

## **GARRA-DO-DIABO, raiz**

### *Harpagophyti radix*

A droga vegetal consiste de raízes secundárias tuberosas dessecadas e fragmentadas ou pulverizadas de *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn., contendo, no mínimo, 1,2% de harpagosídeo (C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>11</sub>, 494,49).

#### IDENTIFICAÇÃO

##### A. Descrição macroscópica

Raízes secundárias tuberosas, em pedaços ou fatias irregulares, em geral circulares, em regra de 2 a 4 cm de diâmetro, raramente 6 cm, e 2 a 6 mm de espessura; os fragmentos, quando desidratados, apresentam coloração acastanhada. Os pedaços apresentam casca suberosa fina (0,2 a 0,5 mm), acinzentado-amarelada a castanho-avermelhada; longitudinalmente são enrugados. A fratura é lisa e a superfície é córnea, esbranquiçada a cinza.

##### B. Descrição microscópica

A periderme é constituída por até 30 camadas de células de arranjo radial. O súber é homogêneo e formado por cerca de 25 camadas de células retangulares justapostas, com paredes delgadas e a feloderme é constituída por duas a três camadas de células retangulares, achatadas e de paredes delgadas. Lenticelas podem ser ocasionalmente observadas. O parênquima cortical é contituído por cerca de 35 camadas de células volumosas e de paredes delgadas, com campos de pontoação primária evidentes e espaços intercelulares diminutos; grãos de amido ausentes (não evidenciados pelo reativo de lugol); esporadicamente encontram-se células pétreas. O sistema vascular apresenta arranjo radial; as numerosas séries radiais são constituídas por elementos de condução e células parenquimáticas de paredes não lignificadas, provenientes do câmbio fascicular, e alternam-se a estreitas séries de células parenquimáticas com paredes não lignificadas, provenientes do câmbio interfascicular. O floema possui séries radiais com elementos de tubo crivado e células parenquimáticas, alternadas a cinco a sete séries de células parenquimáticas volumosas; fibras e células pétreas ausentes. A região do câmbio apresenta duas a quatro camadas de células retangulares. O xilema secundário também possui arranjo radial. Os elementos traqueais e as fibras estão dispostos em séries radiais geralmente unisseriadas e alternam-se aos raios parenquimáticos multisseriados. Os elementos traqueais apresentam placas de perfuração simples e paredes pontoadas ou escalariformes. Cristais de oxalato de cálcio na forma de pequenas agulhas ou cubos podem ser observados. A medula é reduzida, pouco diferenciada, constituída por células parenquimáticas.

##### C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração marrom-amarelada; fragmentos de súber consistindo de células poliédricas sobrepostas, com paredes suberificadas delgadas; fragmentos de parênquima cortical com células hexagonais de paredes delgadas com pontoações conspícuas, em parte com inclusões amarelas, na forma de gotinhas, ou marrom-avermelhadas, granulares, e esparsamente cristais de oxalato de cálcio na forma de agulhas ou cubos; fragmentos de elementos traqueais com paredes com espessamento escalariforme ou pontoado; células parenquimáticas de paredes lignificadas frequentemente associadas aos elementos de condução; raramente são observados esclereídes retangulares ou poligonais com paredes com pontoações e conteúdo marrom-avermelhado. Grãos de amido ausentes.

**D. Falsificações ou adulterantes**

Raízes primárias de *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn. podem ser identificadas pela camada mais grossa de súber, pela coloração acastanhada e pela ausência do sabor amargo. Pode ser confundida com outras plantas africanas com raízes fortemente amargas, como *Elephantorrhiza* spp. (Fabaceae, Mimosoideae) e *Acanthosicyos naudinianus* (Sond.) C. Jeffrey (Cucurbitaceae).

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

*Fase estacionária*: sílica-gel GF<sub>254</sub>, com espessura de 0,25 mm.

*Fase móvel*: acetato de etila, álcool metílico e água (77:15:8).

*Solução amostra*: aquecer durante 10 minutos, 1 g da droga vegetal pulverizada (355 µm) (5.2.11) com 10 mL de álcool metílico utilizando banho-maria a temperatura de 60 °C. Filtrar e concentrar o filtrado para 2 mL, sob vácuo, em temperatura inferior a 40 °C.

*Solução referência*: dissolver 1 mg de harpagosídeo em 1 mL de álcool metílico.

*Procedimento*: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm, após 30 minutos. Nebulizar com solução de anisaldeído.

*Resultados*: nos esquemas a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após o exame sob a luz ultravioleta e a nebulização com a solução de anisaldeído, respectivamente. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Harpagosídeo: zona de fluorescência azul-escuro	Zona de fluorescência azul-escuro
	Zona de fluorescência azul-claro
	Zona de fluorescência azul-escuro
	Zona de fluorescência azul-escuro
	Zona de fluorescência azul-claro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

<i>Parte superior da placa</i>	
Harpagosídeo: zona de coloração marron-esverdeado	Zona de coloração azul-escuro
	Zona de coloração azul-claro
	Zona de coloração verde-escuro
	Zona de coloração marron-esverdeado
	Zona de coloração verde claro
	Zona de coloração verde-acinzentado
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

## TESTES

**Perda por dessecação (5.2.9.1).** Método gravimétrico. No máximo 12,0%. Utilizar 2 g da droga pulverizada (355 µm) (5.2.11) a 105 °C durante duas horas.

**Metais pesados (5.4.5).** Cumpre o teste.

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

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 10,0%.

**Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3).** No máximo 5,0%.

**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.

**Amido.** Examinar a droga pulverizada (355 µm) (5.2.11) em um microscópio com aumento de 10 vezes. Utilizar água e reativo de Lugol. Não deve desenvolver coloração azul.

**Aflatoxinas (5.4.4).** Cumpre o teste.

**Resíduos de agrotóxicos (5.4.3).** Cumpre o teste.

## DOSEAMENTO

**Harpagosídeo**

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 281 nm, 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 de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto. Sistema isocrático.

*Fase móvel*: água e álcool metílico (50:50)

*Solução amostra*: pesar, com exatidão, cerca de 0,50 g da droga pulverizada (355 µm) (5.2.11), adicionar 50 mL de álcool metílico e extrair sob agitação magnética durante uma hora em erlenmeyer de 125 mL. Filtrar em papel de filtro, transferir para balão volumétrico de 100 mL e reservar. Transferir o resíduo e o papel de filtro para balão de fundo redondo de 125 mL, adicionar 50 mL de álcool metílico e aquecer, sob refluxo, durante uma hora. Após o resfriamento, filtrar. Lavar o condensador duas vezes com 5 mL álcool metílico cada e filtrar. Reunir o filtrado e as soluções de lavagem. Evaporar até *secura*, a vácuo, em banho-maria com temperatura não superior a 40 °C. Suspender o resíduo em álcool metílico e transferir para o balão volumétrico de 100 mL reservado. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Diluir uma alíquota de 3,0 mL para 10 mL com álcool metílico. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Curva analítica*: construir uma curva analítica com a substância de referência harpagosídeo em álcool metílico, com, no mínimo, cinco concentrações, na faixa entre 3 e 40 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Procedimento*: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL de cada concentração da *Curva analítica*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de harpagosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TH = \frac{C_a \times 333 \times 100}{m \times 1000000}$$

em que,

TH = teor de harpagosídeo % (p/p);

$C_a$  = concentração de harpagosídeo encontrada na *Solução amostra* em µg/mL por meio da curva de calibração analítica, considerando pureza da substância de referência;

$m$  = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;

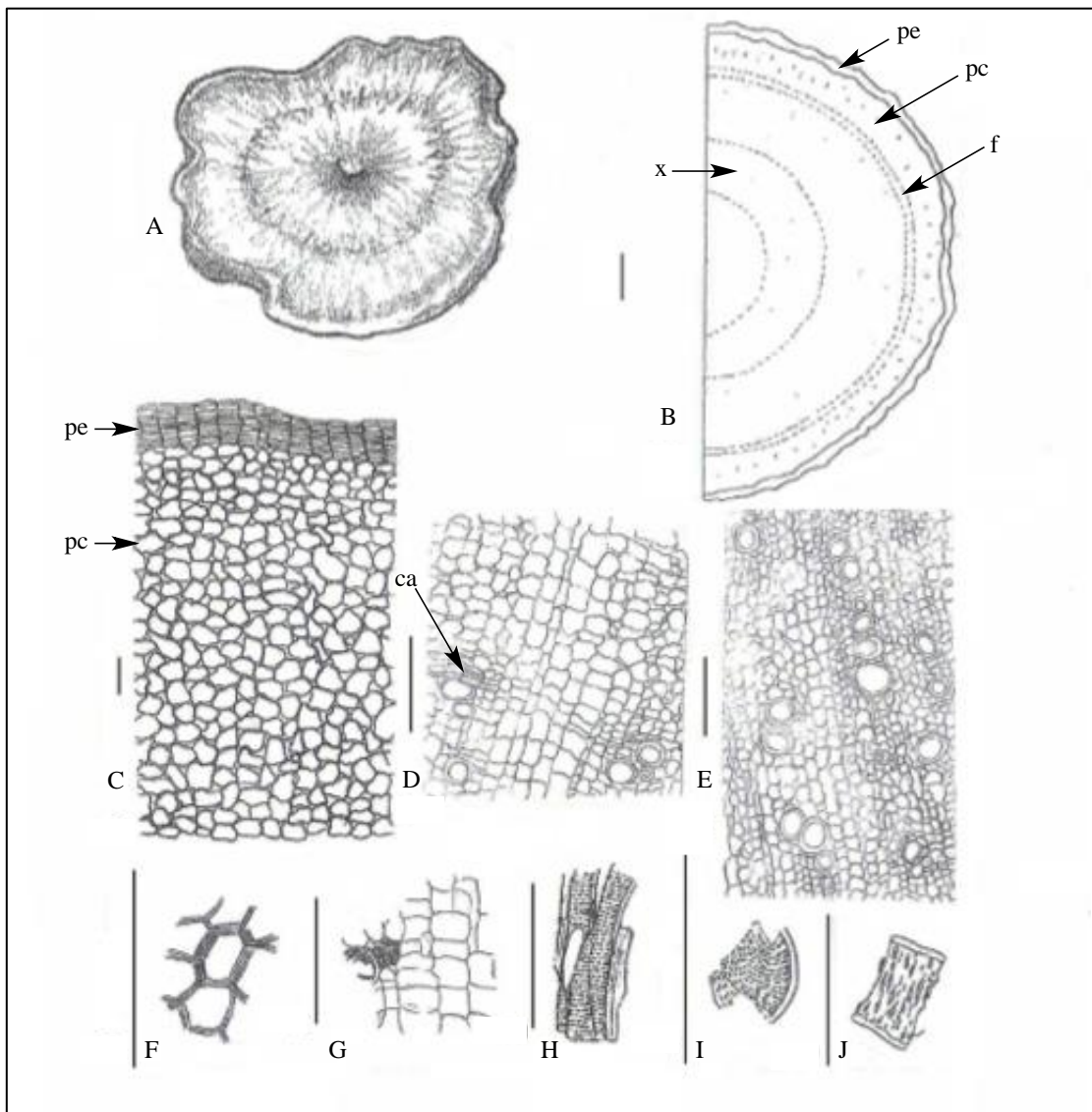
333 = fator de diluição da *Solução amostra*;

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g);

1000000 = fator de conversão de µg para g.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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



**Figura 1** – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn.

As escalas correspondem: em B a 500  $\mu\text{m}$ , de C a I em 200  $\mu\text{m}$ , e em J a 100  $\mu\text{m}$ .

**A-** aspecto geral da droga; **B-** esquema do corte transversal da raiz, evidenciando periderme (pe), parênquima cortical (pc), região do floema primário e secundário (f), região do xilema secundário (x). **C-** periderme (pe) e parênquima cortical (pc), em secção transversal. **D-** secção transversal da região do câmbio (ca), com floema secundário, xilema secundário e raios parenquimáticos multisseriados, fibras e vasos dispostos em séries radiais. **E-** secção transversal do xilema secundário. **F-J:** detalhes do pó; **F-** fragmento do súber; **G-** fragmento de elemento de vaso acompanhado de parênquima radial; **H-J:** fragmentos de elementos de vaso com diferentes tipos de espessamento de parede.