

QUEBRA-PEDRA

Phyllanthus niruri herbae

Phyllanthus niruri L. – PHYLLANTHACEAE

A droga vegetal é constituída pelas partes aéreas secas 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.

CARACTERÍSTICAS

Características organolépticas. 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 discolores, 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 interpeciolar, 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, trilocular, cada lóculo bispérmico; três estiletos, bífidos, 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-ovaladas, disco pentalobado, lobos carnosos e papilosos, e três estames com filetes conatos na base; pedicelos com cerca de 0,2 cm de comprimento. Frutos esquizocápicos, do tipo tricoca, com 0,1 cm a 0,25 cm de diâmetro, depresso-globosos, expostos para a região abaxial dos ramos, separando-se em carpídios (cocas); exocarpo verde-oliva, membranáceo e endocarpo verrucoso; 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 anatômicas para alguns órgãos vegetativos.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Em secção transversal, o caule em desenvolvimento secundário exibe epiderme uniestratificada, com estômatos. Subepidemicamente 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 grãos de 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 estão 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. O parênquima medular é 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 grãos de amido. O parênquima cortical mantém as mesmas características encontradas nos caules mais jovens. O floema apresenta pequena quantidade de grãos de amido, não se observando diferenças quanto ao seu desenvolvimento, comparando-se caules jovens e mais desenvolvidos. O maior desenvolvimento do xilema, comparado ao dos ramos mais jovens, é muito evidente, com conseqüente redução da área ocupada pelo parênquima medular. Nos raios parenquimáticos, observa-se a presença de grãos 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 ordem. Os estômatos são do tipo paracítico e, menos frequentemente, 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 e 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 paradérmica, evidencia-se o caráter bráquiforme dessas células. Na nervura principal, o parênquima paliçádico pode distribuir-se continuamente ou ser interrompido por pequeno número de células clorênquimáticas 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 venação é broquidódromo.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DO PÓ

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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 espessamento anelado, espiralado ou pontoado, e fibras.

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 radialmente. Os raios parenquimáticos são ricos em grãos de amido. A região medular frequentemente é ocupada pelo tecido xilemático, ou mais raramente por parênquima. 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 tipos, geralmente drusas.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica-gel GF₂₅₄ com espessura de 250 µm como suporte, e mistura de acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético e água (100:11:11:26), como fase móvel. Aplicar, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução (1)* e 5 µL da *Solução (2)*, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir cerca de 1 g da droga moída para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de metanol e aquecer sob refluxo durante 30 minutos em banho-maria. Resfriar à temperatura ambiente e filtrar sob pressão reduzida. Extrair novamente com mais 10 mL de metanol durante 30 minutos. Filtrar o extrato lavando o resíduo com 5 mL de metanol agrupando-o ao primeiro. Completar o volume para 25 mL com metanol e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução (2): dissolver 10 mg de vitexina-2-ramnosídeo SQR em 2 mL de metanol.

Desenvolver o cromatograma. Deixar a placa secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C e, ainda morna, nebulizar com uma solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em metanol, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol. Deixar a placa secar ao ar livre durante 30 minutos e examiná-la sob luz ultravioleta (365 nm). O cromatograma obtido com a *Solução (1)*, deve apresentar no terço inferior da placa uma mancha amarelo-esverdeado fluorescente correspondente a vitexina-2-ramnosídeo e imediatamente abaixo dessa, uma mancha amarelo fluorescente.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica-gel GF₂₅₄ com espessura de 250 µm como suporte, e mistura de hexano e acetato de etila (70:30), como fase móvel. Aplicar, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução (1)* e 5 µL da *Solução (2)*, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir cerca de 1 g da droga moída para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de metanol e aquecer sob refluxo durante 30 minutos em banho-maria. Resfriar à temperatura ambiente e filtrar sob pressão reduzida. Extrair novamente com mais 10 mL de metanol durante 30 minutos. Filtrar o extrato lavando o resíduo com 5 mL de metanol agrupando-o ao primeiro. Completar o volume para 25 mL com metanol e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução (2): dissolver separadamente 10 mg filantina SQR e niranina SQR em 2 mL de metanol.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e examiná-la sob luz ultravioleta (254 nm). Nebulizar a placa com solução de anisaldeído, ácido sulfúrico e ácido acético (1:2:97) seguida de aquecimento em estufa. O cromatograma obtido com a *Solução (1)* não deve apresentar as manchas respectivas à filantina e niranina obtidas com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

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

Água (5.4.2.3). No máximo 10,0%.

Cinzas totais (5.4.2.4). No máximo 6,0%.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: 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.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 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 (5.2.14), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos pelo pó de pele: adicionar 0,2 g de pó de pele SQR a 20 mL da *Solução estoque* e agitar, mecanicamente, durante 60 minutos. Filtrar. Diluir 5 mL desta 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 (5.2.14), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução padrão: 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 (5.2.14), 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 segundo a expressão:

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

em que

TT = taninos totais;

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

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

A_3 = absorvância medida da *Solução padrão*;

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

Ácido gálico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector de ultravioleta a 275 nm; pré-coluna contendo fase reversa C-18 hidrofílica e coluna de 100 mm de comprimento e 2,1 mm de diâmetro interno, empacotada

com C-18 hidrofílica (3 μ m); fluxo da *Fase móvel* de 0,25 mL/minuto.

Eluente A: água contendo 0,05 % de ácido trifluoracético;

Eluente B: metanol contendo 0,05 % de ácido trifluoracético.

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir:

Tempo (minutos)	Eluente A (%)	Eluente B (%)	Eluição
0 - 7	95	5	isocrática
7 - 25	95 \rightarrow 0	5 \rightarrow 100	gradiente linear

Solução amostra: pesar analiticamente cerca de 0,75 g da droga seca e moída (800 μ 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 250 mL e completar o volume com água. Filtrar em membrana de 0,45 μ m e injetar no cromatógrafo.

Solução padrão: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido gálico SQR no *Eluente A* para obter solução a 1 mg/mL.

Soluções para curva analítica: diluir 1 mL da *Solução padrão* em balão volumétrico de 50 mL completando o volume com *Eluente A*. Diluir alíquotas de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL e 7 mL dessa solução a 10 mL utilizando *Eluente A* obtendo assim, soluções com concentrações de 2,0 μ g/mL; 4,0 μ g/mL; 6,0 μ g/mL; 10,0 μ g/mL e 14,0 μ g/mL. Filtrar as soluções em membrana de 0,45 μ m e injetar no cromatógrafo.

Procedimento: injetar, separadamente 5 μ L da *Solução padrão* e da *Solução amostra* e obter as áreas correspondentes ao pico de ácido gálico. O tempo de retenção relativo é cerca de 4,6 minutos para o ácido gálico. Calcular o teor de ácido gálico na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica 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 e do calor.

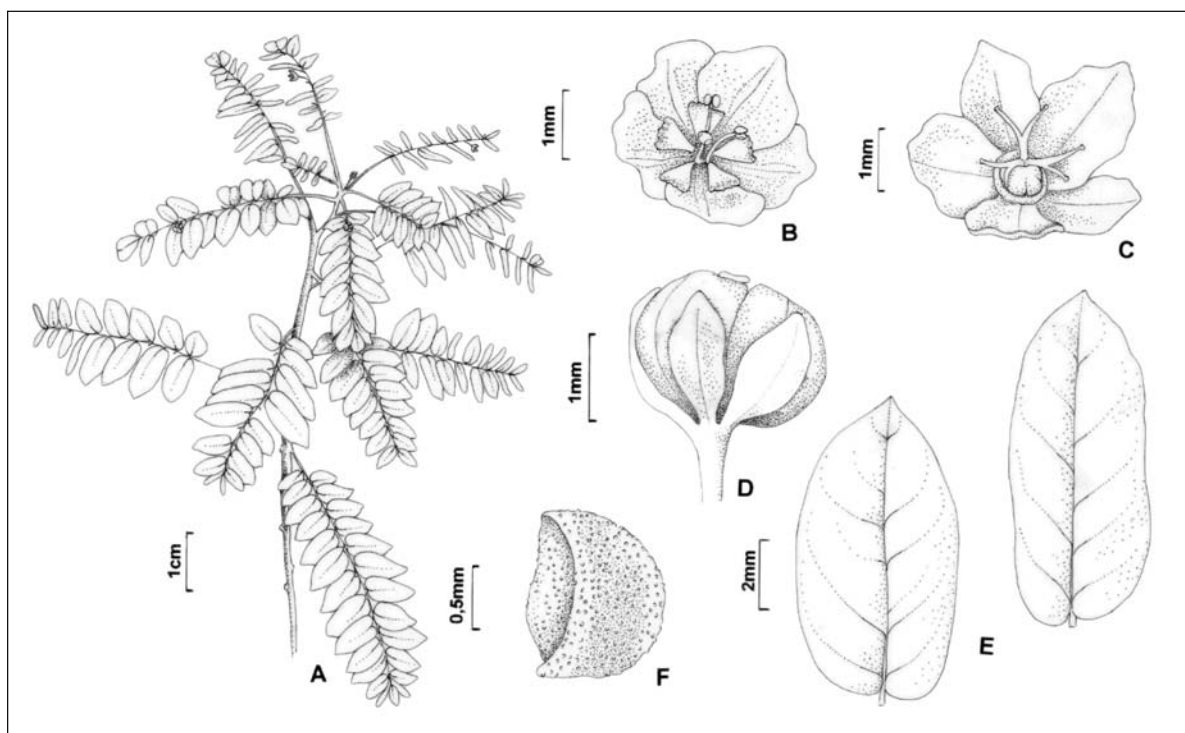


Figura 1a – Aspectos macroscópicos em *Phyllanthus niruri* L.

Complemento da legenda da **Figura 1a**.

A – hábito. **B** – flor masculina com 5 nectários e três estames. **C** – flor feminina com ovário e disco nectarífero. **D** – fruto, tépalas persistentes. **E** – folhas de base assimétrica. **F** – aspecto geral da semente.

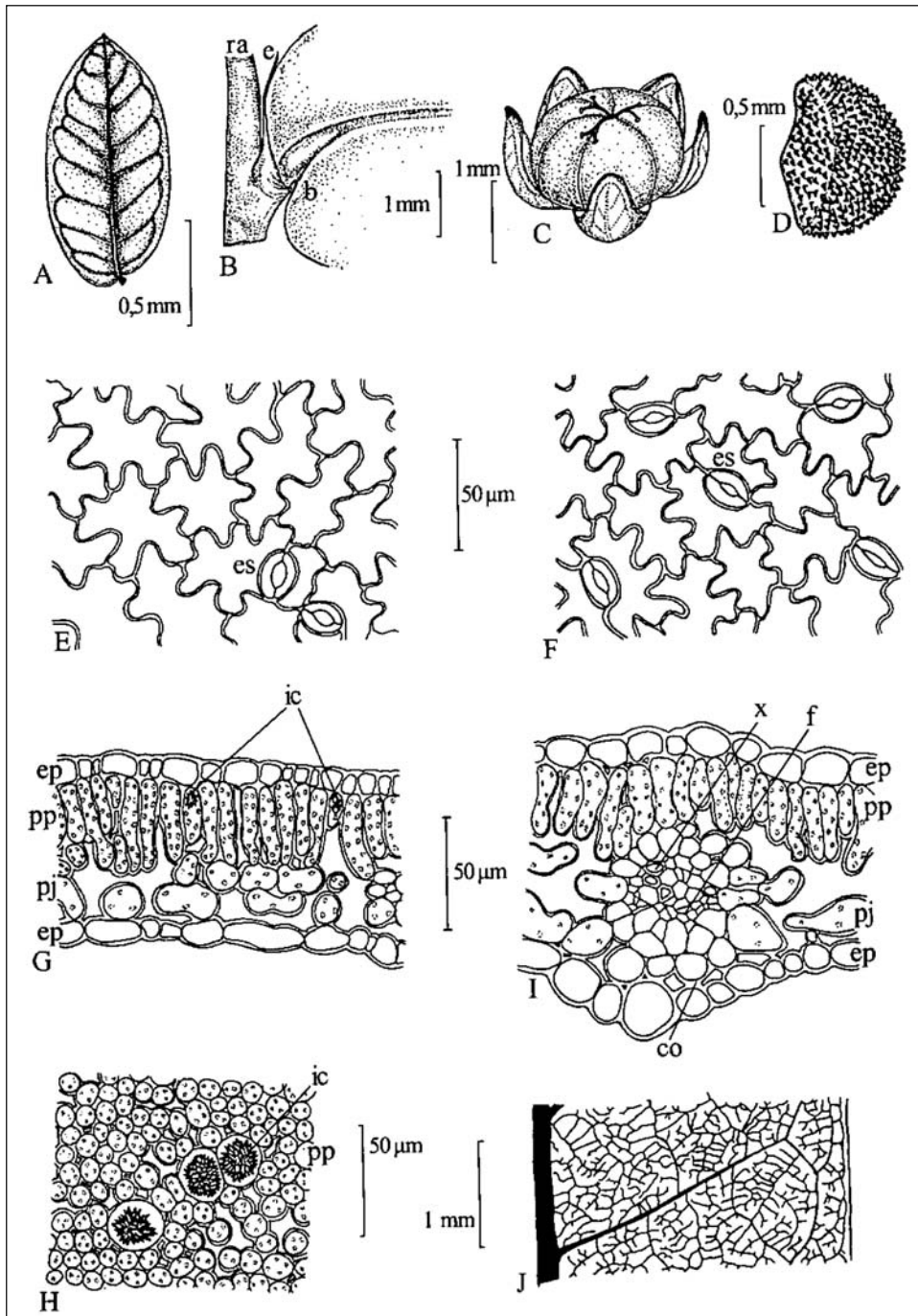


Figura 1b – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Phyllanthus niruri* L.

Complemento da legenda da **Figura 1b**. As escalas correspondem em A e D a 0,05 cm; em B, C e J a 0,1 cm; em E, F, G, H e I a 50 µm

A – aspecto geral da folha. **B** – aspecto geral da estípula na região do nó: ramo (ra); estípula (e); base da folha (b). **C** – aspecto geral do fruto. **D** – aspecto geral da semente. **E** – vista frontal da epiderme da face adaxial: estômato (es). **F** – vista frontal da epiderme da face abaxial: estômato (es). **G** – lâmina foliar na região do mesofilo, em secção transversal: epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); idioblasto cristalífero (ic). **H** – região do mesofilo ao nível do parênquima paliçádico, em secção paradérmica, evidenciando idioblastos com drusas: idioblasto cristalífero (ic); estômato (es). **I** – lâmina foliar na região da nervura principal em secção transversal: epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); xilema (x); floema (f); colênquima (co). **J** – detalhe da nervação broquidódroma de um segmento da lâmina foliar em vista frontal.

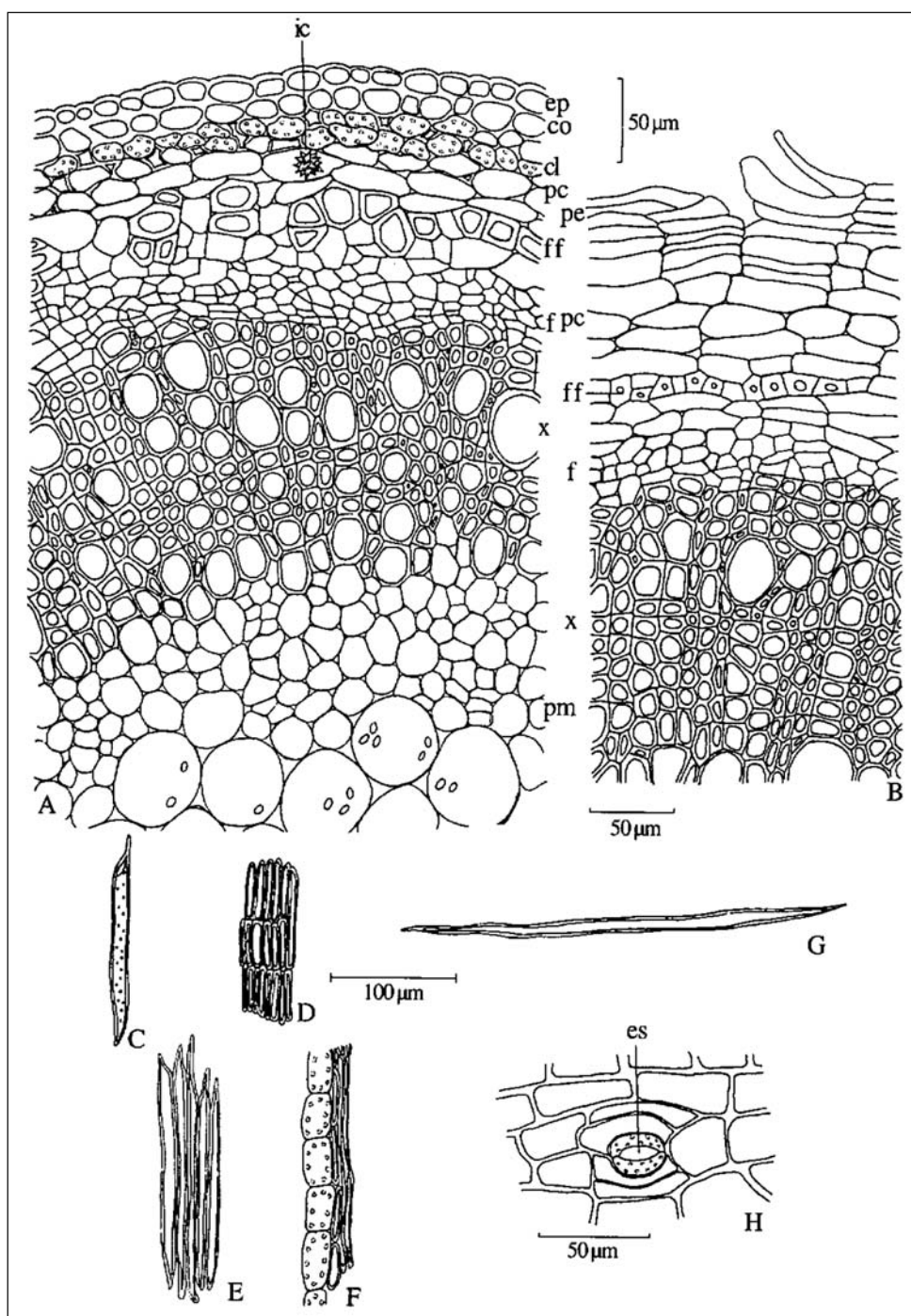


Figura 2 – Aspectos microscópicos em *Phyllanthus niruri* L.

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

A – detalhe do caule em secção transversal: epidermem (ep); colênquima (co); clorênquima (cl); parênquima cortical (pc); fibras do floema (ff); floema (f); xilema (x); parênquima medular (pm); idioblasto cristalífero (ic). **B** – detalhe da raiz em secção transversal: periderme (pe); parênquima cortical (pc); fibras do floema (ff); floema (f); xilema (x). **C** – elemento de vaso com espessamento pontuado 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).