpq.br

tel: +55 81 30764774, Fax: +55 81 21268578

Abstract: *Erythrina velutina*, known as “mulungu”, is a tree of tropical regions, as northeastern Brazil. Its bark is used in folk medicine as tranquilizer, sedative and insomnia. This study aimed to characterize the stem and leaf anatomy and to provide subsidies to quality control of the plant drug due to its wide use in folk medicine as well as its differentiation from other species with the same popular name. Samples were collected at Cuité, in Paraíba State, Brazil, fixed in FAA50, semipermanent slides were made, following usual procedures in plant anatomy. The stem shows a cylindrical contour, covered by a uniseriate epidermis covered by a thickened cuticle. It shows claviform glandular and branched trichomes with uniseriate stalk. Secretory cavities are into the phloem. The leaf epidermis has branched and glandular trichomes and anisocytic and paracytic stomata, on both sides, with predominance of branched trichomes and stomata on abaxial surface. Secretory cavities in stem and leaf, types of trichomes and stomata, its location and distribution constitute diagnostic characters for this specie. The structural characterization of the stem and leaf allows its distinction from other ones of this genus, ensuring safety for commercial pharmacological uses, allowing certification of the authenticity of raw material.

Keywords: *Erythrina velutina*, Fabaceae, morphoanatomy, mulungu

Introduction

Comprising more than 650 genera and 18000 species, the Fabaceae (Papilionoideae) family is widely distributed throughout the world, especially in tropical and subtropical regions. According to Joly (1998) is one of families with the greatest representative numbers in the dicotyledons. Among the genres with native species, more common in the northeast region are *Phaseolus*, *Crotalaria*, *Erythrina*, *Andira*, *Sophora*, *Indigofera* and *Mucuna*, among others (Judd, 1999).

The *Erythrina* genus comprises about 120 tropical species in warm-temperate regions and is divided into five subgenres and 26 sections. In Brazil, there are 12 known species, of which eight are located in the northeast. *Erythrina velutina* Willd, presents the botanic synonym *Corallodendron velutinum* Willd., *Erythrina aculeatissima* Desf., *Erythrina splendida* Diels and *Chirocalyx velutinus* Walp. It is popularly known as *suinã*, *mulungu*, *canivete* and cork tree (Lorenzi & Matos, 2008). It can be found in a variety of biomes in the national territory. Popular medicine indicates the use of several *Erythrina* genus species as a tranquilizer, sedative, insomnia control and aid in the treatment of inflammatory processes.

Phytochemical studies demonstrated that the plants belonging to the *Erythrina* genus are sources of tetracyclic alkaloids of the *Erythrina* flavonoids type, especially isoflavones, pterocarpanos, flavanones and isoflavanonas (Cabral, 2009), coumarins and saponins (Da Cunha et al., 1996; Rabelo et al., 2001; Virtuoso et al., 2005; Corrêa et al., 2008; Sousa et al., 2008).

Due to phytochemical employment, this study aim to characterize the anatomy of the leaf and stem of *Erythrina velutina*, in order to provide quality control subsidies for the plant drug, as well as its differentiation from other species with the same name popular denomination.

Material and Methods

Plant Material

The plant material was collected on the Campus of the Federal University of Campina Grande, City of Cuité, located in the Paraíba State-Brazil, in the Curimatau region during the flowering period. The voucher specimen was deposited in the Herbarium UFP Geraldo Mariz, under registration number 63.317.

Methodology

The samples were fixed in FAA 50, and subsequently semipermanent histological slides were prepared, containing crosssections and paradermal sections of the material previously prepared, following normal plant anatomy procedures (Sass, 1951; Johansen, 1940).

The cross sections of the leaf blade and petiole median regions were obtained, by free hand, using a common razor blade and, as support material, petiole marrow from the embaúba (*Cecropia* sp.). Portions of the leaf-blade were cleared in sodium hypochlorite solution at 30% and stained with safranin and astra (Johansen, 1940) for analysis of epidermal cells in front view.

The stomata and trichome classification followed Metcalfe & Chalk (1950, 1983). The analyses were carried out in digital images captured by optical microscope (*Olympus*) coupled with a digital camera (*Sony*); the density of stomata was determined through the use of an image analysis program, *Image Tool* (Wilcox et al., 2002).

Microchemical tests were performed on fresh material: Sudam III for lipophilic substances (Sass, 1951) ferric chloride for phenolic compounds (Johansen, 1940) and Dragendorff reagent for alkaloids (Furr & Mahlberg, 1981).

Results

Macroscopic features

Erythrina velutina is a tree up to 15m high, aculeate or thorny, and deciduous. The stem bark is smooth to slightly rough. The leaf is ternate with an obtuse apex and symmetrical base. The inflorescence is fascicle type, presenting orangish flowers. The fruit is a legume, with an acute apex and base, with 1-3 seeds. The seeds are reniform, presenting a dark-red to orange-red color (Fig 1).

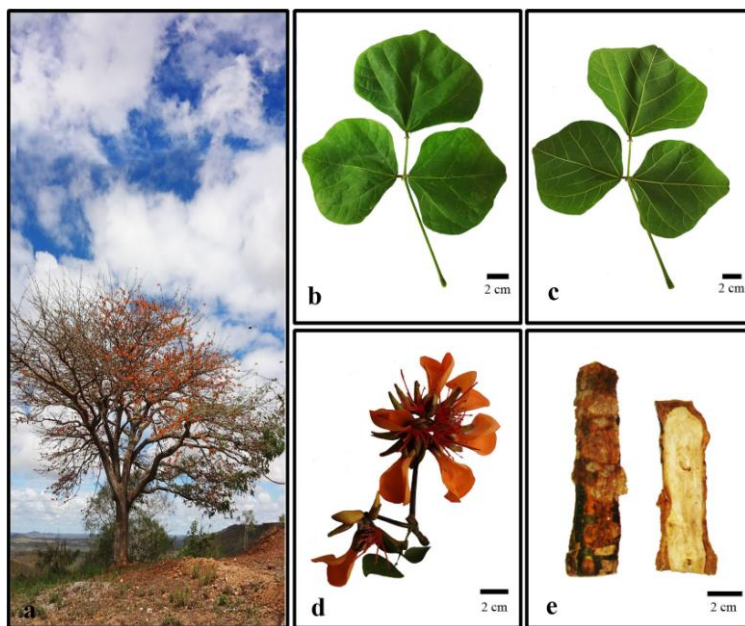


Figure 1. *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): a. Individual in the field; b. Adaxial surface of imparipinnate leaf; c. Abaxial surface of leaf; d. Flowery branch; e. Stem aspect.

Microscopic features

Anatomical description of the stem

In cross-sectional view, the young stem presents a cylindrical contour (Fig. 2a) with a layered epidermis coating, covered by thickened cuticle (Fig. 2b). Claviform glandular trichomes (Fig. 2c) and branched tector trichome. (Fig. 2d) with uniseriate stalk were observed.

The angular collenchyma (Fig. 2b) is observed immediately under the epidermis with 4-5 layers of cells. A band of collenchyma fibers is found, with 1-2 cells thick, about 4-6 layers of cortical parenchyma with many intercellular lacunas. Styloid and prismatic crystals (Fig. 2b) are seen inside of subepidermal cells and in cortical parenchyma. Inside the central cylinder, collateral vascular bundles with fiber caps on the phloem and medullar parenchyma are found. The styloid crystals are also present in large quantities into the parenchyma cells within the vascular bundles and the medullary region.

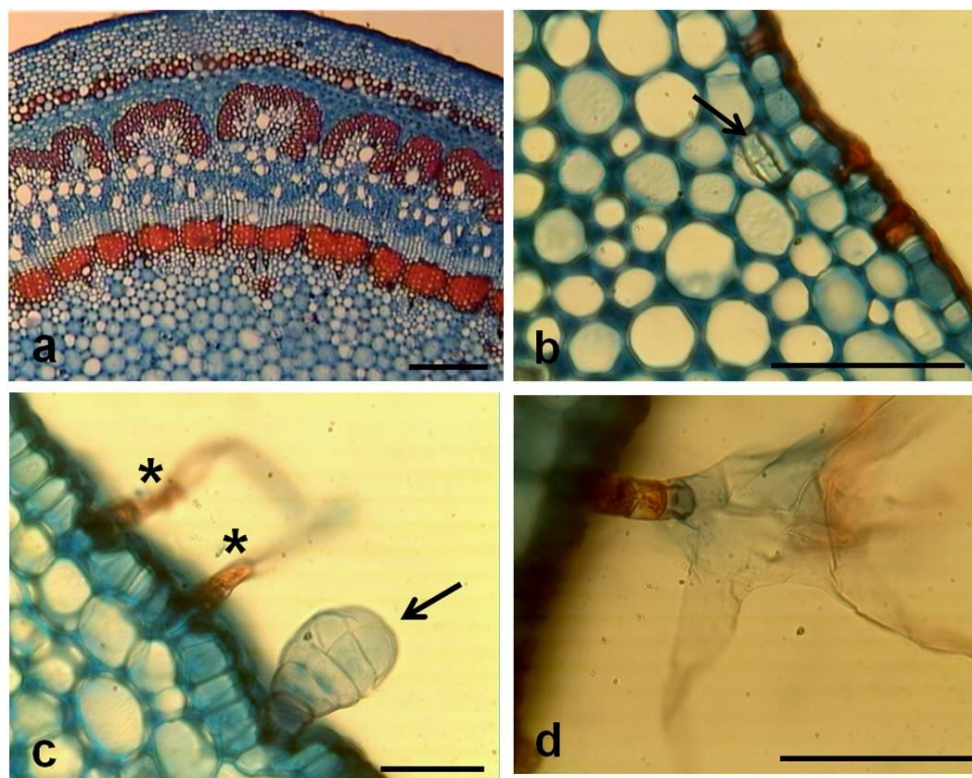


Figure 2. Stem of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): a. Cross-sectional view of the primary structure; b. Thickened epidermis covered by cuticle and crystal (styloid, arrow) in the subepidermal parenchyma, followed by angular collenchymas; c. Trichomes branched (*) and glandular claviforme (arrow); d. Branched trichome in detail. Bars: a = 200 μm ; b, d = 50 μm ; c = 100 μm .

The secondary growth is evidenced by the presence of phellogen in the cortex (Fig. 3a) and vascular cambium in the central cylinder. Phellogen formation does not continuously occurs, and can be found in some areas, just under the epidermis (Fig. 3a). Groups of fibers, forming a band over the phloem, were found in the stem cortex (Fig. 3b).

The vascular bundles are collateral, with varying sized secretory cavities in the phloem (Fig. 3c). In the region of the phloem, the secretory structures have various sizes

(Fig. 3d). The identification of the substance inside of these secretory cavities was not possible, which have an internal coating by periclinal flat or convex cells, arranged in a single layer (Fig. 3d).

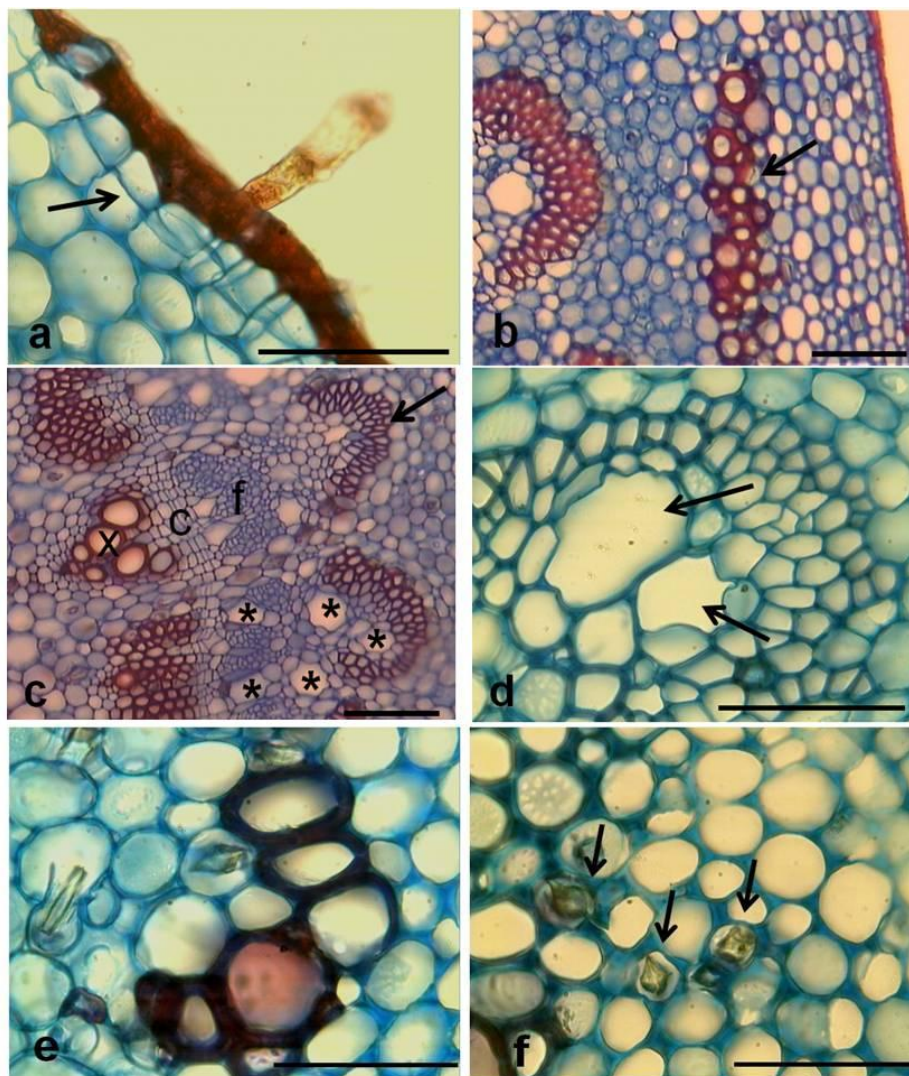


Figure 3. Stem of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): a. Cross-sectional view showing initiation of periderm subepidermal; b. Groups of fibers (band) over the phloem; c. Vascular bundles with fiber cap (arrow) over the phloem (f), cambium (c) followed by xylem (x) and secretory cavities inside the phloem (*); d. Secretory cavities (arrows) in the phloem; e. Groups of fibers; f. Prismatic crystals (arrows) in the outer cortical parenchyma. Bars: a, d, e, f = 50 μ m; b, c = 100 μ m.

Anatomical Description of the petiole

The petiole presents a uniseriate epidermis, branched trichomes, covered by a thickened cuticle, followed by three to four layers of angular collenchyma. The external cortical parenchyma cells exhibit inter cellular spaces of various dimensions (Fig. 4a e 4b). Prismatic and styloid crystals were observed inside the collenchyma, cortical

parenchyma, and phloem and xylem cells (Fig. 4c, 4d, 4e). Sclerenchyma fiber caps surrounding the crystalliferous sheath cells in the vascular bundles (Fig. 4f). There are, approximately, 12 collateral vascular bundles, with 4-5 cells of thickness circumference with lignified cell walls.

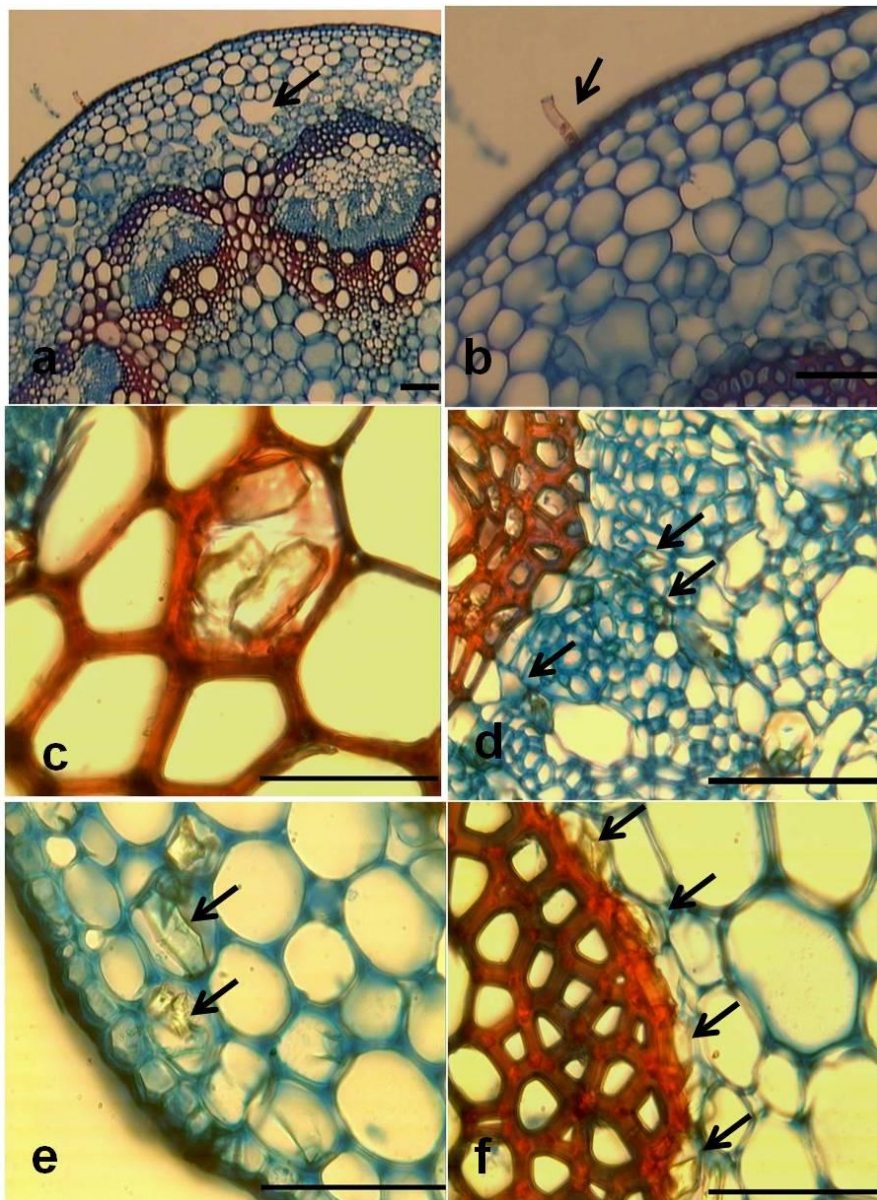


Figure 4. Petiole of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): a. Cross-sectional view of the petiole showing vascular bundle collateral and spaces in the cortical parenchyma (arrow); b. Tricoma branched incomplete (arrow); c. Styloid crystals in xylem cell; d. Prismatic crystals in the phloem (arrow); e. Styloid and prismatic crystals into the collenchyma (arrow); f. Fiber caps surrounded by a sheath of crystal cells (arrows). Bars: c, d, e, f = 50 μ m; b = 100 μ m; a = 200 μ m.

Anatomical Description of the leaf-blade

The leaf-blade, in front view, epidermis with predominance of branched and glandular trichomes and paracytic and anisocytic stomata on both surfaces (Fig. 5a-d).

In the adaxial surface, epidermal cells on the veins have prismatic crystals on their interior. The anticlinal walls of epidermal cells are sinuous on both surfaces (Fig. 5a-d). The stomata density on the abaxial surface was 264.60 ± 16.83 and on the adaxial surface was 46.60 ± 8.82 (Fig. 5e-f).

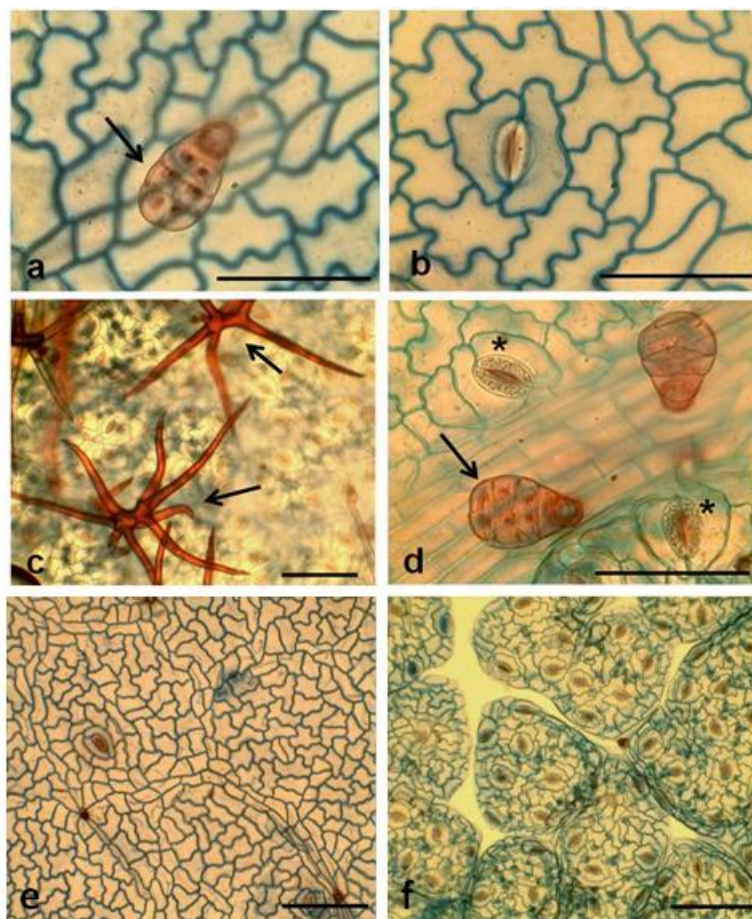


Figure 5. Leaf of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): a. Front view of adaxial surface showing capitate glandular trichomes; b. Paracytic stomata on adaxial surface; c. Branched trichomes on the abaxial surface; d. Paracytic stomata and glandular and capitate trichomes on the ribs on the abaxial surface; e. Adaxial leaf epidermis surface; f. Abaxial leaf epidermis surface. Bars: a, b, d, g, h = 50 μ m; c, f, i, j, l = 100 μ m; e = 200 μ m.

In cross-sectional view, the leaf-blade presented branched trichomes with uniseriate stems (Fig. 6b). The epidermis surface, on the abaxial surface, presents large furrows in the leaf vein region (Fig. 6c). The mesophyll is of the dorsiventral type, with three layers of palisade parenchyma and a number of varied layers of spongy parenchyma, with large inter cellular spaces. The mesophyll presents two layers of colourless parenchyma cells, between palisade and spongy (Fig. 6a). Prismatic crystals

are present inside the uniseriate layer of cells that involve the fibre cap around the vascular bundles on the mesophyll interior. The vascular bundle is collateral closed, with angular collenchyma over and under the veins. The vascular bundles, in the lower caliber leaf vein region of the show sheath extensions in the direction of the adaxial surface and fiber cap on the xylem and the phloem (Fig. 6c). Secretory cavities are present in the vascular bundles, always associated with the phloem, both in the mesophyll as in the petiole. These cavities are always delimited by a uniseriate epithelium of small flattened periclinal cells (Fig. 6d).

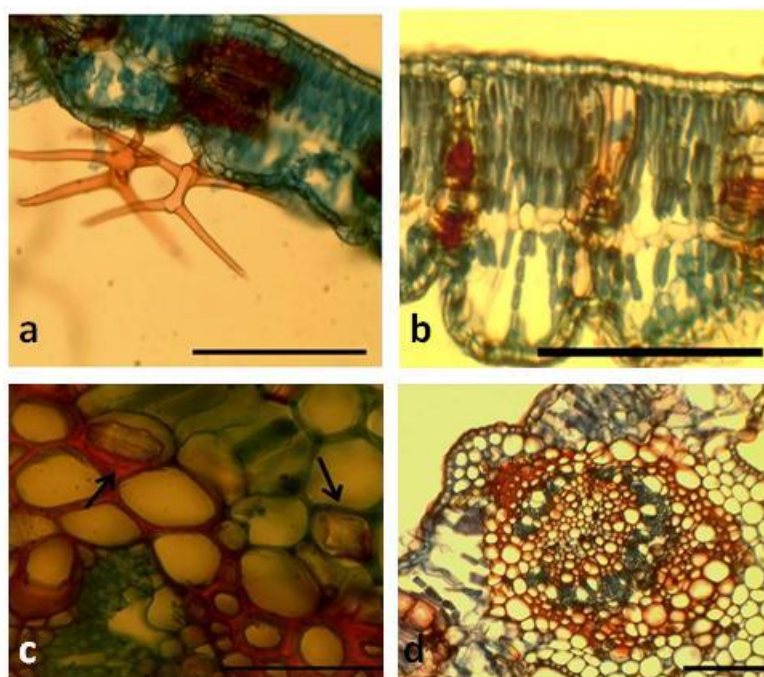


Figure 6. Leaf of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): a. Dorsiventral mesophyll and branched trichomes on the abaxial surface; b. Abaxial leaf epidermis with large grooves; c. Prismatic crystals into the bundle sheath (arrows); d. Open collateral vascular bundle. Bars: a, b, d, = 50 μ m; c, = 100 μ m.

Histochemical tests indicated the presence of phytoconstituents of lipid droplets, alkaloids and phenolic substances in stem and in leaf of *E. velutina*. In the Stem (Fig 7a-d) and in the leaf (Fig 7e-j), phenolic compounds were found in secretory cavities inside the phloem (Fig 7a) and in branched trichomes (Fig 7c and 7i). Alkaloids is present in parenchyma cells and secretory cavities (Fig 7b), in glandular and tector trichomes (Fig 7d) and in capitate glandular trichome (Fig 7g). The lipid droplets were marked with Sudam III in cuticle (Fig 7e-f) and branched trichomes (Fig 7j). The color absence was performed by a control (Fig 7h).

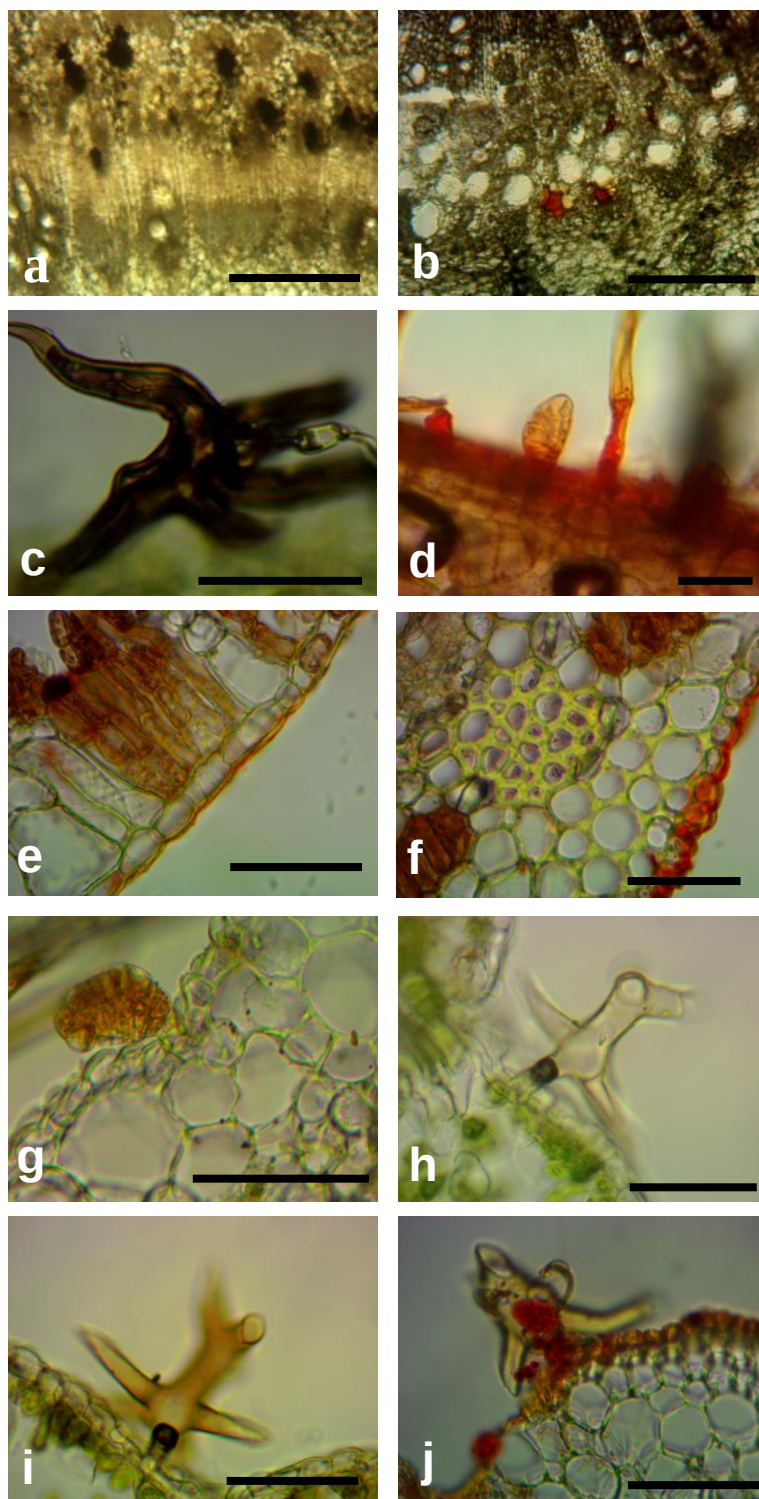


Figure 7. Stem and leaf of *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae): structure and histochemistry: (stem a-d; leaf e-j). a. ferric chloride in secretory cavities inside the phloem, b. Dragendorff reagent presence the alkaloids in parenchyma cells and secretory cavities, c. ferric chloride in branched trichomes, d. Dragendorff reagent in glandular and tector trichomes, e - f. Sudam III in cuticle, g. Dragendorff reagent in capitate glandular trichome, h. control, i. ferric chloride in branched trichomes, j. Sudam III in branched trichomes. Bars: a, b, e, f = 200 μ m; c, d, g, h, i, j = 50 μ m.

Discussion

Several representatives of the genus *Erythrina* show pharmaceutical importance, such as *E. cristagalli*, *E. falcata*, *E. speciosa* and *E. verna*, and are frequently used in popular medicine. Due to the similarities among the species, with the same pharmaceutical application, with external leaf (blade and petiole) and stem morphology of *Erythrina velutina* showing similar structures to those described for the genus in the literature (Almeida, 2010; Almeida, 2011; Carvalho, 2008; F.B. V, 2010; Gratieri-Sossela, 2005), the morphological and anatomical description of this species allows distinguish it among other species of this genus.

Glandular and tector trichomes, paracytic stomata, dorsiventral mesophyll, and crystals were referenced to the Fabaceae family by Metcalfe & Chalk (1950) and were confirmed in this study for *Erythrina velutina*. Branched trichomes with uniseriate peduncle are characteristic for the *Erythrina* genus, according to Metcalfe & Chalk (1950), however, *E. cristagalli* present no epidermis adorned with trichomes (Gratieri-Sossela, 2005). Similar to *E. velutina*, *E. falcata* and *E. speciosa* it also exhibits this same type of trichome (Almeida, 2010; Almeida, 2011). In addition, *E. velutina* has uniseriate pluricellular and bifurcated tector trichomes. Glandular, multicellular and peltate trichomes were referenced for *Centrolobium tomentosum*, another genus from the same family (Erbano & Duarte, 2012).

Considering the types of stomata found in *E. velutina* (paracytic and anisocytic), the same were found in *C. tomentosum*, *E. speciosa* and *E. falcate* (Almeida, 2010; Almeida, 2011; Urbano & Duarte, 2012). In the latter species, in addition to paracytic stomata, anomocytic stomata were found. In *Holocalyx balansae*, a species also from the Fabaceae family; anisocytic stomata were found (Ló & Duarte, 2011), as well as in *E. velutina*.

A greater quantity of stomata was observed on the abaxial surface of the epidermis, similar to that recorded for *Centrolobium tomentosum*, *E. speciosa*, *E. falcata* and *Holocalyx balansa* (Almeida, 2010, 2011; Urbano & Duarte, 2012; Ló & Duarte, 2011). Greater stomatal density on the abaxial surface is common in species that occur in xeromorphic environments, a fact explained as a feature that minimizes water loss by ostiolar evapotranspiration (Esau, 1974; Cutter, 1986).

Sinuous anticlinal walls were observed in *E. falcata*, *E. speciosa* and *E. cristagalli* (Almeida, 2010; 2011; Gratieri-Sossela, 2005), similar to that found in *E. velutina* in this study.

Cells containing crystals inside it in the cortical and/or medullar parenchyma is classified as crystalliferous, according to Metcalfe & Chalk (1950). Crystalliferous' cells are found in the internal and external cortical and medullar parenchyma of *E. velutina*, always predominant in the styloid type. The genus *E. velutina*, unlike other species, as well as in *E. speciosa*, *E. falcata* and *E. verna* presents a sheath of crystalliferous cells involving the fibres over the vascular bundles, along the veins (Almeida, 2011).

The presence of secretory structures is indicative of substance production by the plant (Fahn, 1990) and, in the case of *E. velutina* is associated with the production of resins according Metcalfe & Chalk (1950). The secretory ducts are associated with the phloem in the vascular bundles of the stem in *E. velutina*; the same was not observed for other species of the *Erythrina* genus and even for species of other Fabaceae genus (Almeida, 2010; Almeida, 2011; Erbano & Duarte, 2012, Ló & Duarte, 2011). Secretory structures in Fabaceae are mainly related with fruits Paiva, Oliveira & Machado, 2008), extrafloral nectaries (Paiva & Machado, 2006) and trichomes (Paiva, 2009); secretory cavities in leaves were described by different authors (Fahn, 1979; Metcalfe, 1983; Metcalfe & Chalk, 1983; Langenheim, 1967).

Dorsiventral mesophyll type is also recorded in the literature for the *Erythrina* genus, as in *C. tomentosum* and *H. balansae*, with the exception of *E. cristagalli*, for which some authors classified as isobilateral (Almeida, 2010; 2011; Gratieri-Sossela, 2005).

The type of vascular bundle found in *E. velutina* (bicollateral in closed arc form) was similar to that found in *E. falcata* and different from a semi closed arc, as found in *E. cristagalli* (Almeida, 2010; 2011; Gratieri-Sossela, 2005). It is characteristic of these species have layers of achlorophyllous cells or with little chloroplasts between the palisade and spongy parenchyma, or between the palisade layers as in the *E. cristagalli*. The presence of secretory cavities for these species was not cited. Fiber caps on the xylem and phloem as well the crystals into the cells of vascular bundle sheaths also have been described for *E. cristagalli* (Gratieri-Sossela, 2005). Great grooves on the abaxial epidermis can be a diagnostic character to *E. velutina*, since it is the most evident anatomical feature that distinguish it from others.

Leaves of *E. falcata* and *E. cristagalli* show the presence of prismatic crystals was also reported inside the phloem (Almeida, 2010; 2011; Gratieri-Sossela, 2005), differing from *E. velutina* that not have a sheath around the sclerenchyma fiber caps.

Histochemical tests evidenced phenolic compound in secretory cavities inside the phloem and branched trichomes. The phenolic compounds are heterogeneous groups

of substances that are present in almost all plants, inside the vacuole, cytoplasm or consisting the wall cell (Fahn 1979).

The Sudam reaction detected total lipids in cuticle and branched trichomes. The presence of alkaloids in parenchyma cells and secretory cavities in the stem, in glandular, tector and capitate glandular trichomes in the leaf are according to the literature findings to the genus *Erythrina* (Virtuoso, 2005). The same was true to indolic alkaloids, mainly the erythrinic type (Almeida, 2010). The occurrence of alkaloids is a chemiotaxonomical character in the Papilionoideae subfamily. There are registers of quinolizidic, dipiperidinic and pirrolizidinic types, isolated and identified at approximately 60 genera of this subfamily (Kingham & Smolenski, 1981).

The presence of secretory cavities in the stem and leaf, types of trichomes and stomata, its location and distribution in the leaf epidermis constitute diagnostic characters that are important for an accurate and safe identification for *E. velutina*.

Acknowledgments

The authors are grateful to FACEPE (PPP/2006), CNPq (470179/2009-0) and CAPES for financial support in the form of Grants and Fellowship Awards. We also thank Leonardo dos Santos Costa for the sampling and photos of the species.

References

- Almeida EE 2010. Caracterização farmacognóstica da espécie *Erythrina falcata* BENTH. Fabaceae. *Rev Bras Farmacogn* 20(1): 100-105.
- Almeida EE 2011. Caracterização farmacológica das folhas e cascas da espécie *Erythrina speciosa* andrews. *Revista de biologia e farmácia* 5(1): 34-47.
- Cabral ALGS 2009. *Constituintes químicos de Erythrina velutina* WILLD. (Fabaceae). Paraíba, 163p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em produtos naturais e sintéticos bioativos, Universidade Federal da Paraíba.
- Carvalho PER 2008. Mulungu (*Erythrina velutina*), circular técnica 160, Colombo-Paraná, Embrapa florestas.
- Corrêa MFP, Melo GO, Costa SS 2008. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da Asma. *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 785-797.
- Cutter EG 1986. *Anatomia vegetal: células e tecidos*. São Paulo: Roca.

- Da Cunha EVL, Dias C, Barbosa-filho JM, Gray AI 1996. Eryvellutinone, anisoflavanone from the stem bark of *Erythrina velutina*. *Phytochemistry*, 43: 1371-1373.
- Erbano M, Duarte MR 2012. *Centrolobium tomentosum*: macro- and microscopic diagnosis of the leaf and stem. *Rev Bras Farmacogn* 22(2): 249-256.
- Esau K 1974. *Anatomia das Plantas com sementes*. São Paulo: Edgard Blücher.
- Fahn A. 1979. Secretory tissues in plants. London, Academic Press.
- Fahn A 1990. *Plant anatomy*. Oxford: Pergamon press.
- Farmacopeia Brasileira. 5. Ed. São Paulo: Atheneu, 2010.
- Furr M, Mahlberg PG 1981. Histochemical analysis of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *J Nat Prod* 44: 153-159.
- Gratieri-Sossela AG 2005. Potencialidade ornamental e paisagística, caracterização morfo-anatômica e propagação *Erythrina cristagalli* L. Rio grande do Sul. 176p. Dissertação de Mestrado em Ciências Agrônômicas. Universidade de Passo Fundo.
- Johansen DA 1940. *Plant microtechnique*. New York: Mcgraw-Hill Book Co.
- Joly AB 1998. *Botânica – Introdução à Taxonomia vegetal*. Companhia Editora Nacional. 12ª edição. São Paulo. p 420-421.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF. 1999. *Plant Systematics: A phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Sunderland, USA.
- Kinghorn AD, Smolenski SJ 1981. Alkaloids of Papilionoideae. In: Polhill, R.M. and Raven P.H. (org.). *Advances in Legumes Systematics*. Part 2. Kew: Royal Botanic Gardens, p. 585-598.
- Langenheim JH 1967. Preliminary investigation of *Hymenaea courbaril* as a resin producer. *J Arnold Arboretum* 48: 203-223.
- Ló SMS, Duarte MR 2011. Morpho-anatomical study of the leaf and stem of pau-alecrim: *Holocalyx balansae*. *Rev Bras Farmacogn* 21(1): 4-10.
- Lorenzi H, Matos FJA 2008. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- Metcalf C. R. 1983. Secretory structures: cells, cavities, and canals in leaves and stems. In C. R. Metcalfe and L. Chalk [eds.], *Anatomy of the dicotyledons*, 2nd ed., vol. 2, 64–67. Clarendon Press, Oxford, UK
- Metcalf CR, Chalk L 1950. *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford: Clarendon Press.

Metcalfe CR, Chalk L 1983. *Anatomy of the dicotyledons, wood structure and conclusion of the general introduction*. Oxford: Clarendon Press.

Paiva, EAS, Machado, SR 2006. Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae – Caesalpinioideae). *Acta bot. bras.* 20(2):471-482.

Paiva EAS; Oliveira, DMT, Machado SR 2008. Anatomy and ontogeny of the pericarp of *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae, Faboideae), with emphasis on secretory ducts. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 80(3): 455-465.

Paiva EAS 2009. Ultrastructure and post-floral secretion of the pericarpial nectaries of *Erythrina speciosa* (Fabaceae). *Ann Bot.* 104(5): 937–944.

Rabelo LA, Agra MF, Da Cunha EVL, Silva MS, Barbosa-filho JM 2001. Homohesperetin and phaseollidin from *Erythrina velutina*. *Biochemical systematics and ecology*, 29: 543-544.

Sass JE 1951. *Botanical microtechnique*. 2nd ed. Ames: Iowa: State College Press.

Sousa FCF, Melo CTV, Citó MCO, Félix FHC, Vasconcelos SMM, Fonteles MMF, Barbosa-Filho JM, Viana GSB 2008. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. *Rev Bras Farmacogn* 18: 642-654.

Virtuoso S 2005. Estudo fitoquímico e biológico das cascas de *Erythrina velutina* WILLD. Fabaceae (Leguminosae-Papilionoideae). Paraná, 124p. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná.

Wilcox D, Dove B, McDavid D, Greer D 2002. *Image tool*. Version 3.0. San Antonio: Health Science Center/University of Texas.

Capítulo II

Caracterização fitoquímica, fisicoquímica e avaliação da qualidade das cascas do caule
de *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae)
(A ser submetido à Revista Brasileira de Farmácia)

Caracterização fitoquímica, fisicoquímica e avaliação da qualidade das cascas do caule de *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae)

Márcia Maria Barbosa da Silva¹, Asaph S. C. O. Santana¹, Karina Perrelli Randau¹ &

Luiz Alberto de Lira Soares^{1*}

^{1*}Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Ciências Farmacêuticas

Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária,

50740-521, Recife-PE, Brasil. E-mail: lals@gmx.de

RESUMO

A biodiversidade brasileira sempre incitou inúmeras pesquisas, principalmente devido ao potencial biológico de suas espécies vegetais. Apesar disso muitas espécies amplamente utilizadas na medicina popular ainda não possuem parâmetros de qualidade bem definidos. Sob essa conjuntura encontra-se *Erythrina velutina*, popularmente conhecida como mulungu. Espécie que não apresenta monografia em códigos oficiais ou dados suficientes que suportem seu controle de qualidade, portanto o propósito deste estudo foi avaliar a qualidade da matéria prima vegetal da casca do caule de *E. velutina*. Para isso, quatro amostras foram comparadas entre si através do perfil fitoquímico e uma vez que esse perfil foi similar para todas pode-se sugerir igualdade entre as mesmas, sendo assim avaliaram-se em seguida alguns indicadores de qualidade (granulometria, teor de umidade, cinzas, materiais e estranhos) que permitiram estabelecer especificações iniciais para a padronização da matéria prima vegetal de *E. velutina*. As amostras apresentaram perfis de distribuição granulométrica semelhantes. Todas apresentaram especificações de umidade adequadas às exigências legais. Duas encontraram-se fora dos padrões estabelecidos para o teor de cinzas totais e insolúveis em ácido, provavelmente devido à presença em excesso de terra e/ou areia como substâncias inorgânicas não voláteis e de constituintes silicosos contaminantes. Uma amostra encontrou-se fora das especificações farmacopeicas com elevado teor de impurezas. Conclui-se que os testes realizados nesse estudo podem auxiliar no controle de qualidade da matéria prima vegetal de *E. velutina*, fornecendo padrões iniciais que possam justificar a utilização da espécie com fins medicinais.

Palavras-chave: Controle de qualidade, *Erythrina velutina*, Mulungu, Plantas medicinais, Perfil cromatográfico

ABSTRACT

The Brazilian biodiversity when prompted numerous studies, mainly due to the biological potential of their species. Yet many species widely used in folk medicine still do not have well defined quality parameters. At this juncture *Erythrina velutina* is popularly known as Mulungu. Species not present monograph in official codes or insufficient data to support their quality control, so the purpose of this study was to evaluate the quality of vegetable raw material of the stem bark of *E. velutina*. For this, four samples were compared using the phytochemical profile and since this profile was similar for all we can suggest equality between them, so it was evaluated and then some indicators of quality (particle size, moisture content, ash, and foreign materials) that allowed the establishment of initial specifications for standardization of raw vegetable *E. velutina*. All samples showed similar profiles of particle size distribution. All specifications were adequate moisture to legal requirements. Two met the minimum quality standards for the content of total ash and acid insoluble, probably due to the presence of excess soil and / or inorganic substances such as sand and non-volatile constituents of siliceous contaminants. A sample was found out of specification pharmacopeic with high levels of impurities. It is concluded that the tests conducted in this study can assist in quality control of vegetable raw material of *E. velutina*, providing initial patterns that may justify the use of species for medicinal purposes.

Keywords: Quality control, *Erythrina velutina*, Mulungu, Medicinal Plants

INTRODUÇÃO

O processamento de drogas vegetais e fitoterápicos deve assegurar qualidade suficiente para que a eficácia e segurança de uso sejam fatores controlados e constantes (Borella & Carvalho, 2011; ANVISA, 2012). As drogas vegetais e fitoterápicos representam uma importante alternativa ao uso de medicamentos sintéticos devido ao menor custo do seu desenvolvimento e ao fato de que a grande maioria não se encontra sob proteção patentária, tornando-os uma alternativa terapêutica bastante promissora para países pobres ou em desenvolvimento como o Brasil (Oliveira, 2006; Alves et al., 2008; Gonçalves et al., 2011). Todavia, a ideia da indicação destes insumos não é substituir medicamentos já registrados e comercializados com eficácia comprovada, mas aumentar o arsenal terapêutico dos profissionais prescritores, ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, com eficácia comprovada para as mesmas indicações terapêuticas ou mesmo complementar (Rates, 2001; Hubinger et al., 2009; Gonçalves et al., 2011).

Muitas das espécies vegetais brasileiras utilizadas medicinalmente não possuem parâmetros de qualidade suficientes para produzir um fitoterápico; possivelmente devido à escassez de estudos organizados e integrados, aliados à ausência de uma política governamental para a exploração e controle das riquezas biológicas brasileiras como instrumento de acesso social. Somado a isto está a ausência de um sistema de fiscalização efetivo, associado ao momento de competição acirrada entre as indústrias nacionais e multinacionais que comercializam medicamentos fitoterápicos que fornecem condições para o surgimento e desenvolvimento de empresas pouco estruturadas, o que propicia fraudes e produtos de má qualidade (Brasil, 2006b; Oliveira et al., 2006; Alves et al., 2008; Yokota et al., 2010).

Entretanto o principal problema atribuído à produção de fitoterápicos está relacionado ao controle de qualidade da matéria-prima, uma vez que as plantas medicinais produzem diferentes substâncias químicas, que podem sofrer variações por diversos fatores, como as condições climáticas, solo, período de coleta, etc. Dessa forma, a qualidade da matéria-prima vegetal pode variar dependendo da sua procedência (Amaral et al., 2003; Antonelli-Ushirobira, 2004; Fonte, 2004). A definição dos padrões de qualidade para fitoterápicos ganha cada vez mais destaque visto que há um aumento no consumo e grande interesse das indústrias em aproveitar esse segmento do mercado em ascensão (Migliato et al., 2007). A caracterização físicoquímica da droga vegetal e dos extratos obtidos a partir desta faz parte de um conjunto de especificações de qualidade necessárias para obtenção de um fitoterápico. Porém, em muitos casos, o seu uso tradicional é feito por meio dos chás, obtidos pela extração das drogas rasuradas. Dessa forma, torna-se imprescindível a caracterização físicoquímica das drogas vegetais utilizadas com esta finalidade.

Para o registro dos fitoterápicos, no Brasil, a atual regulamentação em vigor é a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 14/2010 que estabelece os requisitos mínimos ao registro, como testes de autenticidade, caracterização organoléptica, identificação macroscópica, descrição da droga vegetal, perfil cromatográfico, dentre outros ensaios para atestar a qualidade da matéria prima utilizada. Ainda se aplica ao registro desses medicamentos, a obtenção do Certificado de Boas Práticas de Fabricação e Controle (CBPFC), no cumprimento das normas dispostas na RDC 210/2003 (BRASIL, 2010; 2003a).

No que diz respeito às drogas vegetais rasuradas para chás as regulamentações em vigor são as Resoluções de Diretoria Colegiada (RDCs) 267/2005 que aprova o regulamento técnico de espécies vegetais para o preparo de chás; 277/2005 que aprova o regulamento técnico para café, cevada, chá, erva mate e produtos solúveis; 278/2005

que aprova as categorias de alimentos e embalagens dispensados e com obrigatoriedade de registro; 219/2006, que aprova a inclusão do uso das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás em complementação as espécies aprovadas pela Resolução ANVISA RDC nº. 267/2005.

Dentre as espécies promissoras à produção de fitoterápicos encontram-se as plantas do gênero *Erythrina* que são amplamente conhecidas pelo seu potencial farmacológico. Nesse contexto encontra-se *Erythrina velutina*, conhecida como mulungu e de grande utilização na medicina popular na forma de droga vegetal rasurada para preparação de chás para o tratamento de insônia, tosse, inflamações, entre outros. Apesar de sua vasta utilização regional e de seu potencial farmacológico, a espécie até o momento não possui especificações oficiais em monografias, sendo, portanto necessária à avaliação da adequabilidade sanitária de sua matéria-prima. Sendo assim, o principal propósito deste estudo foi avaliar a qualidade da matéria prima vegetal de *E. velutina* através de indicadores de qualidade (teor de umidade, cinzas, materiais estranhos, perfil cromatográfico) que permitam estabelecer especificações iniciais para o controle e que sejam empregados como referência para assegurar a reprodutibilidade de estudos posteriores.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Os materiais analisados nesta pesquisa consistiram de casca do caule de *Erythrina velutina*, oriundas da Paraíba, Sergipe e Pernambuco. Uma amostra foi tomada como referência e comparada com as demais. Esta foi coletada na região do vale do Curimataú na Paraíba, no campus da UFCG, Centro de Educação e Saúde, município de Cuité, durante o período de floração (setembro/ 2011). Uma parte deste material botânico foi utilizada na preparação das exsiccatas e herborização, seguida do depósito no herbário UFP Geraldo Mariz da UFPE sob o número 63.317. No mercado popular da cidade do Recife/Pernambuco foram obtidas duas amostras ditas mulungu sob a forma de casca e uma quarta amostra oriunda de Laranjeiras/Sergipe, gentilmente doada pela Universidade Federal de Sergipe, também sob a forma de casca.

Tratamento do material vegetal

Na preparação da matéria-prima vegetal, as amostras das cascas do caule de *E. velutina* foram submetidas à secagem em estufa, a uma temperatura de 45 °C, durante 72 h, e em seguida, pulverizadas em liquidificador industrial (Bermar® BM30).

Análise fitoquímica por cromatografia em camada delgada

As análises foram efetuadas por cromatografia em camada delgada empregando como fase estacionária, placas prontas de gel de sílica e de celulose (art. 105553 e art. 1.05552.0001 Merck, respectivamente). Como fases móveis, foram usadas para a investigação de moléculas polares a mistura descrita por Wagner & Bladt (1996), constituída por Acetato de etila-Ácido fórmico-Ácido acético-Água [100:11:11:26].

Para os componentes de polaridade mais baixas tais como terpenoides e polifenóis simples foi empregado a mistura Tolueno-Acetato de etila [97:3]. Os reveladores utilizados foram empregados conforme a metodologia comprovada na literatura para os autores citados. Também foram realizadas as provas em vidro de relógio com reagentes gerais de precipitação para alcaloides (Mayer, Bouchardat, Bertrand, Dragendorff) e em tubos de ensaio, foi efetuado o ensaio de afrogenicidade para saponósidos.

Análise granulométrica por tamisação

Cerca de 100,0 g do material vegetal (casca do caule) foram pulverizados, pesados e submetidos à passagem através de tamises, previamente tarados, com abertura de malha de 600, 500, 425, 250, 150 e 75 µm. A tamisação foi realizada a 60 vibrações por segundo, durante 15 min em tamisador Bertel®. As frações retidas nos tamises e coletor foram pesadas. Os dados foram analisados por método gráfico, construindo-se histograma de distribuição e curvas de retenção e passagem para determinação do diâmetro médio das partículas. Os resultados foram expressos pela média de três determinações (FB 5, 2010).

Determinação da perda por dessecação

Cerca de 2,0 g do material vegetal, exatamente pesados em pesa filtros tarados, foram colocadas em estufa, por 2 h, à temperatura de $105 \pm 2^\circ \text{C}$. Após resfriamento em dessecador os pesa-filtros foram pesados e recolocados em estufa por mais 1 h. Este procedimento foi repetido até as amostras alcançarem peso constante. Os resultados foram expressos em perda de massa percentual, pela média de três determinações, segundo a equação abaixo (FB 5, 2010):

$$PD = \frac{P1-P2}{Pa}$$

Onde: PD = perda por dessecação (%); P1 = peso do pesa filtro contendo a amostra antes da dessecação (g); P2= peso do pesa filtro contendo a amostra após dessecação (g); Pa = peso da amostra (g).

Determinação de cinzas totais

Cerca de 3,0 g do material vegetal, exatamente pesados foram transferidas para cadinhos de porcelana previamente calcinados, arrefecidos e pesados. Após a distribuição uniforme das amostras nos cadinhos, as mesmas foram incineradas em mufla à 450 °C, durante 2 h. Após esta etapa foram calculadas as percentagens de cinzas em relação ao material vegetal que foi submetido ao processo de secagem. Os resultados foram expressos pela média de três determinações, segundo a equação abaixo (FB 5, 2010):

$$CT = \frac{C1-C2}{C\alpha}$$

Onde: CT = Cinzas totais (%; m/m); C1 = peso do cadinho contendo a amostra antes da incineração (g); C2 = peso do cadinho vazio (g), Cα = Peso da amostra (g).

Determinação de cinzas insolúveis

Para determinação de cinzas insolúveis, pegou-se o resíduo obtido na determinação de cinzas totais e este foi tratado durante 5 minutos com 25 mL de ácido clorídrico 7% (v/v) em cadinho coberto com vidro de relógio. O vidro de relógio foi lavado com 5 mL de água quente, juntou-se a água ao cadinho. Recolheu-se o resíduo insolúvel em ácido sobre papel de filtro isento de cinzas, lavando-o com água quente até que o filtrado tornasse neutro. Transferiu-se o papel de filtro contendo o resíduo para o cadinho original, secou-se sobre chapa quente e incinerou-se a cerca de 500 °C até peso constante. Calculou-se a porcentagem de cinzas insolúveis em ácido em relação à droga seca ao ar (FB 5, 2010).

Determinação de Material estranho

Cerca de 25,0 g do material vegetal, foi colhido por quarteamento e espalhado em superfície plana. Os materiais estranhos à droga foram separados manualmente, inicialmente a olho nu e, em seguida, com auxílio de lente de aumento (5 a 10 vezes). Pesou-se o material separado e sua porcentagem foi determinada com base no peso inicial tomado para o ensaio (FB 5, 2010).

Análise Estatística

Análise estatística dos dados foi realizada com o auxílio do programa computacional Excel (Microsoft Office 2010), através dos testes F de *Fischer* em nível de 95% de confiança.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na produção de fitoterápicos um dos parâmetros de suma importância é o estudo fitoquímico das espécies vegetais, uma vez que este permite identificá-las através da comparação com marcadores e padrões definidos, bem como, em conjunto com outras técnicas, analisar e caracterizar frações ou substâncias bioativas e estabelecer marcadores químicos que são indispensáveis para o planejamento e monitoramento de transformações tecnológicas de um produto (Toledo et al., 2003; Sonaglio et al., 2004).

A análise do cromatograma das amostras foi positiva para alcaloides, triterpenos e esteroides, monoterpenos e sesquiterpenos, derivados cinâmicos e fenilpropanoglicosídeos. Os ensaios obtiveram resultados negativos para cumarinas, leucoantocianidinas e proantocianidinas, taninos hidrolisáveis, saponinas, antraquinonas, açúcares, e flavonoides.

Os alcaloides tetracíclicos característicos do gênero *Erythrina* foram evidenciados pela metodologia utilizada nas cascas do caule de *E. velutina*, onde após o desenvolvimento do cromatograma, pulveriza-se o reagente Dragendorff, o qual gera bandas alaranjadas com os alcaloides separados na placa cromatográfica de gel de sílica. A presença de alcaloides encontra-se em consonância com a literatura, que cita os isolados 8-oxo-11b-metoxieritralina, erisotrina (Virtuoso et al., 2005a), erisovina (Cabral et al., 2009) e hipaforina uma alcaloide indólico isolado das sementes de *Erythrina velutina* (Ozawa et al., 2008). A estes são atribuídas às atividades depressora do sistema nervoso central, relaxante, ansiolítica, aumento na duração do sono total e do sono REM (Vasconcelos et al., 2004; Dantas et al., 2004; Santos et al., 2007; Raupp et al., 2008; Ozawa et al., 2008).

A presença de triterpenos e esteroides está de acordo com o descrito em estudos anteriores com as cascas de *Erythrina velutina*. Virtuoso e colaboradores (2005a) evidenciaram dois esteroides: estigmasterol e β -sitosterol e três triterpenos: α e β -amirina e lupeol. Cabral (2009) isolou o triterpeno eritrodiol.

Para os derivados cinâmicos evidenciados nesta análise, foi relatado na literatura a existência do ácido cinâmico e ácido fênico (Virtuoso et al., 2005a). Estes aparecem como bandas azuis fluorescentes na cromatoplaça revelada com difenilboriloxietilamina (NEU) e analisadas sob luz UV 365.

Embora na literatura sejam relatados flavonoides, estes não foram identificados por esta metodologia. São descritos os seguintes metabólitos isolados das cascas de *Erythrina velutina*: duas flavononas: Homoesperitina (5,7-dihidroxi-4',5'-dimetoxi-flavanona) e 5,7,3'-trihidroxi-4'-O-metil-5'-prenilflavanona; e três isoflavanóides: Faseolidina (3,9 dihidroxi-10-prenilpterocarpano), 2',4'-dihidroxi-6-prenil-7-metoxi-isoflavanona e 5,7,4',-trihidroxiisoflavona-7-O-[α -ramnopiranosil- β -glicopiranosídeo] (Rabelo et al., 2001; Cabral et al., 2009). Com a metodologia utilizada não foi possível à visualização de bandas que indicassem os flavonoides. Estes reagem com NEU emitindo fluorescência de amarelo a laranja típica, que na placa de CCD aparece em bandas.

A literatura relata ainda estudos com as folhas de *E. velutina*, indicando a presença de outros metabólitos secundários tais como catequinas, xantonas, saponinas e taninos. Estes também foram referidos nas cascas (Carvalho et al., 2009; Cabral et al., 2009). Foram realizados testes prévios para taninos, utilizando a precipitação com cloreto férrico, e cujo resultado foi positivo, porém inconclusivo, pois, não houve a confirmação da presença destes compostos em placas de CCD; e testes de afrogenicidade para saponinas com resultado negativo. Assim como não houve

positividade para os açúcares, muito embora tenham sido evidenciados em pesquisas anteriores (Virtuoso et al., 2005a; Cabral et al., 2009).

Outros parâmetros de qualidade a serem analisados na produção de drogas vegetais e fitoterápicos foram a granulometria, a perda por dessecação, os teores de cinzas e materiais estranhos. A redução do tamanho das partículas possui finalidades tecnológicas específicas tais como uniformizar o diâmetro, facilitar o armazenamento, transporte e embalagem da matéria prima, além do que a avaliação granulométrica do material pulverizado é um parâmetro importante a ser estabelecido, pois representa uma influência direta sobre a eficiência no processo extrativo (Dias, 2004; Sonaglio et al, 2004; Migliato, 2007). Os histogramas de distribuição granulométrica das amostras da casca do caule de *E. velutina* demonstraram que as partículas do material vegetal encontraram-se predominantemente distribuídas entre os tamises 250 e 425 μm , representando 23,37%, 30,63%, 28,34% e 23,63% de todo o material (amostras 1, 2, 3 e 4 respectivamente). O tamanho médio das partículas determinado pelo ponto interseção das curvas de retenção e passagem está representado na Figura 1. As amostras apresentaram perfis de distribuição granulométrica semelhantes. Apenas a amostra 2 apresentou um tamanho médio um pouco acima das demais o que pode ser por razões inerentes à droga vegetal, uma vez que foram submetidas ao mesmo método de pulverização. Todas foram classificadas como pós moderadamente grossos, de acordo com as especificações da Farmacopeia Brasileira 5 (2010) o que demonstra a homogeneidade entre as mesmas, característica importante na padronização. Pós de tamanho maior, como os desta classificação, favorecem as extrações, uma vez que partículas muito finas podem aumentar a viscosidade do meio e criar uma barreira que impede a penetração de solventes (Hubinger et al., 2009).

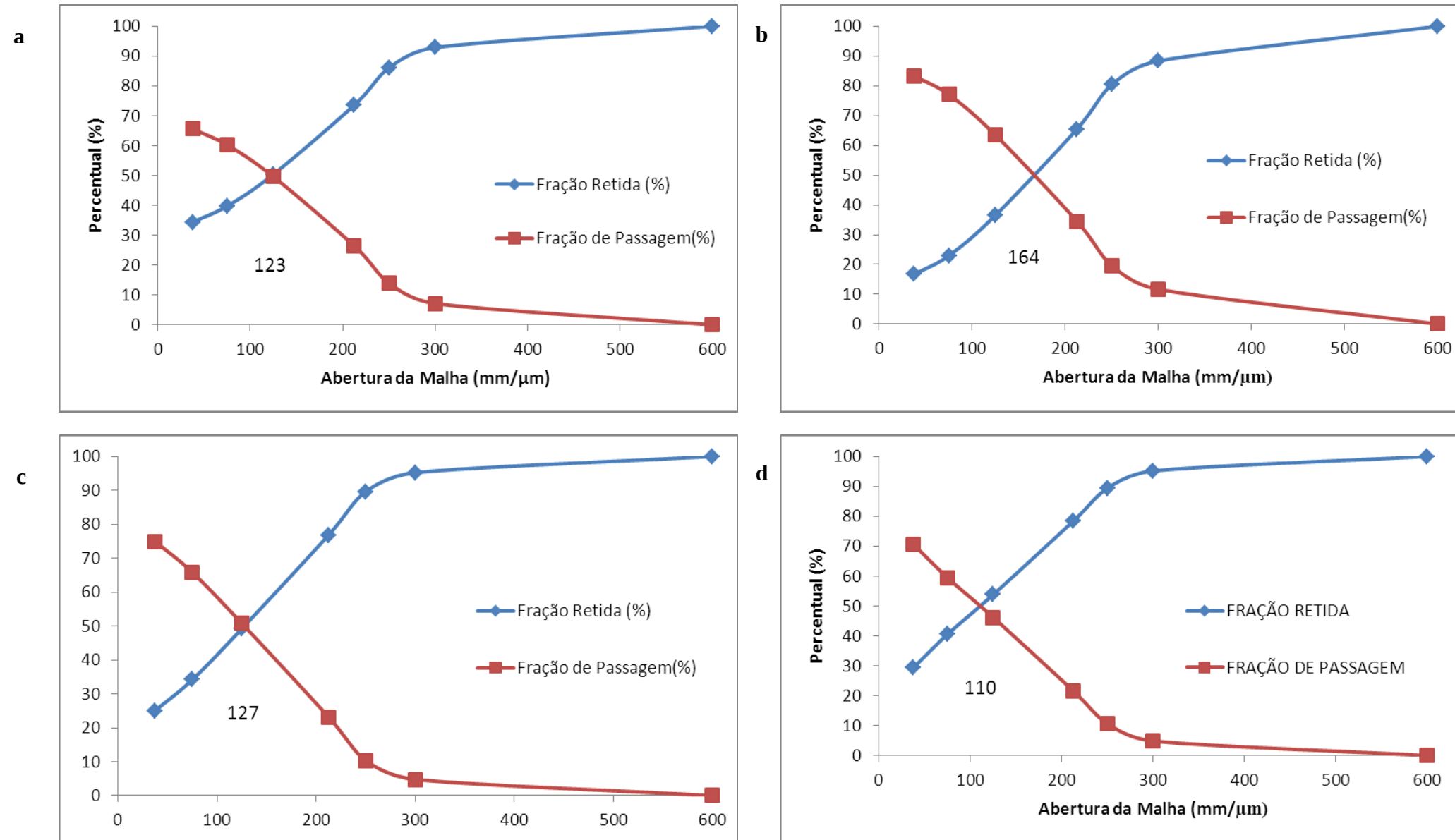


Figura 1: Curvas de retenção e passagem das cascas do caule de *E. velutina*. **a** amostra1; **b** amostra 2; **c** amostra 3; **d** amostra

Os resultados comparativos obtidos para os ensaios de perda por dessecação, teor de cinzas totais e teor de cinzas insolúveis estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Ensaios de PD, CT e CI das amostras de *Erythrina velutina*.

Amostra	PD $\pm$ dp (CV %)	CT $\pm$ dp (CV%)	CI $\pm$ dp (CV%)
1	8.34 $\pm$ 0.11 (0.01*)	6.34 $\pm$ 0.45 (7.21*)	1.34 $\pm$ 0.13 (1.35*)
2	9.42 $\pm$ 0.10 (1.12*)	12.83 $\pm$ 2.09 (16.29*)	0.82 $\pm$ 0.03 (3.69*)
3	8.63 $\pm$ 0.31 (3.69*)	14.46 $\pm$ 0.15 (1.09*)	7.07 $\pm$ 0.05 (0.75*)
4	12.50 $\pm$ 0.28 (2.29*)	16.22 $\pm$ 0.08 (0.53*)	8.38 $\pm$ 0.54 (6.44*)

1 = amostra referência; 2= amostra recebida por doação; 3 e 4 amostras comparadas; PD – Perda por dessecação; CT – Cinzas totais; CI – Cinzas insolúveis; dp – desvio padrão; CV- Coeficiente de variação – *significativo para 0,05.

A perda por dessecação expressa o percentual de umidade residual da droga vegetal. De acordo com os dados do ensaio de perda por dessecação a amostra tida como referência (amostra 1) e todas as demais amostras das cascas do caule de *E. velutina* analisadas, encontram-se dentro dos limites estabelecidos (8-14%) pela Farmacopeia Brasileira 5 (2010) (Tabela 1). É possível inferir a adequabilidade sanitária das amostras em questão, uma vez que os teores de umidade acima do especificado possibilitam o desenvolvimento de fungos e bactérias, hidrólise e atividade enzimática

com consequente deterioração de constituintes químicos (Couto et al., 2009). Esse parâmetro de qualidade pode sugerir que todas as amostras analisadas foram bem acondicionadas e sofreram secagem adequada.

O teor de cinzas totais permite a verificação de impurezas inorgânicas não voláteis que podem estar presentes como contaminantes (Farias, 2001). Logo, essas determinações constituem referências de qualidade e caracterização da matéria-prima vegetal. As amostras 1 e 2 encontram-se dentro do que preconiza a Farmacopeia Brasileira 5 (2010) com o limite máximo de 14% (Tabela 1), indicando que as mesmas não possuem excesso de terra e/ou areia. Já no caso das amostras 3 e 4 (obtidas no mercado popular) os dados demonstrados na tabela 1 encontram-se acima do limite máximo estabelecido pela Farmacopeia Brasileira 5 (2010) sugerindo que as mesmas possuem excesso de terra e/ou areia como substâncias inorgânicas não voláteis.

O teor de cinzas insolúveis em ácido destina-se à verificação da presença de sílica e constituintes silicosos da droga (FB 5, 2010). Uma vez que o limite máximo determinado pela Farmacopeia Brasileira é de 6% para cinzas insolúveis em ácido, a amostra 1 e 2 encontram-se dentro dos parâmetros de qualidade estabelecidos. Novamente as amostras obtidas no mercado (amostras 3 e 4) apresentaram-se fora das especificações com valores de cinzas insolúveis 7.07% e 8.38% respectivamente sugerindo excesso de constituintes silicosos contaminantes.

Para garantir a qualidade de uma matéria prima vegetal é imprescindível a determinação da pureza da amostra. Nesse sentido a pesquisa de materiais estranhos torna-se obrigatória. A Farmacopeia Brasileira considera como matéria estranha à droga vegetal fungos, mofo, insetos ou partes destes, impurezas de origem mineral, outras partes do vegetal e outros materiais contaminantes e estabelece um limite de 2% para tal. Nesse caso apenas a amostra 1 encontra-se fora da conformidade com a Farmacopeia Brasileira 5 (2010) com o teor de 4.18%, fato que pode estar atribuído à

sua obtenção direta do habitat natural no período de floração, enquanto que as demais foram obtidas por doação e compra. O teor de material estranho à droga vegetal determinado nas amostras 2, 3 e 4 foi de 0.33%, 0.36% e 0.43% respectivamente, o que demonstra que todas se adequam ao preconizado na Farmacopeia Brasileira 5 (2010).

CONCLUSÃO

Os parâmetros de qualidade avaliados neste trabalho devem contribuir para a análise da droga vegetal de *E. velutina*, visto que os ensaios realizados poderão auxiliar o estabelecimento de padrões para a verificação de fraudes e/ou adulterações, da espécie ou derivados desta. Como exemplo tem-se a análise fitoquímica por cromatografia em camada delgada. Neste ensaio, as amostras ditas mulungu, apresentaram perfis semelhantes que se encontraram em consonância com a literatura. Quanto aos demais parâmetros de qualidade avaliados, foi demonstrado que todas apresentaram homogeneidade quanto à granulometria da matéria prima vegetal, e teor similar de umidade. Já os teores de cinzas totais e insolúveis das amostras obtidas no mercado encontraram-se acima dos limites estabelecidos na Farmacopeia Brasileira, mas apresentaram similaridade entre si. Esses dados induzem aos questionamentos da qualidade sanitária das matérias primas vegetais ofertadas como insumos farmacêuticos aos consumidores. Apenas a amostra coletada apresentou teor de impurezas acima do especificado na Farmacopeia. Diante do exposto conclui-se que a pesquisa realizada pode contribuir com dados literários que auxiliem no controle de qualidade da matéria prima vegetal de *E. velutina* uma vez que não há monografia específica que estabeleça um padrão de qualidade da espécie para utilização com fins medicinais.

Referências Bibliográficas

Alves NDC, Santos TC, Rodrigues CR, Castro HC, Lira LM, Dornelas CB, Cabral LM. Avaliação da adequação técnica de indústrias de medicamentos fitoterápicos e oficinais do Estado do Rio de Janeiro. *Ciênc. saúde colet.*, 13(Sup). 745-753, 2008.

Amaral FMM, Coutinho DF, Ribeiro MNS, Oliveira MA. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/ Maranhão. *Rev. bras. farmacogn.* (13)1, 27-30, 2003.

Antonelli-Ushirobira TM, Yamaguti E, Uemura LM, Mello JCP. Controle de qualidade de amostras de *Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. *Acta farm. bonaerense.* (23)3. 383-386, 2004.

ANVISA. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/faqdinamica/index.asp?Secao=Usuario&usersecoes=36&userassunto=135>> Acesso em julho de 2012.

Borella JC & Carvalho DMA. Avaliação comparativa da qualidade de extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) comercializados em farmácias de manipulação em Ribeirão Preto –SP. *Rev. bras. farm.* 92; 11-16, 2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº. 210, de 04 de agosto de 2003a.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 267 de 25 de setembro de 2003b.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 277 de 22 de setembro de 2005a.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 278 de 22 de setembro de 2005b.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 219 de 22 de dezembro de 2006a.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 14 de 31 de março de 2010.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. - Brasília :Ministério da Saúde, 2006b.

Cabral ALGS. *Constituintes químicos de Erythrina velutina Willd. (Fabaceae)*. 2009. Paraíba. 163 p Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Paraíba.

Carvalho ACCS, Almeida DS, Melo MGD, Cavalcanti SCH, Marçal RM. Evidence of the mechanism of action of *Erythrina vellutina* Willd (Fabaceae) leaves aqueous extract. *J. ethnopharmacol.* 122; 374-378. 2009.

Couto RO, Valgas AB, Bara MTF, Paula JR. Caracterização físicoquímica do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* dc. (Myrtaceae). *Rev. eletr. farm.* 6(3): 59-69, 2009.

Dantas MC, DE Oliveira FS, Bandeira SM, Batista JS, Silva Jr. CD; Alves PB, Antonioli AR, Marchioro M. Central nervous system effects of the crude extract of *Erythrina velutina* on rodents. *J. ethnopharmacol.* (94); 129–133, 2004.

Dias JA. A análise sedimentar e o conhecimento dos sistemas marinhos 2004. Disponível em: <http://w3.ualg.pt/~jdias/JAD/ebooks/Sedim/SedimA_intr.pdf> Acesso em julho de 2012.

Farias MR. Avaliação da qualidade de matérias primas vegetais. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia da planta ao medicamento. Santa Catarina: Editora da UFSC, 2001. p.197-220.

Farmacopeia Brasileira. 5. Ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

Fonte NN. *A complexidade das plantas medicinais: algumas questões atuais de sua produção e comercialização*. 2004. 183 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Paraná. 2004.

Gonçalves NMT, Gerenutti M, Chaves DAS, Vila MMDC. A tradição popular como ferramenta para a implantação da fitoterapia no município de Volta Redonda – RJ. *Rev. bras. farm.* 92(4); 346-351, 2011.

Hubinger SZ, Salgado HRN, Moreira RRD. Controles físicoquímico, químico e microbiológico dos frutos de *Dimorphandra mollis* Benth., Fabaceae. *Rev. bras. farmacogn.* (19); 690-696, 2009.

List PH, Schmidt PC. *Phytopharmaceutical Technology*. Florida: CRS Press, 2000.

Migliato KF, Moreira RRD, Mello JCP, Sacramento LVS, Correa MA, Salgado HRN. Controle de qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Rev bras farmacogn.* 17(1):94-101. 2007.

Oliveira MJR, Simões MJS, Sassi CRR. Fitoterapia no Sistema de Saúde Pública (SUS) no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. bras. plantas med.*, (8)2, 39-41, 2006.

Ozawa M, Honda K, Nakai I, Kishida A, Ohsaki A. Hypaphorine, an indole alkaloid from *Erythrina velutina*, induced sleep on normal mice. *Bioorg. med. chem.*(18); 3992–3994, 2008.

Rabelo LA, Agra MF, Da Cunha EVL, Silva MS, Barbosa-filho JM. Homohesperetin and phaseollidin from *Erythrina velutina*. *Biochem. system. ecol.*, 29: 543-544, 2001.

Rates SMK. Promoção do uso racional de fitoterápicos: Uma abordagem no ensino de Farmacognosia. *Rev. bras. farmacogn.* 11(2); 57-69, 2001.

Raupp IM, Sereniki A, Virtuoso S, Ghislandi C, Cavalcanti e Silva EL, Trebien HA, Miguel OG, Andreatini R. Anxiolytic-like effect of chronic treatment with *Erythrina velutina* extract in the elevated plus-maze test. *J. ethnopharmacol.* (118), 295–299, 2008.

Santos MRV, Alves PB, Antonioli AR, Marchioro M. Relaxant effect of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves on rat vas deferens. *Rev. bras. de farmacog.* (17)3, 343-348, 2007.

Sonaglio D, González Ortega G, Ros Petrovick P, Bassani VL. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: Farmacognosia da planta ao medicamento. Porto Alegre: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2004. cap. 13, p310-312.

Toledo ACO, Hirata LL, Da Cruz M, Buffon M, Miguel MD, Miguel, OG. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. *Revista Lecta*, 21(1/2), 7-13. 2003.

Vasconcelos SM, Macedo DS, Melo CTV, Monteiro AP, Rodrigues ACP, Silveira ER, Cunha GMA, Souza FCS, Viana GSB. Central activity of hidroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* in mice. *J. pharmacol.* (56), 389 – 393. 2004.

Virtuoso S, Davet A, Dias JFG, Cunico MM, Miguel MD, Oliveira AB, Miguel OG. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae) *Rev. bras. farmacogn.* 15(2), 137-142. 2005b.

Virtuoso S. *Estudo fitoquímico e biológico das cascas de Erythrina velutina Willd Fabaceae (Leguminosae-Papilionoideae)*. 2005a. Paraná. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Paraná.

Wagner H, Bladt S. *Plant Drug Analysis – A thin layer chromatography atlas*. 2. ed. Berlim: Springer-Verlag, 1996.

Yokota AA, Jacomassi E, Junior AL, Takemura OS. Avaliação da qualidade de produtos contendo *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek – Celastraceae (espineira-santa) comercializados na cidade de Umuarama – PR. *Ci. biol. saúde*, Londrina, (31)2, 159-168. 2010.

6. Conclusão

A utilização de drogas vegetais na prática medicinal é uma alternativa histórica ao uso de medicamentos sintéticos. O Brasil sempre se destacou pela sua biodiversidade uma vez que o potencial biológico inestimável de suas espécies vegetais é alvo crescente de pesquisas. Entretanto mesmo as espécies reconhecidas e utilizadas a longa data pela população, necessitam de informações fidedignas e melhores estudos. Este trabalho buscou fornecer maiores informações a cerca de *Erythrina velutina*, espécie de larga distribuição na América do Sul principalmente no Brasil.

Na revisão de literatura pode-se verificar que o uso de substâncias provenientes do gênero ou de seus extratos é de reconhecida aplicabilidade medicinal. Apesar do uso frequente das cascas de *E. velutina*, principalmente pela população do nordeste brasileiro para várias finalidades, ainda não existem informações suficientes para que esta ou seus derivados sejam aplicados em benefício farmacêutico.

Na caracterização botânica da espécie foram identificadas algumas estruturas anatômicas que podem auxiliar na diferenciação de *E. velutina* de outras do mesmo gênero relatadas na literatura, com a mesma denominação popular e até algumas características macroscópicas similares. Dentre essas estruturas estão os canais secretores associados ao floema nos feixes vasculares do caule que não foram verificados para outras espécies do gênero e nem mesmo para espécies de outros gêneros de Fabaceae e a presença de sulcos profundos na região das nervuras na face abaxial da epiderme que pode constituir um caractere diagnóstico para *E. velutina*.

A análise fitoquímica mostrou um perfil similar para as amostras comparadas com a presença dos seguintes grupos de metabólitos: alcaloides, triterpenos e esteroides, monoterpenos e sesquiterpenos, derivados cinâmicos e fenilpropanoglicosídeos, indicando que podem se tratar da mesma espécie, no entanto houve algumas divergências do que é encontrado na literatura quanto à presença de flavonoides.

A caracterização fisicoquímica contribuiu para a identificação das amostras ditas mulungu e permitiu avaliar a conformidade das drogas vegetais de *E. velutina* com os parâmetros de qualidade para drogas vegetais estabelecidos pela Farmacopeia. Observou-se que as amostras apresentaram um perfil de distribuição granulométrica semelhantes entre si o que é indicativo de igualdade entre as mesmas. Duas das amostras apresentaram teor de cinzas fora das especificações provavelmente devido à presença em excesso de terra e/ou areia como substâncias inorgânicas não voláteis e de

constituintes silicosos contaminantes. Quanto ao teor de material estranho, uma amostra encontrou-se fora das especificações estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira por se tratar da única amostra obtida do seu habitat natural.

Os resultados obtidos neste trabalho podem contribuir para o estabelecimento de padrões de qualidade para *E. velutina*, uma vez que fornecem dados para a identificação e diferenciação da espécie, visto que na caracterização botânica foram evidenciados alguns caracteres-diagnósticos que servirão de ferramenta para evitar fraudes e falsificações. E ainda devido à ausência de uma monografia específica que estabeleça um padrão de qualidade da espécie para utilização com fins medicinais, as análises fitoquímica e fisicoquímica, fornecerão especificações para a padronização da matéria prima vegetal de *Erythrina velutina*.

7. Referências Bibliográficas

ALMEIDA, E. E. Caracterização farmacognóstica da espécie *Erythrina falcata* BENTH. Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 100-105. 2010

ALMEIDA, E. E. Caracterização farmacológica das folhas e cascas da espécie *Erythrina speciosa* andrews. **Revista de biologia e farmácia**, v. 5, n. 1, p. 34-47. 2011.

AMER, M. A.; SHAMMA, M.; FREYER, A. J. The tetracyclic *Erythrina* alkaloids. **Journal of Natural Products**, v. 54, n.2, p. 329-363. 1991.

ATINDEHOU, E. F.; QUEIROZ, C.T.; TRAORE, D.; HOSTETTMANN, K. Three new prenylated isoflavonoids from the root bark of *Erythrina vogelii*. **Planta Medica**, v. 68, p. 181-183. 2002.

BADANAI, J. M. **Controle de qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Caetano do SUL – SP, presentes no anexo i, da RDC nº. 10 de 09 de março de 2010**. 2011. 12 f. Projeto de iniciação científica. Universidade Municipal de São Caetano do Sul, São Paulo. 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde. **Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº. 210, de 04 de agosto de 2003**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde. **Proposta de Política Nacional de Medicamentos e Assistência Farmacêutica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução – RDC no. 67 de 08 de outubro de 2007**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação em Farmácias (BPMF).

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRITO, A. R. M. S. In: DI STASI, L. C., E. M. BACCHI, L. C. MING, M. R. FURLAN, M. A. P. SAVASTANO, M. C. M. AMOROSO, M. S. REIS & P.H. FERRI. **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: UNESP, 13: 187-197. 1996.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) Nº 14, de 31 de março de 2010**. Dispõe sobre registro de medicamentos fitoterápicos.

CALIXTO, J.B. Biopirataria. A diversidade biológica na mira da indústria farmacêutica. **Ciência Hoje**, v. 28, n.167, p. 36-43. 2000.

CARVALHO, P. E. R. Mulungu (*Erythrina velutina*). **Circular técnico, 160**. Embrapa Florestas: Colombo – PR, ISSN 1517-5278. 2008

COUTO, A. G. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado contendo produto seco nebulizado de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae (quebra-pedra)**. 2000. Dissertação (Mestrado em Farmacoquímica- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

CRAVEIRO, A. C. S.; CARVALHO, D. M. M.; NUNES, R. S.; FAKAHOORI, R.; RODRIGUES, S. A.; TEIXEIRA- SILVA, F. Toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina* em animais experimentais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 739-743. 2008.

DA-CUNHA, E. V. L.; DIAS, C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; GRAY, A. I. Eryvellutinone, an isoflavanone from the stem bark of *Erythrina vellutina*. **Phytochemistry**, v. 43, n.6, p. 1371-1373. 1996.

DANTAS, M. C.; DE OLIVEIRA, F. S.; BANDEIRA, S. M.; BATISTA, J. S.; SILVA, J. R. C. D.; ALVES, P. B.; ANTONIOLLI, A. R.; MARCHIORO, M. Central nervous system effects of the crude extract of *Erythrina velutina* on rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94. p.129 -133. 2004.

DESHPANDE V.H., PENDSE A.D., PENDSE R. Erythrinins A, B and C, Three new isoflavones from the bark of *Erythrina variegata* Ind. **J Chem**, v. 15B. p.205-207. 1977.

EPAMIG- Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. O Gênero *Erythrina* L. no PAMG. **Herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais**; Daphne, Belo Horizonte; 3(1): 20-25. 1993

ERBANO, M. & DUARTE, M. R. *Centrolobium tomentosum*: macro- and microscopic diagnosis of the leaf and stem. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n.2, p. 249-256. 2012

FARIAS, M. R.; SCHENKEL, E. P.; BERGOLD, A. M.; PETROVICK, P. R. O problema da qualidade dos fitoterápicos. **Caderno de farmácia**, v. 1, p. 73-82. 1985.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias primas vegetais. In: SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Santa Catarina: Editora da UFSC, 2001. p.197-220.

FERREIRA, M. B., ASSUMPÇÃO, W. R. C. Leguminosae em Minas Gerais – II O gênero *Erythrina*. In: **Congresso Nacional de Botânica**, 28, Belo Horizonte, 1978.

FERRO, A. F. P.; BONACELLI, M. B. M.; ASSAD, A. L. D. Oportunidades tecnológicas e estratégias concorrenciais de gestão ambiental: o uso sustentável da biodiversidade brasileira. **Gestão e Produção**, v.13, n.3, p.489-501. set./dez. 2006.

FLAUSINO JÚNIOR, O.; SANTOS, L. A.; VERLI, H.; PEREIRA, A. M.; BOLZANI, V. S.; SOUZA, R. L. N. Anxiolytic effects of Erythrinian alkaloids from *Erythrina mulungu*. **Journal of Natural Products**, v. 70. p. 48-53. 2007.

FOLKERS, K. & MAJOR, R. T. Isolation of erythroidine, an alkaloid of curare action, from *Erythrina Americana* Mill. **J. Am. Chem. Soc.**, 59:1580. 1937.

GHOSAL, S.; DUTTA, S. K.; BHATTACHARYA, S. K. *Erythrina* - Chemical and pharmacological evaluation II: alkaloids of *Erythrina variegata* L. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.61, n.8, p. 1274-1277. 1972.

GRATIERI-SOSSELA, A. G.. **Potencialidade ornamental e paisagística, caracterização morfo-anatômica e propagação *Erythrina cristagalli* L.** 2005. 176p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrônômicas). Universidade de Passo Fundo. Rio grande do Sul. 2005.

HARGREAVES, R.; JOHNSON, D.; MILLINGTON, D.; MONDAL, M.; BEAVERS, W.; BECKER, L.; YOUNG, C.; RINEHART, K. L. Alkaloids of American species of *Erythrina*. **Lloydia**, v. 37, n.4, p. 569-580. (1974).

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à Taxonomia vegetal**. 12. ed. São Paulo: Nacional, 1998.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant Systematics: A phylogenetic approach**. Sunderland, USA: Sinauer Associates, 1999.

LÓPEZ, C. A. A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, v.1, n1, p. 19-27. 2006

LORENZI, H. & MATOS, F. J. A 2008. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum.

MARCHIORO, M.; BLANK, M. F.; MOURÃO, R. H.; ANTONIOLLI, A. R. Antinociceptive activity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves. **Fitoterapia**, v.76, p. 637-642. 2005.

METCALFE, C. R; CHALK, L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Oxford: Clarendon Press.

MICROSCOPIA OPTICA E IDENTIFICAÇÃO DE DROGAS VEGETAIS. Disponível em: <http://people.ufpr.br/~cid/farmacognosia_I/Apostila/microscopia.pdf> Acesso em: julho de 2012.

NAKANISHI, K. Recent studies on bioactive compounds from plants. **Journal of Natural Products**, v.45, n.1, p. 15-26, 1982.

NASCIMENTO, V. T.; LACERDA, E. U.; MELO, J. G.; LIMA, C. S. A.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus spp.*), espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 7, n. 3, p. 56-64, 2005.

NKENGFAK, A. E.; WAFFO, A. K.; AZEBAZE, G. A.; FOMUM, Z. T.; MEYER, M.; BODO, B.; HEERDEN, F. R. Indicanine A, a new 3-phenylcoumarin from root bark of *Erythrina indica*. **Journal of Natural Products**, v.63, n.6, p.855-856. 2000.

NKENGFAK, A. E.; VOUFFO, T. W.; FOMUM, Z. T.; MEYER, M.; BERGENDORFF, O.; STERNER, O. Prenylated isoflavanone from the roots of *Erythrina sigmoidea*. **Phytochemistry**, v.36, n.4, p. 1047 – 1051. 1994.

ODALIA-RÍMOLI, A.; ARRUDA E. J.; RÍMOLI, J.; BUENO, N. R.; COSTA, R. B. Biodiversidade, biotecnologia, conservação genética e Desenvolvimento Local. **Interações**, v. 1, n. 1, p. 21-30. 2000.

OLIVEIRA, A. L.; PADILHA, C. D. GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P. R. *Achyrocline satureioides* (LAM) DC. (marcela), Asteraceae, avaliação comparativa da droga vegetal e estudos preliminares de otimização da extração. **Caderno de Farmácia**, v.17, n.1, p.33-8. 2001.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo:Atheneu, 1991.

PETROVICK, P. R.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V. L. From a Medicinal Plant to a Pharmaceutical Dosage Form. A (Still) Long Way for the Brazilian Medicinal Plants. **Ciência e Cultura**, v.49, n.5/6, p. 364-369. 1997.

RABELO, L.A.; AGRA, M.F.; DA-CUNHA, E.V.L.; SILVA, M.S.; BARBOSA-FILHO, J.M. Homohesperetin and phaseollidin from *Erythrina velutina*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.29, n.5, p.543-544. 2001.

SANTOS, M. R. V.; ALVES, P. B.; ANTONIOLLI, A. R.; MARCHIORO, M. Relaxant effects of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves on rat vas deferens. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p. 343-348. 2007.

SERRAGIOTTO, M. H.; LEITÃO FILHO, H.; MARSAIOLI, A. Erysotrine-*N*-oxide and erythartine-*N*-oxide, two novel alkaloids from *Erythrina mulungu*. **Canadian Journal of Chemistry**, v.59, n.18, p. 2771-2775. 1981.

SINGH, H.; CHAWLA, A. S.; KAPOOR, V. K.; KUMAR, N. Investigation of *Erythrina* spp. IX. Chemical constituents in *Erythrina stricta* bark. **Journal of Natural Products**, v.44, n.5, p.526-529., 1981.

SONAGLIO, D.; GONZALÉZ ORTEGA, G.; ROS PETROVICK, P.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2004. cap. 13, p310-312.

SOTO-HERNANDEZ, M. & JACKSON, A. H. *Erythrina* alkaloids: isolation and characterisation of alkaloids from Seven *Erythrina* Species. **Planta Medica**, v.60, p. 175-177. 1994.

TELIKEPALLI, H.; GOLLAPUDI, S. R.; KESHAVARZ-SHOKRI, A.; VELAZQUEZ, L.; SANDAMANN, R. A.; VELIZ, E. A.; JAGANNADHA RAO, K. V.; MADHAVI, A. S.; MITSCHER, L. A. Isoflavonoids and a cinnamyl phenol from root extracts of *Erythrina variegata*. **Phytochemistry**, v.29, n.6, p. 2005-2007. 1990.

TOLEDO, A. C. O.; HIRATA, L. L.; DA CRUZ, M.; BUFFON, M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v. 2, n. 1, p. 7-13. 2003.

VASCONCELOS, S. M.; MACEDO, D. S.; MELO, C. T. V.; MONTEIRO, A. P.; RODRIGUES, A. C. P; SILVEIRA, E. R.; CUNHA, G. M. A.; SOUZA, F. C. S.; VIANA, G. S. B. Central activity of hidroalcolic extracts from *Erythrina velutina* e *Erythrina mulungu* in mice. **Journal of Pharmacy & Pharmacology**, v. 56, p. 389 – 393. 2004.

VASCONCELOS, S. M. M.; LIMA, N. M.; SALES, G. T. M.; CUNHA, G. M. A.; AGUIAR, L. M. V.; SILVEIRA, E. R.; RODRIGUES, A. C. P.; MACEDO, D. S.; FONTELES, M. M. F.; SOUSA, F. C. F.; VIANA, G. S. B. Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, n. 2, p. 271-274. 2007.

VASCONCELOS, A. L.; FEITOSA, E. A.; SILVA, M. M. B.; XAVIER, H. S.; RANDAU, K. P. Controle de qualidade fisicoquímico e legalidade de matéria-prima vegetal e produto acabado contendo ipê-roxo (*Tabebuia* sp.). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n.3, p. 155-159, 2011.

VILLAS BÔAS, G. K. & GADELHA, C. A. G. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: bases para a discussão de uma política nacional. **Cad. Saúde Pública**, vol.23, no.6, p.1463-1471. Jun. 2007.

VIRTUOSO, S. Estudo fitoquímico e biológico das cascas de *Erythrina velutina* Willd Fabaceae (Leguminosae-Papilionoideae), 2005. 124 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Paraná. 2005a.

VIRTUOSO, S.; DAVET, A.; DIAS, J. F. G.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, M. D.; OLIVEIRA, A. B.; MIGUEL, O. G. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae) **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n.2, p. 137-142. 2005b.

WANJALA, C. C. W.; MAJINDA, R. R. T. Two novel glucodienoid alkaloids from *Erythrina latissima* seeds. **Journal of Natural Products**, v. 63, n.6, p. 871-873. 2000.

WATJEN, W.; KULAWIK, A.; SUCKOW-SCHNITKER, A.K.; CHOVOLOU, Y.; ROHRIG R.; RUHL S.; KAMPKOTTER, A.; ADDAE-KYEREME J.; WRIGHT C.W.; PASSREITER C.M. Pterocarpan phaseollin and neorautenol isolated from *Erythrina addisoniae* induce apoptotic cell death accompanied by inhibition of ERK phosphorylation. **Toxicology**, v. 242, p. 71–79, 2007.

YENESEW, A.; DERESE, S.; MIDIWO, J.; BII, C. C.; HEYDENREICH, M.; PETER, M. G. Antimicrobial flavonoids from the stem bark of *Erythrina burttii*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 469–472, 2005.

ZARONI, M.; PONTAROLO, R.; ABRAHÃO, W. S. M.; FÁVERO, M. L. D.; CORRE JÚNIOR, C.; STREMEL, D. P. Controle de qualidade de diferentes tipos de chás, adquiridos em estabelecimentos de São Caetano do Sul – SP. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14,n.1, p. 29-39, 2004.

ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H.; BICCHI, C. Avaliação da qualidade de drogas vegetais a base de *Passiflora* spp. Comercializadas no Brasil: presença de resíduos de pesticidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, n.2, p. 60-66, 2004.