

**Índice de saponificação (5.2.29.8).** 230 a 255. Determinar no resíduo obtido em *Doseamento*.

**Bálsamos artificiais.** Agitar, vigorosamente, 0,2 g da amostra com 6 mL de éter de petróleo. A solução de éter de petróleo deverá permanecer transparente e incolor e todas as partes insolúveis do bálsamo estarão aderidas nas paredes do tubo de ensaio.

**Terebintina.** Evaporar 4 mL da solução obtida em *Bálsamos artificiais*. O resíduo não apresenta odor de terebintina.

**Óleos graxos.** Agitar 1 g da amostra com 3 mL de uma solução de hidrato de cloral a 1000 g/L. A solução obtida é transparente assim como a solução de hidrato de cloral a 1000 g/L.

## DOSEAMENTO

### Ésteres

Em funil de decantação, adicionar 2,5 g da amostra, 7,5 mL de solução de hidróxido de sódio a 8,5% (p/v) e 40 mL de éter etílico isento de peróxidos. Agitar, vigorosamente, durante 10 minutos. Separar a fase etérea e agitar a fase básica por 1 minuto com três porções de 15 mL de éter etílico isento de peróxidos. Reunir as fases etéreas, dessecar com 10 g de sulfato de sódio anidro e filtrar. Lavar o resíduo de sulfato de sódio duas vezes com 10 mL de éter etílico isento de peróxidos. Reunir as fases etéreas e evaporar à secura. Dessecar o resíduo (ésteres) entre 100 °C e 105 °C, durante 30 minutos, resfriar em dessecador e pesar.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

## **BARBATIMÃO, casca** *Barbadetimani cortex*

A droga vegetal consiste de cascas caulinares secas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (syn. *Stryphnodendron barbatimam* Mart.), contendo, no mínimo, 8% de taninos totais, expressos em pirogalol ( $C_6H_6O_3$ ; 126,11), dos quais, no mínimo, 0,2 mg/g equivalem a ácido gálico ( $C_7H_6O_5$ ; 170,12) e 0,3 mg/g correspondem a galocatequina ( $C_{15}H_{14}O_7$ ; 306,27), em relação à droga seca. Entende-se por casca do caule todos os tecidos situados externamente ao câmbio vascular desse órgão.

## CARACTERÍSTICAS

Cascas secas inodoras.

## IDENTIFICAÇÃO

**A.** Descrição macroscópica

As cascas caulinares, quando secas, apresentam-se em fragmentos arqueados, com dimensões e formatos muito variados. Em secção transversal apresentam, em média, 6 mm de espessura quando secas, e 10 mm a 12 mm de espessura quando hidratadas, tendo a região floemática, mais interna, coloração marrom mais clara, quando comparada à região do súber, mais externa e de intensa coloração marrom-avermelhada. Nos caules jovens o súber apresenta-se, em vista frontal, de coloração escura e aspecto granuloso, homogêneo, portando fissuras estreitas e profundas no sentido transversal. Nas porções caulinares mais velhas, apresenta coloração marrom-escura ou marrom-acinzentada, quando da presença de líquens, sempre com profundas fendas, predominantes no sentido transversal, ou com cinturas consecutivas, desprendendo-se em placas de dimensões e formatos variados, irregulares, deixando depressões profundas no local. A fratura da casca é do tipo granulosa em relação à região do súber e fibrosa, estriada longitudinalmente na região floemática.

## **B. Descrição microscópica**

A porção externa da casca apresenta súber com 20 a 30 estratos de células tabulares enfileirados radialmente, com paredes delgadas e conteúdo marrom, seguidos por muitos estratos de células parenquimáticas de formato isodiamétrico ou pouco alongado periclinalmente, também com paredes delgadas. A maioria destas células possui conteúdo marrom-avermelhado, que não se descora facilmente com hipoclorito de sódio a 30% (p/v) e não altera a cor na presença do cloreto férrico SR. Nesta porção parenquimática ocorrem células pétreas (maioria) e macroesclereídes, posicionados em diversos planos, em grupos de vários elementos ou isolados, com paredes muito espessadas com lignina, apresentando lamelações evidentes e pontoações simples, por vezes ramificadas. Nas porções mais externas do súber, tanto as células parenquimáticas quanto os esclereídes podem ser visualizados, compactados e deformados pela ação mecânica nos tecidos internos. Na região do floema ocorrem conjuntos de poucos elementos de fibras gelatinosas, relativamente estreitas, sempre com idioblastos adjuntos, contendo um grande cristal de oxalato de cálcio, prismático, com variado número de lados, inteiro ou superficialmente erodido. Os conjuntos de fibras, quando observados em secções longitudinais, acompanham os raios parenquimáticos do floema, os quais são, em geral, unisseriados, mas tornam-se bi-multisseriados nas porções mais externas. Os elementos de tubo crivado apresentam placas crivadas compostas, estando colapsados nas regiões mais externas do floema. Células pétreas isoladas, semelhantes às do súber, e grãos de amido esféricos são abundantes no tecido parenquimático do floema. As células ao redor dos raios parenquimáticos reagem positivamente à presença do cloreto férrico SR, adquirindo coloração verde-escura. Ainda na região floemática podem ser encontradas células volumosas de conteúdo hialino, dispostas em conjuntos de 5 a 7 elementos.

## **C. Descrição microscópica do pó**

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos do súber com células tabulares; grupos de células parenquimáticas com conteúdo marrom-avermelhado, justapostas com células pétreas ou macroesclereídes, em grupos ou isolados, de paredes fortemente lignificadas, com pontoações simples, por vezes ramificadas; conjuntos de fibras com idioblastos cristalíferos adjuntos, delimitando fragmentos de raios parenquimáticos do floema; células parenquimáticas com grãos de amido esféricos.

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

*Fase estacionária:* sílica-gel GF<sub>254</sub> (0,25 mm).

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

*Solução amostra*: extrair, por turbólise, cerca de 10 g da droga vegetal moída, pesada com exatidão, em 90 mL de mistura acetona e água (7:3) durante 15 minutos, com intervalos de 5 minutos para que a temperatura não exceda 40 °C. Filtrar, eliminar a acetona em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 20 mL de acetato de etila em funil de separação (125 mL). Deixar em repouso à 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, suspendendo-o em 1 mL de metanol.

*Solução referência (1)*: pesar cerca de 1 mg de epigalocatequina e dissolver em 1 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 cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra*, 3 µL da *Solução referência (1)* e 3 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar em capela de exaustão. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. A seguir, nebulizar a placa com 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'- <i>O</i> -metilgalocatequina:<br>zona de extinção de fluorescência<br>Epigalocatequina: zona de extinção de fluorescência | Zona de extinção de fluorescência<br><br>Zona de extinção de fluorescência |
| <i>Solução referência</i>   | <i>Solução amostra</i>   |

## TESTES

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

**Água (5.4.1.4)**. No máximo 14,0%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1)**. No máximo 2,0%.

**Cinzas sulfatadas (5.4.1.5.2).** No máximo 3,0%.

**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 0,750 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. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

*Solução amostra para polifenóis totais:* transferir, volumetricamente, 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, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa 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 a 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<sub>1</sub> = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A<sub>2</sub> = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A<sub>3</sub> = absorvância medida para a *Solução referência*;

m<sub>1</sub> = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio, considerando a determinação de água; e

m<sub>2</sub> = massa em gramas de pirogalol, em gramas.

### Ácido gálico e galocatequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta ajustado em comprimento de onda de 210 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

*Fase móvel (1)*: ácido trifluoracético a 0,05% (v/v) em água.

*Fase móvel (2)*: ácido trifluoracético a 0,05% (v/v) em acetonitrila.

| Tempo (minutos) | <i>Fase móvel (1)</i> (%) | <i>Fase móvel (2)</i> (%) | Sistema de eluição |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|--------------------|
| 0 - 10          | 95 → 80,7                 | 5 → 19,3                  | gradiente linear   |
| 10 - 13,5       | 80,7 → 75                 | 19,3 → 25                 | gradiente linear   |
| 13,5 - 23       | 75 → 62                   | 25 → 38                   | gradiente linear   |
| 23 - 25         | 62 → 25                   | 38 → 75                   | gradiente linear   |
| 25 - 28         | 25 → 95                   | 75 → 5                    | gradiente linear   |
| 28 - 32         | 95                        | 5                         | isocrático         |

*Solução amostra*: extrair, por turbólise, 10 g da droga vegetal pulverizada (250 µm) em 90 mL da mistura acetona e água (7:3) durante 15 minutos, com intervalos de 5 minutos para que a temperatura não exceda a 40 °C. Filtrar em algodão e eliminar a acetona em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 20 mL de acetato de etila em funil de separação (125 mL). Deixar em repouso em temperatura de -18 °C durante 15 minutos, para total separação das fases. Reunir as fases orgânicas e filtrar em papel de filtro com 5 g de sulfato de sódio anidro. Evaporar a fração orgânica obtida em evaporador rotatório sob pressão reduzida até resíduo. Retomar o resíduo com 5 mL da mistura metanol e água (2:8). Extrair em cartucho de extração em fase sólida, empacotado com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (55 mm, 70 Å), previamente acondicionado com 10 mL da mistura de metanol e água (2:8), em balão de 100 mL. Eluir, em seguida, 10 mL da mistura metanol e água (2:8) para o mesmo balão e completar o volume (S<sub>1</sub>) com a mistura metanol e água (2:8). Transferir volumetricamente 5 mL da S<sub>1</sub> para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com a mistura metanol e água (1:1) e homogeneizar (S<sub>2</sub>). Filtrar a solução S<sub>2</sub> em unidade filtrante 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

*Solução referência (1)*: dissolver quantidade exatamente pesada de galocatequina SQR em mistura de metanol e água (1:1), para obter solução a 0,152 mg/mL.

*Solução referência (2):* dissolver quantidade exatamente pesada de ácido gálico SQR em mistura de metanol e água (1:1), para obter solução a 0,100 mg/mL.

*Soluções para curva analítica (1):* diluir uma alíquota de 600 µL da *Solução referência (1)* em balão volumétrico de 5 mL, com a mistura metanol e água (1:1). Proceder a diluições para obter concentrações de 1,14 mg/mL, 2,28 mg/mL, 4,56 mg/mL, 9,12 mg/mL e 18,24 mg/mL.

*Soluções para curva analítica (2):* diluir uma alíquota de 800 µL da *Solução referência (2)* em balão volumétrico de 5 mL, com a mistura metanol e água (1:1). Proceder a diluições para obter concentrações de 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8 µg/mL, 14 µg/mL e 16 µg/mL.

*Procedimento:* injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções para curva analítica (1)*, 20 µL das *Soluções para curva analítica (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção relativo para ácido gálico e galocatequina é cerca de 8,4 e 10,8 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de galocatequina, em mg/g, segundo a expressão:

$$T = \frac{C \times 500}{1000 \times m}$$

em que,

T = teor de ácido gálico ou de galocatequina em mg/g;

C = concentração de ácido gálico ou de galocatequina em µg/mL em S<sub>2</sub>, determinada a partir das equações das retas obtidas;

500 = fator de diluição;

1000 = valor de conversão de µg para mg; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

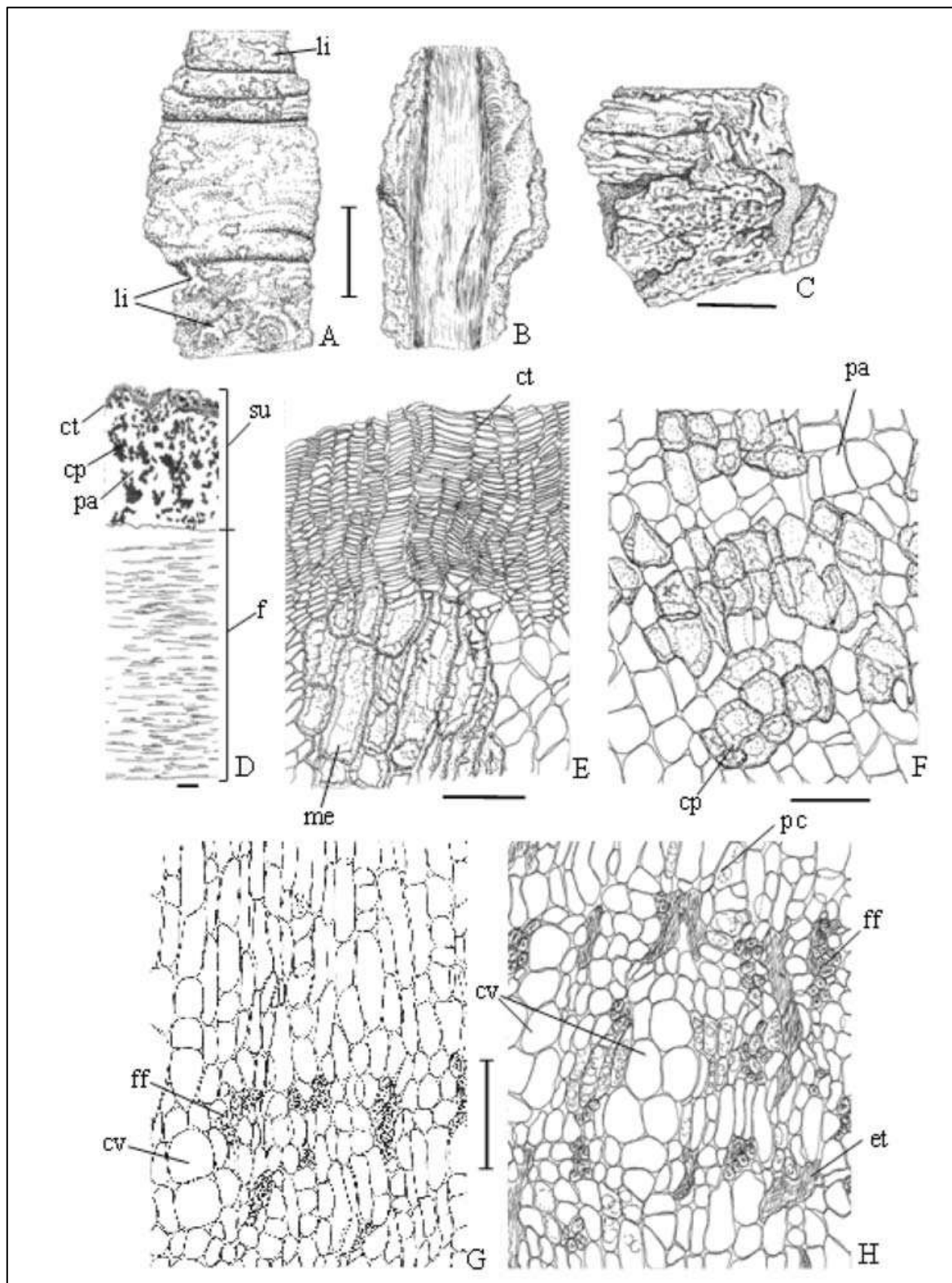


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

As escalas correspondem em **A**, **B** e **C** a 1 cm; em **D** a 2 mm e em **E**, **F**, **G** e **H** a 100  $\mu$ m.

**A** e **B** – aspecto parcial da superfície externa e interna da casca de ramo mais novo, respectivamente: líquens (li). **C** – aspecto parcial da superfície externa de ramo mais velho. **D** – diagrama da distribuição dos tecidos da casca: células tabulares (ct), célula pétreia (cp); parênquima (pa); súber (su); floema (f). **E** e **F** – detalhes parciais da região do súber, em secções transversais: células tabulares (ct); macroesclereídes (me); parênquima (pa); célula pétreia (cp). **G** e **H** – detalhes parciais da região do floema, em secções transversais: fibras do floema (ff); células volumosas (cv); placa crivada (pc); elemento de tubo crivado obliterado (et).

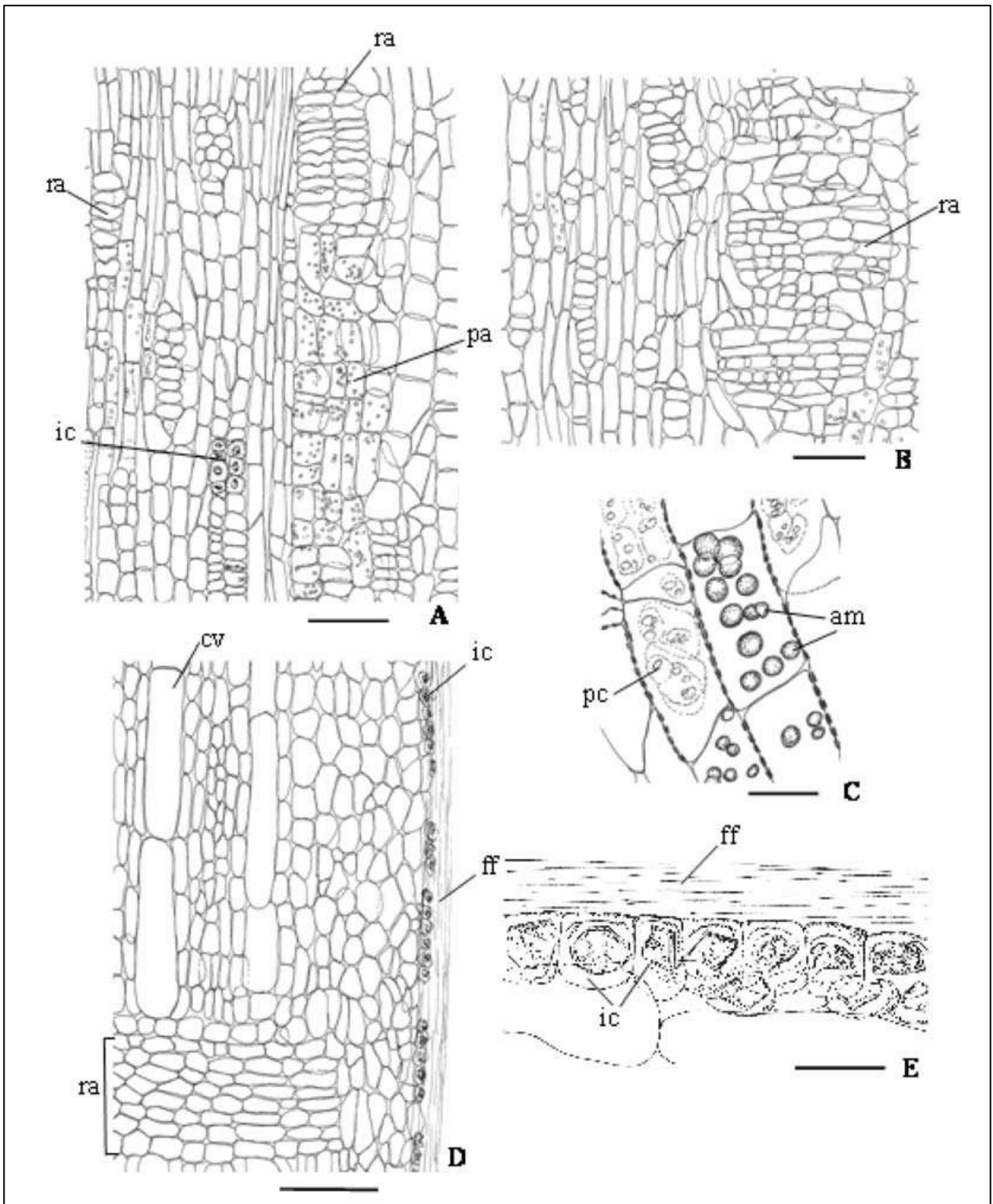


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

As escalas correspondem em **A**, **B** e **D** a 100  $\mu\text{m}$ ; em **C** e **E** a 25  $\mu\text{m}$ .

**A** e **B** – detalhes parciais de floema, em secções longitudinais tangenciais: raio parenquimático (ra); célula parenquimática (pa); idioblasto cristalífero (ic). **C** – detalhe parcial do parênquima floemático com grãos de amido: grãos de amido (am); placa crivada (pc). **D** – detalhe parcial do floema em secção longitudinal radial: célula volumosa (cv); idioblasto cristalífero (ic); fibras do floema (ff); raio parenquimático (ra). **E** – detalhe dos idioblastos cristalíferos do floema: fibras do floema (ff); idioblasto cristalífero (ic).