

PITANGUEIRA

Eugenia folium

Eugenia uniflora L. – MYRTACEAE

A droga vegetal é constituída pelas folhas secas da espécie, contendo no mínimo, 5,0% de taninos, 1,0% de flavonoides totais, expressos em quercetina; e, 0,8% de óleos voláteis. O óleo volátil é constituído de, no mínimo, 27,0% de carzerenos (cis e trans).

CARACTERÍSTICAS

Características organolépticas. As folhas secas apresentam odor cítrico e sabor picante.

DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

Folhas simples, ovais laceoladas, em geral com 4,5 cm a 6,2 cm de comprimento e 2,0 cm a 2,7 cm de largura, glabras, membranáceas a levemente coriáceas, com ápice agudo a acuminado, por vezes levemente falcado, base aguda a obtusa, margem inteira, penínervas, com nervura principal mais proeminente na região mediano basal da face abaxial. Nervação camptódromo-broquidódroma, cada nervura secundária partindo em ângulo agudo em relação à principal, anastomosando-se com sua superior subsequente, de modo a formar uma série de arcos nas proximidades do bordo foliar; as nervuras secundárias e de ordem superior determinam aréolas incompletas, com terminações vasculares livres. Pecíolo com 0,3 cm a 0,6 cm de comprimento. No material seco, a face adaxial da lâmina é verde escura e a abaxial mais clara. As glândulas, presentes na lâmina, dificilmente são visualizadas sem auxílio de lentes.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Folhas hipoestomáticas, de mesofilo dorsiventral. Em secção transversal, a lâmina foliar apresenta epiderme uniestratificada, recoberta por espessa camada de cutícula. Os estômatos são do tipo paracítico, ocorrendo na mesma altura que as células epidérmicas fundamentais. Estas, em ambas as faces, mostram dimensões variadas e paredes anticlinais sinuosas. Nas células-guarda o espessamento da face interna é proeminente, sendo visualizado na forma de alteres. O parênquima paliçádico é uniestratificado e acompanhado por células coletoras. As células em paliçada ocupam de 25,0% a 30,0% do mesofilo, sendo em geral, de dimensões menores na porção basal da lâmina. O parênquima esponjoso possui de sete a nove estratos de células com projeções braciiformes relativamente longas, o que permite a formação de amplos espaços intercelulares. No mesofilo são comuns idioblastos cristalíferos contendo cristais rômnicos de oxalato de cálcio e drusas, sendo estas mais abundantes especialmente junto aos feixes vasculares. Cavidades secretoras esquizolisígenas, em média com 60 µm de diâmetro, contendo gotas de óleo, são comuns subjacentes à epiderme, em ambas as faces

foliares, embora mais abundantes na face adaxial. As duas a quatro células epidérmicas que recobrem externamente a cavidade secretora apresentam paredes internas retas. O epitélio destas cavidades, em secção transversal, é formado por cinco a oito células. Na região da nervura principal, de contorno plano-convexo, ou raramente levemente côncavo-convexo ou biconvexo, ocorrem subjacentes à epiderme uma a três camadas de colênquima anelar com espessamentos tênues. O feixe vascular principal é do tipo biclateral, em arco aberto, envolto por dois a três estratos de células parenquimáticas de paredes espessadas, e uma bainha de fibras, exceto nas extremidades do arco. O floema apresenta abundância de cristais rômnicos de pequenas dimensões. As nervuras secundárias e as de menor calibre são colaterais, com calotas de fibras em ambos os pólos dos tecidos condutores. O pecíolo, de contorno côncavo-convexo, apresenta pequenas expansões laterais. A epiderme é uniestratificada, contendo substâncias de coloração castanha, também presente nas células do parênquima fundamental subjacente, colenquimatoso, o qual apresenta todas as suas células com tênues espessamentos em celulose. Cavidades secretoras, semelhantes às da lâmina, também estão presentes subepidêrmicamente. Grãos de amido, drusas e cristais ocorrem em abundância por todo o parênquima fundamental. O feixe vascular configura-se em arco aberto, biclateral, com abundância de cristais rômnicos no floema, envolto por quatro a oito camadas de tecido parenquimático de paredes espessadas, formando uma bainha perivascular. Fibras, isoladas ou em grupos de dois a três elementos, raramente estão presentes ao redor do feixe vascular.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DO PÓ

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos de epiderme da lâmina com paredes anticlinais sinuosas (face adaxial); fragmentos de epiderme com estômatos paracíticos; fragmentos da lâmina que, por transparência, permitem a visualização de cristais rômnicos, drusas em abundância e cavidades secretoras de aspecto brilhante devido à presença de gotas de óleo.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica-gel F₂₅₄, com espessura de 250 µm, como fase estacionária e mistura de acetato de etila, ácido fórmico e água (75:5:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 20 µL da *Solução* (1) e 10 µL da *Soluções* (2) e da *Solução* (3), recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar, exatamente, cerca de 10 g da droga moída, acrescentar 100 mL de água e aquecer sob refluxo por 15 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida em algodão, sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 25 mL de acetato de etila em funil de separação de 125 mL. Deixar em repouso em freezer a temperatura de -18 °C durante 15 minutos, para total separação das fases. Reunir e filtrar as frações orgânicas com 5 g de sulfato de sódio anidro.

Evaporar a fração orgânica em evaporador rotatório sob pressão reduzida até resíduo. Ressuspender o resíduo com 1 mL de metanol.

Solução (2): pesar cerca de 1 mg de epicatequina e dissolver em 2 mL de metanol.

Solução (3): pesar cerca de 1 mg de 4'-*O*-metilgalocatequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar em capela de exaustão. Nebulizar a placa com solução de cloreto férrico a 1% (p/v) em metanol. O cromatograma obtido com a *Solução (1)* apresenta duas manchas de coloração cinza azulada, na mesma altura que as verificadas nos cromatogramas obtidos com a *Solução (2)* e a *Solução (3)* (Rf de aproximadamente 0,85 e 0,87, respectivamente), no quadrante central são observadas duas manchas de coloração castanho azulada.

B. Para a identificação de curzerenos, proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de espectrometria de massas; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com propilenoglicol, com espessura do filme de 0,25 µm; temperatura da coluna de 60 °C a 250 °C, a 3 °C por minuto (total de 80 minutos), temperatura do injetor a 220 °C e temperatura do detector a 230 °C; utilizar hélio a uma pressão de 80 kpa como gás de arraste com fluxo de 1 mL/minuto. Utilizar mistura de nitrogênio, ar sintético e hidrogênio (1:1:10) como gases auxiliares.

Solução amostra: diluir o óleo volátil em éter etílico (2:100).

Procedimento: injetar 1 µL da *Solução amostra* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Os isômeros do curzereno devem apresentar tempo de retenção relativo de aproximadamente 1845.

Calcular o Índice de Retenção (IK), segundo a expressão:

$$IK = 100 \times n + \frac{100 \times (t_{r_x} - t_{r_z})}{(t_{r_{z+1}} - t_{r_z})}$$

em que

n = número de átomos de carbono do alcano de menor peso molecular;

t_{r_x} = tempo de retenção do composto "x" (intermediário a t_{r_z} e $t_{r_{z+1}}$);

t_{r_z} = tempo de retenção do alcano com "n" carbonos;

$t_{r_{z+1}}$ = tempo de retenção do alcano com "n + 1" carbonos.

C. Aquecer, sob refluxo, cerca de 3 g da droga pulverizada com 60 mL de água destilada durante 15 minutos. Esfriar e filtrar. A 2 mL do extrato adicionar duas gotas de ácido clorídrico SR e gotejar gelatina SR. O aparecimento de precipitado nítido indica reação positiva para taninos.

D. A 2 mL do extrato obtido no teste **B.** de *Identificação*, adicionar 10 mL de água e duas a quatro gotas de solução de cloreto férrico a 1% (p/v) em etanol. O desenvolvimento de coloração cinza-escuro indica reação positiva para taninos.

E. A 2 mL do extrato obtido no teste **B.** de *Identificação*, adicionar 0,5 mL de vanilina a 1% (p/v) em metanol e 1 mL de ácido clorídrico. O desenvolvimento de coloração vermelha indica reação positiva para taninos.

F. A 5 mL do extrato obtido no teste **B.** de *Identificação*, adicionar 10 mL de ácido acético 2 *M* e 5 mL de acetato de chumbo SR. O aparecimento de precipitado esbranquiçado, indica presença de taninos.

G. A 5 mL do extrato obtido no teste **B.** de *Identificação*, adicionar pequenos fragmentos de magnésio metálico e 1 mL de ácido clorídrico. O aparecimento de coloração vermelha indica a presença de agliconas flavonoídicas.

ENSAIOS DE PUREZA

Material estranho (5.4.2.2). No máximo 2,0%.

Água (5.4.2.3). No máximo 10,0%.

Cinzas totais (5.4.2.4). No máximo 11,0%.

Cinzas sulfatadas (5.4.2.6). No máximo 14,0%.

DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ESPUMA (IE)

Transferir exatamente cerca de 1 g da droga vegetal moída (180 µm), para erlenmeyer contendo 50 mL de água fervente. Manter sob fervura moderada durante 15 minutos. Resfriar, filtrar em algodão para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume, através do filtro, até 100 mL. Distribuir o decocto obtido em 10 tubos de ensaio com tampa (16 mm de diâmetro por 16 cm de altura), em uma série sucessiva de 1 mL, 2 mL, 3 mL, até 10 mL, e ajustar o volume do líquido em cada tubo a 10 mL com água. Tampar os tubos e agitá-los vigorosamente com movimentos verticais por 15 segundos, com duas agitações por segundo. Deixar em repouso por 15 minutos e medir a altura da espuma. Após, adicionar em cada tubo 1 mL de ácido clorídrico 2 *M*. Se a altura da espuma de todos os tubos for inferior a 1 cm, o índice de espuma é menor do que 100. Se, em qualquer um dos tubos, a altura da espuma medida permanecer igual ou superior a 1 cm, a diluição do material vegetal nesse tubo (A) é o índice observado. Calcular o índice de espuma (IE), segundo a expressão:

$$IE = \frac{1000}{A}$$

em que

A = volume (mL), do decocto usado para preparação da diluição no tubo o qual a espuma foi observada.

O IE para o decocto deve ser no mínimo de 125.

DOSEAMENTO

Taninos totais

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

Solução estoque: pesar exatamente cerca de 0,75 g da droga pulverizada (250 µm) e transferir para um erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água destilada. Aquecer em banho-maria durante 30 minutos à temperatura de 60 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o erlenmeyer e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo de droga vegetal para o mesmo balão volumétrico. Completar o volume com água destilada. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água destilada. Transferir volumetricamente 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água destilada para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: para 10 mL do filtrado adicionar 0,1 g de pó de pele SQR e agitar mecanicamente em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Diluir 5 mL desse filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água destilada. Transferir volumetricamente 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água destilada para ajuste do zero.

Solução padrão: dissolver imediatamente antes do uso 50 mg de pirogalol em balão volumétrico de 100 mL com água destilada. Transferir volumetricamente 5 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada. Transferir volumetricamente 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água destilada para ajuste do zero.

Calcular o teor em porcentagem de taninos (droga seca), expressos em pirogalol, segundo a expressão:

$$TT = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_1}$$

em que

A_1 = absorvância da *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância da *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos em pó de pele*;

A_3 = absorvância da *Solução padrão*;

m_1 = massa da amostra utilizada no ensaio (g), considerando a determinação de água;

m_2 = massa de pirogalol (g).

Flavonoides totais

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

Solução estoque: pesar, exatamente, cerca de 0,4 g de droga moída (240 µm), e transferir para um balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 1 mL de solução de metenamina a 0,5% (p/v) em água, 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer sobre manta de aquecimento, mantendo sob refluxo, por 30 minutos. Filtrar através de pequena quantidade de algodão para um balão volumétrico de 100 mL. Lavar o resíduo da droga e o algodão, no mesmo balão de fundo redondo, com 20 mL acetona. Manter sob refluxo, por 10 minutos, e filtrar em algodão para o mesmo balão volumétrico de 10 mL. Repetir essa operação mais uma vez. Resfriar à temperatura ambiente, e completar o volume com acetona. Transferir 20 mL de solução acetônica, para funil de separação (125 mL), 20 mL de água destilada e extrair com uma porção de 15 mL de acetato de etila, repetir a extração por três vezes, com porções de 10 mL de acetato de etila. Reunir as fases acetato de etila e lavar em funil de separação com duas porções de 50 mL de água destilada. Transferir a fase acetato de etila para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com acetato de etila.

Solução amostra: transferir volumetricamente 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL da solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em metanol, completar o volume com solução metanólica de ácido acético a 5% (v/v).

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução metanólica de ácido acético a 5% (v/v).

Medir a absorvância da *Solução amostra* a 425 nm, em cubeta com 1 cm de espessura, 30 minutos após seu preparo, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor flavonoides totais, expressos em quercetina, na amostra segundo a expressão. Considerar a absorvidade específica da quercetina como $A(1\%, 1 \text{ cm}) = 500$.

$$Q = \frac{Abs \times 62\,500}{500 \times m \times (100 - Pd)}$$

em que

Abs = absorvância da *Solução amostra*;

m = massa da droga (g);

Pd = perda por dessecação (%; p/p).

Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.2.7)*. Utilizar balão de 1000 mL contendo 500 mL de água destilada como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno, que deve ser introduzido pela abertura lateral K. Utilizar planta seca rasurada e não

contundida. Proceder à determinação de óleo volátil, a partir de 100 g da droga rasurada. Destilar durante quatro horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz e do calor

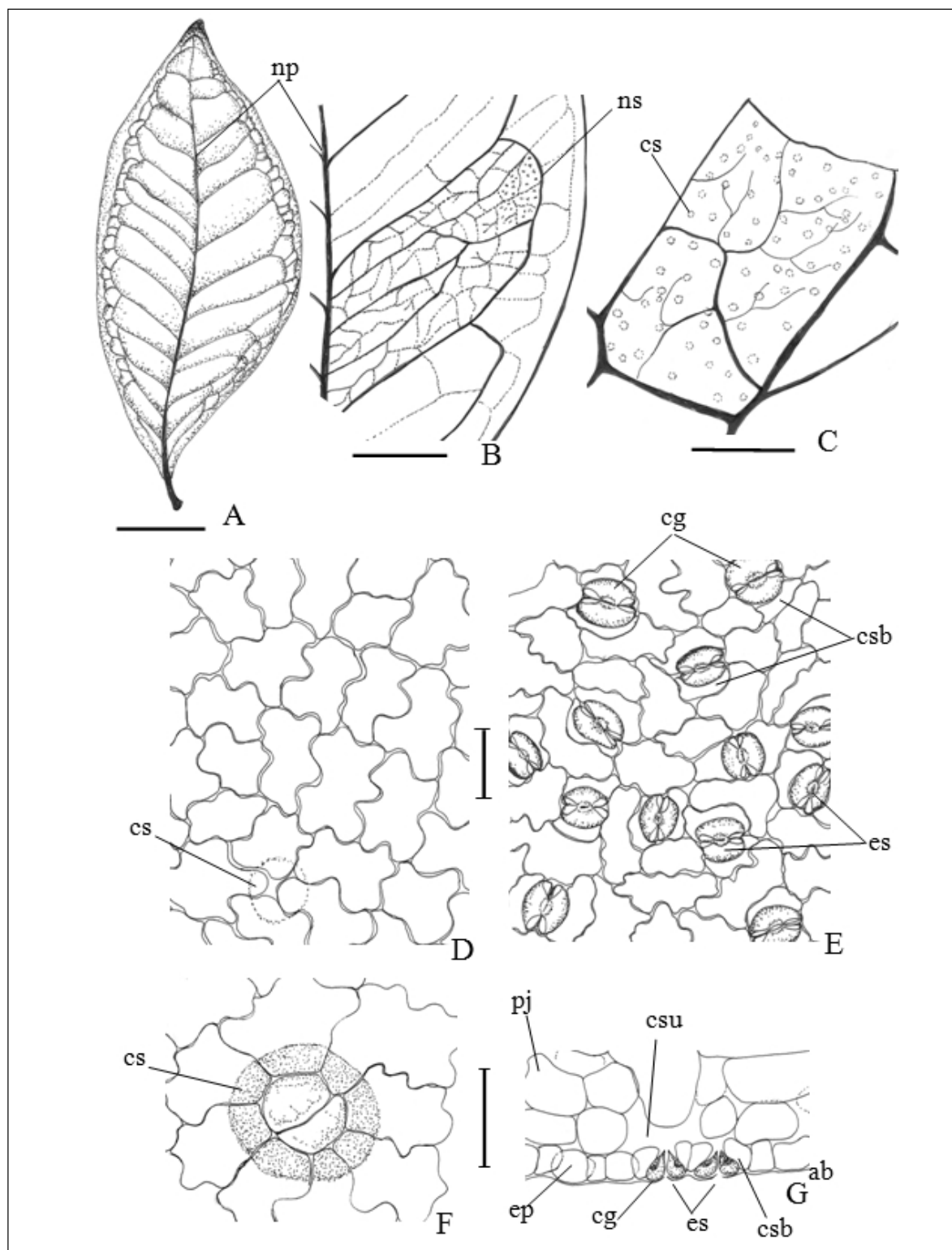


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Eugenia uniflora* L.

Complemento da legenda da **Figura 1**. As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B** a 5 mm; em **C** a 1 mm; em **D**, **E**, **F** e **G** a 50 μ m.

A – representação esquemática da folha, em vista frontal: nervura principal (np). **B** – detalhe esquemático de porção da lâmina mostrando a nervação foliar: nervura principal (np); nervura secundária (ns). **C** – detalhe esquemático de aréolas e terminações vasculares: cavidade secretora (cs). **D** e **E** – detalhes parciais da face adaxial e abaxial da lâmina foliar, respectivamente, em vista frontal: cavidade secretora (cs); célula-guarda (cg); célula subsidiária (csb); estômato (es). **F** – detalhe parcial da face adaxial da lâmina foliar, em vista frontal, mostrando uma cavidade secretora visualizada por transparência: estômato (es). **G** – detalhe parcial da lâmina, em secção transversal, mostrando complexos estomáticos geminados: parênquima esponjoso (pj); câmara subestomática (csu); face abaxial (ab); célula subsidiária (csb); estômato (es); célula-guarda (cg); epiderme (ep).

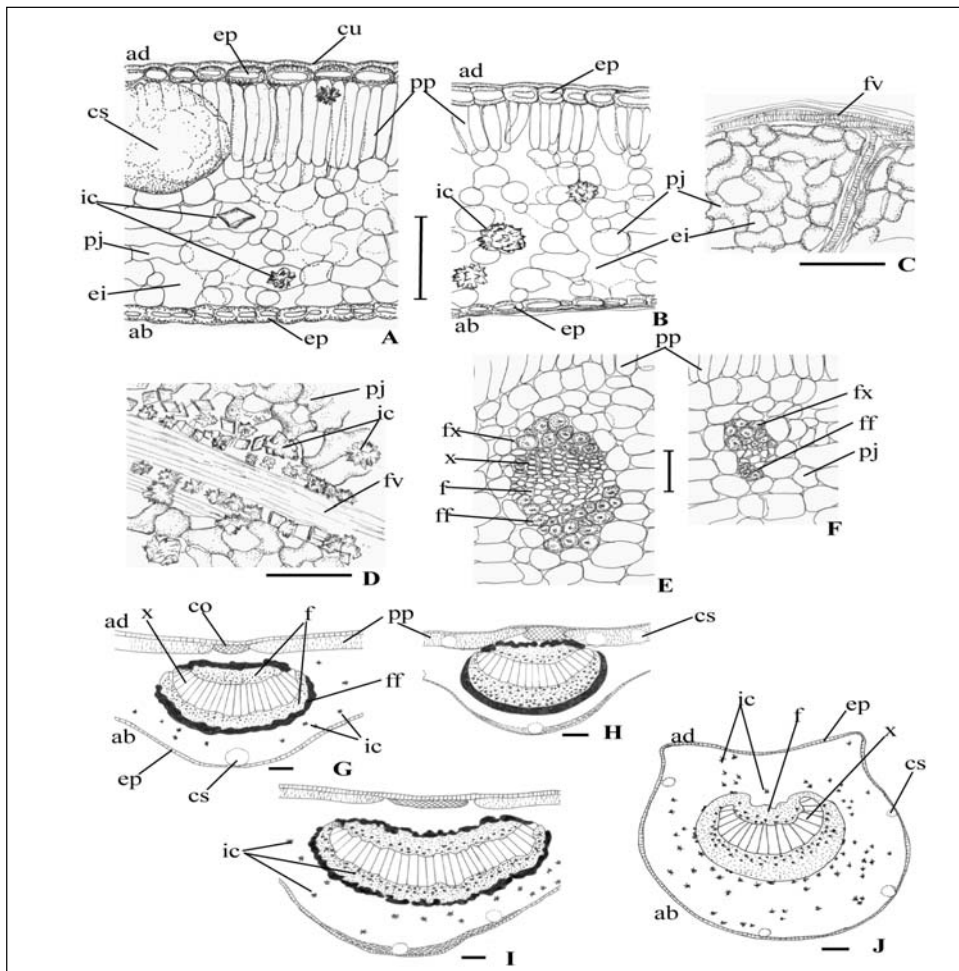


Figura 2 – Aspectos microscópicos em *Eugenia uniflora* L.

Complemento da legenda da **Figura 2**. As escalas correspondem em **A e B** a 100 µm; em **C, D, E e F** a 50 µm; em **G, H e I** a 100 µm; em **J** a 200 µm.

A e B – detalhes parciais do mesofilo de diferentes amostras, em secções transversais: face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); cutícula (cu); cavidade secretora (cs); idioblasto cristalífero (ic); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); espaço intercelular (ei). **C e D** – fragmentos do pó mostrando detalhes do parênquima esponjoso: parênquima esponjoso (pj); espaço intercelular (ei); feixe vascular (fv); idioblasto cristalífero (ic). **E e F** – detalhes parciais, em secções transversais, de um nervura secundária e uma terciária, respectivamente: parênquima paliçádico (pp); fibras do xilema (fx); xilema (x); floema (f); fibras do floema (ff); parênquima esponjoso (pj). **G, H e I** – diagramas da nervura principal, em secções transversais, nas regiões mediana (**G**) e basal de diferentes amostras (**H e I**): face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); xilema (x); colênquima (co); floema (f); parênquima paliçádico (pp); fibras do floema (ff); idioblasto cristalífero (ic); cavidade secretora (cs). **J** – diagrama, em secção transversal, do pecíolo: face abaxial (ab); face adaxial (ad); cavidade secretora (cs); epiderme (ep); floema (f); idioblasto cristalífero (ic); xilema (x).

PLASMA HUMANO PARA FRACIONAMENTO Plasma Humanum ad Separationem

Plasma humano para fracionamento é a parte líquida remanescente do sangue total após separação das frações celulares sanguíneas, utilizando sistema fechado de coleta de sangue apropriado que cumpra os requisitos exigidos para os recipientes de plásticos utilizados na coleta do sangue humano, contendo uma solução anticoagulante conservadora e preservadora ou separada por filtração contínua ou por centrifugação do sangue anticoagulado no procedimento de aférese para obtenção de produtos derivados do plasma humano.

DOADORES

Somente o plasma de um doador saudável e cuidadosamente selecionado que, após exames médicos, testes sanguíneos laboratoriais, estudo de sua história médica e isento de agentes infecciosos transmissíveis pelo plasma, pode ser aceito para coleta de seu plasma para fracionamento. Reportar-se à legislação vigente para produtos hemoterápicos.

Imunização dos doadores. Plasma proveniente de imunização deliberada de doadores para a obtenção de gamaglobulinas hiperimunes pode ser utilizado para fracionamento, quando quantidades suficientes desse material não puderem ser obtidas de doadores naturalmente imunizados. Recomenda-se que a imunização dos doadores