

*Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele:* a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,100 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL 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 para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL da 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 = teor de taninos 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 no ensaio; e

$m_2$  = massa em gramas de pirogalol.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

### **HIDRASTE, rizoma e raiz** *Hydrastidis rhizoma et radix*

A droga vegetal consiste de rizomas e raízes secos e fragmentados de *Hydrastis canadensis* L., contendo, no mínimo, 2,5% de hidrastina ( $C_{21}H_{21}NO_6$ , 383,39) e, no mínimo, 3,0% de berberina ( $C_{20}H_{18}NO_4$ , 336,36).

## IDENTIFICAÇÃO

### A. Descrição macroscópica

O rizoma cresce horizontal ou obliquamente e sustenta numerosas e pequenas ramificações, além das raízes adventícias. O rizoma é cilíndrico, tortuoso, muitas vezes dilatado, enrugado longitudinalmente, com 1 a 6 cm de comprimento e 0,2 a 1,0 cm de diâmetro; externamente é castanho-amarelado ou castanho-acinzentado e internamente amarelo-claro no centro a amarelo-esverdeado próximo à margem. Externamente é marcado por numerosas cicatrizes, mais ou menos circulares, provenientes da queda dos caules, e outras menores, da queda dos brotos e raízes. As raízes, originadas nas superfícies ventral e lateral, são numerosas, filiformes, com 0,1 cm de diâmetro e cerca de 3,5 cm de comprimento, curvadas, retorcidas, frágeis, facilmente separáveis e destacáveis, de coloração semelhante à do rizoma.

#### **B. Descrição microscópica**

O rizoma, em secção transversal, mostra súber formado por um número variável de camadas. O parênquima cortical consiste de células, de paredes finas, poligonais a arredondadas, entretanto, alongadas em secção longitudinal, contendo grãos de amido e massas amareladas. As células da região externa deste parênquima têm paredes espessas com aparência das de um colênquima. O sistema vascular está representado por 12 a 20 feixes vasculares colaterais, dispostos em círculo, separados por largas fileiras de células parenquimáticas de coloração alaranjado-amarelada a amarelo-esverdeada. A porção central é ocupada por um amplo parênquima medular. Em secção longitudinal, o xilema mostra elementos de vaso pequenos, dos tipos helicoidal, pontoado e reticulado (mais raro). A raiz, em secção transversal, mostra uma epiderme uniestratificada, com células de coloração, castanho-amarelada, com paredes externas suberificadas. O parênquima cortical, de células de paredes espessas, contém amido. A endoderme possui células de paredes ligeiramente lignificadas; nas raízes jovens, em secção tangencial, as células mostram-se alongadas, de paredes finas e marcadamente sinuosas. Em vista frontal, as células da epiderme são mais alongadas e irregulares do que aquelas do rizoma, e algumas dão origem a pelos absorventes.

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

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração amarelada a amarelo-esverdeada; abundantes grãos de amido esféricos, isolados ou reunidos em grupos de dois, três ou quatro componentes; fragmentos de parênquima contendo grãos de amido; poucos fragmentos do súber castanho-amarelado, composto de células poligonais em vista frontal, e, em vista transversal, mostrando massas irregulares de substância granular castanho-escuro sobre o lado externo do súber; fragmentos de tecido vascular, contendo elementos de vaso com pontoações areoladas, alguns com espessamento helicoidal, infrequentes fibras do xilema, de 200 a 300 µm de comprimento, de paredes delgadas e poros simples; substância granular castanho-alaranjada em grumos. Ausência de cristais de oxalato de cálcio e de esclereídes.

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

*Fase estacionária:* sílica-gel GF<sub>254</sub> (0,250 mm).

*Fase móvel:* acetato de etila, água e ácido fórmico anidro (80:10:10).

*Solução amostra:* extrair 0,5 g da droga pulverizada com 10 mL de água e metanol (20:80). Sonicar durante 10 minutos e filtrar. Lavar o resíduo duas vezes com 2 mL de metanol. Combine as soluções e dilua para 20 mL.

*Solução referência:* solução recentemente preparada de 5 mg de cloridrato de hidrastina e 5 mg cloridrato de berberina em 20 mL de metanol.

*Procedimento:* aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 15 µL a 20 µL da *Solução amostra* e 3 µL a 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. A seguir, nebulizar com iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR e examiná-la novamente.

*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	
Berberina: zona de fluorescência amarela Hidrastina: zona de fluorescência azul escuro	Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência azul escuro  Zona de fluorescência azul-clara Zona de fluorescência azul escuro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

## TESTES

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

**Água (5.4.1.4).** No máximo 10%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 8%.

**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.

**Aflatoxinas (5.4.4).** 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 235 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano e coluna de 75 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3,5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,30 mL/minuto.

*Fase móvel*: fosfato monobásico de potássio 0,05 M e acetonitrila (73:27).

*Solução amostra*: a um balão de fundo redondo de 100 mL contendo cerca de 1,0 g da amostra pulverizada pesada, com exatidão, adicionar 50 mL de solução de amônia a 1% (v/v) em etanol. Aquecer até ebulição, sob refluxo, durante 30 minutos. Deixar esfriar à temperatura ambiente e filtrar em algodão hidrófilo, recolhendo o filtrado em um erlenmeyer. Juntar o algodão hidrófilo ao resíduo contido no balão de fundo redondo e repetir a extração por duas vezes com 30 mL da solução de amônia a 1% (v/v) em etanol, aquecendo, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar em algodão para o mesmo erlenmeyer utilizado anteriormente. Filtrar em papel de filtro, reunir os filtrados em um balão de fundo redondo de 250 mL, lavar o balão e o papel de filtro com 20 mL de solução de amônia a 1% (v/v) em etanol. Evaporar o filtrado até secura, sob pressão reduzida, em banho-maria a 55 °C. Dissolver o resíduo em 50 mL da *Fase móvel*. Diluir 1 mL da solução obtida para 50 mL, utilizando a *Fase móvel*. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

*Solução referência (1)*: dissolver 10 mg de cloridrato de hidrastina e 10 mg de cloreto de berberina em metanol, completar o volume para 25 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

*Solução referência (2)*: diluir 1 mL da *Solução referência (1)* para 25 mL utilizando metanol como solvente e homogeneizar.

*Soluções para curva analítica*: transferir 2,0 mL da *Solução referência (1)* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir alíquotas de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL e 7 mL com *Fase móvel* para 10 mL, obtendo soluções com concentrações de 3,2 µg/mL, 6,4 µg/mL, 9,6 µg/mL, 16,0 µg/mL e 22,4 µg/mL para cloridrato de hidrastina e cloreto de berberina. Filtrar as soluções em unidade filtrante de 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

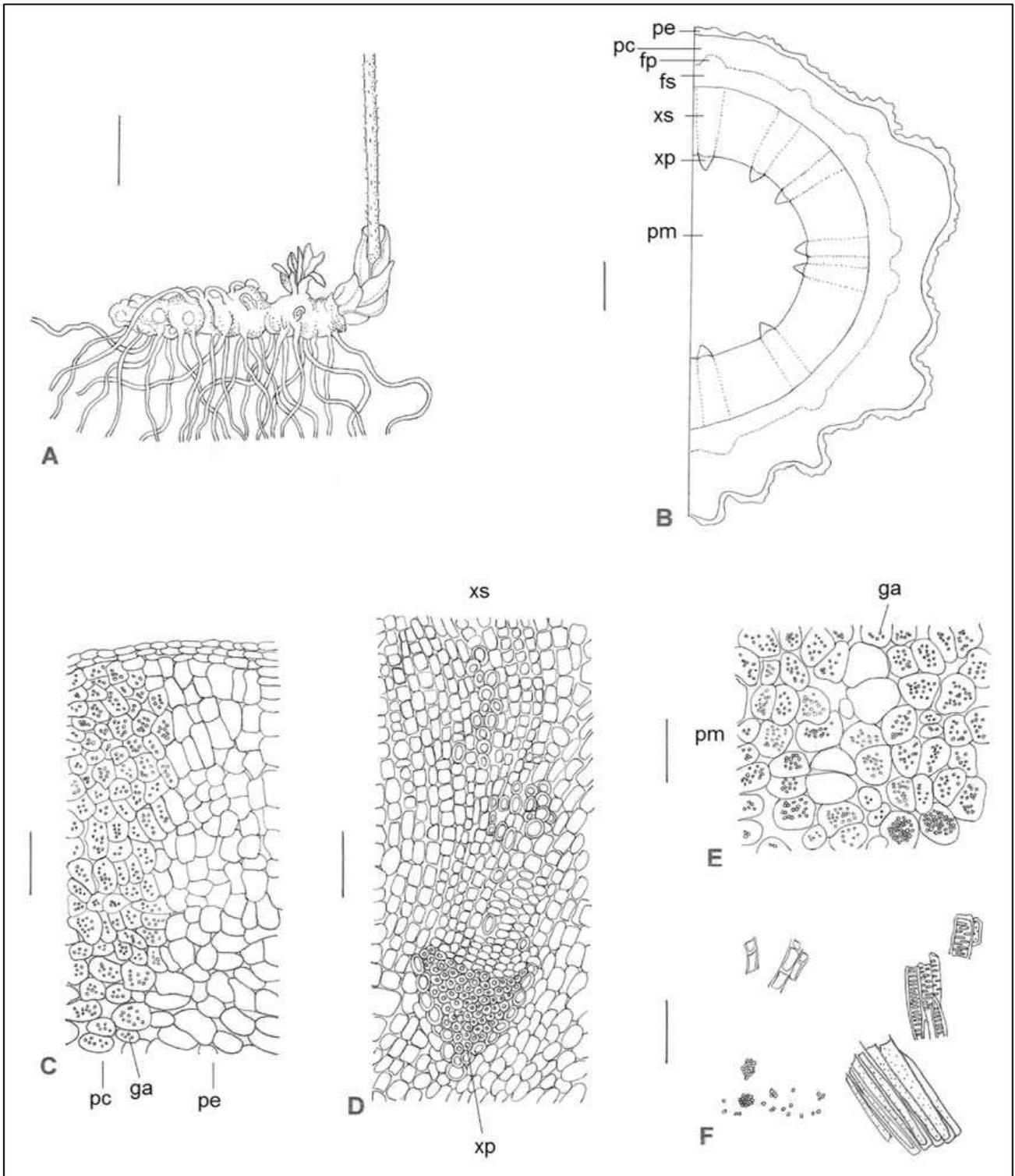
### *Adequabilidade do sistema*

*Resolução entre picos*: *Solução referência (2)*, injetar 10 µL. A hidrastina tem tempo de retenção menor que a berberina. A resolução entre os picos correspondentes a hidrastina e a berberina é de, no mínimo, 1,5.

*Procedimento*: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência (1)*, 10 µL da *Solução referência (2)* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à hidrastina e à berberina. O tempo de retenção relativo é cerca de 8,2 minutos para a hidrastina e 10,8 minutos para a berberina. Calcular o teor de hidrastina e berberina na amostra a partir da equação da reta obtida com as curvas analíticas do cloridrato de hidrastina e cloreto de berberina. O resultado é expresso pela média das determinações de hidrastina e berberina, separadamente, em porcentagem % (p/p) da droga, considerando a determinação de água.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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



**Figura 1** – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Hydrastis canadensis* L.

As escalas correspondem em **A** a 100 mm, em **B** a **F** a 100  $\mu$ m.

**A** – aspecto geral do rizoma. **B** – esquema da secção transversal do rizoma: floema primário (fp), região do floema secundário (fs), parênquima cortical (pc), periderme (pe), parênquima medular (pm), xilema primário (xp), xilema secundário (xs). **C** – detalhe de periderme (pe) e parênquima cortical (pc) em secção transversal, os numerosos grãos de amido (ga) estão representados apenas nas células à esquerda. **D** – detalhe de secção transversal das seguintes regiões, de cima para baixo: xilema secundário (xs) apresentando raios parenquimáticos multisseriados, fibras e elementos de vaso dispostos em séries radiais; xilema primário (xp) com fibras, meta e protoxilema envolto por parênquima medular; os abundantes grãos de amido presentes no parênquima medular e nos raios parenquimáticos não foram representados. **E** – detalhe de secção transversal do parênquima medular (pm) apresentando numerosos grãos de amido (ga) na maioria das

células. **F** – aspecto geral do pó do rizoma, com fragmentos do súber (acima, à esquerda), de vasos (acima, à direita), de fibras (abaixo, à direita), de grãos de amido, isolados ou agregados.

## **HORTELÃ-PIMENTA, folha** *Menthae piperitae folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas, inteiras, quebradas, cortadas ou pulverizadas de *Mentha x piperita* L. ou de suas variedades, contendo, no mínimo, 1,2% de óleo volátil em folhas inteiras e, no mínimo, 0,9% de óleo volátil em folhas rasuradas, em relação ao material dessecado.

### **CARACTERÍSTICAS**

A droga tem odor forte, aromático, penetrante, semelhante ao mentol.

### **IDENTIFICAÇÃO**

#### **A. Descrição macroscópica**

A lâmina foliar é ovalado-oblonga a oblongo-lanceolada, medindo 1,5 a 9,0 cm de comprimento e 1,0 a 5,0 cm de largura, com ápice agudo, base irregularmente arredondada e assimétrica, margem irregularmente serrada, com coloração verde-clara a verde-escura, face adaxial quase lisa e abaxial pubescente. O pecíolo mede de 0,4 a 1,5 cm de comprimento e é pubescente.

#### **B. Descrição microscópica**

Lâmina foliar de simetria dorsiventral, hipoanfiestomática, com estômatos diacíticos. Em vista frontal, a cutícula é lisa e as células da epiderme têm paredes anticliniais de contorno ondulado na região entre as nervuras e retilíneas sobre as nervuras. Os tricomas são tectores ou glandulares: tricoma tector pluricelular, unisseriado, com duas a quatorze células, com cutícula espessa e marcadamente estriada, sendo a célula basal de maior comprimento e a apical de ápice obtuso, podendo apresentar uma coroa de células basais; tricoma tector pluricelular, com duas a seis células, bisseriado na base, igualmente com cutícula espessa e estriada; tricoma glandular com pedicelo unicelular a tricelular, curto e com cabeça unicelular, elíptica ou arredondada, com cutícula delgada; tricoma glandular peltado, encontrado em depressões da epiderme, com pedicelo curto, formado por uma ou duas células na porção basal e cabeça pluricelular com oito células de disposição radial, geralmente com cutícula dilatada e de coloração parda. Em secção transversal, as epidermes adaxial e abaxial constam de apenas uma camada de células, ricas em gotas de óleo; o parênquima paliçádico é formado por uma camada de células e o parênquima esponjoso é formado por 3-4 camadas, gotas de óleo são abundantes em todos os tecidos. A nervura principal, em secção transversal, apresenta sistema vascular formado por um feixe colateral.

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

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. Examinar ao microscópio, utilizando solução de hidrato de cloral R. São características: coloração verde-claro a verde-oliva; fragmentos da epiderme, fragmentos de mesofilo e fragmentos de nervuras com as características e elementos mencionados em Descrição microscópica.