

PITANGUEIRA, folha *Eugeniae folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Eugenia uniflora* L., 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 curzerenos (cis e trans).

CARACTERÍSTICAS

As folhas secas apresentam odor cítrico

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, ovaladas a ovalado-lanceoladas, em geral com 4,5 a 6,2 cm de comprimento e 2,0 a 2,7 cm de largura, glabras, membranáceas a levemente coriáceas, de coloração verde escuro na face adaxial e verde mais claro na abaxial; lâmina com ápice agudo a acuminado, por vezes levemente falcado, base aguda a obtusa, margem inteira, penínervia, com nervura principal mais proeminente na 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 a 0,6 cm de comprimento. As glândulas, presentes na lâmina, dificilmente são visualizadas sem auxílio de lentes.

B. Descrição microscópica

Lâmina foliar de simetria dorsiventral, hipoestomática com estômatos paracíticos, cujas células-guarda mostram espessamento da face interna em forma de halteres. Em vista frontal, as paredes anticliniais das células epidérmicas são sinuosas em ambas as faces. Em secção transversal, a lâmina apresenta epiderme uniestratificada, recoberta por cutícula. O parênquima paliçádico é uniestratificado e acompanhado por células coletoras. O parênquima esponjoso possui de 7 a 9 estratos de células com projeções braciiformes relativamente longas. No mesófilo são comuns idioplastos com cristais rômnicos e drusas de oxalato de cálcio. Cavidades secretoras, contendo óleo volátil, são comuns subjacentes à epiderme, em ambas as faces foliares, embora mais abundantes na adaxial. Na nervura principal, de contorno plano-convexo, ou raramente côncavo-convexo ou biconvexo, ocorrem, subjacentes à epiderme, uma a 3 camadas de colênquima anelar. 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 acompanhadas por calotas de fibras em ambos os polos. 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. Cavidades secretoras, semelhantes às da lâmina, também estão presentes subepidêrmicamente. Grãos de amido, drusas e cristais ocorrem em abundância por todo o parênquima. 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

espassadas, formando uma bainha perivascular. Fibras, isoladas ou em grupos de dois a três elementos, raramente estão presentes ao redor do feixe vascular.

C. 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, sem estômatos; fragmentos de epiderme com estômatos paracíticos, mostrando o espessamento em halteres; fragmentos da lâmina mostrando parênquima paliçádico uniestratificado e/ou parênquima esponjoso com projeções brachiformes relativamente longas; fragmentos da lâmina contendo cristais rômnicos, drusas em abundância e cavidades secretoras de aspecto brilhante devido à presença de óleo volátil; drusas e cristais rômnicos isolados.

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (75:5:5).

Solução amostra: pesar, com exatidão, 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. Suspender o resíduo com 1 mL de metanol.

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

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de 4'-O-metilgalocatequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Soluções referência (1)* e 10 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar em capela de exaustão. Nebulizar a placa com solução de cloreto férrico a 1% (p/v) em metanol.

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	
4-O-Metilgalocatequina: zona de coloração cinza-azulado Epicatequina: zona de coloração cinza-azulado	Zona de coloração cinza-azulado Zona de coloração cinza-azulado Zona de coloração castanho-azulada Zona de coloração castanho-azulada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

E. 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, utilizando mistura de nitrogênio, ar sintético e hidrogênio (1:1:10) como gases auxiliares; 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. Utilizar hélio a uma pressão de 80 kpa como gás de arraste com fluxo de 1 mL/minuto.

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 63,33	60 → 250
Injetor		220
Detector		230

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

Procedimento: injetar volume de 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 Relativo (IRR), segundo a expressão:

$$IRR = 100 \times n + \frac{100 \times (tr_x - tr_z)}{(tr_{z+1} - tr_z)}$$

em que,

IK = Índice de Retenção Relativo;

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

tr_x = tempo de retenção do composto “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano com “n” carbonos; e
 tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n + 1” carbonos.

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 10,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 11,0%.

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.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Índice de espuma. Transferir, quantitativamente, cerca de 1 g da droga vegetal moída (180 μ m), pesada, com exatidão, 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 e homogeneizar. 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,

IE = índice de espuma;

A = volume em mililitros do decocto usado para preparação da diluição no tubo em que a espuma foi observada.

O IE para o decocto deve ser de, no mínimo, 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, com exatidão, 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. 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 e homogeneizar. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

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

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 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. Transferir, volumetricamente, 5 mL desse filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

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

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

em que,

TT = taninos totais % (p/p);

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

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

A_3 = absorvância da *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio, considerando a determinação de água; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

Flavonoides totais

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

Solução estoque: pesar, com exatidão, 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), 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer, sobre manta de aquecimento, mantendo sob refluxo, por 30 minutos. Filtrar em 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, completar o volume com acetona e homogeneizar. Transferir 20 mL dessa solução acetônica, para funil de separação (125 mL), 20 mL de água 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. Transferir a fase de acetato de etila para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com acetato de etila e homogeneizar.

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 de ácido acético a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

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

Procedimento: 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. Considerar a absorvidade específica da quercetina como $A(1\%, 1\text{ cm}) 500$. Calcular o teor de flavonoides totais, expressos em quercetina, na amostra, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TQ = \frac{A \times 62500}{500 \times m \times (100 - P)}$$

em que,

TQ = teor de quercetina %;

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas da droga; e

P = perda por dessecação % (p/p).

Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*. 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 recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.

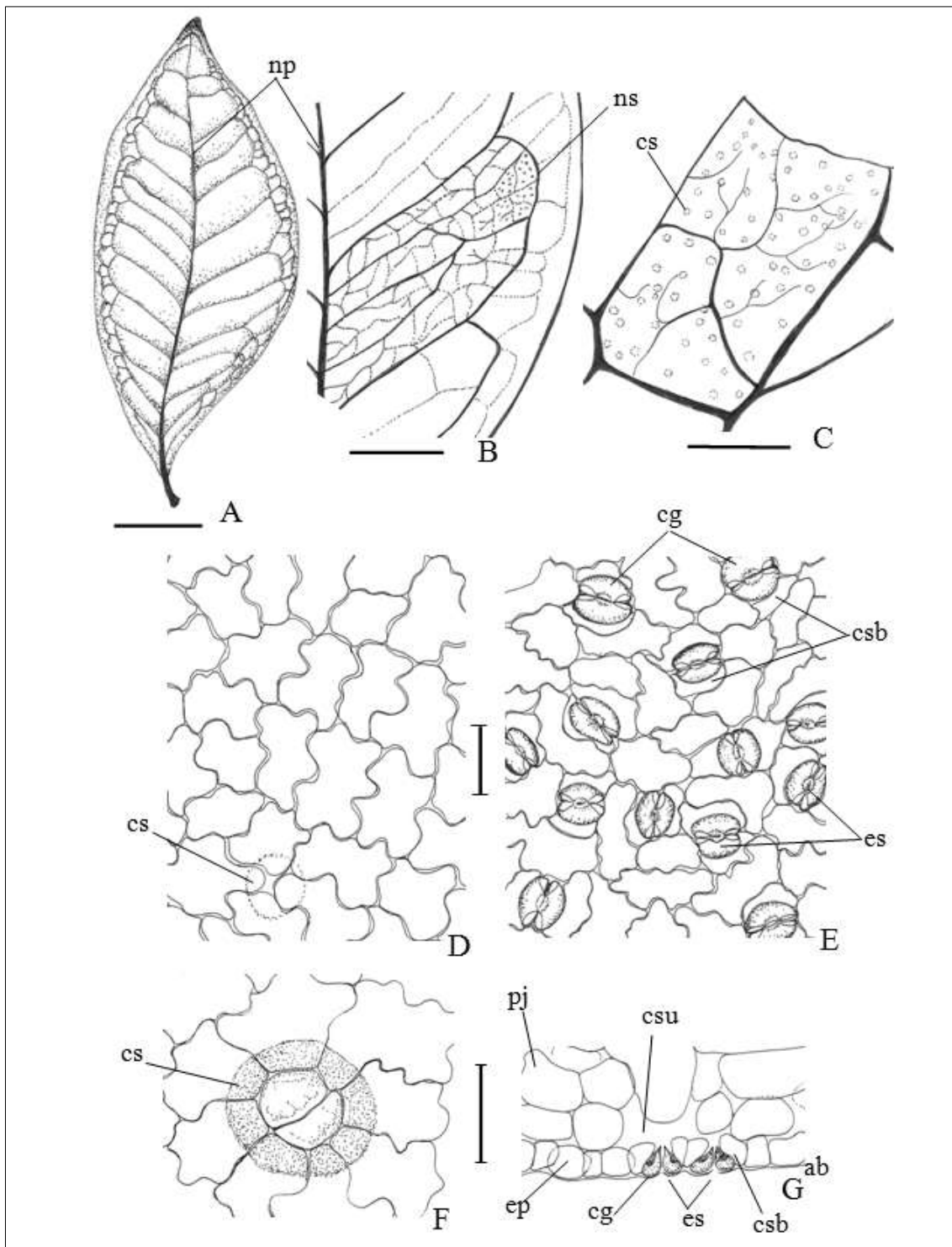


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Eugenia uniflora* L.

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).

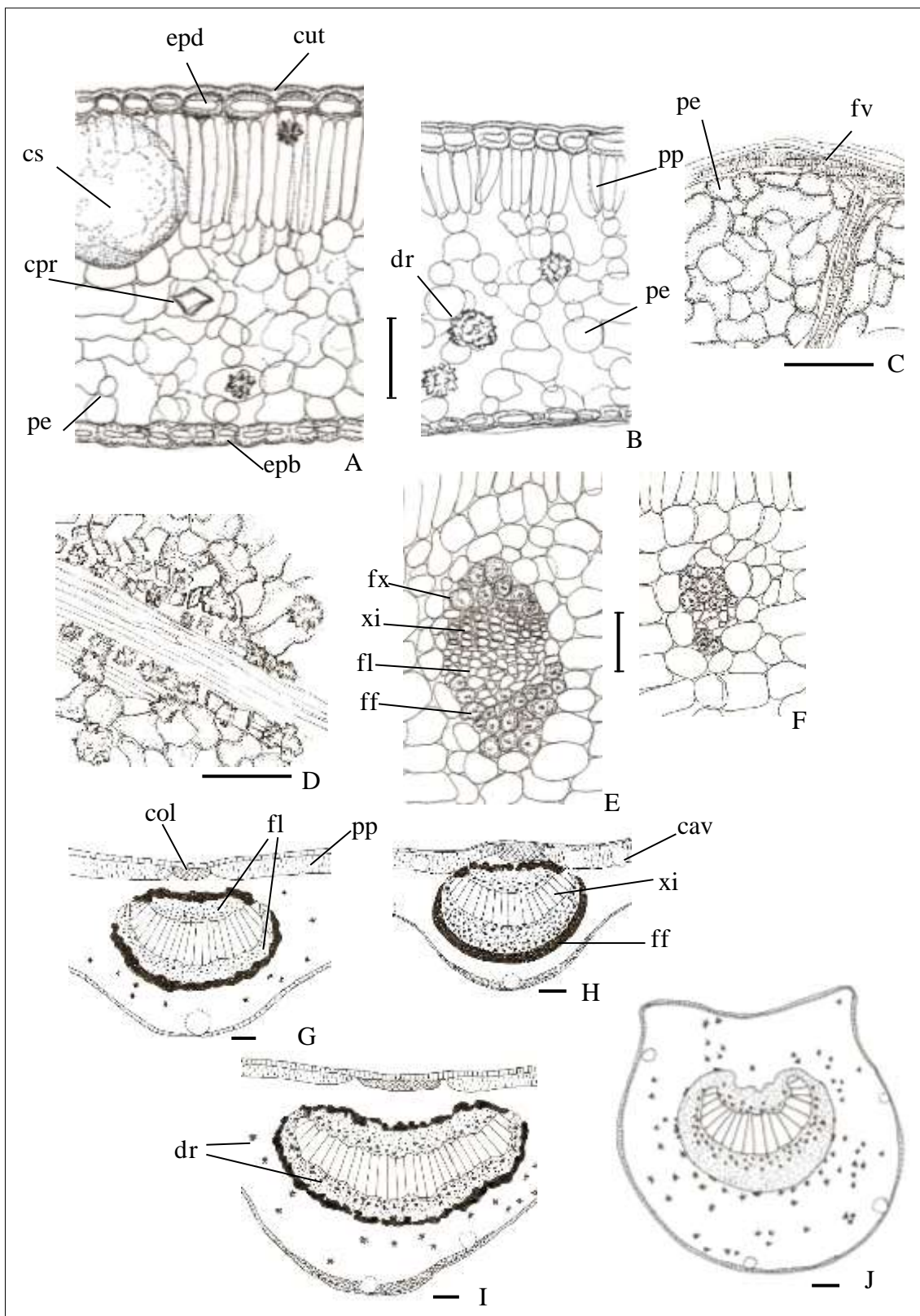


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pé em *Eugenia uniflora* L.

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 paliádico (pp); espaço intercelular (ei). **C e D** – fragmentos do pé 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 uma nervura secundária e uma terciária, respectivamente: parênquima paliádico (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).

POLÍGALA, raiz *Senegae radix*

A droga vegetal consiste de raízes e curto rizoma nodoso de *Polygala senega* L. e de seus cultivares, contendo, no mínimo, 6% de saponinas expressos em derivados do ácido oleanólico ($C_{30}H_{48}O_3$, 456,70).

CARACTERÍSTICAS

A raiz tem odor característico semelhante ao salicilato de metila; o pó é esternutatório; quando agitado com água produz espuma abundante.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A raiz é axial e fusiforme, um pouco tortuosa, às vezes ramificada ou bifurcada, apresentando na região apical um curto rizoma nodoso, subgloboso, fortemente alargado, com até 4 cm de largura, verrucoso, de coloração castanho-avermelhada, exibindo numerosos vestígios de caules aéreos, cuja presença não pode exceder 2% do peso total, cobertos ao nível de sua inserção por folhas rudimentares, escamosas, ovaladas, obtusas, com 2 a 3 mm de comprimento, frequentemente rosadas a arroxeadas, com bordos ciliados. Lateralmente, a raiz apresenta um apêndice em forma de quilha, disposto em toda a sua extensão, distribuído, geralmente, de maneira helicoidal. A raiz, abaixo do rizoma apical nodoso, tem em regra, de 5 a 20 cm de comprimento e de 0,5 a 1,2 cm de largura, podendo apresentar um pequeno número de raízes laterais. Sua superfície, de coloração castanho-amarelada e pardacenta na região superior e amarelada na inferior, é estriada, tanto longitudinal quanto transversalmente. Em secção transversal, observa-se o córtex amarelo-acastanhado, de espessura variada, circundando uma área central lenhosa, de coloração amarelo-clara, opaca, de forma mais ou menos circular, até irregular. Esta secção mostra uma estrutura predominantemente excêntrica, geralmente de forma oval ou piriforme, em virtude da presença da quilha. A forma da secção transversal é variável, inclusive em diferentes alturas no mesmo indivíduo. A fratura é lisa e nítida.

B. Descrição microscópica

Pelo exame microscópico da secção transversal da raiz, utilizando solução de hipoclorito de sódio a 3% (p/v), evidencia-se um súber de duas a seis camadas de células pardo-amareladas claras, alongadas tangencialmente, com paredes finas. A região cortical é formada por cerca de dez ou mais camadas de células, sendo as mais externas colenquimáticas e as demais parenquimáticas, as quais apresentam uma substância amorfa, incolor ou amarelo-clara, que se separa sob a forma de grandes gotas de óleo pela adição de uma gota de soluto de hidróxido de potássio. O câmbio forma um anel contínuo, produzindo tecidos de crescimento secundário anômalo, na maioria das vezes de disposição excêntrica. O floema apresenta células parenquimáticas que se distribuem de maneira radial e em seus