

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

### **SENE, fruto** *Sennae fructus*

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Senna alexandrina* Mill., contendo, no mínimo, 2,2% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B e, no mínimo, 0,92% de senosídeo B ( $C_{42}H_{38}O_{20}$ , 862,75) e 0,49% de senosídeo A ( $C_{42}H_{38}O_{20}$ , 862,75). Não deve ser utilizada antes de um ano após a colheita.

## IDENTIFICAÇÃO

### A. Descrição macroscópica

Legumes dessecados, de coloração verde a castanho-esverdeada nos bordos e castanho escuro nas porções correspondentes às sementes, elípticos a oblongos e ligeiramente reniformes, achatados, arredondados nas extremidades e ligeiramente pontiagudos no ápice, medindo até 7,0 cm de comprimento e até 2,5 cm de largura. Cada legume contém cinco a oito sementes achatadas, duras, de coloração castanho-clara.

### B. Descrição microscópica

O epicarpo, em secção paradérmica, apresenta epiderme com células poligonais de paredes retas ou formando uma leve curvatura, com esparsos estômatos anomocíticos, e raros tricomas tectores unicelulares e cônicos, de paredes verrucosas, frequentemente curvos próximo à base; em secção transversal, é visível a cutícula espessa sobre a epiderme uniestratificada. As células epidérmicas são ricas em grãos de amido. Abaixo da epiderme, ocorre uma camada de células mais volumosas, correspondentes à hipoderme, seguida de quatro camadas de parênquima, contendo feixes vasculares muito esparsos. Drusas bastante evidentes estão distribuídas no parênquima. Segue uma camada de células de paredes finas, contendo cada uma delas cristal prismático de oxalato de cálcio, seguida por duas camadas fibrosas, com células de paredes espessadas, a mais interna com células perpendiculares ao eixo longitudinal do fruto, e a mais externa com células em ângulo oblíquo ou paralelo ao eixo longitudinal do fruto. As fibras destas camadas têm pontoações esparsas e lúmen visível. A epiderme interna é indistinta, com células alongadas e de paredes finas, quando observada em secção paradérmica. Na região da base e do bordo do fruto, a cutícula é mais espessa e apresenta ondulações, a epiderme também é uniestratificada, seguida de quatro a cinco camadas de parênquima com densos agrupamentos de esclereídes, geralmente associados aos feixes vasculares. Estes esclereídes apresentam paredes espessadas e pontoações distintas. As sementes apresentam testa com paredes espessadas, formada por células em paliçada e de lúmen estreito, coberta por cutícula espessa; o endosperma é formado por células poliédricas, a camada mais externa em paliçada e as camadas mais internas esponjosas, com paredes mucilaginosas.

### C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração esverdeada clara; fibras esclerenquimáticas libriformes e cristais isolados no pó; porções de células parenquimáticas, fragmentos de elemento de vaso com espessamento escalariforme, paredes terminais simples, retas e oblíquas, com prolongamentos curtos; fragmentos de fibras em camadas cruzadas; cristais de oxalato de cálcio presentes nas fibras em camadas cruzadas.

**D.** Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*.

*Fase estacionária:* sílica-gel F<sub>254</sub>, com espessura de 250 µm.

*Fase móvel:* acetato de etila, álcool propílico, água e ácido acético glacial (40:40:30:1).

*Solução amostra:* adicionar 0,5 g da droga moída em 5 mL da mistura de etanol e água (1:1). Aquecer à ebulição. Filtrar.

*Solução referência:* dissolver 2,5 mg de senosídeo A e 2,5 mg de senosídeo B em 1 mL de metanol e 1 mL de água, aquecer ligeiramente, se necessário.

*Procedimento:* aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de hidróxido de potássio a 5% (p/v) até o aparecimento de zonas de colorações.

*Resultados:* no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Senosídeo A: zona de coloração castanho avermelhada	Zona de coloração castanho avermelhada
Senosídeo B: zona de coloração castanho avermelhada	Zona de coloração castanho avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

## TESTES

**Metais pesados (5.4.5).** Cumpre o teste.

**Matéria estranha (5.4.1.3).** No máximo 2%.

**Água (5.4.1.4).** *Método gravimétrico.* No máximo 12%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 9%.

**Contagem do número total de micro-organismos mesófilos (5.5.3.1.2).** Cumpre o teste.

**Pesquisa de micro-organismos patogênicos (5.5.3.1.3).** Cumpre o teste.

**Aflatoxinas (5.4.4).** Cumpre o teste.

**Resíduos de agrotóxicos (5.4.3).** Cumpre o teste.

## DOSEAMENTO

### Derivados hidroxiantracênicos

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

*Solução estoque:* pesar, com exatidão, cerca de 1,0 g da droga pulverizada (425 µm) (5.2.11) em balão de fundo redondo com boca esmerilhada. Adicionar 30 mL de solução de etanol a 70% e misturar. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Após resfriamento filtrar em algodão para balão volumétrico de 100 mL. Retornar o resíduo da droga e o algodão para o balão de fundo redondo, adicionar 30 mL de etanol a 70% e aquecer novamente, sob refluxo, durante 15 minutos. Filtrar novamente em algodão para o balão volumétrico de 100 mL. Retornar novamente o resíduo da droga e o algodão para o balão de fundo redondo, adicionar 30 mL de solução de etanol a 70% (v/v), aquecer sob refluxo, durante 15 minutos e filtrar para o balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume do balão volumétrico de 100 mL com etanol a 70% (v/v) e homogeneizar.

*Solução amostra:* transferir alíquota de 30 mL da *Solução estoque* para um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 2 M e levar à manta aquecedora, sob refluxo, durante 15 minutos. A seguir, transferir para um funil de separação e extrair com três porções de 15 mL de clorofórmio. Reunir a fase clorofórmica e lavar com 50 mL de água. Evaporar a fase clorofórmica em cápsula de porcelana até *secura* em banho-maria. Suspender o resíduo em etanol e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Lavar a cápsula de porcelana várias vezes e transferir o resíduo obtido para o balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com etanol e homogeneizar. Transferir alíquota de 4 mL para balão volumétrico de 10 mL, adicionar 2 mL de hidróxido de amônio concentrado, completar o volume com etanol e homogeneizar.

*Procedimento:* Determinar a absorvância da *Solução amostra* em 515 nm, após 45 minutos da adição do hidróxido de amônio concentrado. Utilizar a *Solução amostra* sem adição de hidróxido de amônio concentrado para ajuste do zero. Calcular o teor de derivados hidroxiantracênicos expressos como senosídeo B, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TDH} = \frac{A_a \times 2,27}{m}$$

em que,

TDH = teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B % (p/p);

$A_a$  = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

$m$  = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água em drogas vegetais.

### Senosídeo A e senosídeo B

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,9 mL/minuto.

*Fase móvel (1)*: água e ácido trifluoracético (100:0,08).

*Fase móvel (2)*: acetonitrila.

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 – 12	86	14	isocrático
12 – 19	86 → 77	14 → 23	gradiente linear
19 – 28	77 → 70	23 → 30	gradiente linear
28 – 31	70 → 0	30 → 100	gradiente linear
31 – 33	0	100	isocrático

*Solução amostra*: pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da droga seca e moída e colocar em tubo de centrífuga. Adicionar 5 mL de solução de bicarbonato de sódio a 0,05% (p/v) e levar ao banho de ultrassom durante 10 minutos. Centrifugar durante 20 minutos a 2000 rpm. Transferir o sobrenadante, filtrando-o em algodão, para balão volumétrico de 5 mL. Completar o volume com bicarbonato de sódio a 0,05% (p/v) e homogeneizar. Filtrar o sobrenadante em unidade filtrante de 0,45 µm. Diluir 50 µL da solução resultante em 150 µL de água.

*Solução referência estoque*: dissolver 2 mg da mistura de senosídeo A e senosídeo B (40:60) em balão volumétrico de 5 mL com metanol a 50% (v/v).

*Curva analítica (1)* (para o senosídeo A): a partir da *Solução referência estoque* construir curva analítica para o senosídeo A em metanol a 50% (v/v), com no mínimo cinco concentrações, na faixa entre 45 µg/mL e 85 µg/mL.

*Curva analítica (2)* (para o senosídeo B): a partir da *Solução referência estoque* construir curva analítica para o senosídeo B em metanol a 50% (v/v), com no mínimo cinco concentrações, na faixa entre 100 µg/mL a 150 µg/mL.

*Procedimento*: injetar, separadamente, 10 µL de cada solução da *Curva analítica (1)* e da *Curva analítica (2)*, e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de senosídeo A e senosídeo B em mg/g de droga vegetal segundo a expressão:

$$TS = \frac{C_a \times FD \times P}{1000 \times m}$$

em que,

TS = teor de senosídeo A ou B (mg/g);

$C_a$  = concentração do senosídeo A ou B ( $\mu\text{g/mL}$ ) encontrada na *Solução amostra* a partir das curvas analíticas;

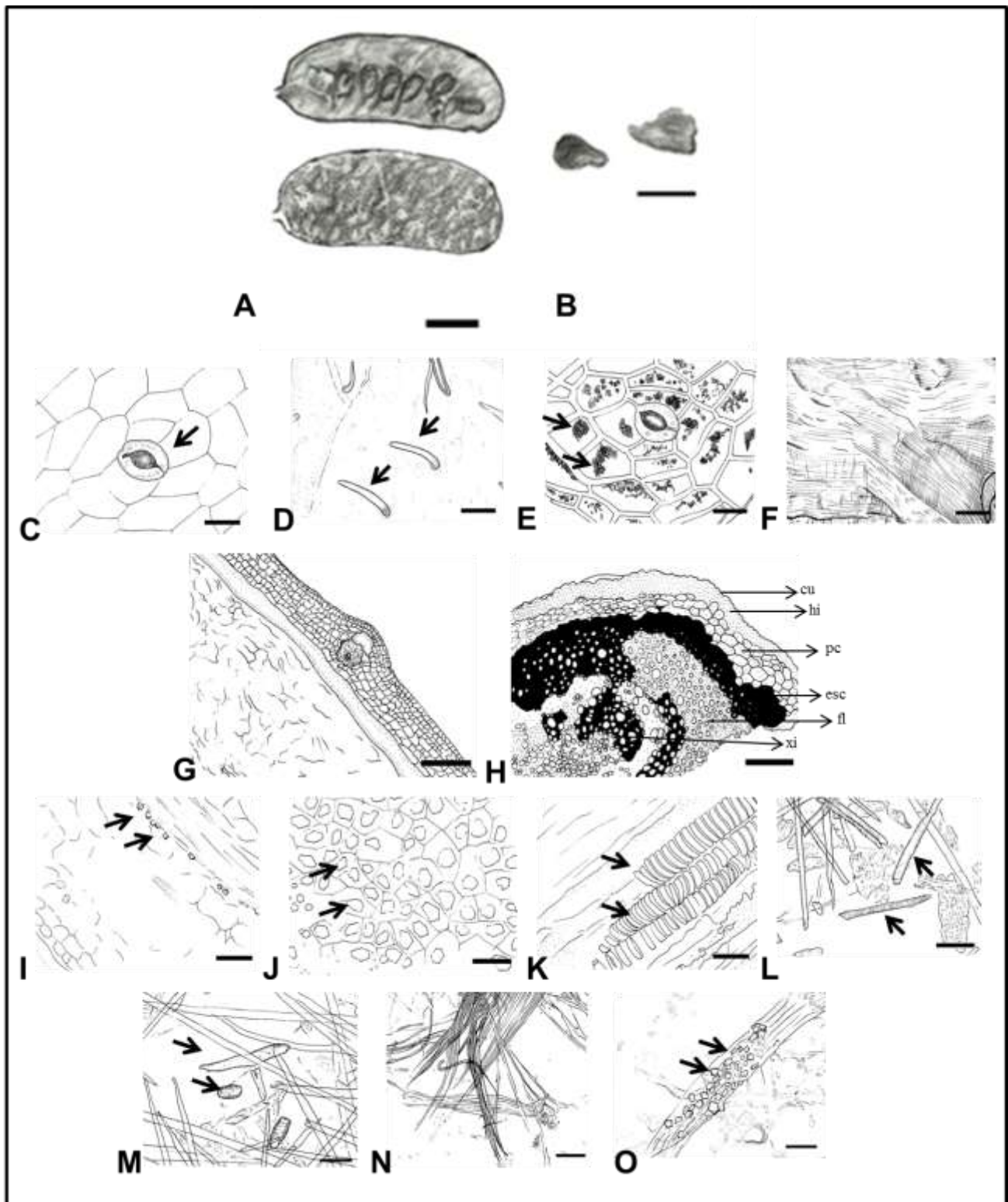
$m$  = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação;

P = pureza percentual declarada da substância de referência; e

FD = fator de diluição (20)

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.



**Figura 1** – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; **B** a 0,5 cm; **C**, **D** e **E** a 25  $\mu$ m; **F**, **G** e **H** a 100  $\mu$ m; **I**, **J**, **K**, **L**, **M**, **N** e **O** a 25  $\mu$ m. **A** - aspecto geral do fruto: legumes dessecados de formato reniforme, em vista interna e vista externa. **B** - detalhe geral das sementes. **C** - detalhe da secção paradérmica do fruto mostrando estômato do tipo anomocítico (seta). **D** - detalhe da secção paradérmica do fruto, mostrando tricomas tectores unicelulares (setas). **E** - detalhe da secção paradérmica do fruto, com grãos de amido nas células epidérmicas (setas). **F** - detalhe da secção paradérmica do fruto, com fibras em camadas cruzadas. **G** - detalhe da secção transversal do fruto, mostrando o mesofilo com parênquima fundamental e feixe vascular. **H** - detalhes da secção transversal do fruto na região do bordo; cutícula (cu); esclereídes (esc); floema (fl); hipoderme (hi); parênquima cortical (pc); xilema (xi). **I** - detalhe da secção transversal do fruto mostrando a presença de cristais prismáticos de oxalato de cálcio (setas). **J** - detalhe da secção transversal do fruto mostrando cristais prismáticos (setas).

**K** - detalhe da secção longitudinal do fruto, mostrando elementos de vaso (setas). **L - O** - detalhes observados no pó. **L** - fragmentos de fibras esclerenquimáticas (setas). **M** - fragmentos de células parenquimáticas e de elemento de vaso. **N** - fragmentos de fibras em camadas cruzadas. **O** - cristais de oxalato de cálcio nas fibras em camadas cruzadas (setas).

## **TOMILHO, óleo** *Thymus vulgaris aethaeroleum*

O óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de partes aéreas floridas de *Thymus vulgaris* L.

### **CARACTERÍSTICAS**

Líquido fluído, límpido, de coloração amarela a castanho-avermelhado, muito escuro e de odor aromático, picante, lembrando o do timol.

### **IDENTIFICAÇÃO**

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1).

*Fase estacionária*: sílica gel F<sub>254</sub> (250 µm).

*Fase móvel*: tolueno e acetato de etila (95:5).

*Solução amostra*: dissolver 0,2 g da amostra em pentano, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

*Solução referência*: dissolver 0,15 g de timol, 25 mg de  $\alpha$ -terpineol, 40 µL de linalol, 10 µL de carvacrol em pentano, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

*Procedimento*: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos. Examinar sob a luz do dia.

*Resultados*: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e com a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.