

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 277 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3,9 µm), coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente (23 °C); fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

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

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

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0-4	80 → 75	20 → 25	gradiente linear
4-8	75 → 60	25 → 40	gradiente linear
8-23	60 → 25	40 → 75	gradiente linear
23-26	25	75	isocrática
26-27	25 → 80	75 → 20	gradiente linear

Solução amostra: pesar, com exatidão, 0,50 g da droga vegetal pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 100 mL de solução de álcool etílico a 40% (v/v). Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos, à temperatura entre 85 °C e 90 °C. Resfriar em água corrente e filtrar o extrato em algodão para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com o líquido extrator e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 25 mg de cumarina em balão volumétrico de 50 mL com solução de álcool etílico a 40% (v/v). Transferir 0,320 mL para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o mesmo solvente para obter solução de concentração igual a 16 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção da cumarina na amostra é de aproximadamente 17,7 minutos. Calcular o teor de cumarina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times 500 \times 100$$

em que,

TC = teor de cumarina em % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente à cumarina na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;
500 = fator de diluição.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

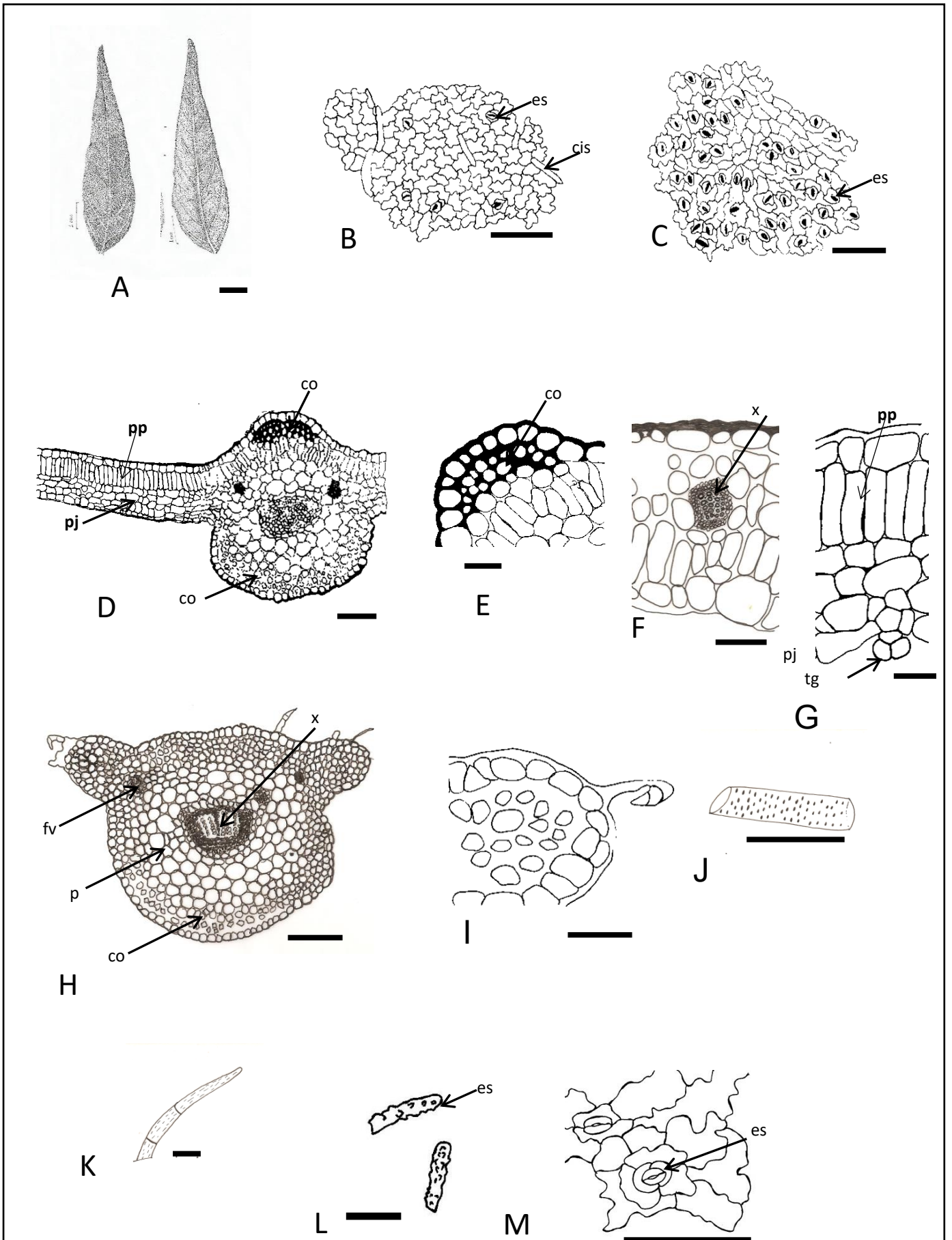


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Justicia pectoralis* Jacq.

As escalas correspondem em **A** a 2 cm; **D, E, F, G, H, I** a 100 µm; **B, C, J, K, L, M** a 25 µm.

A - aspecto geral da folha, em vista frontal. **B** – detalhe da secção paradérmica da folha: face adaxial, estômatos do tipo diacítico e cistólitos. **C** – detalhe da secção paradérmica da folha: face abaxial, estômatos do tipo diacítico. **D** - detalhe da secção transversal da folha: vista geral da região do mesofilo e nervura central. **E** – detalhe da secção transversal da folha: colênquima angular. **F** - detalhe da secção transversal da folha: feixe vascular do mesofilo, detalhe xilema. **G** - detalhe da secção transversal da folha: parênquima paliçádico, parênquima esponjoso e tricoma. **H** - Secção transversal do pecíolo: vista geral. **I** – detalhe da secção transversal do pecíolo: região da ala lateral. **J** - maceração do pó da folha: elemento de vaso. **K** – maceração do pó da folha: tricoma. **L** - maceração do pó da folha: cistólito. **M** – maceração do pó da folha: estômatos.

CHAPÉU-DE-COURO, folha

Echinodorus folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schtdl.) Micheli contendo, no mínimo, 2,8% de derivados do ácido hidroxicinâmico, expressos em verbascosídeo (C₂₉H₃₆O₁₅, 624,59).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, coriáceas, cordiformes, com base cordada e ápice agudo a arredondado. Lâmina foliar de dimensões variadas, de 10 a 35 cm de comprimento e 20 a 25 cm de largura na porção mediana; pecíolo longo de secção transversal circular a ovalada, com expansões aladas curtas e estriações longitudinais. A nervação é do tipo campilódroma, com 12 a 14 nervuras de calibres semelhantes, que partem de um único ponto na base do limbo, proeminentes na face abaxial. Dessas partem nervuras de menor calibre, paralelas entre si, e dessas as terciárias, culminando na formação de aréolas fechadas com terminações pouco ramificadas. Tanto a lâmina quanto o pecíolo são pubescentes e relativamente ásperos pela presença de tricomas estrelados. Dutos secretores translúcidos são abundantes por toda a lâmina foliar.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar apresenta simetria dorsiventral e é anfiestomática, com estômatos paralelocíticos. Em vista frontal, as paredes anticlinais das células epidérmicas são retas a sinuosas. Sobre as nervuras ocorrem tricomas tectores pluricelulares estrelados. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada e coberta por cutícula delgada, com papilas pouco evidentes. O mesofilo é formado por uma camada de parênquima paliçádico e várias de parênquima esponjoso com expansões braciiformes. No aerênquima ocorrem trabéculas de células braciiformes com reentrâncias espessadas, permitindo a formação de espaços intercelulares triangulares. Dutos secretores estão distribuídos por todo o aerênquima. Nos feixes vasculares do mesofilo ocorrem calotas polares esclerenquimáticas e externamente uma bainha parenquimática. Na nervura principal ocorrem entre oito e onze feixes vasculares, acompanhados de fibras e de bainha parenquimática. O parênquima fundamental é braciiforme. O pecíolo, em vista frontal, apresenta células epidérmicas poliédricas, alongadas longitudinalmente. Em secção transversal, ocorrem feixes vasculares nas duas alas. O aerênquima é similar ao descrito para a nervura principal, entretanto diversas células são repletas de grãos de amido. Os feixes vasculares mais calibrosos (de um a dois) estão dispostos na região central do pecíolo, e são menos calibrosos em direção à periferia, semelhantes ao da nervura principal, mas contando com uma lacuna de protoxilema de grandes dimensões. Os feixes de menor calibre apresentam esclerênquima apenas junto ao polo floemático, enquanto que os de maior calibre mostram um anel contínuo.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos de epiderme da lâmina foliar, com estômatos paralelocíticos e células epidérmicas de contorno reto a sinuoso, recobertas por cutícula com papilas; tricomas tectores estrelados com ou sem porções de epiderme; células com pequenas expansões braciiformes, do parênquima esponjoso; porções de aerênquima contendo duto secretor; células braciiformes com reentrâncias espessadas, que compõem as trabéculas da nervura principal e pecíolo.

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (100:10:10:1).

Solução amostra: turbolisar cerca de 10 g da droga vegetal pulverizada pesada, com exatidão, em 100 mL de álcool etílico a 70% (v/v) durante 15 minutos, com intervalos de cinco minutos, em temperatura não superior a 40 °C. Filtrar, eliminar o álcool etílico em rotaevaporador sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 25 mL de acetato de etila em funil de separação (125 mL). Deixar em repouso em freezer (-18 °C) por 15 minutos, para total separação das fases. Reunir as frações orgânicas e lavar com 50 mL de água. Evaporar a fração obtida em rotaevaporador sob pressão reduzida até resíduo. Retomar o resíduo com 1 mL de álcool metílico.

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

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de isorientina e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência (1)* e 5 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar em capela de exaustão. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR e deixar secar em capela de exaustão.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido cafeico: zona de coloração acastanhada	Zona de coloração acastanhada Zona de coloração esverdeada
Isoorientina: zona de coloração amarela	Zona de coloração amarela Zona de coloração amarela
<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 9,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 11,0%.

Cinzas sulfatadas (5.4.1.5.2). No máximo 13,0%.

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

Derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico

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 0,5 g da droga pulverizada (210 µm) (5.2.11) e adicionar 90 mL de álcool etílico a 50% (v/v) em balão de fundo redondo de 250 mL. Aquecer sob refluxo por 30 minutos. Esfriar e filtrar para balão volumétrico de 100 mL. Lavar o balão de fundo redondo e o filtro com 10 mL de álcool etílico a 50% (v/v) para o mesmo balão volumétrico. Completar o volume com álcool etílico a 50% (v/v) e homogeneizar.

Solução amostra: adicionar, volumetricamente, em balão volumétrico de 10 mL, 1 mL da *Solução estoque*, 2 mL de ácido clorídrico 0,5 M, 2 mL da mistura de nitrito de sódio a 20% (p/v) e molibdato de sódio a 20% (p/v) (1:1). Adicionar 2 mL de solução de hidróxido de sódio a 8% (p/v), completar o volume com álcool etílico a 50% (v/v) e homogeneizar.

Solução branco: adicionar, volumetricamente, em balão volumétrico de 10 mL, 1 mL da *Solução estoque*, 2 mL de ácido clorídrico 0,5 M, 2 mL de solução de hidróxido de sódio a 8% (p/v), completar o volume com álcool etílico a 50% (v/v) e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra*, imediatamente após o seu preparo, a 525 nm, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de derivados do ácido hidroxicinâmico, expressos em verbascosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A \times 1000}{m \times 185}$$

em que,

TA = teor de derivados do ácido hidroxicinâmico, expressos em verbascosídeo % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

185 = coeficiente de absorção específica do verbascosídeo;

m = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio, considerando o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

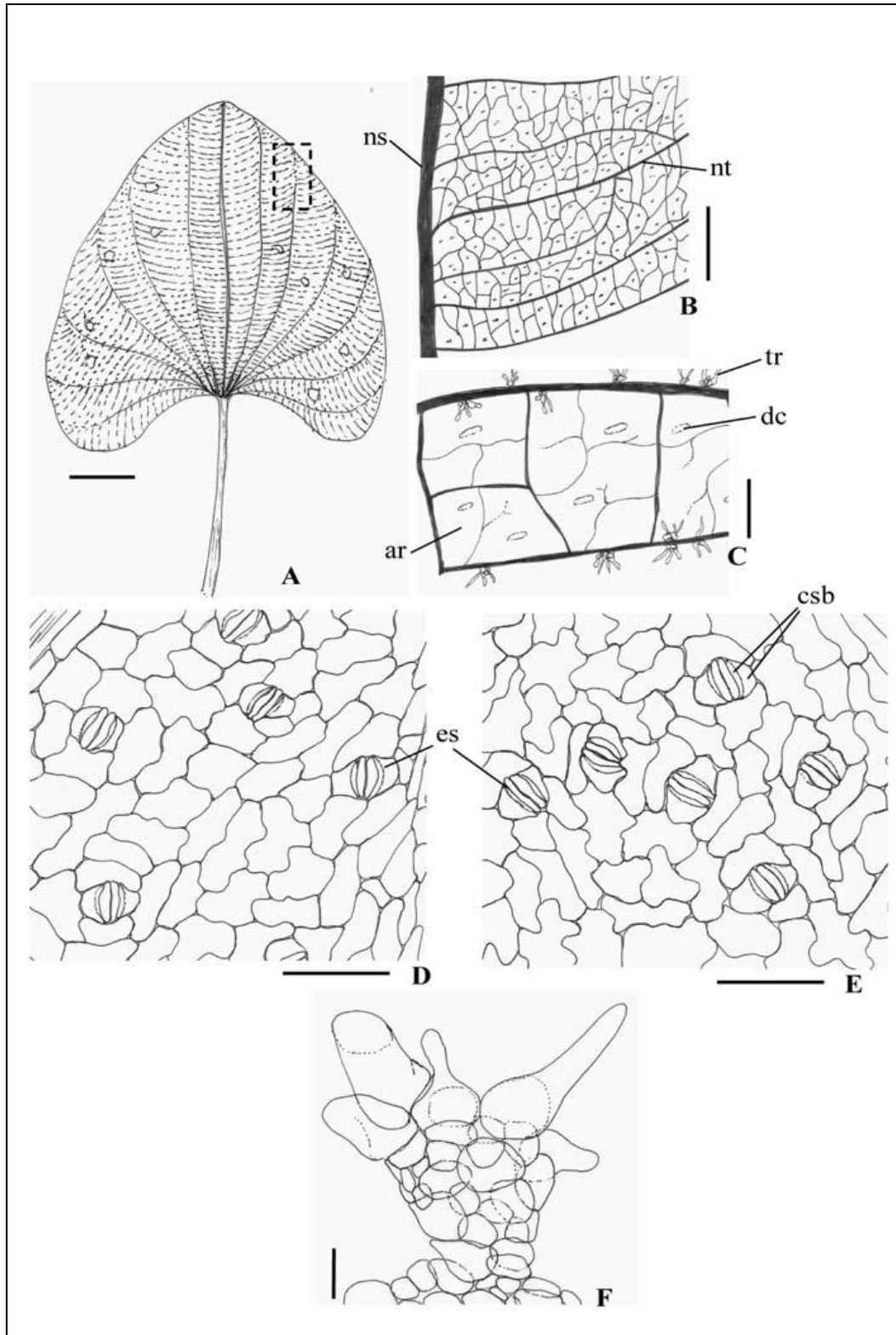


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schtdl.) Micheli

As escalas correspondem em **A** a 8 cm, em **B** a 5 mm, em **C** a 1 mm, em **D** e **E** a 100 μm , em **F** a 50 μm .
A – aspecto geral da folha, em vista frontal. **B** – detalhe parcial de nervura secundária (ns) e de nervuras terciárias (nt) destacadas em **A**. **C** – detalhe de algumas aréolas e terminações vasculares da lâmina foliar: aréola (ar); duto secretor (dc); tricoma estrelado (tr). **D** – detalhe de porção da epiderme da lâmina foliar voltada para a face adaxial, em vista frontal: estômato (es). **E** – detalhe de porção da epiderme da lâmina foliar voltada para a face abaxial, em vista frontal: células subsidiárias (csb); estômato (es). **F** – detalhe de um tricoma estrelado.

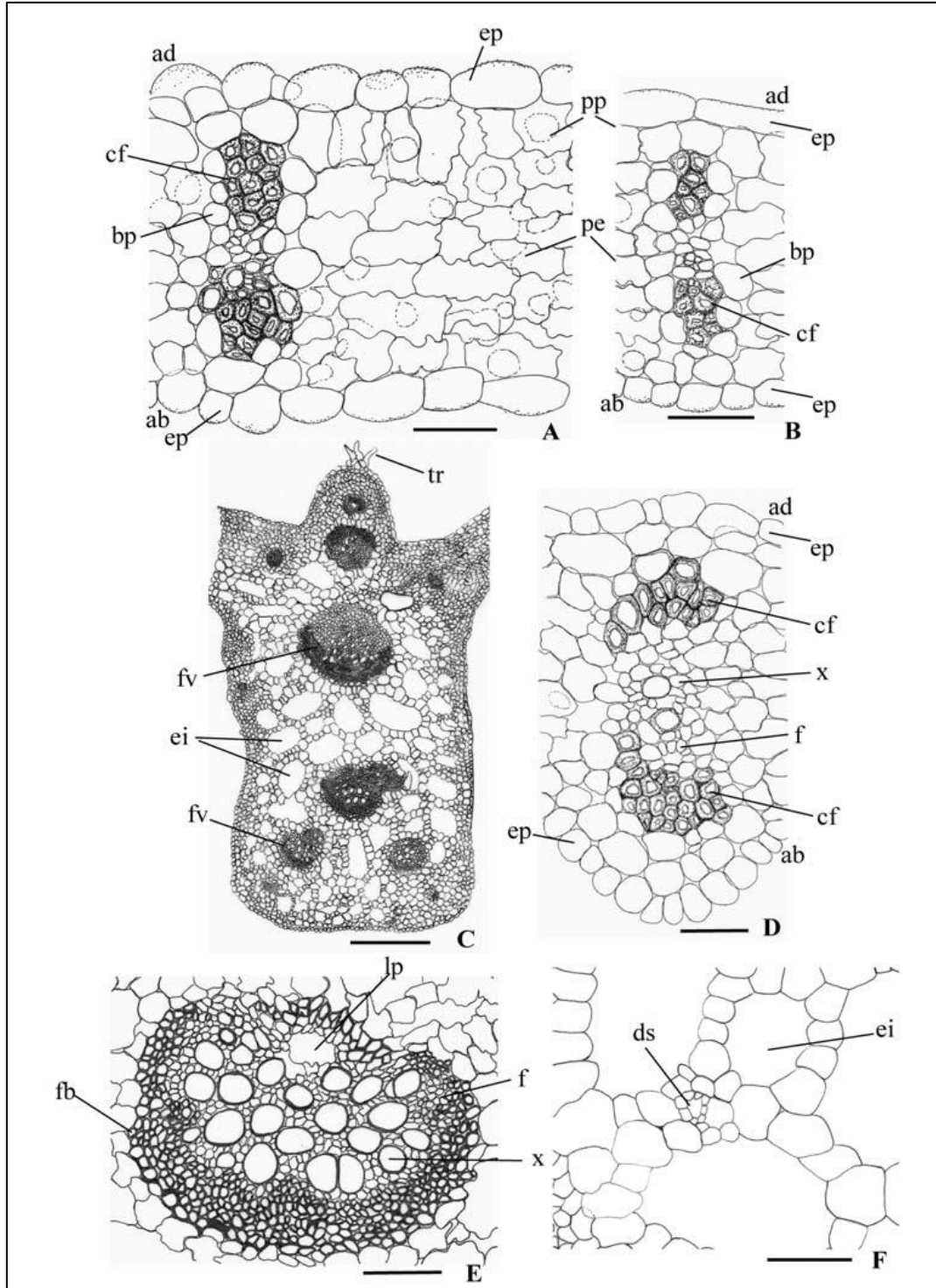


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schtdl.) Micheli

As escalas correspondem em **A**, **B** e **D** a 50 μm , em **C** a 500 μm , em **E** e **F** a 100 μm .

A – detalhe de porção do mesofilo na região mediana da lâmina foliar, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); bainha parenquimática (bp); calota de fibras (cf); epiderme (ep); parênquima esponjoso (pe); parênquima paliçádico (pp). **B** – detalhe de porção do mesofilo na região mediana da lâmina foliar, evidenciando feixe terciário, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); bainha parenquimática (bp); calota de fibras (cf); epiderme (ep); parênquima esponjoso (pe); parênquima paliçádico (pp). **C** – detalhe da região da nervura principal, em secção transversal: espaço intercelular (ei); feixe vascular (fv); tricoma estrelado (tr). **D** – detalhe de porção do mesofilo, evidenciando um feixe vascular, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); calota de fibras (cf); epiderme (ep); floema (f); xilema (x). **E** – detalhe de um feixe vascular da nervura principal, em secção transversal: floema (f); fibroesclereídes (fb); lacuna do protoxilema (lp); xilema (x). **F** – detalhe de porção do aerênquima na região da nervura principal, em secção transversal: duto secretor (ds); espaço intercelular (ei).

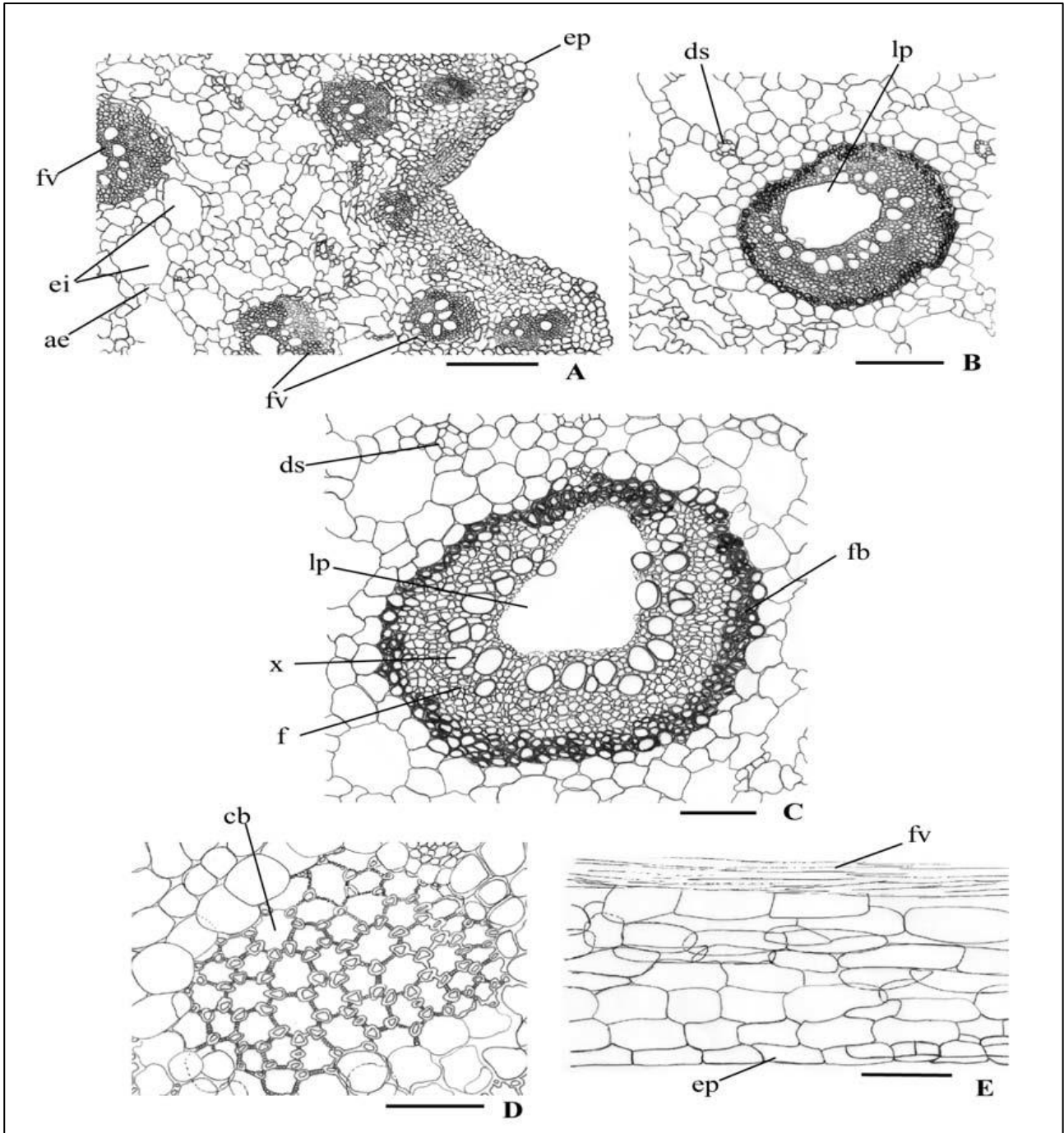


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Echinodoros grandiflorus* (Cham. &Schltdl.) Micheli

As escalas correspondem em **A** e **B** a 200 μm ; em **C**, **D** e **E** a 100 μm .

A a **D** – secções transversais do pecíolo. **A** – detalhe de porção do pecíolo: aerênquima (ae); espaço intercelular (ei); epiderme (ep); feixe vascular (fv). **B** – detalhe de porção do pecíolo, na região do aerênquima, evidenciando um feixe

vascular: duto secretor (ds); lacuna do protoxilema (lp). **C** – detalhe de um feixe vascular, na região central do pecíolo: duto secretor (ds); floema (f); fibroesclereíde (fb); lacuna do protoxilema (lp); xilema (x). **D** – detalhe das trabéculas do pecíolo: célula braciforme (cb). **E** – detalhe parcial do aerênquima em secção longitudinal: epiderme (ep); feixe vascular (fv).