

## QUEBRA-PEDRA

### *Phyllanthus niruri herbae*

*Phyllanthus niruri* L. – EUPHORBIACEAE

A droga vegetal é constituída pelas folhas e ramos secos de *Phyllanthus niruri* e suas subespécies, *Phyllanthus niruri* ssp. *niruri* L. e *Phyllanthus niruri* ssp. *lathyroides* (Kunth) G.L. Webster, contendo, no mínimo, 6,5% de taninos totais e 0,15% de ácido gálico.

#### SINONÍMIA VULGAR

Erva-pombinha.

#### CARACTERES ORGANOLÉPTICOS

Droga inodora; sabor amargo no início da mastigação, tornando-se suave posteriormente.

#### DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

Planta herbácea, glabra, com até 80 cm de altura, caules simples ou ramificados, os principais delgados e sem folhas, com ramos ou râmulos laterais filiformes, estes portando folhas. Folhas alternas dísticas, simples, membranáceas, glabras, oblongo-elípticas, de ápice atenuado, às vezes mucronado e base assimétrica, margem lisa; lâminas discolorées, face adaxial de cor verde-oliva e face abaxial verde-pálida a cinza-pálida. As folhas, quando observadas em conjunto, têm o aspecto de folhas compostas de pequenas leguminosas. Lâminas com 0,5 cm a 1,4 cm de comprimento e 0,3 cm a 0,6 cm de largura. Nervuras visíveis, não proeminentes, com exceção da nervura principal na face abaxial. Venação broquidódroma. Pecíolo de 0,05 cm a 0,1 cm de comprimento. Estípula interpecíolar triangular-lanceolada, de 0,1 cm a 0,2 cm de comprimento, com ápice longo e estreitamente agudo a acicular, de base inteira e margem lisa. Flores femininas, com até 0,4 cm de diâmetro, isoladas e axilares nos nós apicais, com cinco tépalas elípticas e disco inteiro, carnoso; ovário tricarpelar, trilobular, cada lóculo bispérmico; três estiletos, bifidos, com estigmas globosos; pedicelo com 0,1 cm a 0,4 cm de comprimento. Flores masculinas, com até 0,3 cm de diâmetro, em fascículos de uma a duas flores, dispostas nos nós basais, com cinco tépalas largo-ovoides, disco pentalobado, lobos carnosos e papilosos, e três estames com filetes conatos na base; pedicelos

com cerca de 0,2 cm de comprimento. Frutos esquizocárpicos, do tipo tricoca, depresso-globosos, expostos para a região abaxial dos ramos, separando-se em carpídios (cocas); exocarpo verde-oliva, membranáceo e endocarpo verrucoso, com 0,1 cm a 0,25 cm de diâmetro; duas sementes por lóculo, triangulares, com as duas faces ventrais retas e a face dorsal arredondada, verrucosa, verrugas proeminentes, com ápice agudo a arredondado; pedicelos cilíndricos, com cerca de 0,4 cm a 0,5 cm de comprimento na maturação; cálice persistente, membranáceo, desenvolvido, atingindo 2/3 da altura do fruto. As características macroscópicas das duas espécies, *Phyllanthus niruri* e *Phyllanthus tenellus*, são determinantes para distingui-las, uma vez que são muito similares quanto às características anatómicas para alguns órgãos vegetativos.

#### DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Em secção transversal, o caule em desenvolvimento secundário exibe epiderme uniestratificada, com estômatos. Subepidermicamente encontram-se uma ou mais camadas de células colenquimáticas com espessamento angular, interrompidas somente nas regiões das câmaras subestomáticas. Clorênquima formado por duas a quatro camadas de células isodiamétricas, com espaços intercelulares evidentes ou não e com amido. Mais internamente, ocorrem uma ou mais camadas de parênquima cortical, cujas células apresentam maior eixo no sentido periclinal. O floema é constituído externamente por agrupamentos de fibras de paredes muito espessas e lume reduzido. Drusas de oxalato de cálcio presentes no clorênquima, parênquima cortical, parênquima medular e em maior abundância no floema, sempre em células de maior tamanho do que as demais, abrangendo quase todo o volume da célula. Elementos de vaso, com disposição radial, alternam-se com uma ou mais fileiras de fibras xilemáticas e células parenquimáticas esclerificadas. Parênquima medular constituído por células isodiamétricas, de grande volume, com grandes espaços intercelulares. Em caules de maior diâmetro, pode ocorrer periderme, seguida de duas a três camadas clorênquimáticas, com grande quantidade de amido. O parênquima cortical mantém as mesmas características encontradas nos caules mais jovens. O floema apre-

senta pequena quantidade de amido, não se observando diferenças quanto ao seu desenvolvimento, comparando-se caules jovens e mais desenvolvidos. O maior desenvolvimento do xilema, comparado aos dois ramos mais jovens, é muito evidente, com consequente redução da área ocupada pelo parênquima medular. Nos raios parenquimáticos, observa-se a presença de amido e de compostos fenólicos. A folha é geralmente hipoestomática. Raramente são encontrados estômatos também na face adaxial, onde ocorrem sobre as nervuras de menor porte. Os estômatos são do tipo paracítico e, menos freqüentemente, anomocítico. Em vista frontal, as células da epiderme da face adaxial mostram contornos irregulares e paredes onduladas, podendo a ondulação ser mais expressiva nessa face do que na face abaxial. As ceras epicuticulares apresentam granulações. A cutícula é fina, tornando-se mais espessa na nervura principal. A epiderme é uniestratificada em ambas as faces, possui células fundamentais achatadas e algumas papilosas. As células fundamentais da face adaxial são de maiores dimensões do que as da face abaxial. Ocorrem cristais nesta camada celular. A simetria do mesofilo é dorsiventral. O parênquima paliçádico é uniestratificado, ocupando cerca de 2/3 da espessura do mesofilo, apresentando idioblastos cristalíferos do tipo drusas, em sua maioria. Cristais pequenos e de diferentes formas são comuns e raramente encontram-se cristais romboédricos. O parênquima esponjoso é constituído por duas a três camadas, apresentando células de contornos irregulares, cujo maior comprimento corresponde ao sentido periclinal. Cristais pequenos agregados e/ou isolados são comuns. Em secção paradrómica, evidencia-se o caráter bracriforme dessas células. Na nervura principal, o parênquima paliçádico pode distribuir-se continuamente ou ser interrompido por pequeno número de células clorenquimáticas ou ainda, por células colenquimáticas isodiamétricas. Nesta região, junto a epiderme abaxial, ocorre uma camada de colênquima angular, de paredes pouco espessas, podendo conter cloroplastos, seguido de tecido clorenquimático de células isodiamétricas, com poucos cloroplastos. O sistema vascular é do tipo colateral e formado por dois a seis raios. O floema possui pequeno número de células. O padrão de veenação é broquidódromo.

#### DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DAS IMPUREZAS

A raiz em crescimento secundário apresenta periderme formada por três a quatro camadas de células suberificadas, felogênio e feloderme. Abaixo deste tecido encontra-se o parênquima cortical, formado por três a seis estratos celulares. O floema apresenta fibras dispostas perifericamente. O xilema apresenta duas a quatro fileiras de fibras dispostas radi-

almente. Os raios parenquimáticos são ricos em amido. A região medular freqüentemente é ocupada pelo tecido xilemático. Cristais são comuns em todos os tecidos, sendo mais abundantes na região cortical e no parênquima medular; comumente são pequenos, isolados e/ou agregados, ocorrendo sob diferentes formas, geralmente drusas.

#### DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DO PÓ

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: presença de frutos depressoglobosos, carpídios (cocas) isolados e sementes como descritos; flores como descritas; cristais de oxalato de cálcio do tipo drusas; fragmentos de tecido epidérmico como descritos; fragmentos de tecidos foliares e caulinares como descritos; fragmentos de tecido vascular com elementos de vaso apresentando espessamentos anelados, espiralados ou pontoados, e fibras.

#### IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (V.2.17.1), utilizando sílica-gel G, com espessura de 0,25 mm, como suporte, e mistura de acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, em forma de banda, 10 µl da *solução* (1) e 5 µl da *solução* (2), recentemente preparadas, descritas a seguir.

*Solução* (1): transferir cerca de 0,75 g da droga moída para balão de fundo redondo, adicionar 10 ml de água e aquecer sob refluxo durante 15 minutos em manta aquecedora. Resfriar à temperatura ambiente e filtrar sob pressão reduzida. Transferir o filtrado para balão volumétrico de 10 ml e completar o volume com água. Concentrar esta solução à secura em banho-maria. Ressuspender o resíduo em 5 ml de metanol.

*Solução* (2): dissolver 5 mg de ácido gálico em 5 ml de metanol.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de cloreto férrico a 5% (p/V) em metanol. A mancha principal obtida no cromatograma com a *solução* (1), corresponde em posição e intensidade àquela obtida com a *solução* (2) (Rf de aproximadamente 0,70). A mancha correspondente ao ácido gálico apresenta coloração azul escura.

#### ENSAIOS DE PUREZA

**Material estranho** (V.4.2.2). No máximo 2%, correspondente às raízes.

Água (V.4.2.3). No máximo 10%.

Cinzas totais (V.4.2.4). No máximo 6%.

#### DOSEAMENTO

##### Taninos totais

*Solução mãe:* pesar, exatamente, cerca de 0,75 g da droga moída, transferir para balão de fundo redondo e adicionar 150 ml de água. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos, em temperatura entre 80 °C e 90 °C. Resfriar em água corrente, transferir a mistura para balão volumétrico de 250 ml e completar o volume com água. Deixar decantar o sedimento e filtrar, desprezando os primeiros 50 ml do filtrado.

*Polifenóis totais:* transferir 5 ml da *solução mãe* para balão volumétrico 25 ml e completar o volume com água. A 5 ml desta solução, adicionar 2 ml de reagente de Folin-Denis e diluir para 50 ml com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução ( $A_1$ ) em 715 nm (V.2.14), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

*Polifenóis não adsorvidos pelo pó-de-pele:* adicionar 0,2 g de pó-de-pele a 20 ml da *solução mãe* e agitar, mecanicamente, durante 60 minutos. Filtrar. Diluir 5 ml dessa solução para 25 ml com água. A 5 ml desta solução, adicionar 2 ml do reagente de Folin-Denis e diluir para 50 ml com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução ( $A_2$ ) em 715 nm (V.2.14), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

*Solução referência:* dissolver 50 mg de pirogalol em água e diluir a 100 ml com o mesmo solvente. Diluir 5 ml desta solução para 100 ml com água. A 5 ml desta solução, adicionar 2 ml de reagente de Folin-Denis e diluir para 50 ml com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução ( $A_3$ ) em 715 nm (V.2.14), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente e dentro de 15 minutos contados da dissolução do pirogalol, utilizando água como branco.

Calcular o teor de taninos totais pela expressão:

$$TT = \frac{13,12 \times (A_1 - A_2)}{A_3 \times m}$$

em que

TT = taninos totais;

$A_1$  = absorvância medida para polifenóis totais;

$A_2$  = absorvância medida para polifenóis não adsorvidos;

$A_3$  = absorvância medida para a substância referência;

m = massa da droga vegetal considerando a determinação de água.

##### Ácido gálico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência* (V.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 275 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5  $\mu$ m); fluxo da fase móvel de 0,5 ml/minuto.

*Eluente A:* mistura de metanol, água e ácido trifluoroacético (30:70:0,05);

*Eluente B:* mistura de metanol e ácido trifluoroacético (100:0,05).

*Gradiente de fase móvel:* adotar sistema de gradiente linear, conforme tabela a seguir.

Tempo (minutos)	Eluente A (%)	Eluente B (%)
0	100	0
15	0	100
5	0	100

*Solução amostra:* pesar exatamente, cerca de 0,75 g da droga seca e moída (800  $\mu$ m) e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 10 ml de água, adaptar em condensador de refluxo e aquecer em manta à ebulição durante 15 minutos. Esfriar sob água corrente e filtrar o extrato sob pressão reduzida. Lavar o resíduo com água. Transferir o filtrado para balão volumétrico de 10 ml e completar o volume com água. Pipetar 4 ml desta solução para balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com água.

*Solução padrão:* dissolver quantidade exatamente pesada de ácido gálico padrão em metanol para obter solução a 1 mg/ml.

*Curva de calibração:* diluir uma alíquota de 175  $\mu$ l da *solução padrão* em balão volumétrico de 5 ml, completar o volume com metanol. Diluir esta solução à metade (*Solução mãe*). Alíquotas da solução mãe de 10, 20, 40, 60, 80  $\mu$ l são diluídas a 100  $\mu$ l com metanol, obtendo-se as seguintes concentrações teóricas: 1,8; 3,6; 7,2; 10,8; 14,4  $\mu$ g/ml.

*Procedimento:* injetar, separadamente, 20  $\mu$ l das *soluções padrão e amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. O tempo de retenção relativo é cerca de 6,5 minutos para o ácido gálico. Calcular o teor de ácido gálico na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva de calibração do ácido gálico. O resultado é expresso

pela média das determinações em gramas de ácido gálico por 100 gramas da droga considerando a determinação de água (%).

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, ao abrigo da luz, calor e umidade.

---

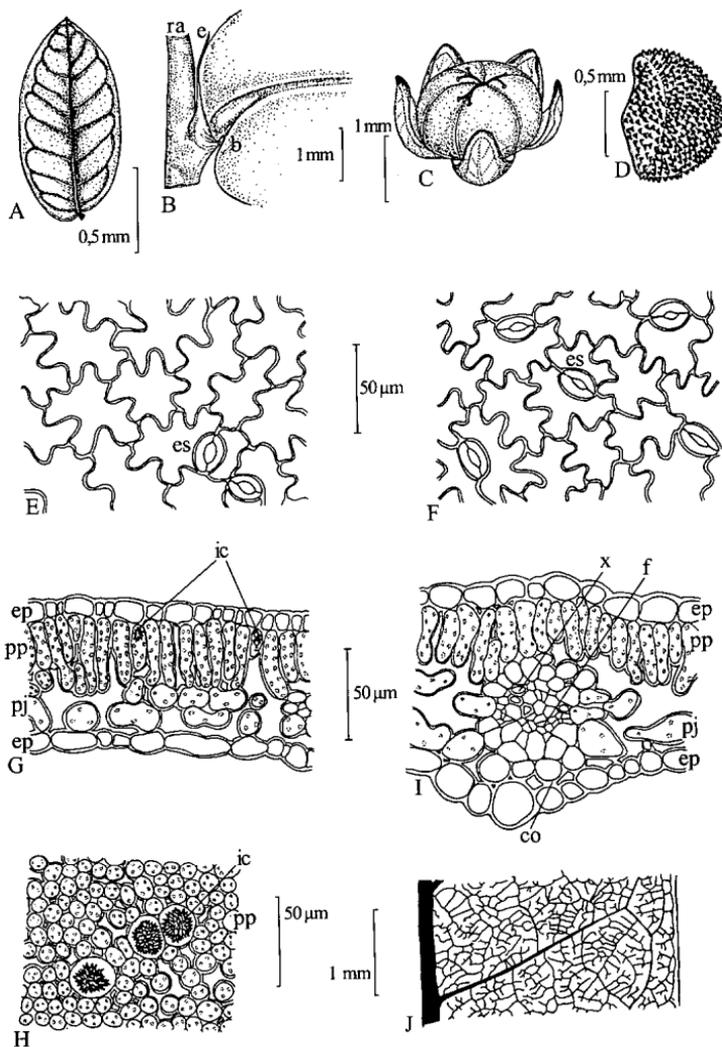
## XII.2. REAGENTES E SOLUÇÕES REAGENTES

### Carbonato de sódio SR

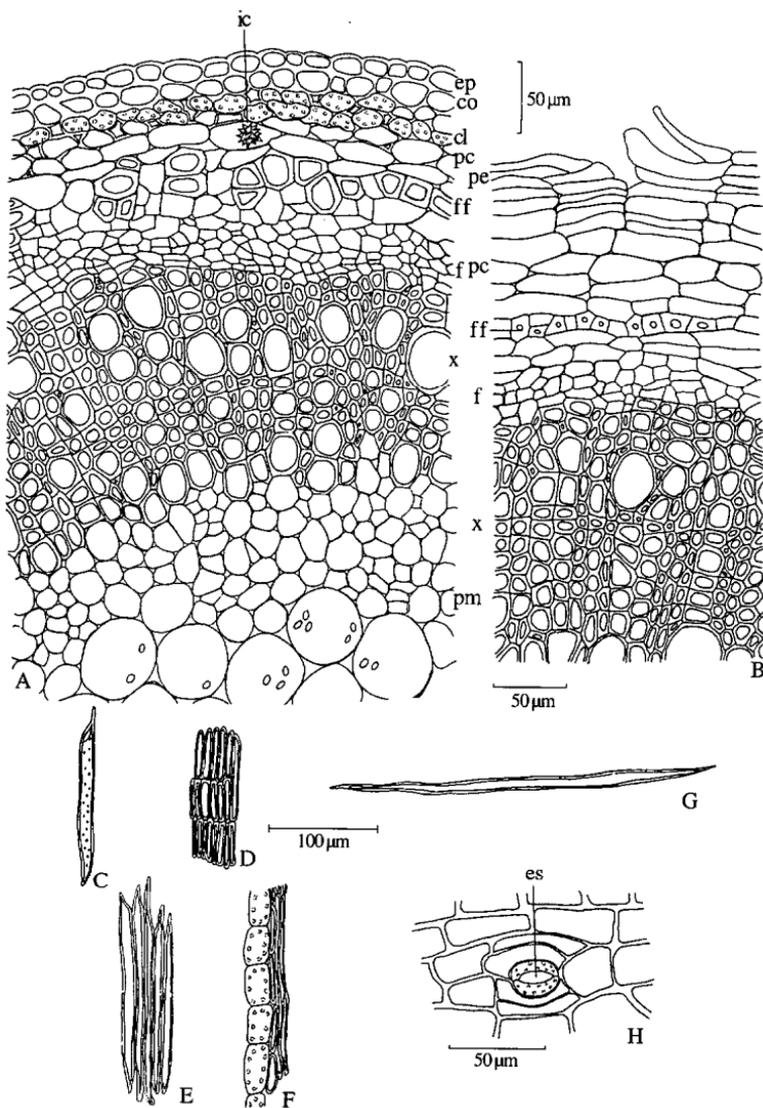
*Preparação* – Dissolver 10,06 g de carbonato de sódio em 100 ml de água.

### Reagente de Folin-Denis

*Preparação* – A 75 ml de água adicionar 10 g de tungstato de sódio, 2 g de ácido fosfomolibdico e 5 ml de ácido fosfórico. Manter a mistura em refluxo por 2 horas, resfriar e diluir a 100 ml com água. A solução apresenta coloração esverdeada.



**Figura 1:** *Phyllanthus niruri* L. – A. aspecto geral da folha; B. aspecto geral da estípula na região do nó; b. base da folha; e. estípula; ra. ramo; C. aspecto geral do fruto; D. aspecto geral da semente; E. vista frontal da epiderme da face adaxial; es. estômato; F. vista frontal da epiderme da face abaxial; es. estômato; G. lâmina foliar na região do mesófilo, em secção transversal; ep. epiderme; ic. idioblasto cristalífero; pj. parênquima esponjoso; pp. parênquima paliçádico, em secção paradérmica, evidenciando idioblastos com drusas; ic. idioblasto cristalífero; pp. parênquima paliçádico; I. lâmina foliar na região da nervura principal em secção transversal; co. colênquima; ep. epiderme; f. floema; pj. parênquima esponjoso; pp. parênquima paliçádico; x. xilema; J. detalhe da nervação brochidódroma de um segmento da lâmina foliar em vista frontal. As escalas correspondem: A, D (0,05 cm), B, C, I (0,1 cm), E a I (50 μm).



**Figura 2:** *Phyllanthus niruri* L. – A. detalhe do caule em secção transversal; cl. clorênquima; co. colênquima; ep. epiderme; f. floema; ff. fibras do floema; ic. idioblasto cristalífero; pc. parênquima cortical; pm. parênquima medular; x. xilema; B. detalhe da raiz em secção transversal; f. floema; ff. fibras do floema; pc. parênquima cortical; pe. periderme; x. xilema; C. elemento de vaso com espessamento pontoado em vista longitudinal; D. células parenquimáticas esclerificadas; E. fibras do floema em vista longitudinal; F. células clorênquimáticas junto às fibras do floema; G. fibra em vista longitudinal; H. detalhe de um fragmento da epiderme caulinar em vista frontal, mostrando estômato; es. estômato. As escalas correspondem: A, B, H (50 μm), C a G (100 μm).