

## **BARBATIMÃO, casca**

### *Barbadetimani cortex*

A droga vegetal consiste de cascas caulinares secas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville [syn. *Stryphnodendron barbatimam* (Vell.) 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 dessas 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. Nessa 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 cinco a sete elementos.

### C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz 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 macrosclereídes, 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 pulverizada, pesada com exatidão, em 90 mL de mistura acetona e água (7:3) durante 15 minutos, com intervalos de cinco minutos para que a temperatura não exceda 40 °C. Filtrar, eliminar a acetona em rotaevaporador 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 rotaevaporador sob pressão reduzida até resíduo, suspendendo-o em 1 mL de álcool metílico.

*Solução referência (1)*: pesar cerca de 1 mg de epigallocatequina e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

*Solução referência (2)*: pesar cerca de 1 mg de 4'-*O*-metilgallocatequina e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

*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 álcool metílico.

*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>	
4'- <i>O</i> -Metilgalocatequina: zona de extinção de fluorescência Epigalocatequina: zona de extinção de fluorescência	Zona de extinção de fluorescência  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) (5.2.11) 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, 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:

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

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*;

$m_1$  = massa em gramas da amostra utilizada, considerando o teor de água determinado;

$m_2$  = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

### 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.

*Eluente (A)*: ácido trifluoracético a 0,05% (v/v) em água.

*Eluente (B)*: ácido trifluoracético a 0,05% (v/v) em acetonitrila.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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	isocrática

*Solução amostra*: extrair, por turbólise, 10 g da droga vegetal pulverizada (250 µm) (5.2.11) em 90 mL da mistura acetona e água (7:3) durante 15 minutos, com intervalos de cinco minutos para que a temperatura não exceda a 40 °C. Filtrar em algodão e eliminar a acetona em rotaevaporador 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 rotaevaporador sob pressão reduzida até resíduo. Suspender o resíduo com 5 mL da mistura álcool metílico 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 álcool metílico e água (2:8), em balão volumétrico de 100 mL. Eluir, em seguida, 10 mL da mistura álcool metílico e água (2:8) para o mesmo balão e completar o volume (S<sub>1</sub>) com a mistura álcool metílico 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 álcool metílico e água (1:1) e homogeneizar (S<sub>2</sub>). Filtrar a solução S<sub>2</sub> em unidade filtrante 0,45 µm.

*Solução referência (1)*: dissolver quantidade exatamente pesada de galocatequina SQR em mistura de álcool metílico e água (1:1), para obter solução a 0,152 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Solução referência (2)*: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido gálico SQR em mistura de álcool metílico e água (1:1), para obter solução a 0,100 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Soluções para curva analítica (1)*: diluir uma alíquota de 600 µL da *Solução referência (1)* em balão volumétrico de 5 mL, com a mistura álcool metílico 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 álcool metílico 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:

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

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, considerando a pureza da substância de referência;

500 = fator de diluição;

1000 = valor de conversão de µg para mg;

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

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

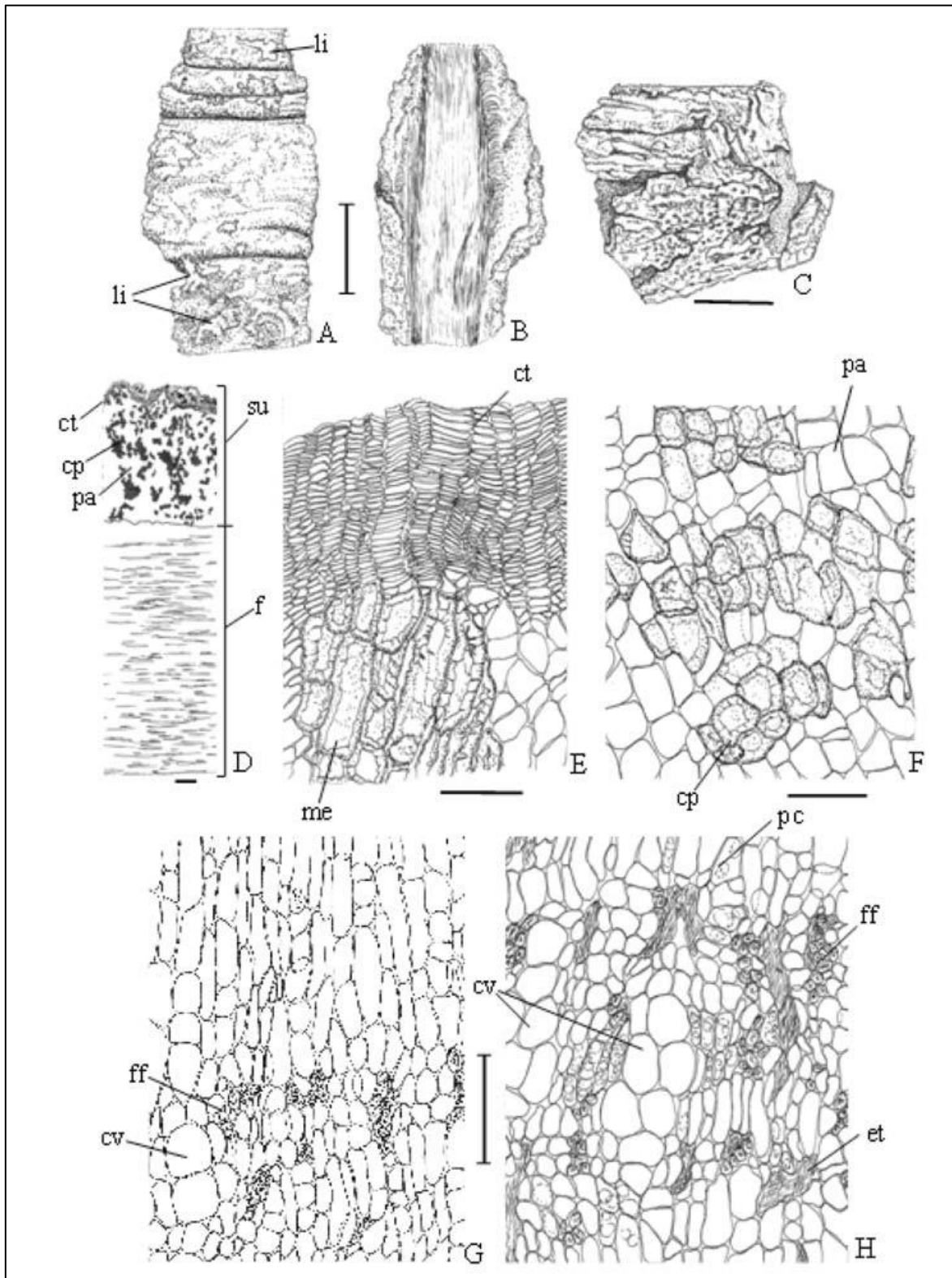
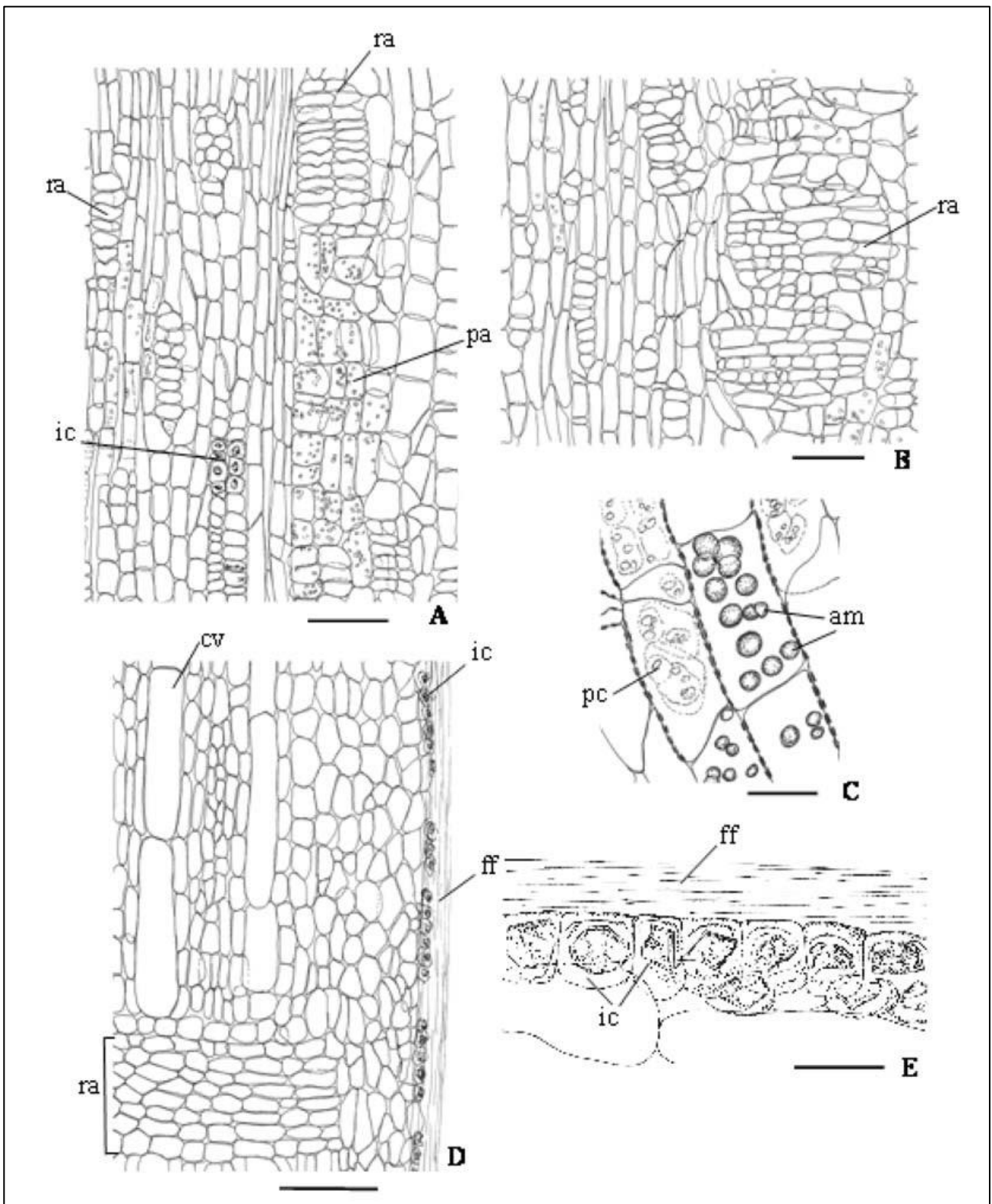


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

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 µm; em **C** e **E** a 25 µm.

**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).