

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DESENVOLVIMENTO DE PERFIL CROMATOGRÁFICO EM UHPLC DO EXTRATO DAS FLORES DE *Erythrina falcata* BENTH.

Samile Fabrício dos Santos (PIC/UEM), Daniela Maria Costa (PIC/UEM), Raquel Isolani Luvizotto (Orientador). E-mail: riluvizotto2@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia, Maringá, PR.

Farmácia, Farmacognosia

Palavras-chave: *Erythrina falcata*; Antioxidante; Cromatografia

RESUMO

Erythrina falcata Benth, conhecida popularmente como corticeira-da-serra, é uma espécie botânica nativa da América do Sul, pertencente à família Fabaceae. Estudos anteriores indicam que diversas espécies do gênero *Erythrina* possuem propriedades terapêuticas, incluindo atividade antioxidante, anti-inflamatória e neuroprotetora, atribuídas a compostos bioativos como flavonoides e alcaloides. Este estudo teve como objetivo produzir um extrato hidroetanólico de *E. falcata* e avaliar sua atividade antioxidante, além de caracterizar preliminarmente seu perfil cromatográfico. Através do ensaio de DPPH, observou-se uma capacidade antioxidante do extrato, com um valor de IC₅₀ de 125,36 mg/mL. A análise por UHPLC revelou um perfil cromatográfico preliminar, indicando a presença de diversos compostos bioativos. Os resultados obtidos corroboram o potencial da *E. falcata* como uma fonte promissora de compostos com propriedades antioxidantes.

INTRODUÇÃO

Evidências científicas sugerem que extratos derivados de espécies do gênero *Erythrina*, assim como seus compostos isolados, exibem atividades terapêuticas promissoras e potenciais (Salem, 2023). Os flavonoides presentes em *E. falcata* têm mostrado um impacto significativo na retenção da memória associada ao medo, além de contribuir substancialmente para a melhora de distúrbios cognitivos, aquisição de memória e recuperação espontânea de memórias relacionadas ao medo (Oliveira *et al.*, 2014). Por sua vez, os alcalóides encontrados no extrato hidroetanólico da planta demonstraram uma atividade hipotensora dose-dependente em experimentos *in vivo* (Merlugo *et al.*, 2015). No que se refere à ação antioxidante, este mecanismo desempenha um papel crucial na proteção do organismo contra os danos causados por radicais livres e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (RONs). Compostos antioxidantes possuem a capacidade de neutralizar esses

radicais ao transferir elétrons, inibindo assim os processos oxidativos prejudiciais (Losana-Barreiro, 2022).

MATERIAIS E MÉTODOS

O extrato bruto das flores de *E. falcata* foi produzido por um processo de extração por Ultra-Turrax (UTC115KT, Ika Works), no qual o líquido extrator utilizado foi etanol 50%. O extrato foi filtrado, sob pressão reduzida. Em seguida, o conteúdo filtrado foi concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida para que o solvente orgânico fosse eliminado completamente. Por fim, o extrato foi congelado com nitrogênio líquido e posteriormente liofilizado, obtendo-se o extrato bruto (EB).

Em um dos experimentos, a atividade antioxidante do extrato de *E. falcata* foi testada em relação à redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Para isso, o extrato de *E. falcata* foi diluído e preparado em concentrações finais diferentes de 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml e 31,25 µg/ml, em duplicata. Foram adicionados 100 µL de solução de DPPH a cada uma das amostras dessas concentrações. As amostras foram incubadas em ambiente escuro por 30 min para garantir a reação entre o DPPH e os compostos antioxidantes presentes no extrato. Após esse período de incubação, as absorvâncias foram medidas em uma leitora de microplacas a um comprimento de onda de 517 nm. Com os valores de absorvância obtidos, foi possível construir um gráfico representando a porcentagem de atividade antioxidante em função da concentração dos extratos, permitindo a determinação da concentração necessária para reduzir 50% do DPPH (IC₅₀).

A análise por UHPLC (Ultra-High Performance Liquid Chromatography) foi realizada utilizando um cromatógrafo Thermo Scientific UltiMate 3000, equipado com uma coluna Agilent Zorbax C-18 (250 mm x 4,6 mm) de 5 µm. A vazão da fase móvel foi ajustada para 0,8 mL/min. A separação foi realizada predominantemente por gradiente linear. Foram preparados dois eluentes: o eluente A, que consistia em água, e o eluente B, composto por acetonitrila, ambos acidificados com 0,05% (v/v) de ácido fórmico. Antes de injetar as amostras, eluições preliminares foram conduzidas para condicionar a coluna e equilibrar a fase móvel com a fase estacionária. Após a eluição das amostras, a coluna cromatográfica foi limpa por meio de uma eluição com uma mistura de acetonitrila e água na proporção de 95:5 (v/v) antes de ser armazenada. A detecção foi feita por UV a 210 nm, utilizando os detectores de arranjo de diodos DAD-3000 (RS) e MWD-3000 (RS) para determinação do pico de pureza.

As soluções para o teste foram preparadas em metanol:água (1:1, v/v) a uma concentração de 0,2 g/mL e, em seguida, centrifugadas a 12.114 × g por 20 minutos antes da injeção.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da atividade antioxidante pelos métodos de DPPH

Após a incubação das amostras, as absorvâncias foram medidas em leitor de microplacas. Com os valores obtidos foi possível construir um gráfico de porcentagem da atividade antioxidante relacionada à concentração do extrato, como demonstrado na Figura 1.

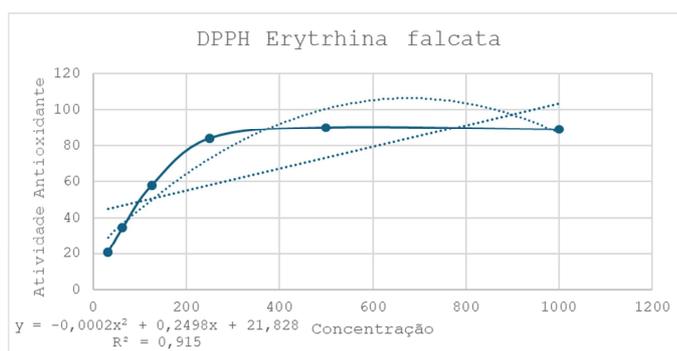


Figura 1 – Gráfico de porcentagem da atividade antioxidante relacionada à concentração do extrato.

A partir do gráfico, torna-se possível determinar o valor de IC₅₀, que representa a quantidade necessária de compostos para neutralizar 50% dos radicais DPPH. No presente estudo, o IC₅₀ encontrado foi de 125,3605 mg/mL. Em estudos anteriores realizados com espécies da mesma família, os extratos aquosos e metanólicos de *E. indica* demonstraram atividade de eliminação do radical DPPH de forma dependente da concentração, com valores de IC₅₀ de 342,59 e 283,24 mg/mL, respectivamente (Sakat, Juvekar; 2010). Dessa maneira, pode-se inferir que *E. falcata* apresenta uma expressiva atividade antioxidante e, em comparação com *E. indica*, requer uma menor concentração para exercer sua ação antioxidante.

Avaliação da atividade antioxidante por UHPLC

A partir da corrida do extrato no UHPLC, obteve-se um perfil cromatográfico, como demonstrado na figura 2.

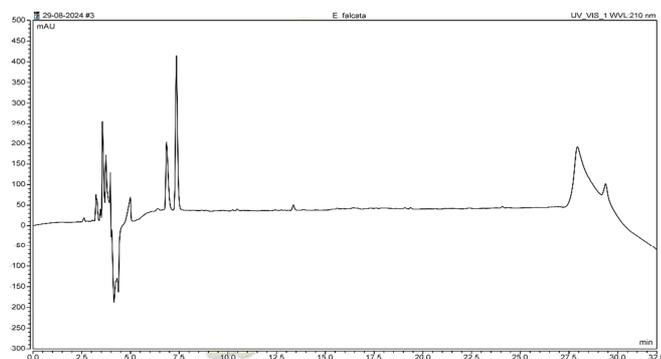


Figura 2 – Cromatograma do extrato de *E. falcata*.

Novos testes serão realizados para otimizar a separação dos componentes do extrato, alterando alguns parâmetros da corrida cromatográfica, a fim de obter um perfil claro dos compostos existentes no extrato da espécie.

CONCLUSÕES

Os dados apresentados neste trabalho evidenciam a *E. falcata* como uma promissora fonte natural de compostos antioxidantes. O valor de IC₅₀ obtido indica que a planta possui uma capacidade superior de neutralizar radicais livres em comparação a outras espécies do mesmo gênero. A análise cromatográfica, embora preliminar, sugere a complexidade da composição química do extrato. A otimização da metodologia cromatográfica e a subsequente identificação dos compostos bioativos são cruciais para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos na atividade antioxidante deste extrato.

REFERÊNCIAS

LOSADA-BARREIRO, S.; SEZGIN-BAYINDIR, Z.; PAIVA-MARTINS, F.; BRAVO-DÍAZ, Z. C. Biochemistry of Antioxidants: Mechanisms and Pharmaceutical Applications. *Biomedicines*. 2022 Nov 25;10(12):3051.

MERLUGO, L.; SANTOS, M. C.; SANT'ANNA, L. S.; CORDEIRO, E. W. F.; BATISTA, L. A. C.; MIOTTO, S. T. S.; GARCIA, C. V.; MOREIRA, C. M.; MENDES, A. S. L. Alkaloids in *Erythrina* by UPLC-ESI-MS and In Vivo Hypotensive Potential of Extractive Preparations. **Evid Based Complement Alternat Med**, 2015 Ago.

OLIVEIRA D.R., ZAMBERLAM C.R., GAIARDO R.B., RÊGO G.M., CERUTTI J.M., CAVALHEIRO A.J., CERUTTI S.M. Flavones from *Erythrina falcata* are modulators of fear memory. **BMC Complement Altern Med**. 2014 Ago 5; v. 14.

SALEM A. M., MOSTAFA N. M., AL-SAYED E., SINGAB A. N. B. *Erythrina* Alkaloids: An Updated Review with Neurological Perspective. **Archives of Pharmaceutical Sciences Ain Shams University**, v. 7, n. 1, p. 171–199, 1 jun. 2023.

SAKAT, S. S., JUVEKAR, A. R. Comparative Study of *Erythrina indica* Lam. (Fabaceae) Leaves Extracts for Antioxidant Activity. **Journal of Young Pharmacists**, v. 2 n. 1 p. 63–67, 2010.