

QUEBRA-PEDRA, parte aérea

Phyllanthus niruriae herbae

A droga vegetal consiste de partes aéreas secas de *Phyllanthus niruri* L. [syn. *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 (C₇H₆O₅, 170,12).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Caules herbáceos glabros, com até 80 cm de comprimento, simples ou ramificados, com ramos laterais filiformes, esses portando folhas. Folhas simples, alternas, membranáceas, glabras, oblongo-elípticas, de ápice atenuado, às vezes mucronado e base assimétrica, margem lisa. Lâminas com 0,5 a 1,4 cm de comprimento e 0,3 a 0,6 cm de largura, venação broquidódroma. Pecíolo de até 0,1 cm de comprimento. Estípula de 0,1 cm a 0,2 cm de comprimento, triangular-lanceolada, com ápice longo e estreitamente agudo a acicular e base inteira. Flores femininas com até 0,4 cm de diâmetro, com cinco tépalas elípticas e disco inteiro; ovário tricarpelar, trilocular, cada lóculo bispérmico; três estiletos bífidos na poção apical, estigmas globosos; pedicelo com 0,1 a 0,4 cm de comprimento. Flores masculinas com cinco tépalas largo-ovaladas, disco pentalobado e três estames com filetes conatos na base; pedicelos com cerca de 0,2 cm de comprimento. Frutos esquizocárpicos, do tipo tricoca, com 0,10 a 0,25 cm de diâmetro, depresso-globosos, expostos para a região abaxial dos ramos, separando-se em carpídios (cocas); duas sementes por lóculo, triangulares, com ápice agudo a arredondado; pedicelos com cerca de 0,4 a 0,5 cm de comprimento na maturação; tépalas persistentes, membranáceas, atingindo dois terços da altura do fruto. As características macroscópicas em *Phyllanthus niruri* e *Phyllanthus tenellus* são determinantes para distingui-las, uma vez que ambas são muito similares quanto às características anatômicas. Em *Phyllanthus niruri*, as principais características macroscópicas são folhas de base assimétrica, estigmas globosos, e a presença de três estames com filetes conatos na base.

B. Descrição microscópica

O caule, em secção transversal, exibe epiderme uniestratificada. Subepidermicamente encontram-se uma ou mais camadas de colênquima com espessamento angular, seguido de clorênquima formado por células isodiamétricas, contendo grãos de amido. Mais internamente, ocorrem uma ou mais camadas de parênquima cortical. O floema é constituído externamente por agrupamentos de fibras de paredes muito espessas e lume reduzido. Os elementos de vaso do xilema alternam-se com fileiras de fibras e células esclerificadas. O parênquima medular pode apresentar grãos de amido. Drusas de oxalato de cálcio ocorrem nos parênquimas. Em caules de maior diâmetro pode ocorrer periderme, seguida de clorênquima com grãos de amido e cristais. Lâmina foliar de simetria dorsiventral, em regra hipostomática, com estômatos paracíticos, raramente anomocíticos. Em vista frontal, as células da epiderme da face adaxial mostram contornos irregulares e paredes onduladas. A cutícula é fina, a epiderme é uniestratificada em ambas as faces e possui células achatadas e algumas papilosas. O parênquima paliçádico é uniestratificado, ocupando cerca de dois terços da espessura do mesofilo, apresentando idioblastos com drusas de oxalato de cálcio. Cristais pequenos e de diferentes formas são comuns e raramente ocorrem cristais romboédricos. O parênquima esponjoso é constituído por duas a três camadas. Cristais pequenos agregados e/ou isolados são comuns. O sistema vascular é do tipo colateral.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: presença de frutos depresso-globosos, carpódios (cocas) isolados e sementes como descritos; flores ou parte delas como descritas; cristais de oxalato de cálcio do tipo drusas; fragmentos de fibras; 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 pontoadado, e fibras.

D. Descrição microscópica das impurezas

Se presente como impureza, a raiz em crescimento secundário apresenta periderme formada por três a quatro camadas de células suberificadas, felogênio e feloderme. Abaixo desse tecido encontra-se o parênquima cortical, formado por três a seis estratos celulares. O floema apresenta fibras dispostas periféricamente. O xilema apresenta duas a quatro fileiras de fibras dispostas radialmente. Os raios parenquimáticos são ricos em grãos de amido. Cristais como os descritos são comuns em todos os tecidos, sendo mais abundantes na região cortical e no parênquima medular.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, água, ácido fórmico e ácido acético (100:26:11:11).

Solução amostra: transferir cerca de 1 g da droga pulverizada para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de álcool metílico 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 álcool metílico durante 30 minutos, resfriar e filtrar, lavando o resíduo com 5 mL de álcool metílico. Reunir os filtrados, completar o volume para 25 mL com álcool metílico, homogeneizar e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 10 mg de vitexina-2-ramnosídeo em 2 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca, 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 álcool metílico, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool metílico. Deixar a placa secar ao ar livre durante 30 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência laranja
	Zona de fluorescência laranja
	Zona de fluorescência alaranjada
Vitexina-2-ramnosídeo: zona de fluorescência amarelo esverdeado	Zona de fluorescência amarelo esverdeado
	Zona de fluorescência amarela
Solução referência	Solução amostra

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄(0,250 mm).

Fase móvel: hexano e acetato de etila (70:30).

Solução amostra: transferir cerca de 1 g da droga pulverizada para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de álcool metílico 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 álcool metílico durante 30 minutos, resfriar e filtrar, lavando o resíduo com 5 mL de álcool metílico. Reunir os filtrados, completar o volume para 25 mL com álcool metílico, homogeneizar e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver separadamente 10 mg de filantina e de nirantina em 2 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído, ácido sulfúrico e ácido acético (1:2:97) e, a seguir aquecer em estufa. O cromatograma obtido com a *Solução amostra* não deve apresentar as manchas respectivas à filantina e nirantina obtidas com a *Solução referência*.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração
	Zona de coloração
	Zona de coloração
	Zona de coloração
	Zona de coloração
Nirantina: zona de coloração azul escuro	
Filantina: zona de coloração azul claro	
Solução referência	Solução amostra

TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 10,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 6,0%.

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.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

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 (800 µm) (5.2.11), 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, completar o volume com água e homogeneizar. 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, completar o volume com água e homogeneizar. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL de reagente de Folin-Denis, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância da solução (A_1) em 715 nm, exatamente três minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por 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 dessa solução para 25 mL com água. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL do reagente de Folin-Denis, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância da solução (A_2) em 715 nm, exatamente três minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

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

Calcular o teor de taninos totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos totais expressos em pirogalol % (p/p);

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

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

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando o teor de água determinado.

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): ácido trifluoracético a 0,05%.

Eluente (B): ácido trifluoracético a 0,05% em álcool metílico.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 - 7	95	5	isocrática
10 - 14	95 \rightarrow 0	5 \rightarrow 100	gradiente linear

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga seca e pulverizada (800 μm) (5.2.11) e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de água e aquecer, em manta, sob refluxo 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, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar unidade filtrante de 0,45 μm .

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de ácido gálico SQR no *Eluente (A)* para obter solução a 1 mg/mL.

Soluções para curva analítica: transferir 1 mL da *Solução referência* para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com o *Eluente (A)* e homogeneizar. Diluir alíquotas de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL e 7 mL dessa solução a 10 mL utilizando o *Eluente (A)* obtendo assim, soluções com concentrações de 2,0 $\mu\text{g/mL}$, 4,0 $\mu\text{g/mL}$, 6,0 $\mu\text{g/mL}$, 10,0 $\mu\text{g/mL}$ e 14,0 $\mu\text{g/mL}$. Filtrar as soluções em unidade filtrante de 0,45 μm .

Procedimento: injetar, separadamente, 5 μL da *Soluções para curva analítica* e 5 μL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob o pico correspondentes ao 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 em porcentagem, considerando o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

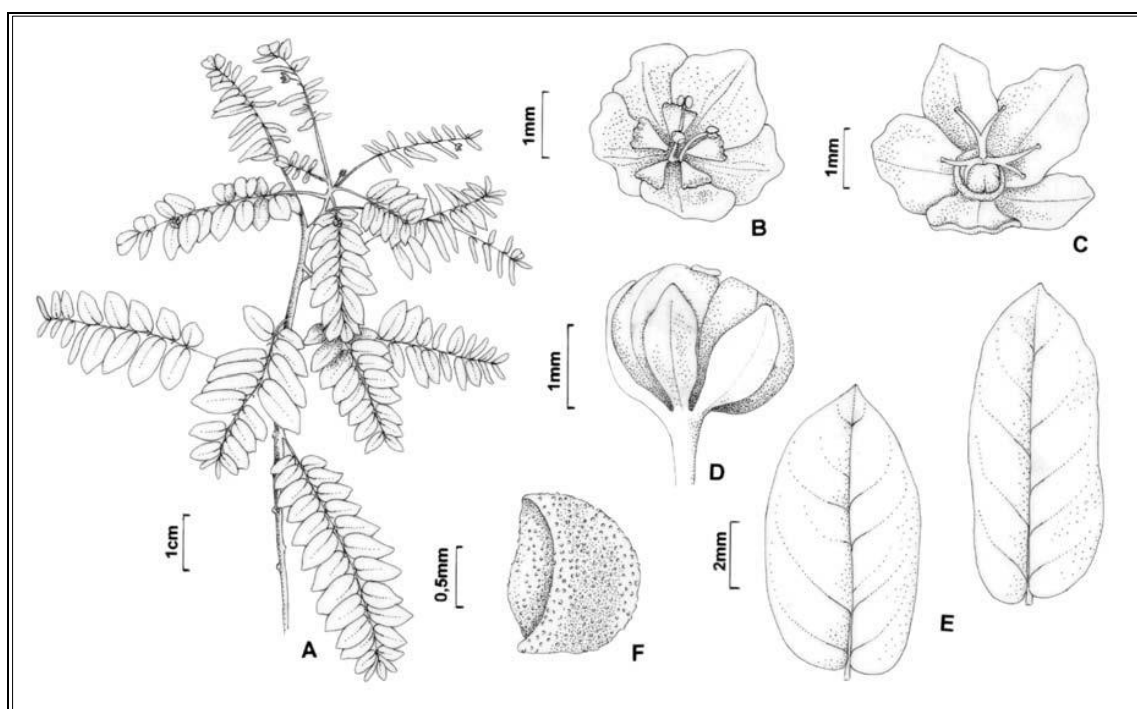


Figura 1 – Aspectos macroscópicos em *Phyllanthus niruri* L.

A – hábito. **B** – flor masculina com cinco 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.

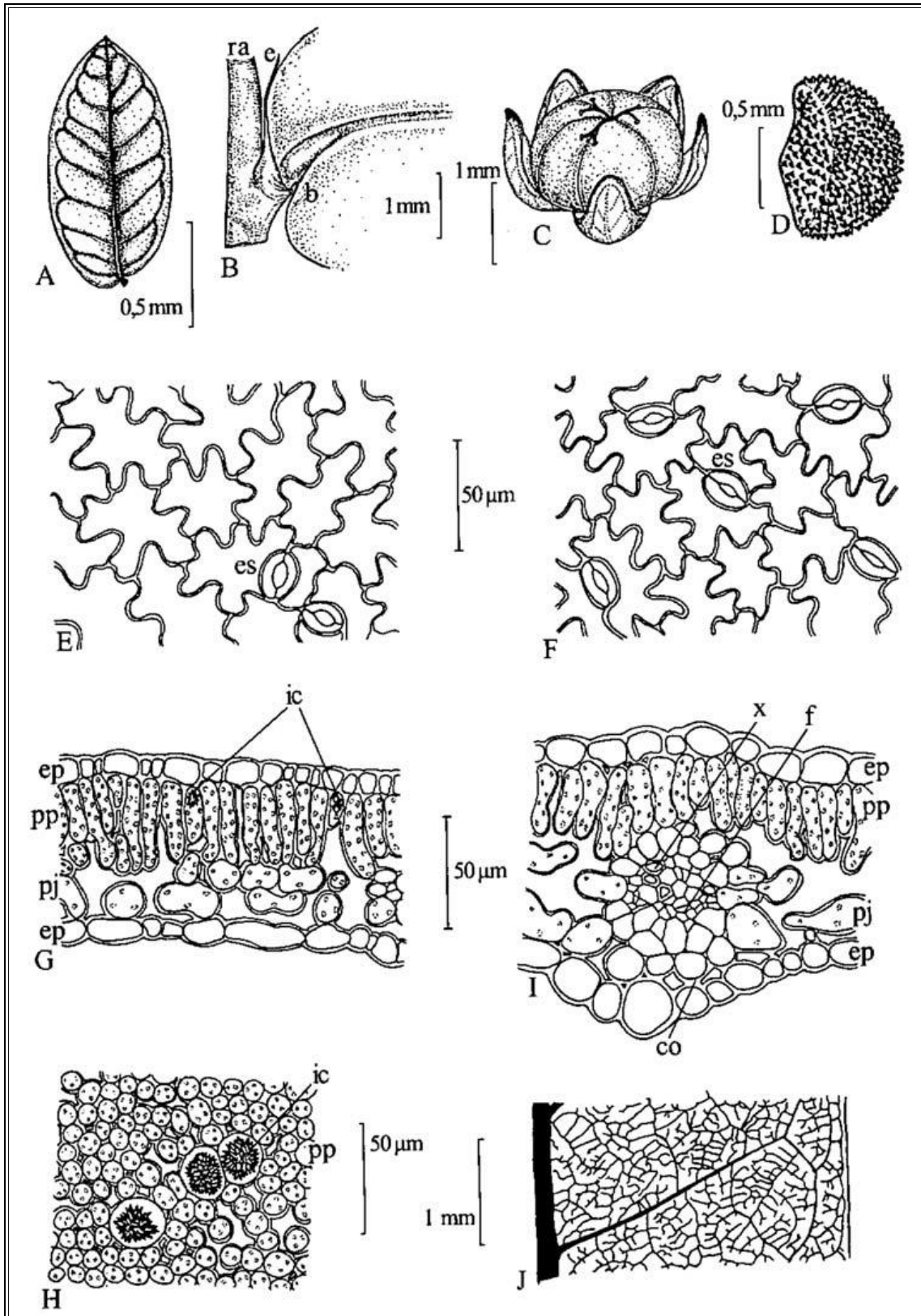


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus niruri* L.

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.

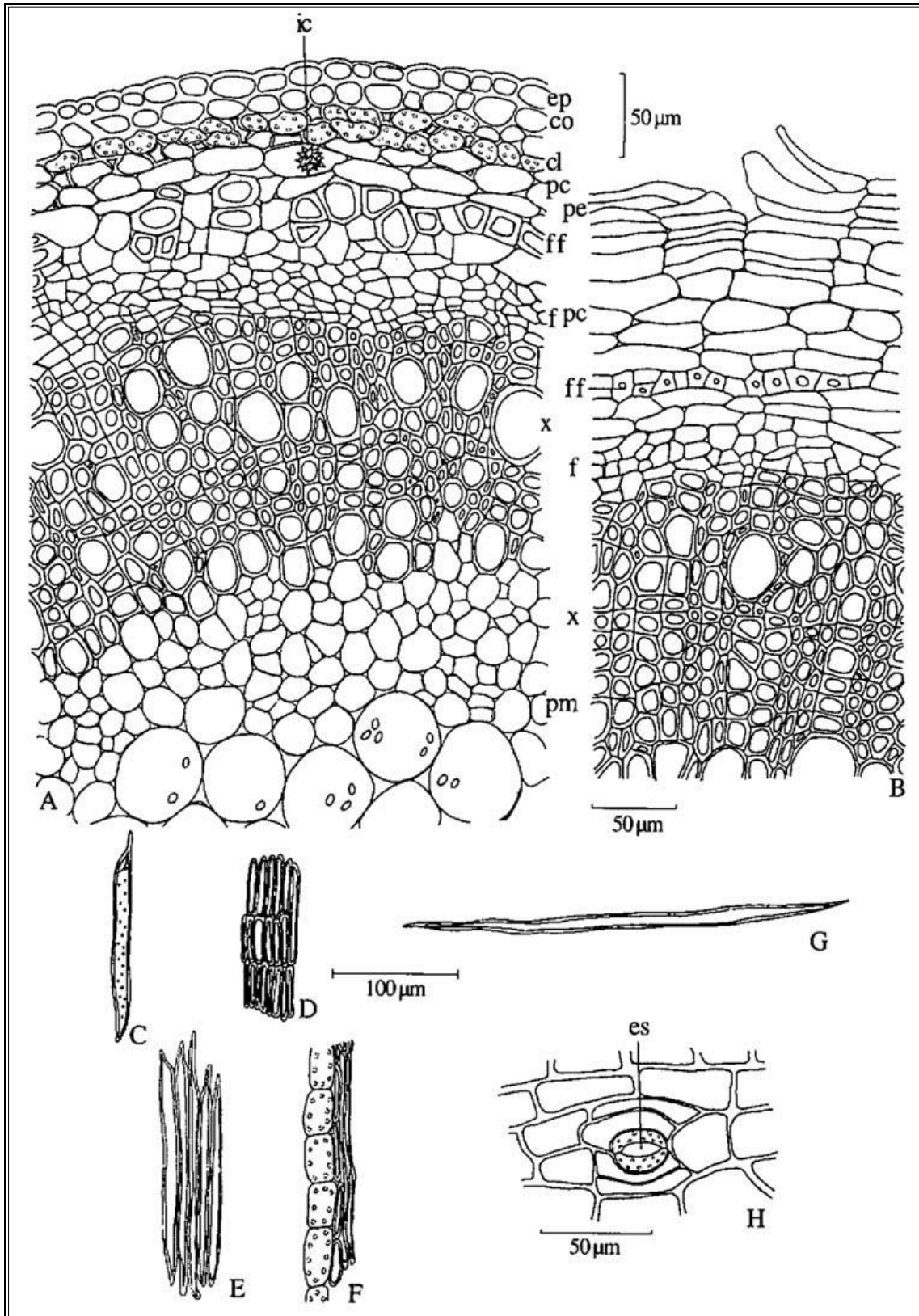


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus niruri* L.

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: epiderme (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 pontado em vista longitudinal. **D** – células parenquimáticas esclerificadas. **E** – fibras do floema em vista longitudinal. **F** – células clorenquimáticas junto às fibras do floema. **G** – fibra em vista longitudinal. **H** – detalhe de um fragmento da epiderme caulinar em vista frontal, mostrando estômato (es).