



Agência Nacional de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

**Consulta Pública nº 1.233, de 15 de fevereiro de 2024**  
**D.O.U de 20/02/2024**

**A GERENTE DE LABORATÓRIOS DE SAÚDE PÚBLICA DA AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA**, no exercício da competência que lhe foi delegada por meio do Despacho 77, de 10 de agosto de 2022, aliado ao art. 187, III, do Regimento Interno aprovado pela Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 585, de 10 de dezembro de 2021, resolve submeter à consulta pública, para comentários e sugestões do público em geral, proposta de ato normativo, em Anexo.

Art. 1º Fica estabelecido o prazo de 45 (quarenta e cinco) dias para envio de comentários e sugestões ao texto das monografias anis-estrelado (fruto), canela-da-china (casca), cannabis (inflorescência), capim-limão (folha), endro (fruto), estêvia (folha), gengibre (rizoma), romã (fruto) e valeriana (rizoma e raiz), conforme Anexo.

Parágrafo único. O prazo de que trata este artigo terá início 7 (sete) dias após a data de publicação desta Consulta Pública no Diário Oficial da União.

Art. 2º A proposta de ato normativo estará disponível na íntegra no portal da Anvisa na internet e as sugestões deverão ser enviadas eletronicamente por meio do preenchimento de formulário eletrônico específico, disponível no endereço: <https://pesquisa.anvisa.gov.br/index.php/222499?lang=pt-BR>

§1º Com exceção dos dados pessoais informados pelos participantes, todas as contribuições recebidas são consideradas públicas e de livre acesso aos interessados, conforme previsto na Lei nº 12.527, de 18 de novembro de 2011 e estarão disponíveis após o encerramento da consulta pública, em sua página específica, no campo “Documentos Relacionados”.

§2º Ao término do preenchimento e envio do formulário eletrônico será disponibilizado número de identificação do participante (ID) que poderá ser utilizado pelo usuário para localizar a sua própria contribuição, sendo dispensado o envio postal ou protocolo presencial de documentos em meio físico junto à Agência.

§3º Em caso de limitação de acesso do cidadão a recursos informatizados será permitido o envio e recebimento de sugestões por escrito, em meio físico, durante o prazo de consulta, para o seguinte endereço: Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Coordenação da Farmacopeia – Cofar, SIA trecho 5, Área Especial 57, Brasília-DF, CEP 71.205-050.

§4º Excepcionalmente, contribuições internacionais poderão ser encaminhadas em meio físico, para o seguinte endereço: Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Assessoria de Assuntos Internacionais – AINTE, SIA trecho 5, Área Especial 57, Brasília-DF, CEP 71.205-050.

Art. 3º Findo o prazo estipulado no art. 1º, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária promoverá a análise das contribuições e, ao final, publicará o resultado da consulta pública no portal da Agência.

Parágrafo único. A Agência poderá, conforme necessidade e razões de conveniência e oportunidade, articular-se com órgãos e entidades envolvidos com o assunto, bem como aqueles que tenham manifestado interesse na matéria, para subsidiar posteriores discussões técnicas e a deliberação final da Diretoria Colegiada.

**GRAZIELA COSTA ARAÚJO**

**ANEXO**

## PROPOSTA EM CONSULTA PÚBLICA

Processo nº: 25351.903531/2024-82

Assunto: Proposta de revisão das monografias anis-estrelado (fruto), canela-da-china (casca), capim-limão (folha), endro (fruto), estévia (folha), gengibre (rizoma) e valeriana (rizoma e raiz) e de inclusão das novas monografias cannabis (inflorescência) e romã (fruto).

Agenda Regulatória 2024-2025: Tema nº 5.5 Atualização periódica dos compêndios da Farmacopeia Brasileira (FB)

Área responsável: Coordenação da Farmacopeia – Cofar

Diretor Relator: Rômison Rodrigues Mota

### **ANIS-ESTRELADO, fruto**

#### ***Anisi stellati fructus***

A droga vegetal consiste dos frutos secos de *Illicium verum* Hook. f., contendo, no mínimo, 7,0% de óleo volátil, com, no mínimo, 80% de *trans*-anetol.

#### NOMES POPULARES

Badiana, badiana-da-china.

#### CARACTERÍSTICAS

O pericarpo da droga possui odor aromático agradável; a semente é inodora.

#### IDENTIFICAÇÃO

##### **A. Descrição macroscópica**

O fruto é múltiplo, composto de sete ou oito folículos, algumas vezes até 11, dispostos horizontalmente em forma de estrela, ao redor de um eixo central denominado columela. Os folículos têm de 1 a 2 cm de comprimento, coloração castanho-acinzentada e são desigualmente desenvolvidos, lenhosos, careniformes, achatados lateralmente, terminando em ápice obtuso e curvo. A face externa, lateral e inferior de cada folículo é espessa e rugosa e o bordo superior, chamado de sutura ventral, é aberto em dois lábios delgados e lisos de cada lado da fenda da deiscência carpelar, deixando ver sua face interna lisa e brilhante, de coloração castanho-amarelada; as faces laterais externas e rugosas apresentam, perto da base, uma parte mais lisa, clara e semielíptica, pela qual os carpelos estão em contato entre si. Cada folículo possui uma única semente oval, castanho-avermelhada ou castanho- amarelada, dura e brilhante, truncada na base, onde se distinguem o hilo e a micrópila próximos um do outro. A semente apresenta tegumento frágil e endosperma oleoso, que circunda um pequeno embrião.

##### **B. Descrição microscópica**

O epicarpo, em vista frontal, mostra células poligonais, marrons, irregulares, de paredes pouco espessadas, com estômatos anomocíticos grandes, não muito frequentes, e cutícula com estrias irregulares bem acentuadas. Em secção transversal, o mesocarpo, logo abaixo do epicarpo, apresenta algumas camadas de parênquima de células de paredes castanho-avermelhadas contendo amido, e alguns idioblastos secretores oleíferos esféricos, de paredes finas. Ocorrem pequenos espaços intercelulares em todo o mesocarpo. Mais internamente, o mesocarpo apresenta parênquima de células de paredes castanho-avermelhadas, não lignificadas, mas com numerosos esclereídes e astroesclereídes, os quais ocorrem também na columela. Os astroesclereídes da columela e do mesocarpo são muito grandes e usualmente solitários; eles podem ser irregularmente ramificados ou podem ter projeções mais curtas e afiladas. Outros esclereídes do mesocarpo são encontrados em grupos, mas são alongados, com paredes espessadas e pontoadas, sendo denominados de fibroesclereídes. Também no parênquima do mesocarpo ocorrem numerosos idioblastos secretores oleíferos esféricos. As últimas camadas de células do mesocarpo dispõem-se de forma mais compacta, perpendiculares ao restante do mesocarpo e também em relação ao endocarpo. O endocarpo é formado por uma camada de células alongadas radialmente, sob forma de paliçada, de 60 µm de comprimento, em média. O tegumento da semente é formado por camadas distintas. O tegumento externo está representado por um tecido hialino formado por duas ou três camadas de células, seguido por um estrato de osteoesclereídes, com células alongadas radialmente, de paredes

espassadas e pontoadas; seguem-se várias camadas de células de paredes lignificadas, espessadas e pontoadas, denominadas macroesclereídes, sendo as camadas interiores de paredes delgadas; o tegumento interno é formado por uma camada de células com cristais de oxalato de cálcio romboédricos ou retangulares. Na zona micropilar ocorrem braquiesclereídes. O endosperma compõe-se de células poligonais com grãos de aleurona com cristaloides e gotas de óleo. O embrião é pequeno.

#### C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-avermelhada; fragmentos formados por células marrons do epicarpo, com cutícula fortemente estriada; fragmentos de células parenquimáticas do mesocarpo, com idioblastos secretores oleíferos esféricos; esclereídes e astroesclereídes volumosos, irregularmente ramificados, oriundos do mesocarpo e da columela; fibroesclereídes alongados, oriundos do mesocarpo, com paredes espessadas e pontoadas; fragmentos formados por células colunares do endocarpo, com paredes levemente espessadas, lignificadas, com pigmentos nas paredes terminais; massas amareladas de células pequenas, de paredes bastante espessadas e pontoadas, provenientes da zona da sutura ventral; esclereídes isolados (osteo-esclereídes, macroesclereídes e braquiesclereídes), oriundos do tegumento da semente; fragmentos hialinos do tegumento externo da semente; cristais tabulares ou rombóides de oxalato de cálcio; porções de endosperma com grãos de aleurona contendo cristaloides.

#### D. Falsificações e adulterantes

Difere de *Illicium anisatum* L. (syn. *Illicium religiosum* Sieb. & Zucc.) por essa apresentar folículos menores e mais ovalados, sutura ventral mais larga e columela reta, não claviforme e microscopicamente raros astroesclereídes, sendo esses não ramificados; os esclereídes do mesocarpo são arredondados, nunca alongados.

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

*Fase estacionária*: sílica-gel GF254 (0,25 mm).

*Fase móvel*: acetato de etila, água, ácido fórmico anidro e ácido acético glacial (100:26:11:11)

*Solução amostra*: aquecer, sob refluxo, 2 g de folículos pulverizados (355 µm) (5.2.11), sem sementes, com 10 mL de álcool metílico, em banho-maria, a 60 °C durante cinco minutos. Deixar esfriar e filtrar.

*Solução referência*: dissolver 1 mg de ácido cafeico, 1 mg de ácido clorogênico, 2,5 mg de quercitrina, 2,5 mg de rutina e 2,5 mg de hiperosídeo, em 10 mL de álcool metílico.

*Procedimento*: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 µL da *Solução amostra*, 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. A seguir, nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR (Reagente Natural A) a 1% (p/v) em álcool metílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

*Resultados*: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem. Cromatograma de amostras de *Illicium anisatum* não apresentam zonas de fluorescência marrom-amareladas na mesma região ou abaixo da posição da zona de quercitrina, não apresentam fluorescência amarela na posição, ou abaixo, da zona referente ao ácido cafeico e nenhuma zona de fluorescência marrom-amarelada referente à zona do hiperosídeo.

<b>Parte superior da placa</b>	
<p>Ácido cafeico: zona de fluorescência azul-clara</p> <p>Quercitrina: zona de fluorescência marrom-amarelada</p>	<p>Zona de fluorescência marrom-amarelada</p> <p>Zona de fluorescência acinzentada</p>
<p>Hiperosídeo: zona de fluorescência marrom-amarelada</p> <p>Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul-clara</p> <p>Rutina: zona de fluorescência marrom-amarelada</p>	<p>Zona de fluorescência marrom-amarelada</p> <p>Zona de fluorescência azul-clara</p> <p>Zona de fluorescência azul-esverdeada</p>
<b>Solução referência</b>	<b>Solução amostra</b>

## TESTES

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

**Água (5.2.20.2).** Método azeotrópico. No máximo 10,0%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 6,0%.

**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

### Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*. Utilizar balão de 250 mL contendo 100 mL de água como líquido de destilação. Reduzir o fruto a pó grosseiro. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga pulverizada. Destilar por duas horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

### Trans-anetol

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de nitrogênio, ar sintético e hidrogênio (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 30 m de comprimento e 250 µm de diâmetro interno, revestida com polidifenildimetilsiloxano, com espessura do filme de 0,25 µm. Utilizar hélio a uma pressão de 80 kPa como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1,0 mL/minuto.

*Temperatura:*

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 80	60 → 300
Injetor		220
Detector		250

*Solução amostra:* mistura de óleo volátil e éter etílico (2:100).

*Procedimento:* injetar volume de 1 µL da *Solução amostra* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. O índice de retenção linear dos constituintes do óleo é calculado em relação a uma série homóloga de hidrocarbonetos (C<sub>8</sub> – C<sub>22</sub>) e comparados com a amostra. O *trans*-anetol apresenta tempo de retenção linear (Índice de Retenção Relativo) de 1277. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

Calcular o Índice de Retenção Relativa, segundo a expressão:

$$IRR = 100 \times n + \frac{100 \times (tr_x + tr_z)}{(tr_{z+1} + tr_z)}$$

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativa;

n = número de átomos de carbono do alcano de menor peso molecular;

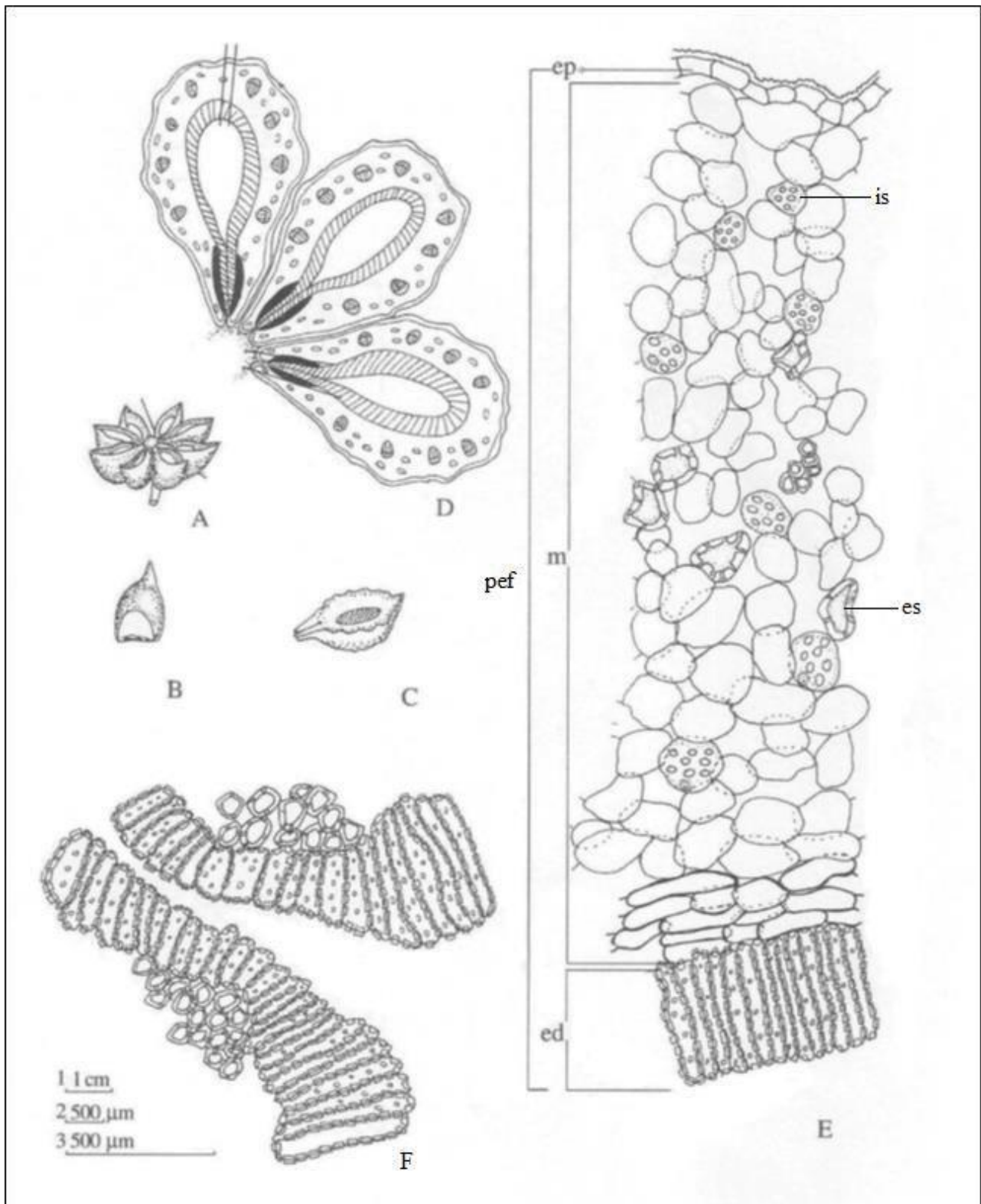
tr<sub>x</sub> = tempo de retenção do composto "x" (intermediário a a tr<sub>z</sub> e tr<sub>z</sub>+1);

tr<sub>z</sub> = tempo de retenção do alcano com "n" carbonos;

tr<sub>z+1</sub> = tempo de retenção do alcano com "n + 1" carbonos.

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

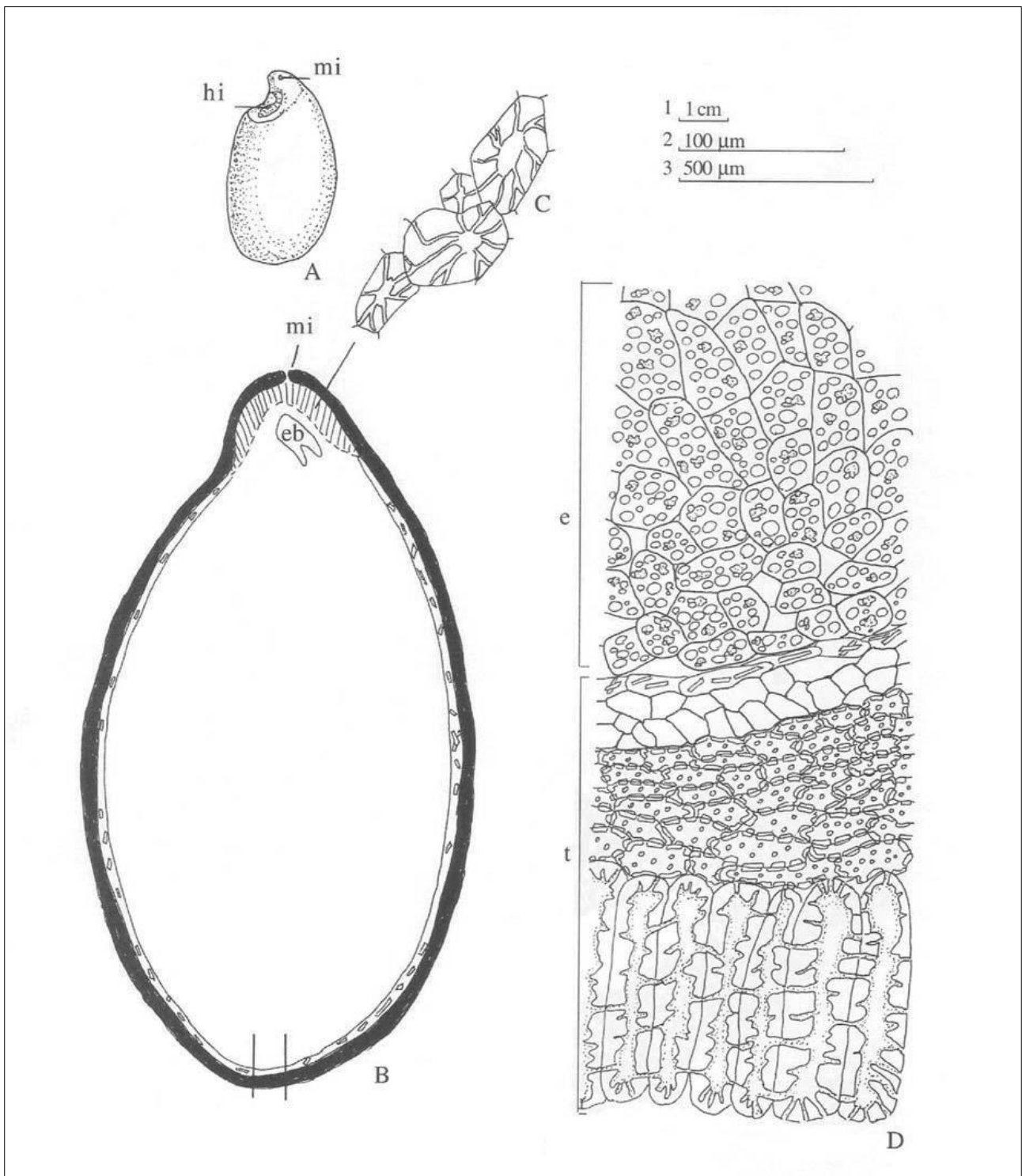
Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor.



**Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Illicium verum* Hook. f.**

As escalas correspondem: em **A, B, C** (1) a 1 cm; em **D** (2) a 500 μm; em **E, F** (3) a 500 μm.

**A.** aspecto do fruto, em vista frontal/lateral, mostrando oito folículos e a columela. **B.** detalhe de um folículo em vista dorsal. **C.** detalhe de um folículo em vista ventral, mostrando a sutura ventral e uma semente. **D.** detalhe de três folículos vistos em **A**. **E.** seção transversal do pericarpo do fruto na porção indicada em **D**; pericarpo do fruto (pef); endocarpo (ed); epicarpo (ep); mesocarpo (m); esclereídes (es); idioblastos secretores oleíferos esféricos (is.). **F.** detalhe do endocarpo na região comissural.

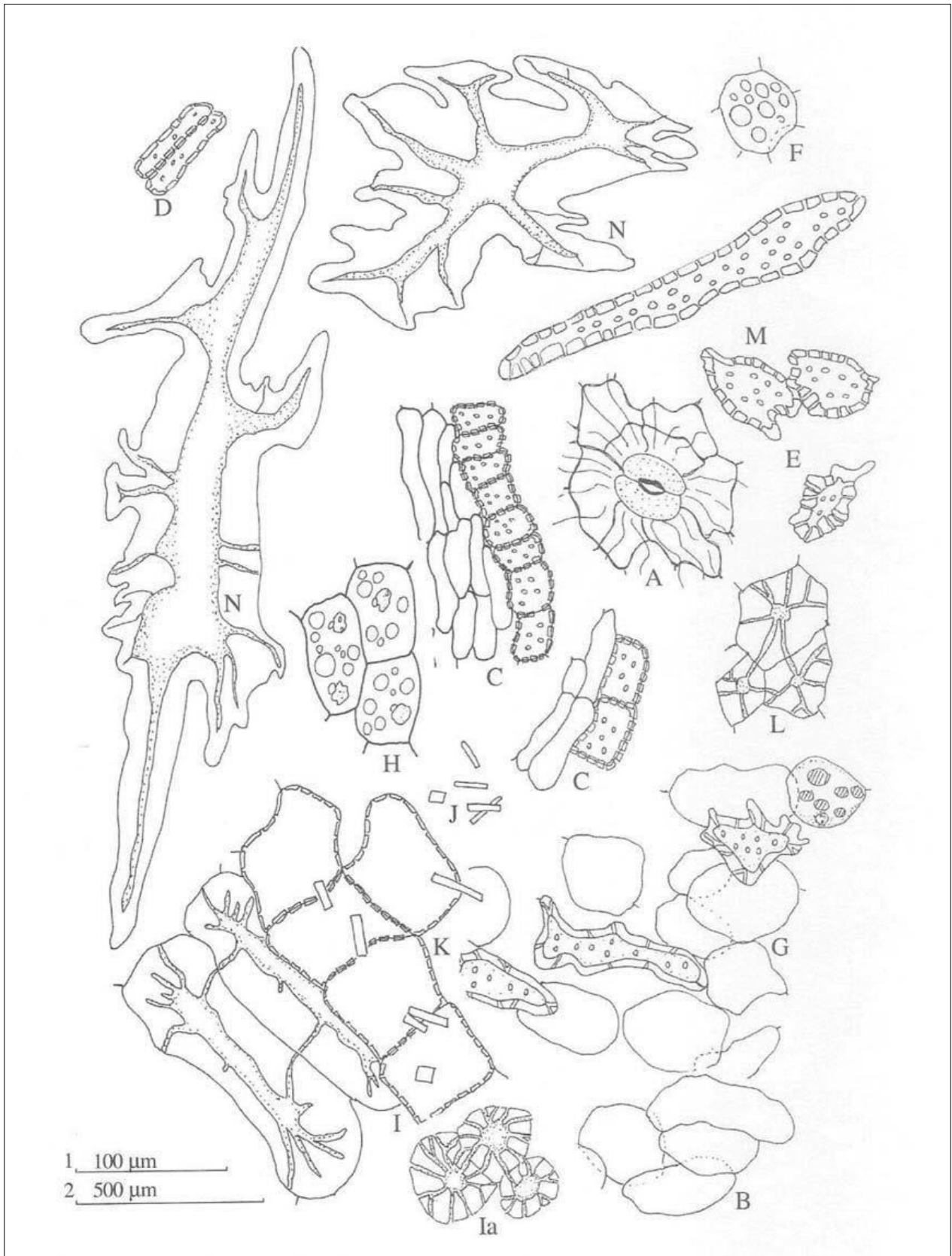


**Figura 2 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Illicium verum* Hook. f.**

As escalas correspondem: em **A** (1) a 1 cm; em **B** (2) a 100 µm; em **C, D** (3) a 500 µm.

**A.** semente em vista lateral; hilo (hi); micrópila (mi). **B.** semente em secção longitudinal; embrião (eb); micrópila (mi).

**C.** braquiesclereídes da zona micropilar, mostrada em B. **D.** secção transversal da semente na porção indicada em B; endosperma (e); tegumento (t).



**Figura 3 - Aspectos microscópicos do pó em *Illicium verum* Hook. f.**

As escalas correspondem em: em **A-K** (1) a 100 μm; em **L-N** (2) a 500 μm.

**A.** epicarpo com estômato anomocítico e cutícula estriada. **B.** células do parênquima do mesocarpo. **C.** células da zona comissural com paredes espessadas. **D.** célula do endocarpo fora da zona comissural. **E.** esclereíde. **F.** idioblasto com gotas de óleo. **G.** porção do mesocarpo com idioblastos oleíferos e esclereídes.



**H.** células do endosperma com glóbulos lipídicos e grãos de aleurona. **I.** osteoesclereídes em secção transversal; os mesmos em secção tangencial (Ia). **J.** cristais prismáticos de oxalato de cálcio. **K.** células da camada cristalífera. **L.** braquiesclereídes da região comissural. **M.** macroesclereíde alargado do mesocarpo, com paredes espessadas e pontoadas. **N.** esclereídes volumosos e ramificados do pedicelo.

**CANELA-DA-CHINA, casca**  
***Cinnamomi cassiae cortex***

A droga vegetal consiste de cascas secas de *Cinnamomum cassia* (L.) J.Presl (syn. *Cinnamomum aromaticum* Nees), contendo, no mínimo, 1,0% de óleo volátil, constituído por 70,0% a 90,0% de *trans*-cinamaldeído.

**CARACTERÍSTICAS**

Possui odor aromático característico menos acentuado que o da canela-do-ceilão.

**IDENTIFICAÇÃO**

**A. Descrição macroscópica**

Fragmentos de casca com 3 a 7 cm de comprimento, 1 a 2 cm de largura e 1 a 2 mm de espessura. A superfície externa, correspondente aos restos do súber, possui coloração parda, castanha ou acinzentada, com manchas ou estrias e lenticelas; a textura é rugosa e não áspera. A superfície interna, correspondente à região do floema, possui coloração castanho-clara a castanha e textura lisa e homogênea.

**B. Descrição microscópica**

O ritidoma é formado por duas a três camadas em escamação, com células de paredes suberizadas, sendo as periclinais externas espessas. Lenticelas são comuns. O felogênio é formado por células alongadas tangencialmente, contendo compostos fenólicos. Internamente ao felogênio predomina tecido parenquimático, onde ocorrem células pétreas isoladas ou agrupadas e idioblastos mucilaginosos. Idioblastos oleíferos e grande quantidade de células contendo grãos de amido simples predominantemente, ou compostos, são observados. Na região cortical ocorrem idioblastos fenólicos. Na região mais interna do parênquima cortical, próximo ao floema, ocorre uma faixa contínua e irregular de células pétreas que compreendem duas a dez camadas. O floema apresenta parênquima seriado e fibras libriformes esparsas ou isoladas. Os raios parenquimáticos são formados por duas células de largura, raro três, e cinco a 18 células de altura, onde é usual ocorrer idioblastos fenólicos com grande concentração de cristais aciculares de oxalato de cálcio similares a ráfides, além de cristais prismáticos. São observados idioblastos oleíferos e mucilaginosos.

**C. Descrição microscópica do pó**

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; grãos de amido isolados e/ou agrupados, simples ou compostos; fragmentos de tecido parenquimático contendo grãos de amido e gotas lipídicas; grande quantidade de cristais dissociados, aciculares e/ou prismáticos de ápice truncado; células pétreas isoladas e/ou agrupadas, dissociadas ou no interior de fragmentos de tecido parenquimático; raros esclereídes colunares, isolados; fibras de 600 µm de comprimento, em média, e 35 µm de largura, em média, com paredes espessas, lúmen estreito, isoladas ou associadas a fragmentos de parênquima.

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

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

*Fase móvel:* cloreto de metileno.

*Solução amostra:* utilizar cerca de 3 g do pó e agitar durante 15 minutos com 15 mL de cloreto de metileno. Filtrar e evaporar até quase *secura* em banho-maria. Dissolver o resíduo com 0,4 mL de tolueno.

*Solução referência:* diluir 10 µL de eugenol e 50 µL de aldeído *trans*-cinâmico, em 10 mL de tolueno.

**Procedimento:** aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar durante cinco minutos. Visualizar sob luz ultravioleta as zonas de extinção de fluorescência a 254 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e colocar em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante cinco minutos.

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

<b>Parte superior da placa</b>	
	Zona de coloração azul Zona de coloração azul
Eugenol: zona de coloração acastanhada	Zona de coloração acastanhada
Aldeído <i>trans</i> -cinâmico: zona de coloração acinzentado	Zona de coloração acinzentada
	Zona de coloração azul
	Zona de coloração azul
<b>Solução referência</b>	<b>Solução amostra</b>

## TESTES

**Cinzas sulfatadas (5.4.1.5.2).** 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.

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

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

## DOSEAMENTO

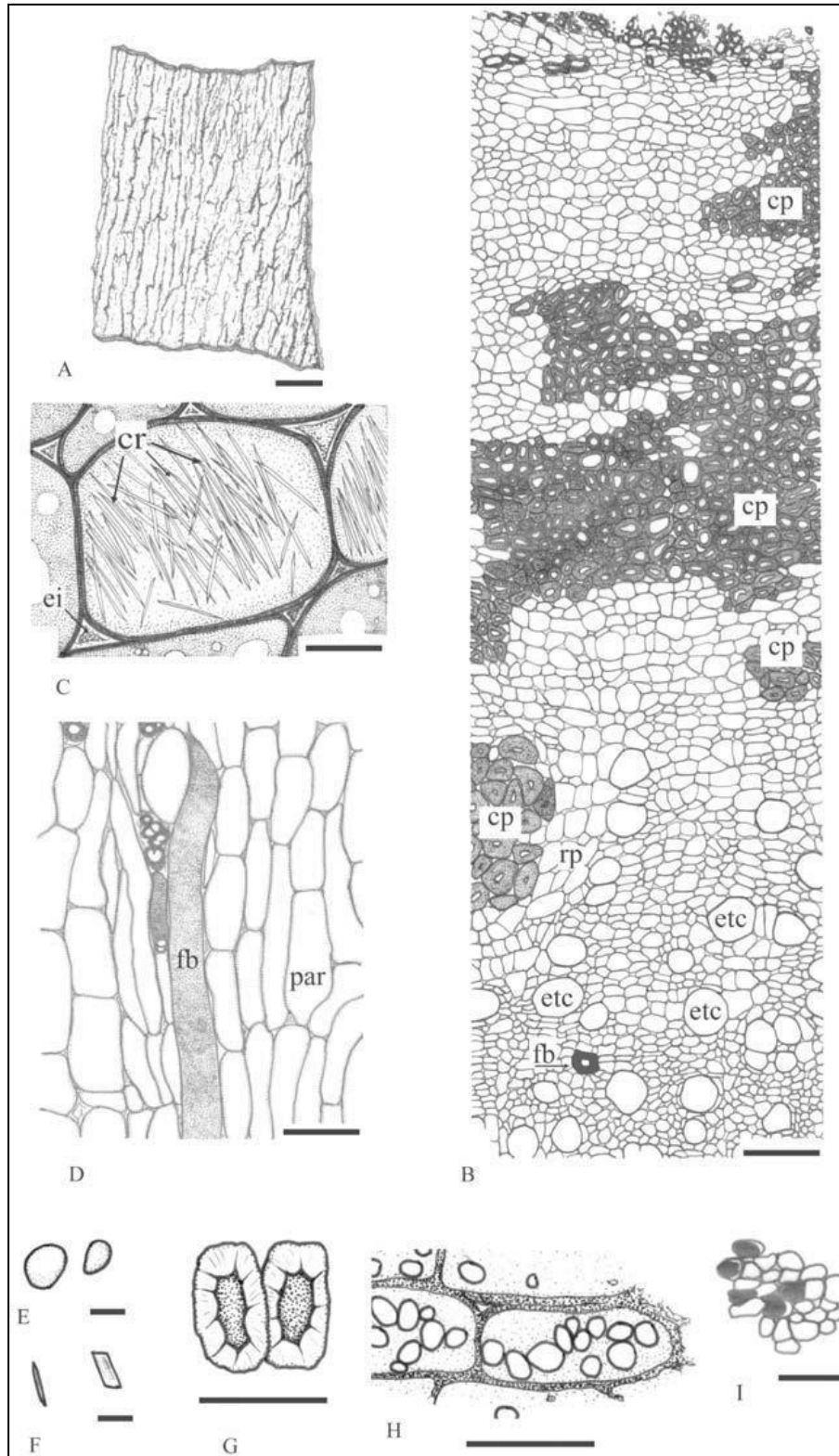
### Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*. Utilizar balão de 1000 mL contendo 500 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno no tubo graduado. Utilizar 50 g da droga pulverizada e destilar a velocidade de 3 mL a 4 mL por minuto, durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

### *trans*-Cinamaldeído

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de nitrogênio, ar sintético e hidrogênio (1:1:10) como gases





**Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do póem *Cinnamomum cassia* (L.) J.Presl**

As escalas correspondem em **A** a 5 mm; em **B** a 40 µm; em **C** a 10 µm; em **D** a 20 µm; em **E** a 17,5 µm; em **F** a 3,8 µm; em **G** a 24,5 µm; em **H** e **I** a 37,5 µm.

**A** – aspecto geral de porção da casca. **B** – aspecto histológico de porção externa da casca através de secção transversal: células pétreas (cp); raio parenquimático (rp); fibra (fb); elemento de tubo crivado (etc).

**C** – detalhe de um idioblasto contendo cristais aciculares de oxalato de cálcio: cristal (cr); espaço intercelular (ei). **D** – detalhe parcial de porção do floema, em secção longitudinal: fibra (fb); parênquima (par). **E, F, G** e **H** – detalhes do pó. **E** – grãos de amido. **F** – cristais truncado e acicular. **G** – células pétreas. **H** – células de parênquima com grãos de amido. **I** – célulasparenquimáticas com inclusão lipídica.

### **CANNABIS, inflorescência** ***Cannabis flos***

A droga vegetal consiste de inflorescências femininas e secas, inteiras ou fragmentadas, de *Cannabis sativa* L., contendo no mínimo 80,0% e no máximo 120,0% dos valores declarados dos canabinoides  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol ( $C_{21}H_{30}O_2$ , 314,46), canabidiol ( $C_{21}H_{30}O_2$ , 314,46), ácido tetraidrocanabinólico ( $C_{22}H_{30}O_4$ , 358,47) e ácido canabidiólico ( $C_{22}H_{30}O_4$ , 358,47); e não mais que 1% de canabinol ( $C_{21}H_{26}O_2$ , 310,42), em relação à droga seca.

#### **IDENTIFICAÇÃO**

##### **A. Descrição macroscópica**

As inflorescências femininas são cimeiras compactas que aparecem em glomérulos densos, medindo de 1 a 6 cm de comprimento e largura, com inúmeras flores nas axilas superiores dos ramos. As flores femininas são esverdeadas a marrom-esverdeadas subsésseis, agrupadas e envoltas por numerosas pequenas brácteas foliáceas de coloração verde pálida, sendo que as inferiores, mais longas e mais escuras, se sobressaem da inflorescência. Em algumas inflorescências, as projeções estigmáticas alaranjadas a amarronzadas das flores femininas ficam expostas. Brácteas foliáceas variam de tamanho e forma, podendo ser inteiras e lanceoladas a romboedro-longo-apiculadas ou recortadas, com uma ou mais expansões basais laterais a visivelmente trifolioladas com margens serrilhadas. As lâminas e as margens são cobertas por tricomas glandulares pegajoso-resinosos, de pedicelos curtos a longos, além de tricomas tectores simples, mais longos do que os glandulares. As bractéolas têm bordos inteiros a levemente serrados e apresentam tricomas glandulares. Cada flor é formada por um ou dois ovários envolvidos por um involúcro cupuliforme, sendo cada ovário continuado pelo estigma que, por sua vez, apresenta duas longas ramificações filiformes alaranjadas a amarronzadas, articuladas na base, e cobertas por numerosas papilas. A flor feminina mede de 5 a 9 mm de comprimento, sendo que o ovário mede até 2 mm e os estiletos de 3 a 7 mm. Os frutos, quando presentes, são aquênios ovoides a quase globosos, uniloculares, monopérmicos, medindo cerca de 2 mm de diâmetro, com coloração branca esverdeada ou amarronzada.

##### **B. Descrição microscópica**

As brácteas da inflorescência, em vista frontal da face adaxial apresentam células epidérmicas de paredes anticliniais retas com estrias epicuticulares, presença de pequenos tricomas glandulares bulbosos de pedicelo unicelular ou bicelular e cabeça com poucas células e raros tricomas unicelulares curtos e cônicos, de paredes espessadas, contendo cristólito na base. A face abaxial apresenta células epidérmicas menores do que as da face adaxial, com paredes anticliniais sinuosas, estômatos anomocíticos, tricomas glandulares capitados de pedicelo pluricelular e plurisseriado, terminado por 2 a 4 células, que suportam uma cabeça globulosa formada por 8 a 16 células, com disposição radial, tricomas sésseis de cabeça glandular, e tricomas tectores unicelulares, longos, de paredes espessadas ou não, não cristolíticos ou mais raro com um cristólito na base, além dos tricomas previamente descritos para a face adaxial. Em secção transversal, a epiderme é unisseriada em ambas as faces; subjacente ocorre um tecido clorenquimático de aspecto paliádico denso, onde podem ser vistas numerosas drusas, isoladas ou agrupadas. Esse parênquima pode ser seguido ou não de algumas células arredondadas. As bractéolas têm características semelhantes às das brácteas.

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

O pó satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, com exceção dos caracteres macroscópicos. São características: coloração esverdeada a amarronzada; fragmentos de ramificações estigmáticas recobertas de papilas alongadas, de paredes finas e arredondadas na porção apical; fragmentos de epiderme com restos de parênquima clorofiliano; fragmentos de epiderme com tricomas tectores cônicos cristolíticos, localizados em depressão na epiderme; fragmentos de epiderme com tricomas glandulares capitados; fragmentos de epiderme com tricomas tectores simples; fragmentos do involúcro cupuliforme do ovário com epiderme de paredes anticliniais poligonais ou sinuosas muito finas; tricomas glandulares capitados e tricomas tectores, simples ou cristolíticos; fragmentos de cabeças glandulares e de

pedicelos pluricelulares e plurisseriados de tricomas; fragmentos de papilas estigmáticas; drusas de oxalato de cálcio e cristólitos de carbonato de cálcio isolados ou em fragmentos de tecidos.

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

*Fase estacionária:* Sílica-gel G F<sub>254</sub> (0,20 mm).

*Fase móvel:* hexano, acetato de etila e metanol (85:10:5), acidificada com ácido acético glacial (0,2% v/v).

*Solução amostra:* utilizar a *Solução amostra* preparada conforme descrito em *Doseamento*.

*Solução referência:* preparar uma solução contendo 25 µg/mL em metanol de cada um dos padrões dos canabinoides ácido canabidiólico (CBDA), ácido tetraidrocanabinólico (THCA), canabinol (CBN), canabidiol (CBD) e  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol ( $\Delta^9$ -THC).

*Procedimento:* pré-condicionar a cromatoplaça realizando uma etapa de eluição prévia com metanol. Levar a cromatoplaça à estufa (100 a 110 °C) até completa secagem e utilizar em seguida. Aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de bandas (6 a 8 mm de largura), 10 µL da *Solução amostra* e 25 µL da *Solução referência*, respeitando o espaçamento mínimo de 3 mm entre as bandas, de 10 mm da base e de 15 mm das laterais da placa. Desenvolver o cromatograma em câmara de eluição previamente saturada, sem utilizar papel de filtro. Remover a cromatoplaça, deixar secar ao ar e, em seguida, examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Nebulizar a cromatoplaça com *vanilina sulfúrica SR* e colocar em estufa entre 100 e 105 °C durante cinco minutos. Examinar sob luz visível.

*Resultados:* no esquema a seguir, há os padrões de zonas que se espera observar nos cromatogramas correspondentes à *Solução referência* e à *Solução amostra*, sendo que, para esta última, o perfil cromatográfico observado é dependente do quimiotipo. No caso das amostras pertencentes ao quimiotipo I (THC-dominante), a zona correspondente ao canabinol (CBN) pode não ser observada, principalmente em amostras recentes. Quando presente, é geralmente menos intensa em comparação à zona correspondente ao  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol ( $\Delta^9$ -THC), sendo o aumento de sua intensidade indicativo de degradação. Outras zonas podem, ocasionalmente, estar presentes. Entre os outros constituintes passíveis de detecção, destacam-se o ácido canabigerólico (CBGA), que apresenta fator de retenção inferior ao do ácido canabidiólico; o canabigerol (CBG), que apresenta fator de retenção intermediário entre o do ácido tetraidrocanabinólico e o do canabinol; e o  $\Delta^8$ -tetraidrocanabinol ( $\Delta^8$ -THC), que apresenta fator de retenção ligeiramente superior ao do  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol.

<b>Parte superior da placa</b>			
$\Delta^9$ -THC: zona de coloração violeta	zona de coloração violeta	zona de coloração violeta	zona de coloração violeta
CBD: zona de coloração violeta		zona de coloração violeta	
—CBN: zona de coloração rosada	zona de coloração rosada		—
THCA: zona de coloração violeta	zona de coloração violeta intensa	zona de coloração violeta intensa	

CBDA: zona de coloração violeta		zona de coloração violeta intensa	zona de coloração violeta intensa
<b>Solução de referência</b>	<b>Solução amostra (quimiotipo I, THC-dominante)</b>	<b>Solução amostra (quimiotipo II, intermediário)</b>	<b>Solução amostra (quimiotipo III, CBD-dominante)</b>

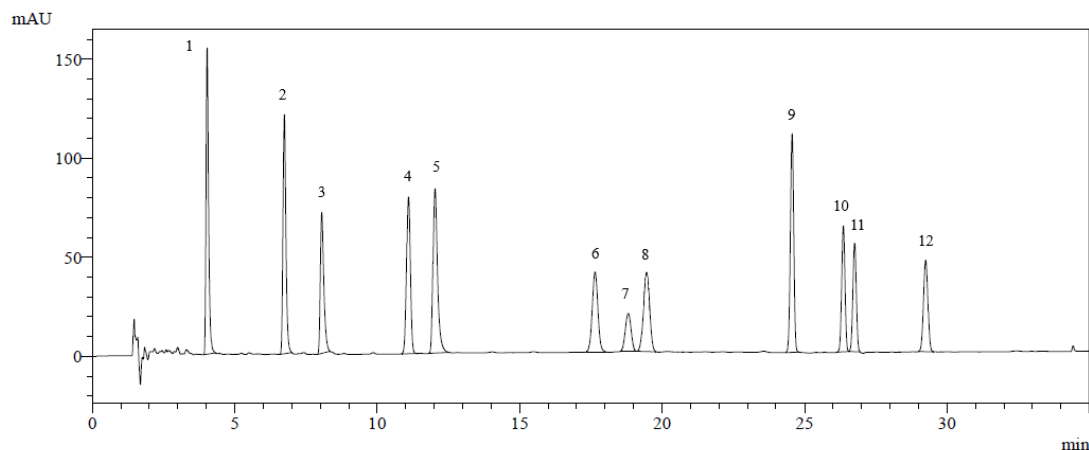
*Adequabilidade do sistema:* o cromatograma correspondente à *Solução referência* deve apresentar, após revelação com *vanilina sulfúrica SR*, cinco zonas distintas e bem resolvidas, de intensidades semelhantes, com o padrão de distribuição indicado no esquema acima.

**E.** Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4), utilizando as condições descritas em *Doseamento*. Registrar os cromatogramas correspondentes à *Solução amostra* e à *Solução referência* (2) e obter os espectros de absorção no ultravioleta/visível na faixa de 200 a 400 nm para os sinais majoritários com tempos de retenção ( $t_R$ ) entre 4 e 30 minutos. Examinar os perfis cromatográficos obtidos.

*Amostras pertencentes ao quimiotipo I (THC-dominante):* os perfis cromatográficos típicos apresentam um sinal majoritário em aproximadamente 12,5 minutos; com espectro de absorção no ultravioleta caracterizado por uma banda intensa com máximo em aproximadamente 220 nm e duas outras bandas de menor intensidade, com máximos em aproximadamente 260 e 300 nm; correspondente ao ácido tetraidrocanabinólico. Também pode ser observado um sinal menos intenso em aproximadamente 26,3 minutos; com espectro de absorção no ultravioleta caracterizado por uma banda principal com máximo em aproximadamente 215 nm; correspondente ao  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol. Um sinal menos intenso, em aproximadamente 24,8 minutos; com espectro de absorção no ultravioleta caracterizado por duas bandas com máximos de absorção em aproximadamente 220 e 275 nm; correspondente ao canabinol, também pode estar presente, além de outros sinais minoritários com espectros de absorção semelhantes aos do ácido tetraidrocanabinólico ou do  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol, sendo indicativos da presença de outros canabinoides ácidos ou neutros, respectivamente (Figura 1).

*Amostras pertencentes ao quimiotipo II (intermediário):* os perfis cromatográficos típicos apresentam, além dos sinais em aproximadamente 12,5 minutos e 26,3 minutos, descritos para as *amostras pertencentes ao quimiotipo I*, outros sinais notáveis em aproximadamente 6,7 minutos e 18,8 minutos; com espectros de absorção no ultravioleta semelhantes aos do ácido tetraidrocanabinólico e do  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol, respectivamente; sendo o primeiro correspondente ao ácido canabidiólico e o segundo ao canabidiol. Outros sinais minoritários com espectros de absorção semelhantes aos descritos também podem estar presentes, sendo indicativos da presença de outros canabinoides (Figura 1).

*Amostras pertencentes ao quimiotipo III (CBD-dominante):* os perfis cromatográficos típicos apresentam um sinal majoritário em aproximadamente 6,7 minutos, correspondente ao ácido canabidiólico, sendo seu espectro de absorção semelhante ao descrito para o ácido tetraidrocanabinólico. Também pode ser observado um sinal menos intenso em aproximadamente 18,8 minutos, correspondente ao canabidiol, sendo seu espectro de absorção no ultravioleta semelhante ao descrito para o  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol. Outros sinais minoritários com espectros de absorção semelhantes aos descritos também podem estar presentes, sendo indicativos da presença de outros canabinoides (Figura 1).



**Figura 1: Cromatograma ilustrativo do perfil cromatográfico contendo os principais canabinoides passíveis de serem encontrados em *Cannabis sativa* L.** 1- ácido canabidivarínico; 2- ácido canabidiólico; 3- ácido canabigerólico; 4- canabidivarina; 5- ácido tetraidrocanabinólico; 6- tetraidrocanabivarina; 7- canabidiol; 8- canabigerol; 9- canabinol; 10-  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol; 11-  $\Delta^8$ -tetraidrocanabinol; 12- canabicromeno.

## TESTES

**Matéria estranha (5.4.1.3).** No máximo 5% de hastas com diâmetro igual ou superior a 3mm e no máximo 2% de outras matérias estranhas, incluindo frutos (aquênios). Ausência de mofo, insetos, partes podres e outras sujidades.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 20%

**Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3).** No máximo 4%.

**Perda por dessecação (5.2.9.1).** Método gravimétrico. Determinar em 1,0 g da amostra em dessecador, sob pressão reduzida, até peso constante. No máximo 10%.

**Contagem do número 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.

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

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

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

**Limite de canabinol.** Proceder conforme descrito em descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4), utilizando as condições descritas em *Doseamento*. Registrar os cromatogramas e integrar a área sob o pico correspondente ao canabinol. O tempo de retenção do canabinol é de aproximadamente 24,8 minutos. Calcular o teor de canabinol na amostra, utilizando seu fator de correção frente ao canabidiol ( $F_c=0,60$ ) e considerando a média dos resultados, segundo a expressão:

$$T_a (\%) = \frac{A_a \times 0,60 \times C_p}{10 \times A_p}$$

em que

$T_a$  = teor percentual do canabinol na amostra (m/m);

$A_a$  = área do sinal analítico referente ao canabinol no cromatograma correspondente à *solução amostra*;

$A_p$  = área do sinal analítico correspondente ao canabidiol no cromatograma correspondente à *solução de referência*;

$C_p$  = concentração da *solução de referência* de canabidiol, em  $\mu\text{g/mL}$ ;

10 = fator de diluição, considerando a relação droga:extrato da solução amostra igual a 1 mg/mL;

0,60 = fator de correção do canabinol frente ao canabidiol, correspondente a 1/1/Fator de Resposta Relativo (FRR).



## DOSEAMENTO

### Ácido canabidiólico, ácido tetraidrocanabinólico, canabidiol e $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; pré-coluna empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano, coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com partículas de núcleo sólido (*core shell*) revestido por sílica ligada a grupo octadecilsilano (2,6  $\mu\text{m}$ ), mantida à temperatura de (25  $\pm$  1  $^{\circ}\text{C}$ ); fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

*Eluente (A)*: mistura de água e ácido acético glacial (100:0,05), ajustar o pH para 4,40  $\pm$  0,05 utilizando hidróxido de amônio.

*Eluente (B)*: acetonitrila.

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Eluente (A) (%)</b>	<b>Eluente (B) (%)</b>	<b>Eluição</b>
<b>0 - 15</b>	44 $\rightarrow$ 39	56 $\rightarrow$ 61	gradiente linear
<b>15 - 19</b>	39	61	isocrática
<b>19 - 23</b>	39 $\rightarrow$ 25	61 $\rightarrow$ 75	gradiente linear
<b>23 - 30</b>	25	75	isocrática
<b>30 - 31</b>	25 $\rightarrow$ 44	75 $\rightarrow$ 56	gradiente linear
<b>31 - 35</b>	44	56	isocrática

*Solução amostra*: pesar, com exatidão, 20 mg da amostra triturada e homogeneizada (granulometria entre 180 e 250  $\mu\text{m}$ ), descontando-se a perda por dessecação, e transferir para um tubo de ensaio com tampa de rosca. Adicionar 4 mL de metanol, tampar o recipiente e levar a banho de ultrassom (frequência 40 kHz) por 10 minutos. Centrifugar a 3000 rpm durante 5 minutos. Transferir o sobrenadante para balão volumétrico âmbar de 20,0 mL, preservando o material vegetal contido no tubo. Repetir o procedimento com o material reservado, utilizando o mesmo volume de solvente e o mesmo tempo de extração. Na última etapa extrativa, filtrar o conteúdo do tubo em papel de filtro, de forma a remover eventuais resíduos do material vegetal. Reunir os extratos obtidos no balão volumétrico de vidro âmbar. Completar o volume com metanol (relação droga:extrato final: 1 mg/mL). Filtrar 2 mL da solução obtida em unidade filtrante de PTFE de 0,45  $\mu\text{m}$ , desprezando os primeiros 0,5 mL e transferindo o restante para um *vial* de vidro âmbar.

*Solução estoque*: pesar, com exatidão 20 mg, do padrão analítico de canabidiol e transferir para balão volumétrico de 2,0 mL. Adicionar 1 mL de metanol e levar ao banho de ultrassom (frequência 40 kHz) durante 10 minutos ou até completa solubilização. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de PTFE de 0,45  $\mu\text{m}$ , transferir a solução para frasco de vidro âmbar e vedar adequadamente. Armazenar em congelador até o momento do uso (concentração final: 10 mg/mL).

*Solução referência (1)*: transferir 120  $\mu\text{L}$  da *Solução estoque* para balão volumétrico de 20,0 mL. Completar o volume com metanol e homogeneizar. Filtrar a solução em unidade filtrante de PTFE de 0,45  $\mu\text{m}$  e transferir para *vial* de vidro âmbar (concentração final: 60  $\mu\text{g/mL}$ ).

*Solução referência (2)*: preparar uma solução a 25  $\mu\text{g/mL}$  em acetonitrila de cada um dos seguintes canabinoides: ácido canabidiólico, ácido canabigerólico, ácido tetraidrocanabinólico, tetraidrocanabivarina, canabidiol, canabigerol, canabinol,  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol e  $\Delta^8$ -tetraidrocanabinol. Transferir para um *vial* de vidro âmbar.

*Adequabilidade do sistema*: injetar 5  $\mu\text{L}$  da *Solução referência (2)* em, no mínimo, triplicata.

*Resolução entre os picos*: *Solução referência (2)*, no mínimo 1,5 entre os pares de canabinoides canabidiol/canabigerol e  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol/ $\Delta^8$ - tetraidrocanabinol e no mínimo 2,0 entre os demais canabinoides.

*Fator de cauda*: *Solução referência (2)*, no máximo 1,5.

*Desvio padrão relativo (DPR)*: *Solução referência (2)*, no máximo 2,0% para as áreas e tempos de retenção dos picos registrados nas diferentes replicatas de análise.

*Procedimento*: injetar, separadamente, 5  $\mu\text{L}$  da *Solução referência (1)* e da *Solução amostra*, com injeções em triplicata. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes aos canabinoides ácido canabidiólico, ácido tetraidrocanabinólico, canabidiol e  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol, se presentes. Os tempos

de retenção desses analitos são de, aproximadamente, 6,7 minutos; 12,5 minutos; 18,8 minutos e 26,3 minutos, respectivamente. Calcular o teor dos analitos utilizando os respectivos fatores de correção frente ao canabidiol e considerando a média dos resultados, segundo a expressão:

$$T_a (\%) = \frac{A_a \times F_c \times C_p}{10 \times A_p}$$

em que,

$T_a$  = teor percentual do canabinoide de interesse na amostra (m/m);

$A_a$  = área sob o pico de interesse na *Solução amostra*;

$A_p$  = área sob o pico correspondente ao canabidiol na *Solução referência (1)*;

$C_p$  = concentração da *Solução referência (1)*, em µg/mL;

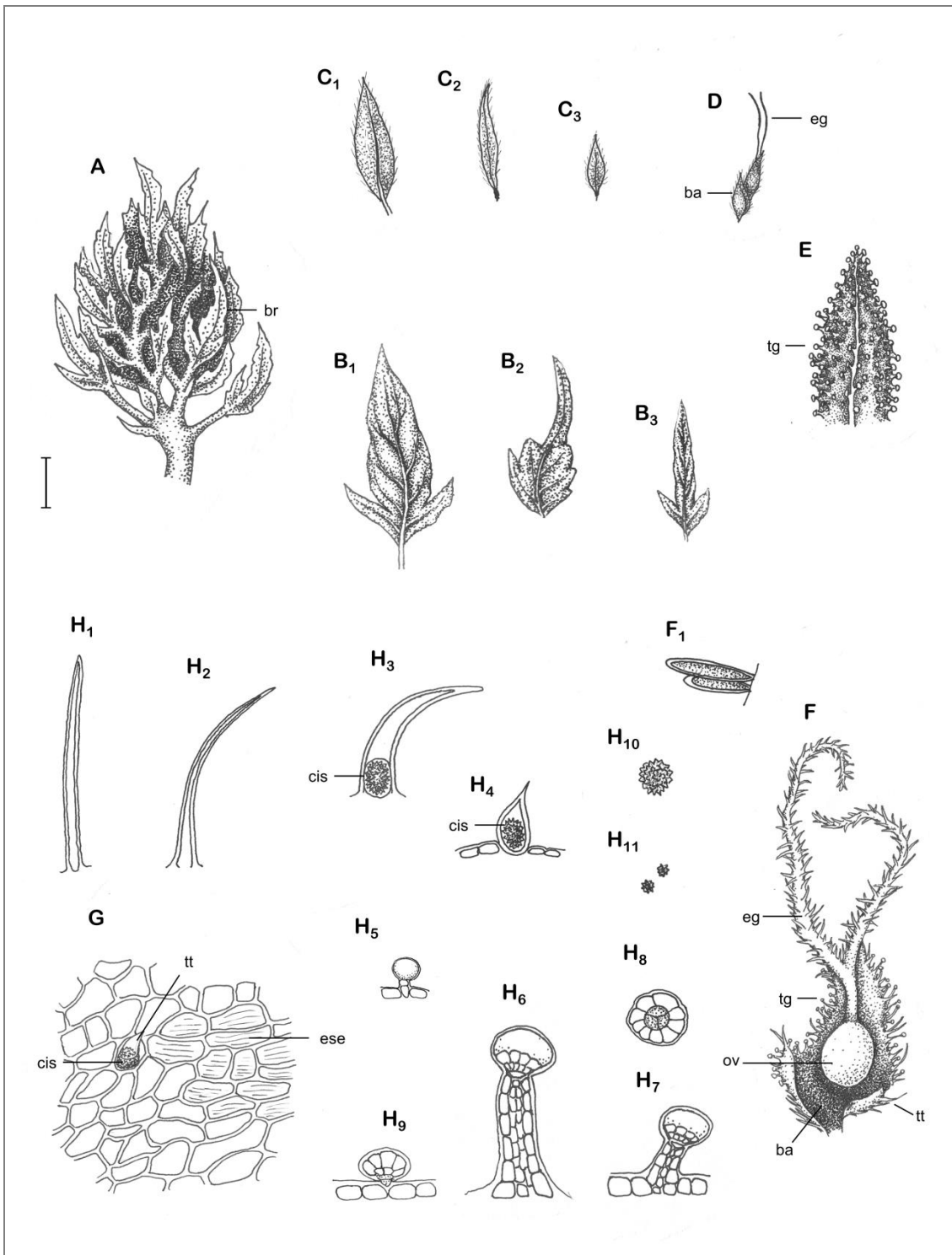
10 = fator de diluição, considerando a relação droga:extrato da solução amostra igual a 1 mg/mL;

$F_c$  = fator de correção correspondente a 1/Fator de Resposta Relativo (FRR).

<b>Analito</b>	<b>Fator de correção (<math>F_c</math>)</b>
<b>Ácido canabidiólico</b>	0,73
<b>Ácido tetraidrocanabinólico</b>	0,78
<b>Canabidiol</b>	1,00
<b>Canabinol</b>	0,60
<b><math>\Delta^9</math>-tetraidrocanabinol</b>	1,04

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado, ao abrigo da luz e do calor, em temperatura inferior a 25 °C.



**Figura 2: Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Cannabis sativa* L.**

A escala corresponde a: 1 cm em **A**; 3 mm em **B1** e **B2**; 2 mm em **B3**, **C1**, **C2** e **C3**; 3 mm em **D**; 500µm em **E** e **F**; e 50 µm em **F1**, **G** e **H**.

**A** – aspecto geral da inflorescência feminina: bráctea (br). **B** – aspecto geral de brácteas da inflorescência feminina. **C** – aspecto geral de bractéolas da flor feminina; **D** – aspecto geral de flor feminina: projeções estigmáticas (eg); bractéola (ba). **E** – extremidade de uma bractéola observada em microscopia óptica: tricomas glandulares (tg). **F** – flor feminina observada em microscopia óptica: ovário (ov); projeções estigmáticas (eg); bractéola (ba); tricomas tectores (tt) e tricomas glandulares da bractéola (tg). **F1** – detalhe das papilas estigmáticas. **G** – detalhe da face adaxial da epiderme de uma bráctea da inflorescência, em vista frontal, mostrando células epidérmicas com estrias epicuticulares (ese) e tricoma curto (tt) com cystólito (cis). **H** – tricomas e cystólitos presentes em brácteas; **H1** – tricoma tector simples unicelular, de paredes espessadas; **H2** – tricoma tector simples unicelular, de paredes delgadas; **H3** – tricoma tector cônico, longo e com um cystólito basal (cis); **H4** – tricoma tector cônico, curto, com um cystólito grande (cis); **H5** – tricoma

glandular bulboso com cabeça unicelular; **H6** – tricoma glandular capitado com pedicelo longo, pluricelular e plurisseriado; **H7** - tricoma glandular com pedicelo curto, pluricelular e plurisseriado; **H8** – cabeça de tricoma glandular, em vista frontal; **H9** - tricoma glandular sésstil; **H10** – cristólito de carbonato de cálcio; **H11** – cristais de oxalato de cálcio (drusas).

### **CAPIM-LIMÃO, folha** ***Cymbopogon citratus***

A droga vegetal consiste de folhas dessecadas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf contendo, no mínimo, 0,5% de óleo volátil.

#### **NOMES POPULARES**

Capim-cidró, capim-santo.

#### **CARACTERÍSTICAS**

As folhas secas apresentam odor característico de citral.

#### **IDENTIFICAÇÃO**

##### **A. Descrição macroscópica**

Folhas constituídas por bainha convoluta e lâmina. Bainha alargada em direção à base, de 4 a 26 cm de comprimento, com 0,6 a 6,5 cm de largura na região basal, 1,0 a 3,5 cm na região mediana e 0,9 a 2,1 cm na região apical. Lígula com 0,2 cm de altura, curta e truncada, membranosa, com tricomas simples na base da face adaxial da lâmina. Lâmina de 60 a 85 cm de comprimento, 0,8 a 1,1 cm de largura na região basal e 1,4 a 1,8 cm na região mediana, verde-grisácea quando seca, linear-lanceolada, acuminada no ápice, plana na porção expandida e canaliculada e estreitada na porção basal, áspera devido aos tricomas curtos e silicosos; margem inteira, com tricomas rígidos e cortantes em maior quantidade do que no restante da lâmina; nervuras paralelas, a mediana mais desenvolvida e pronunciada na face abaxial.

##### **B. Descrição microscópica**

A bainha foliar, em vista frontal, apresenta na face adaxial epiderme com células de paredes retilíneas, enquanto na face abaxial as paredes são bastante sinuosas. Escassos tricomas unicelulares silicosos e estômatos, também dispostos em fileiras, ocorrem na região entre as nervuras, em ambas as faces. Em secção transversal, o parênquima fundamental é formado por células volumosas que preenchem quase toda a secção, acompanhados de células secretoras. Junto à face abaxial ocorre um clorênquima. Os feixes vasculares são do tipo colateral e agrupamentos de fibras subepidérmicos ocorrem voltados para ambas as faces. A lâmina foliar, em vista frontal, mostra epiderme de células dispostas em fileiras e composta por células fundamentais ricas em gotas lipídicas e células especializadas: estômatos tetracíticos, células buliformes (estas exclusivas da face adaxial), células suberosas e tricomas silicosos unicelulares e curtos. A lâmina foliar, em secção transversal apresenta mesofilo homogêneo e epiderme uniestratificada. Na face adaxial as células fundamentais na região dos feixes vasculares maiores são muito menores do que as buliformes. Os feixes vasculares são do tipo colateral e de diferentes tamanhos e possuem bainha especializada do tipo kranz; nos feixes mais desenvolvidos ocorre uma bainha mestomática. Cordões de fibras ocorrem em ambas as faces, opostos aos feixes vasculares, sendo que, na face adaxial, acompanham somente os feixes vasculares mais desenvolvidos. As células do clorênquima distribuem-se radialmente em torno dos feixes. Células secretoras ocorrem na região limítrofe entre o clorênquima e o parênquima fundamental.

##### **C. Reações histoquímicas**

As células secretoras da bainha e da lâmina são visualizadas em reação com lugol, na qual o conteúdo celular mostra-se denso, de coloração castanha ou vermelho denso, em material fresco ou seco. Na reação com vanilina sulfúrica, o conteúdo das células secretoras mostra-se marrom e denso, podendo estar colapsado e concentrado junto à parede celular. Para a reação com vanilina sulfúrica os cortes devem ser imersos no álcool etílico, passados para a vanilina e flambados, submersos nessa, por dois minutos. A lâmina, para observação, deve ser montada em álcool etílico e os cortes não devem ser passados em

água.

#### D. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-clara a verde-grisácea; porções da epiderme, segundo a descrição microscópica da folha; grande quantidade de fragmentos das nervuras, com tricomas silicosos; porções do mesofilo foliar, porções do bordo com tricomas silicosos.

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

*Fase estacionária*: sílica-gel GF254 (0,25 mm).

*Fase móvel*: tolueno e acetato de etila (93:7).

*Solução amostra (1)*: agitar cerca de 0,5 g da droga pulverizada com 10 mL de cloreto de metileno, em recipiente fechado, durante 10 minutos. Filtrar. Concentrar o filtrado até secar, em banho-maria, a temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 10 mL de tolueno.

*Solução amostra (2)*: diluir 2 µL do óleo volátil, obtido em *Doseamento para Óleos voláteis*, em 1 mL de tolueno.

*Solução referência*: diluir 2 µL de citral em 1 mL de tolueno.

*Procedimento*: aplicar à cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra (1)*, 10 µL da *Solução amostra (2)* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e deixar em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante cinco minutos.

*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>	
Citral: zona de coloração azul escura	Zona de coloração azul clara
	Zona de coloração azul escura
	Zona de coloração azul clara
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

#### TESTES

**Matéria estranha (5.4.1.3).** No máximo 1,0%.

**Água (5.4.1.4).** No máximo 11,0%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 9,0%.

**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

### Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*. Utilizar balão volumétrico de 1000 mL contendo 500 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno no tubo graduado. Utilizar planta seca rasurada. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 50 g da droga rasurada. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

### Citral A e citral B

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de nitrogênio, ar sintético e hidrogênio (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polidifenildimetilsiloxano, com espessura do filme de 0,25 µm. Utilizar hélio a uma pressão de 80 kPa como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1 mL/minuto.

#### Temperatura:

Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 80
Injetor	60 → 300
Detector	220
	250

*Solução amostra:* diluir o óleo volátil, obtido em *Doseamento para Óleos voláteis*, na razão de 2:100 em éter etílico.

*Procedimento:* injetar volume de 1 µL da *Solução amostra* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. O índice de retenção linear dos constituintes do óleo é calculado em relação a uma série homóloga de hidrocarbonetos (C<sub>8</sub> – C<sub>22</sub>) e comparados com a amostra. O citral A (*trans*-citral) apresenta tempo de retenção linear (Índice de Retenção Relativo) de 1263 e o citral B (*cis*-citral) de 1233. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

Calcular o Índice de Retenção Relativa, segundo a expressão:

$$IRR = 100 \times n + \frac{100 \times (tr_x + tr_z)}{(tr_{z+1} + tr_z)}$$

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativa;

n = número de átomos de carbono do alcano de menor peso molecular; tr<sub>x</sub>

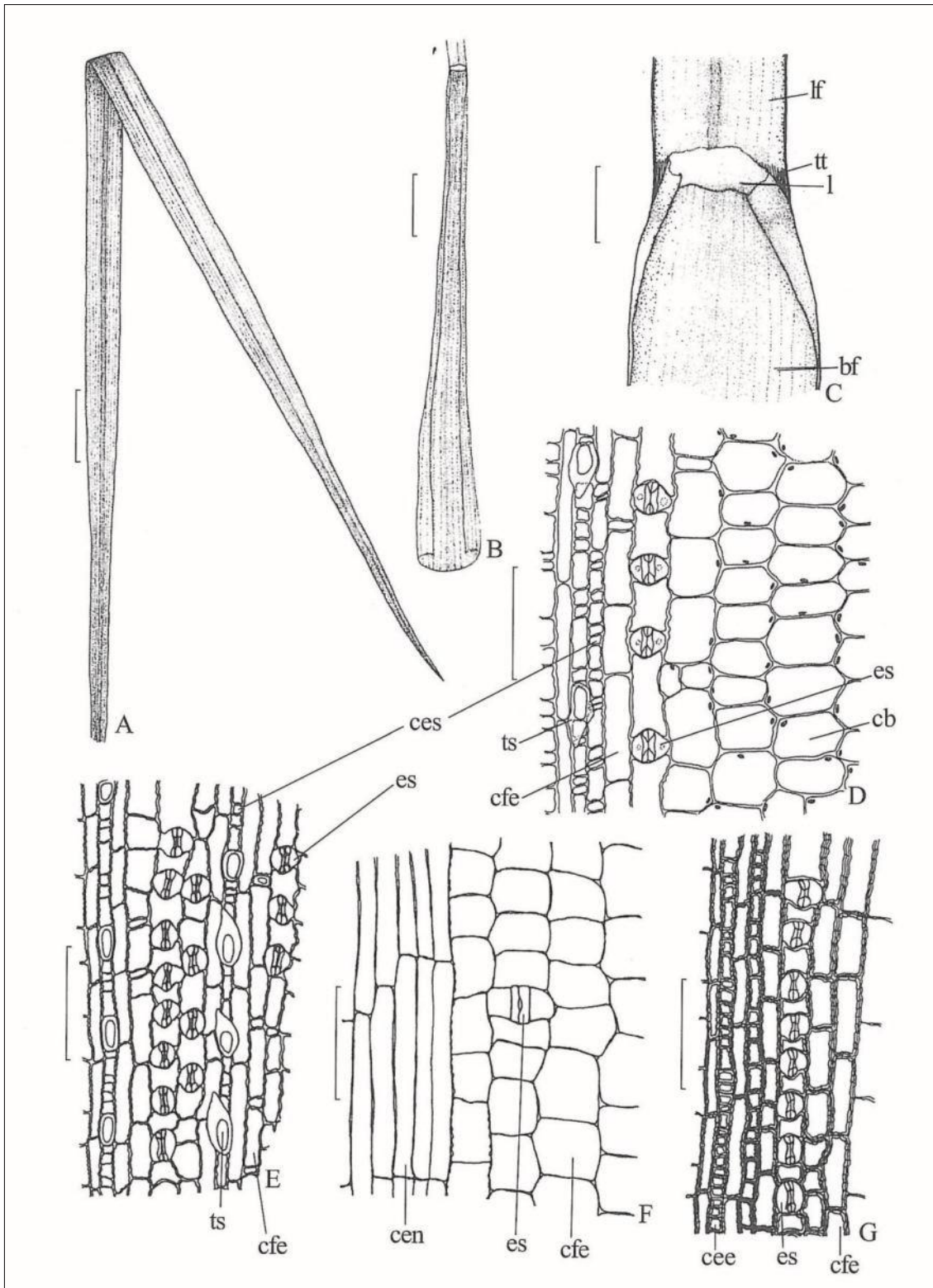
= tempo de retenção do composto "x" (intermediário a a tr<sub>z</sub> e tr<sub>z+1</sub>); tr<sub>z</sub> =

tempo de retenção do alcano com "n" carbonos;

tr<sub>z+1</sub> = tempo de retenção do alcano com "n + 1" carbonos.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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



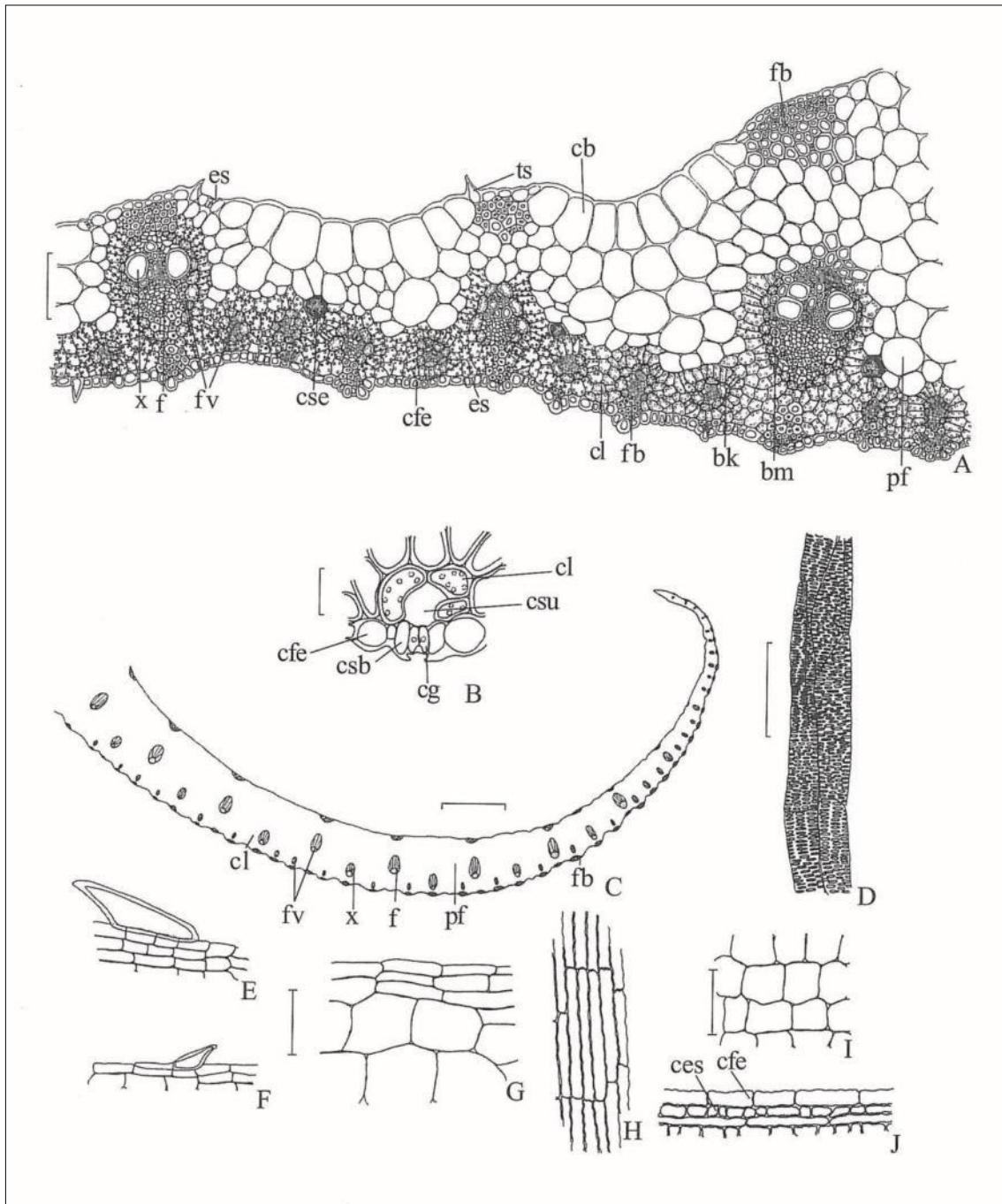
**Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf**

As escalas correspondem em A e B a 3 cm; em C a 0,5 cm; em D até G a 100  $\mu$ m.

**A** - aspecto geral da lâmina foliar. **B** - aspecto geral da bainha foliar. **C** - detalhe da porção entre bainha e lâmina foliar, mostrando lígula e tricomas; bainha foliar (bf); lígula (l); lâmina foliar (lf); tricomas tectores (tt). **D** - detalhe da epiderme da face adaxial da lâmina foliar; estômato (es); célula buliforme (cb); célula fundamental da epiderme (cfe); tricoma silicoso (ts). **E** - detalhe da epiderme da face abaxial da lâmina foliar; célula epidérmica suberosa (ces); célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); tricoma silicoso (ts). **F** - detalhe da epiderme da face adaxial da bainha foliar; células fundamentais da epiderme sobre uma nervura (cen); célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es). **G** - detalhe da epiderme da face



abaxial da bainha foliar; célula epidérmica esclerificada (cee); célula fundamental da epiderme (cfe);  
estômato (es).



**Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf**

As escalas correspondem em A a 100  $\mu$ m; em B a 20  $\mu$ m; em C a 1 mm; em D até J a 100  $\mu$ m.

**A** - detalhe da secção transversal da lâmina foliar; bainha kranz (bk); bainha mestomática (bm); célula buliforme (cb); célula fundamental da epiderme (cfe); clorênquima (cl); célula secretora (cse); estômato (es); floema (f); fibras (fb); feixe vascular (fv); parênquima fundamental (pf); tricoma silicoso (ts); xilema (x). **B** - detalhe da lâmina foliar contendo um estômato; célula fundamental da epiderme (cfe); célula-guarda (cg); clorênquima (cl); célula subsidiária (csb); câmara subestomática (csu). **C** - aspecto geral da secção transversal de parte da bainha foliar; clorênquima (cl); floema (f); fibras (fb); feixe vascular (fv); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **D** - detalhe de um elemento de vaso com espessamento reticulado. **E-J** - detalhes de fragmentos observados no pó. **E** - bordo foliar com tricoma silicoso. **F** - epiderme com células sobre a nervura mostrando tricoma silicoso. **G** - células epidérmicas. **H** - células da epiderme sobre a nervura. **I** - células epidérmicas. **J** - detalhe de porção de epiderme; célula suberosa (ces); célula fundamental da epiderme (cfe).

**ENDRO, fruto**  
***Anethi fructus***

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Anethum graveolens* L., contendo, no mínimo, 2,0% de óleo volátil, 30,0% de carvona e 30,0% de dilapiol.

**CARACTERÍSTICAS**

Possui odor aromático.

**IDENTIFICAÇÃO**

**A. Descrição macroscópica**

O fruto é um diaquênio ovalado, constituído de dois mericarpos comprimidos dorsalmente, de 0,3 a 0,6 cm de comprimento e 0,12 a 0,3 cm de largura, de coloração castanha a castanho-clara, com dois estilopódios e ápice dos estiletos retrorsos. Na dessecação, os mericarpos estão usualmente separados, em regra, não estão acompanhados pelos carpóforos; restos do estilopódio e do cálice podem ocorrer. Cada mericarpo apresenta duas arestas marginais prolongadas em uma ala circundante, larga, membranácea, mais clara, amarelada e três arestas dorsais, longitudinais, filiformes, castanho-claras a amareladas, pouco elevadas, todas primárias. A face comissural é achatada e um pouco côncava pela dessecação, mostrando nitidamente a linha do carpóforo. A cutícula de cada mericarpo é recoberta por uma cera epicuticular formada por curtos filamentos distribuídos ao acaso. Esses filamentos são bem mais densos na face comissural, o que a torna esbranquiçada. O mericarpo, em secção transversal, é plano-convexo, deixando visíveis seis canais secretores elípticos, quatro deles grandes e estreitos, distribuídos na porção dorsal e dois, raramente mais, grandes, na face comissural ou ventral. Em cada aresta dorsal ocorrem feixes vasculares. Aqueles correspondentes às alas são levemente maiores do que os demais. O endosperma é oleoso e côncavo na face comissural.

**B. Descrição microscópica**

Em secção transversal, o mericarpo, achatado dorsalmente, mostra três arestas primárias dorsais, estreitas, e duas arestas primárias laterais, alongadas. O epicarpo é constituído por cutícula estriada, formada por filamentos de cera dispostos ao acaso e por uma camada de células epidérmicas achatadas e de paredes finas, exceto a periclinal externa, que é mais espessa. O mesocarpo é formado externamente por algumas camadas de células parenquimáticas achatadas. Na região do mesocarpo, correspondente às arestas primárias, tanto marginais quanto dorsais, localizam-se cordões de fibras, com alguns elementos vasculares, nem sempre visíveis. Na região entre as arestas e na região comissural, ocorrem os canais secretores, esquizógenos, de forma elíptica e estreito-alongada no sentido tangencial. O epitélio secretor é formado por células achatadas tangencialmente e de paredes espessas. Na porção do canal secretor voltado para o epicarpo e logo abaixo desse, ocorrem esclereídes de formato quadrado ou retangular. A porção mais interna do mesocarpo é composta por duas a três camadas de células amarelo-acastanhadas, muito achatadas tangencialmente, de paredes espessas, quando comparadas com as do epicarpo. O endocarpo é composto por uma camada de células lignificadas. Entre o pericarpo e a semente, na face comissural, há uma câmara ao lado da rafe. Usualmente associada ao endocarpo, ocorre a testa, formada por uma única camada de células, em regra colapsadas, de coloração castanha e paredes finas. O endosperma é abundante, composto por células de paredes espessas, as mais externas mais alongadas e completamente preenchidas por grãos de amido. Gotas de óleo e inúmeros cristais de oxalato de cálcio de diferentes formas estão presentes. As células com grãos de amido, quando submetidas ao lugol, ficam avermelhadas e as gotas de óleo, isoladas no material, coram-se de amarelo a alaranjado.

**C. Descrição microscópica do pó**

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; porções da epiderme do epicarpo, cujas células têm cutícula coberta por filamentos de cera dispostos ao acaso; porções do mesocarpo com células poligonais a retangulares de paredes com pontuações evidentes; porções do endocarpo com células de paredes sinuosas; cristais diminutos de diferentes formas, principalmente drusas, ocorrem abundantemente e agregados; cristais isolados em forma de prismas, principalmente romboédricos, em geral maiores do

que os cristais agregados; agrupamentos de fibras associados aos feixes vasculares; elementos traqueais de espessamento helicoidal e/ou anelado, ou ocasionalmente, reticulado ou pontoado; porções do endosperma constituído por tecido parenquimático de paredes espessas, com células repletas de grãos de amido; esclereídes como descritos; canais secretores, ou porções desses, com células do epitélio secretor.

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

*Fase estacionária:* sílica-gel GF254 (0,25 mm).

*Fase móvel:* tolueno e acetato de etila (93:7).

*Solução amostra (1):* agitar, durante 10 minutos, 0,5 g da droga pulverizada com 10 mL de cloreto de metileno. Filtrar. Concentrar o filtrado em banho-maria, até resíduo, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 10 mL de tolueno.

*Solução amostra (2):* diluir 2 µL do óleo volátil, obtido em *Doseamento de Óleos voláteis*, em 1 mL de tolueno.

*Solução referência:* diluir 2 µL de carvona em 1 mL de tolueno.

*Procedimento:* aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra (1)*, 10 µL da *Solução amostra (2)* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta a 254 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante cinco minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
	Zona de coloração marron
Carvona: zona de coloração rosa	Zona de coloração rosa
<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 11,0%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 7,0%.

**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

### Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*. Utilizar balão de 250 mL contendo 100 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno no tubo graduado. Reduzir os frutos dessecados a pó grosseiro. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 25 g da droga em pó. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

### Carvona e dilapiol

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chamas, utilizando mistura de nitrogênio, ar sintético e hidrogênio (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna cromatográfica capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polidifenildimetilsiloxano, com espessura do filme de 0,25 µm. Utilizar hélio a 80 kPa de pressão, como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1 mL/minuto.

#### Temperatura:

Tempo (minutos)		Temperatura (°C)
Coluna	0 – 80	60 → 300
Injetor		220
Detector		250

*Solução amostra:* diluir o óleo volátil obtido em *Doseamento de óleos voláteis* em éter etílico (2:100).

*Procedimento:* injetar volume de 1 µL da *Solução amostra* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. O índice de retenção linear dos constituintes do óleo é calculado em relação a uma série homóloga de hidrocarbonetos (C<sub>8</sub> – C<sub>22</sub>) e comparados com a amostra. A carvona e o dilapiol apresentam tempos de retenção linear de 1236 e 1615, respectivamente. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

Calcular o Índice de Retenção Relativa, segundo a expressão:

$$IRR = 100 \times n + \frac{100 \times (tr_x + tr_z)}{(tr_{z+1} + tr_z)}$$

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativa;

n = número de átomos de carbono do alcano de menor peso molecular;

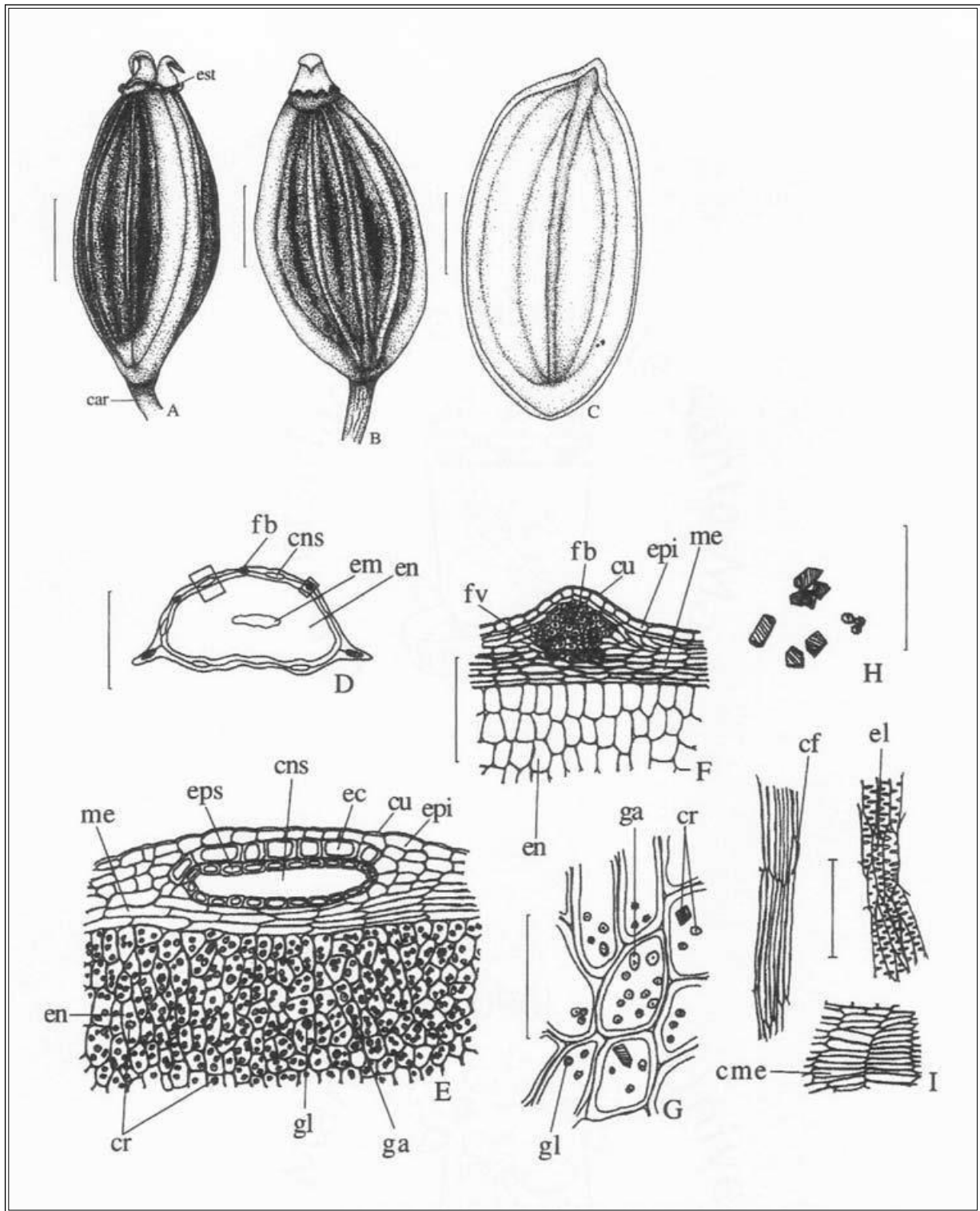
tr<sub>x</sub> = tempo de retenção do composto "x" (intermediário a tr<sub>z</sub> e tr<sub>z+1</sub>);

tr<sub>z</sub> = tempo de retenção do alcano com "n" carbonos;

tr<sub>z+1</sub> = tempo de retenção do alcano com "n + 1" carbonos.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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



**Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Anethum graveolens* L.**

As escalas correspondem: em **A, B, C, D**, a 1 mm; em **E, F, I** a 100 µm; em **G** e **H** a 50 µm.

**A** – diaquênio em vista lateral: carpóforo (car); estilopódio (est). **B** – mericarpo em vista frontal. **C** – vista da face comissural do mericarpo. **D** – aspecto geral de um mericarpo em secção transversal: fibras (fb); canal secretor (cns); embrião (em); endosperma (en). **E** – detalhe da secção transversal do mericarpo, como assinalado em **D**: mesocarpo (me); endosperma (en); cristais (cr); gota lipídica (gl); grão de amido (ga); epitélio secretor (eps); canal secretor (cns); escleride (ec); cutícula (cu); epicarpo (epi). **F** – detalhe da secção transversal do mericarpo na região de uma aresta dorsal, como assinalado em **D**: feixe vascular (fv); fibras (fb); cutícula (cu); epicarpo (epi); mesocarpo (me); endosperma (en). **G** – detalhe de células do endosperma: gota lipídica (gl); grão de amido (ga); cristais (cr). **H** – cristais de diferentes formas. **I** – detalhes do pó: cordão de fibras (cf); detalhe de elementos traqueais em vista longitudinal (el); detalhe de células do mesocarpo com paredes espessas (cme).

**ESTÉVIA, folha**  
***Steviae folium***

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, contendo, no mínimo, 12,0% de carboidratos totais e 4,0% de esteviosídeo (C<sub>38</sub>H<sub>60</sub>O<sub>18</sub>, 804,87).

**IDENTIFICAÇÃO**

**A. Descrição macroscópica**

Folhas simples, com até 6 cm de comprimento e até 2,5 cm de largura, membranosas e quebradiças, verde escuras na face adaxial e mais claras na abaxial, espatuladas a lanceoladas, sésseis, de ápice agudo, base atenuada e margem serrilhada a partir do terço basal em direção ao ápice foliar, com três nervuras longitudinais, a principal mais desenvolvida. Venação actinódroma. A folha é recoberta por tricomas tectores pluricelulares e unisseriados em ambas as faces; tricomas glandulares são visíveis com lente de aumento.

**B. Descrição microscópica**

Lâmina foliar de simetria dorsiventral, anfiestomática, com estômatos anomocíticos. Em vista frontal, a epiderme exibe células de paredes sinuosas, com sinuosidade mais acentuada na face abaxial; na região das nervuras, as células são alongadas e de paredes periclinais retilíneas. Os estômatos ocorrem em maior número na face abaxial. Tricomas tectores pluricelulares unisseriados, de dois tipos, são encontrados em toda a superfície da lâmina foliar, em ambas as faces, os maiores com base alargada e ápice agudo, sendo as células basais mais volumosas, os menores com diâmetro uniforme da base até o ápice, sendo esses, menos afilados; tricomas glandulares ocorrem nas duas faces e localizam-se em pequenas depressões da epiderme, com pedicelo pluricelular e unisseriado e cabeça arredondada e unicelular. Em alguns locais da epiderme são visíveis estrias epicuticulares. Em secção transversal da lâmina, os estômatos parecem situados no mesmo nível ou ligeiramente acima das demais células epidérmicas e as paredes periclinais internas e anticlinais que delimitam o poro estomático são espessadas. O parênquima paliçádico é formado por uma ou duas camadas de células; quando duas, essas abrangem a metade da espessura da lâmina. O parênquima esponjoso apresenta vários estratos, dispostos irregularmente. Os feixes vasculares secundários são colaterais, circundados por uma bainha parenquimática clorofilada. A nervura principal, em secção transversal, mostra-se mais proeminente na face abaxial. As células da epiderme são isodiamétricas e o colênquima é lacunar. O sistema vascular é representado por um feixe vascular colateral, envolvido parcialmente por fibras esclerenquimáticas junto ao xilema e ao floema, em forma de calotas. Em secção transversal, a base foliar mostra forma semicircular aberta, ligeiramente côncava na face adaxial e convexa na abaxial. A epiderme apresenta células poliédricas a quadrangulares, com cutícula ornamentada. Os estômatos estão localizados acima do nível das demais células epidérmicas e ocorrem apenas nos bordos. O colênquima é formado por uma ou duas camadas de células, em ambas as faces. O parênquima fundamental preenche a maior parte dessa região e o clorênquima os bordos. O sistema vascular é constituído de cinco a sete feixes vasculares colaterais, sendo o central maior.

**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 com células de paredes anticlinais sinuosas e estômatos anomocíticos; fragmentos de regiões das nervuras com células epidérmicas alongadas; fragmentos de feixes vasculares como os descritos; tricomas tectores e glandulares como os descritos.

**D. Descrição macroscópica das impurezas**

Flores, quando presentes, alvas, todas iguais, reunidas em capítulos e protegidas por um involúcro de cinco ou seis brácteas. Os capítulos são agrupados em panículas terminais corimbiformes. Fruto, quando presente, do tipo aquênio, com quatro ou cinco ângulos longitudinais e superfície pilosa, acompanhado do papus formado por uma só fileira de cerdas.

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

*Fase estacionária:* sílica-gel F254 com espessura de 250 µm.

*Fase móvel:* acetato de etila, álcool metílico e ácido acético glacial (60:40:5).

**Solução amostra:** pesar cerca de 0,25 g de folhas pulverizadas e colocar em balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de mistura de água e álcool etílico (1:1). Aquecer, sob refluxo, por uma hora. Filtrar em papel de filtro. Transferir o filtrado para balão volumétrico de 10 mL, resfriar e completar o volume com mistura de água e álcool etílico (1:1).

**Solução referência:** dissolver quantidade, exatamente pesada, de esteviosídeo em álcool metílico, de modo a obter solução a 1 mg/mL.

**Procedimento:** aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 110 °C durante cinco minutos.

**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>	
Esteviosídeo: zona de coloração verde-fugáz	Zona de coloração verde-fugáz
<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 13,0%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 9,5%.

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

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

**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.

## DOSEAMENTO

### Esteviosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 206 nm; pré-coluna empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano;



coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo do *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Eluente (A)*: água e acetonitrila (80:20).

*Eluente (B)*: acetonitrila.

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Eluente (A) %</b>	<b>Eluente (B) %</b>	<b>Eluição</b>
0 – 4	100→70	0→30	gradiente linear
4 – 7	70→0	30→100	gradiente linear

*Solução amostra*: transferir cerca de 0,25 g, pesados com exatidão, da droga seca e pulverizada para balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de mistura de água e álcool etílico (1:1), e aquecer a cerca de 100 °C, sob refluxo, por 60 minutos. Resfriar o extrato à temperatura ambiente com corrente de água fria. Filtrar o extrato em papel de filtro, sob vácuo, lavando o marco com pequeno volume de água. Transferir o filtrado para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com mistura de água e álcool etílico (1:1). Diluir 50 µL da solução resultante em 950 µL de mistura de acetonitrila e água (20:80).

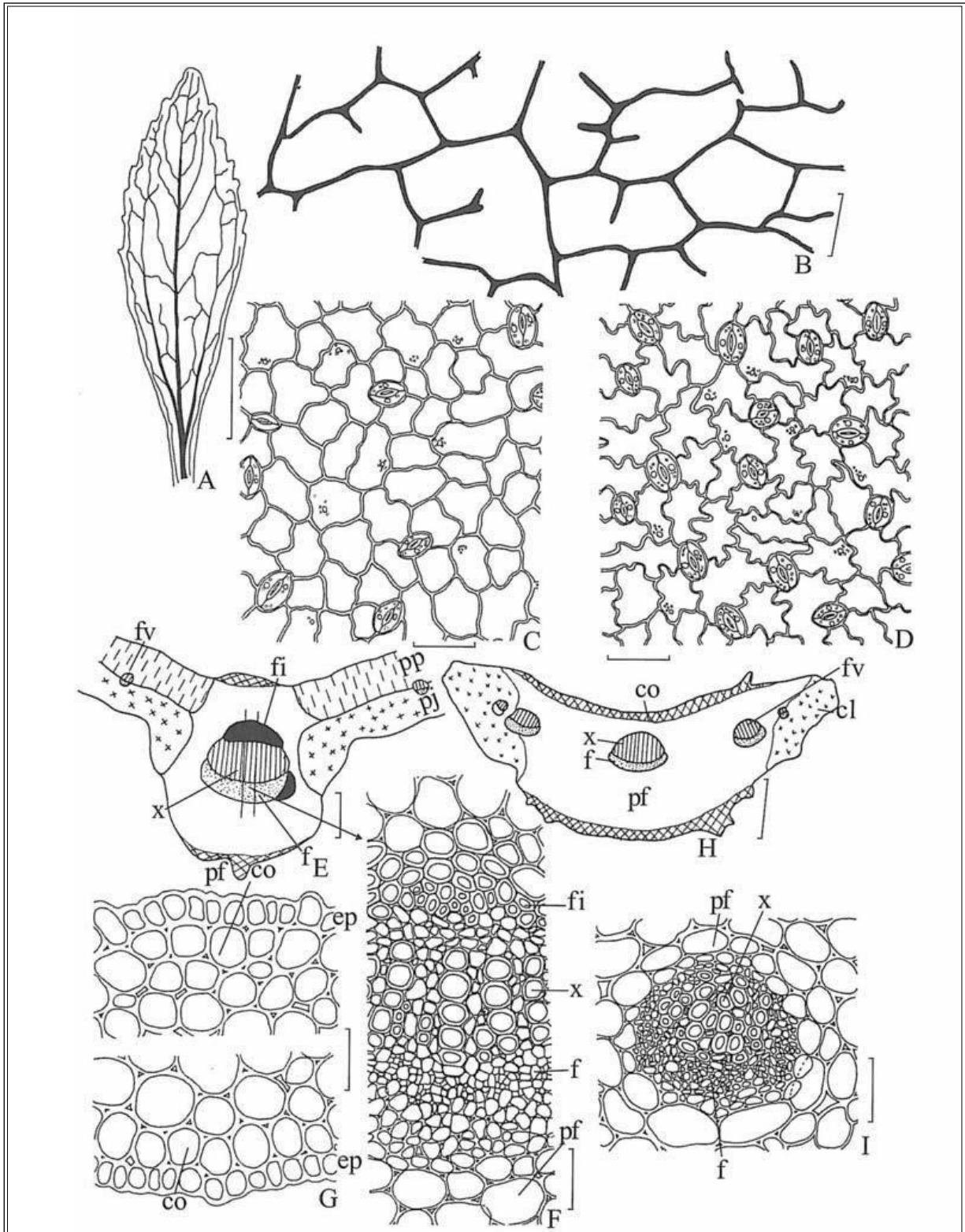
*Solução referência*: dissolver quantidade exatamente pesada de esteviosídeo em álcool metílico de modo a obter solução a 1 mg/mL. Aquecer, brandamente, se necessário.

*Soluções para a curva analítica*: diluir 500 µL da *Solução referência* de modo a obter solução a 0,50 mg/mL. Realizar diluições sucessivas da solução anterior, em álcool metílico, de modo a obter concentrações de 0,25 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,032 mg/mL e 0,016 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Procedimento*: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções para a curva analítica* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção é de aproximadamente quatro minutos e 40 segundos para o esteviosídeo. Calcular o teor de esteviosídeo na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

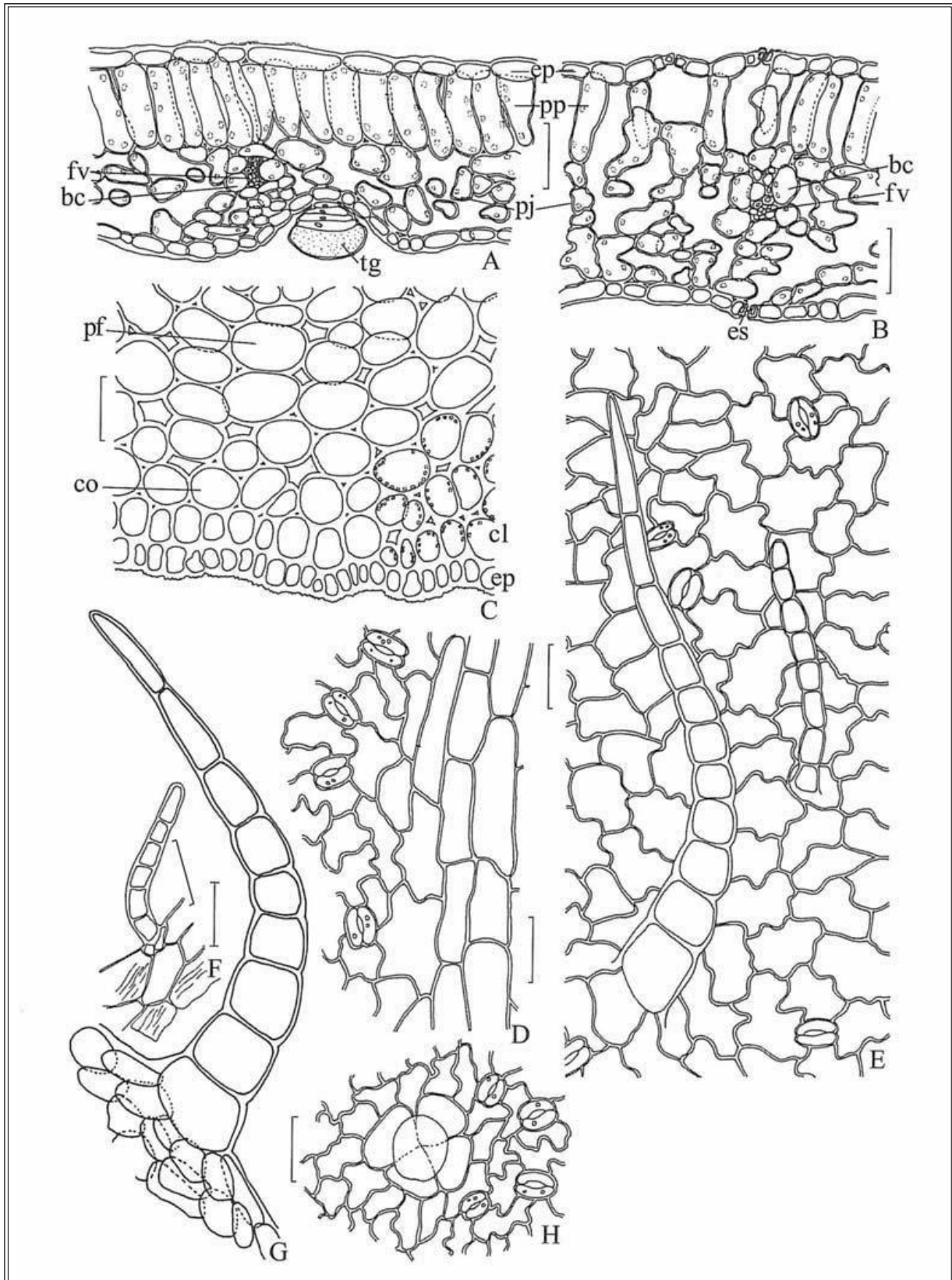


**Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Stevia rebaudiana* (Bertoni)**  
Bertoni

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B**, **E** e **H** a 250 µm; em **C**, **D**, **G**, **F** e **I** a 50 µm.

**A** – aspecto geral da folha; **B** – detalhe da nervação foliar; **C** – detalhe da epiderme da face adaxial em vista frontal, mostrando estômatos; **D** – detalhe da epiderme da face abaxial em vista frontal, mostrando estômatos e células com paredes sinuosas; **E** – esquema da secção transversal da lâmina foliar na região da nervura principal, evidenciando feixe do tipo colateral: floema (f); fibras (fi); feixe vascular (fv); parênquima fundamental (pf); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); xilema (x). **F** –

detalhe do feixe vascular da nervura principal em secção transversal como mostrado em **E**: floema (f); fibras (fi); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **G** – detalhe da epiderme e do colênquima na região da nervura principal voltada para a face adaxial e detalhe da epiderme e do colênquima na região da nervura principal voltada para a face abaxial: colênquima (co); epiderme (ep). **H** – esquema da secção transversal da base da lâmina foliar na região da nervura principal, evidenciando feixe do tipo colateral: colênquima (cl); colênquima (co); floema (f); feixe vascular (fv); xilema (x). **I** – detalhe do feixe vascular da região basal da lâmina foliar: floema (f); parênquima fundamental (pf); xilema (x).



## Figura 2 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

As escalas correspondem em **A** a **H** a 50 µm.

**A** – detalhe da lâmina foliar, em secção transversal: epiderme (ep); bainha vascular com cloroplastídios (bc); feixe vascular (fv); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); tricoma glandular (tg). **B** – detalhe da lâmina foliar, em secção transversal: estômato (es); epiderme (ep); bainha vascular com cloroplastídios (bc); feixe vascular (fv); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp). **C** – fragmento da porção basal da lâmina foliar em secção transversal ao nível da nervura principal, mostrando estrias epicuticulares: epiderme (ep); clorênquima (cl); colênquima (co); parênquima fundamental (pf); **D** – fragmento de epiderme em vista frontal, evidenciando estômatos e a variabilidade morfológica das células; **E** – fragmento da epiderme, em vista frontal, evidenciando estômatos e tricomas tectores; **F** – tricoma tector e células epidérmicas fundamentais mostrando estrias epicuticulares; **G** – tricoma tector com células basais alargadas; **H** – fragmento da epiderme, em vista frontal, destacando estômatos e tricoma glandular.

### GENGIBRE, rizoma *Zingiberis rhizoma*

A droga vegetal consiste de rizomas secos de *Zingiber officinale* Roscoe, contendo, no mínimo, 0,6% de gingeróis e, no máximo, 0,4% de shogaóis.

#### CARACTERÍSTICAS

Os rizomas apresentam odor forte, picante e característico.

#### IDENTIFICAÇÃO

##### A. Descrição macroscópica

Rizoma ramificado, com formato irregular, achatado lateralmente, com ramificações dispostas em um só plano, de coloração castanho-clara a pardacenta, marcado por anéis transversais proeminentes e estrias longitudinais e transversais, estreitas e bem visíveis. Comumente ocorrem cicatrizes elípticas acinzentadas quando jovens e castanho-claras a esbranquiçadas quando mais velhas, rugosas e depressas, entre as ramificações, com fibras aparentes. O rizoma comercial mede de 5,0 a 25,0 cm de comprimento, de 1,0 a 5,0 cm de espessura. A fratura é curta e amilácea, com fibras projetadas e o súber tende a esfoliar-se.

##### B. Descrição microscópica

Em vista frontal, a periderme apresenta células de aspecto quadrangular ou alongado, ambas com paredes delgadas. Em secção transversal, o rizoma apresenta forma ovalada e três diferentes regiões, a periderme, o córtex e o cilindro central. A periderme é formada por até vinte e cinco camadas ou mais, em duas zonas distintas. A zona externa apresenta células suberificadas, de forma e disposição irregular e com grande quantidade de gotas lipídicas; a zona interna é formada por um maior número de camadas e por células de forma tabular, achatadas tangencialmente e dispostas radialmente. Grãos de amido estão presentes em todos os tecidos, exceto nos vasculares; são simples, com hilo excêntrico e estratificação muito evidente, geralmente elipsoides, ovalados e aplanados, com até 50 µm de comprimento e até 35 µm de largura e até 10 µm de espessura. O parênquima cortical é formado por células poligonais volumosas, com grande quantidade de grãos de amido. Entre as células parenquimáticas ocorrem fibras isoladas e esparsas, de paredes não muito espessas e sem lignificação. Células secretoras de forma poligonal são muito comuns, contendo gotas lipídicas grandes ou diminutas, isoladas ou agrupadas e de coloração amarelada. Os feixes vasculares são colaterais, geralmente fechados, com distribuição aleatória nos parênquimas e pouco desenvolvidos no parênquima cortical. Internamente ao parênquima ocorre a endoderme, composta por células quadrangulares, de paredes delgadas e com raros grãos de amido. O cilindro vascular externamente é delimitado por um anel de células parenquimáticas muito menores do que as demais onde se distribuem pequenos agrupamentos vasculares. Internamente, é preenchido por tecido parenquimático, formado por várias camadas, semelhante àquele que caracteriza a região cortical. No cilindro vascular também ocorrem

células secretoras e feixes vasculares dispersos. Não ocorrem cristais de oxalato cálcio e esclereídes. Em secção longitudinal, observam-se espessamentos do tipo escalariforme, mais frequente, além de anelar, helicoidal e reticulado mais raros. As fibras são bastante alongadas, septadas, e apresentam poros oblíquos e pontoações evidentes.

### C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. A observação microscópica do pó torna-se mais clara, quando utilizado hidrato de cloral R. São características: coloração amarelo-clara a castanho-clara; fragmentos de periderme em vista frontal e em vista transversal; grande quantidade de grãos de amido isolados ou agrupados, mais evidentes quando utilizada água glicerinada; grande quantidade de fragmentos de parênquima com paredes delgadas e incolores, ou raramente amareladas; fragmentos de parênquima contendo grãos de amido; fragmentos de parênquima contendo gotas lipídicas amareladas; fragmentos de parênquima com porções de elementos traqueais; porções de espessamentos parietais isolados de elementos traqueais; porções de elementos traqueais isolados ou agrupados; porções de fibras isoladas ou agrupadas; gotas lipídicas isoladas e amareladas.

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

*Fase estacionária:* sílica-gel GF<sub>254</sub>.

*Fase móvel:* tolueno e acetato de etila (30:10).

*Solução amostra:* pulverizar 5 g da droga (710 µm) (5.2.11). Transferir 1 g do pó para tubos de centrífuga e adicionar 10 mL de álcool metílico. Agitar a mistura em agitador magnético por 30 minutos. Centrifugar o extrato por 10 minutos a 166 × g. Utilizar o líquido sobrenadante para aplicação na placa.

*Solução referência:* preparar solução a 0,1 mg/mL capsaicina em álcool etílico.

*Revelador:* solução de anisaldeído sulfúrico a 10% (v/v) seguido de aquecimento a temperatura entre 100 °C e 105 °C por três minutos.

*Procedimento:* aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma por 10 cm. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído sulfúrico a 10% (v/v) e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante três minutos. Examinar a placa sob a luz visível.

*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>	
10-shogaol: zona de coloração azul violácea 8-shogaol: zona de coloração azul violácea 6-shogaol: zona de coloração azul violácea  10-gingerol: zona de coloração azul violácea 8-gingerol: zona de coloração azul violácea 6-gingerol: zona de coloração azul violácea  Capsaicina: zona de coloração azul	Zona de coloração azul violácea Zona de coloração azul violácea Zona de coloração azul violácea  Zona de coloração azul violácea Zona de coloração azul violácea Zona de coloração azul violácea
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

## TESTES

**Água (5.2.20.2).** No máximo 12%.

**Matéria estranha (5.4.1.3).** No máximo 1,0%.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 8,0%.

**Substâncias extraíveis por álcool etílico (5.4.1.9).** Método C. No mínimo 3,5%.

**Substâncias extraíveis em água (5.4.1.9).** Método C. No mínimo 4,5%

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

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

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

**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.

## DOSEAMENTO

### Gingeróis

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 282 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 ambiente (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Pequenos ajustes no fluxo e gradiente poderão ser necessários com a troca de aparelhagem e coluna cromatográfica.

*Eluente (A)*: acetonitrila, ácido fosfórico a 0,1% (v/v) e álcool metílico (55:44:1).

*Eluente (B)*: acetonitrila.

Adotar o *Eluente (A)* com um tempo de corrida sete vezes superior ao tempo de retenção da capsaicina.

*Lavagem da coluna*: após cada corrida, proceder a lavagem da coluna usando o sistema descrito na tabela a seguir.

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Eluente (A) (%)</b>	<b>Eluente (B) (%)</b>	<b>Eluição</b>
0 - 2	100 → 0	0 → 100	gradiente linear
2 - 12	0	100	isocrática
12 - 14	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
14 - 29	100	0	isocrática

*Preparação da amostra*: transferir 1 g da droga vegetal recentemente pulverizada (710 µm) (5.2.11) para erlenmeyer com boca esmerilhada de 50 mL e adicionar 25 mL de álcool etílico absoluto. Macerar o extrato por 24 horas, agitando frequentemente a solução durante as primeiras oito horas. A seguir, filtrar o extrato em papel de filtro para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool etílico e homogeneizar.

*Solução referência*: dissolver capsaicina em álcool metílico em quantidade e volume necessários para preparar uma solução com concentração de 0,5 mg/mL.

*Solução amostra*: em balão volumétrico de 1 mL, acondicionar 0,2 mL da *Solução referência* e completar o volume com a *Preparação da amostra*. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

*Procedimento*: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes aos gingeróis e a capsaicina. Calcular o teor de gingeróis, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TG = \frac{A_a \times C}{A_r \times m} \times 100 \times 31,25$$

em que,

TG = teor de gingeróis % (p/p);

$A_a$  = soma das áreas sob os picos correspondentes aos gingeróis obtidos com a *Solução amostra*. Considerar as áreas correspondentes ao 6-gingerol, 8-gingerol e 10-gingerol cujos tempos de retenção relativos são de aproximadamente 0,8, 1,5 e 3,5, respectivamente;

$A_r$  = área sob o pico correspondente a capsaicina obtida com a *Solução amostra*;

$C$  = concentração da capsaicina na *Solução amostra* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

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

## Shogaóis

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 282 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 ambiente (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Pequenos ajustes no fluxo e gradiente poderão ser necessários com a troca de aparelhagem e coluna cromatográfica.

*Eluente (A)*: acetonitrila, ácido fosfórico a 0,1% (v/v) e álcool metílico (55:44:1).

*Eluente (B)*: acetonitrila.

Adotar o *Eluente (A)* com um tempo de corrida sete vezes superior ao tempo de retenção da capsaicina.

*Lavagem da coluna*: após cada corrida, proceder à lavagem da coluna usando o sistema descrito na tabela a seguir

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Eluente (A) (%)</b>	<b>Eluente (B) (%)</b>	<b>Eluição</b>
------------------------	------------------------	------------------------	----------------

0 - 2	100 → 0	0 → 100	gradiente linear
2 - 12	0	100	isocrática
12 - 14	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
14 - 29	100	0	isocrática

**Preparação da amostra:** transferir 1 g da droga recentemente pulverizada (710 µm) **(5.2.11)** para erlenmeyer com boca esmerilhada de 50 mL e adicionar 25 mL de álcool etílico absoluto. Macerar o extrato por 24 horas, agitando frequentemente a solução durante as primeiras oito horas. A seguir, filtrar o extrato em papel filtro para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool etílico e homogeneizar.

**Solução referência:** dissolver capsaicina em álcool metílico em quantidade e volume necessários para preparar uma solução com concentração de 0,5 mg/mL.

**Solução amostra:** em balão volumétrico de 1 mL, acondicionar 0,2 mL da *Solução referência* e completar o volume com a *Preparação da amostra*. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

**Procedimento:** injetar, separadamente, 25 µL da *Solução amostra* e 25 µL da *Solução referência*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes aos shogaóis e a capsaicina. Calcular o teor de shogaóis, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TS = \frac{A_a \times C}{A_r \times m} \times 100 \times 31,25$$

em que,

TS = teor de shogaóis % (p/p);

$A_a$  = soma das áreas sob os picos correspondentes aos shogaóis obtidos com a *Solução amostra*. Considerar as áreas correspondentes ao 6-shogaol, 8-shogaol e 10-shogaol cujos tempos de retenção relativos são de aproximadamente 1,9, 4,7 e 5,8, respectivamente;

$A_r$  = área sob o pico correspondente a capsaicina obtida com a *Solução amostra*;

C = concentração da capsaicina na *Solução amostra* em g/mL, considerando a pureza da substância referência;

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

**Adequabilidade do sistema:** dissolver os padrões 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, 6-shogaol, 8-shogaol e 10-shogaol em álcool metílico em quantidades e volumes necessários para preparar uma solução de aproximadamente 0,2 mg/mL. Misturar partes iguais de cada solução em 1 mL da *Solução referência*, e injetar 25 µL da mistura. A resolução entre os picos deve ser calculada através da fórmula demonstrada a seguir, sendo que a resolução entre os picos do 6-gingerol e da capsaicina não deve ser inferior a 3,0; e entre os picos da capsaicina e 6-shogaol não deve ser inferior a 10,0.

$$R = 1,18 \times \frac{(tr_2 - tr_1)}{wr_1 + wr_2}$$

Em que:

R = resolução dos picos;

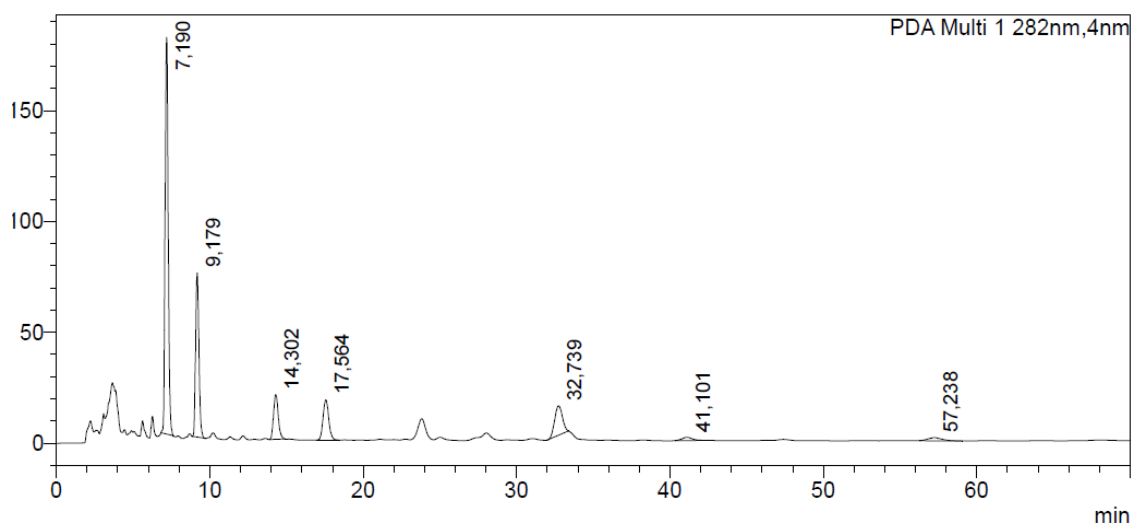
$tr_1$  = tempo de retenção do primeiro pico;

$tr_2$  = tempo de retenção do segundo pico;

$wr_1$  = largura do primeiro pico medida a meia altura;

$wr_2$  = largura do segundo pico medida a meia altura.

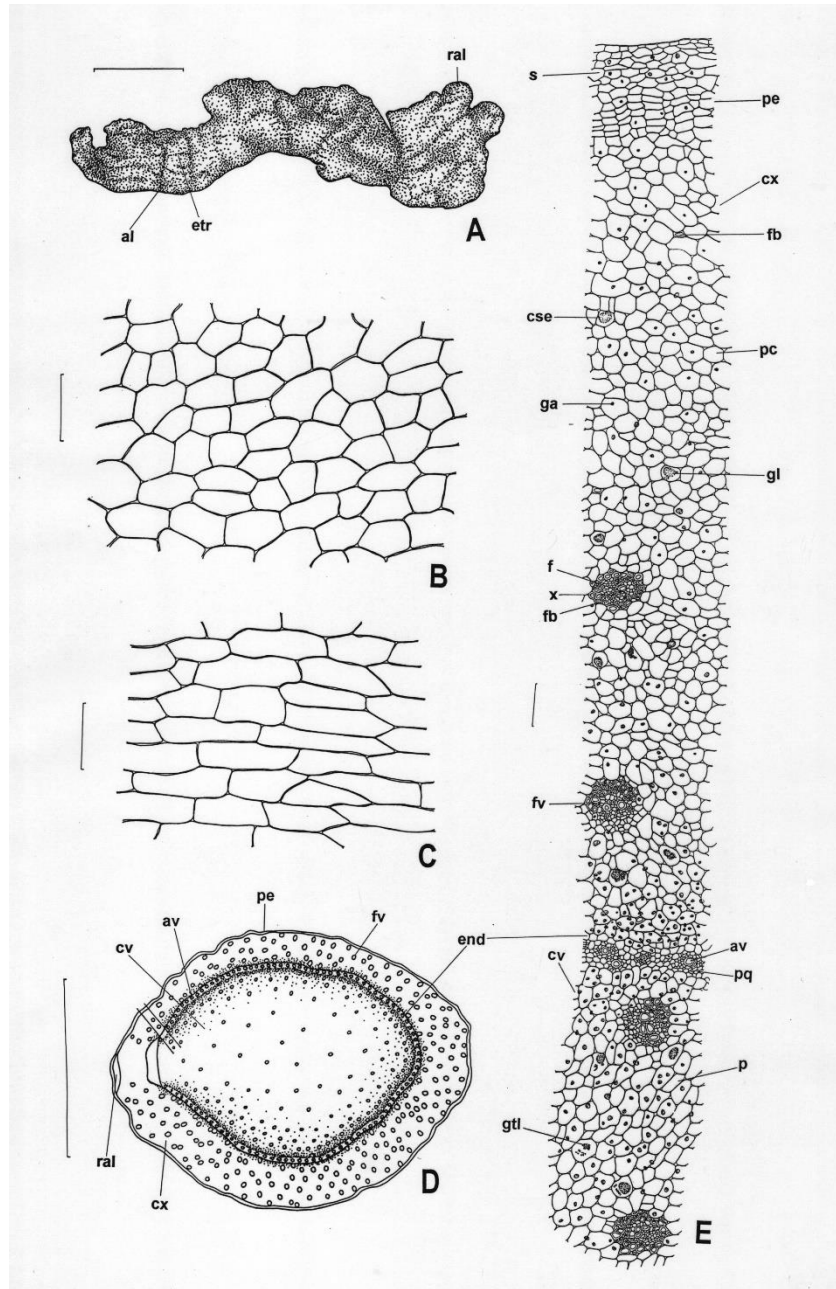




**Figura 1 – Cromatograma ilustrativo de extrato etanólico de *Zingiber officinale* em 282 nm. Em tempo de retenção (tr) de aproximadamente sete minutos, visualiza-se o pico referente ao 6-gingerol; em tr nove minutos, capsaicina; em tr 14 minutos, 8-gingerol; em tr 17 minutos, 6-shogaol; em tr 32 minutos, 10-gingerol; em tr 41 minutos, 8-shogaol; e em tr 57 minutos, 10-shogaol.**

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

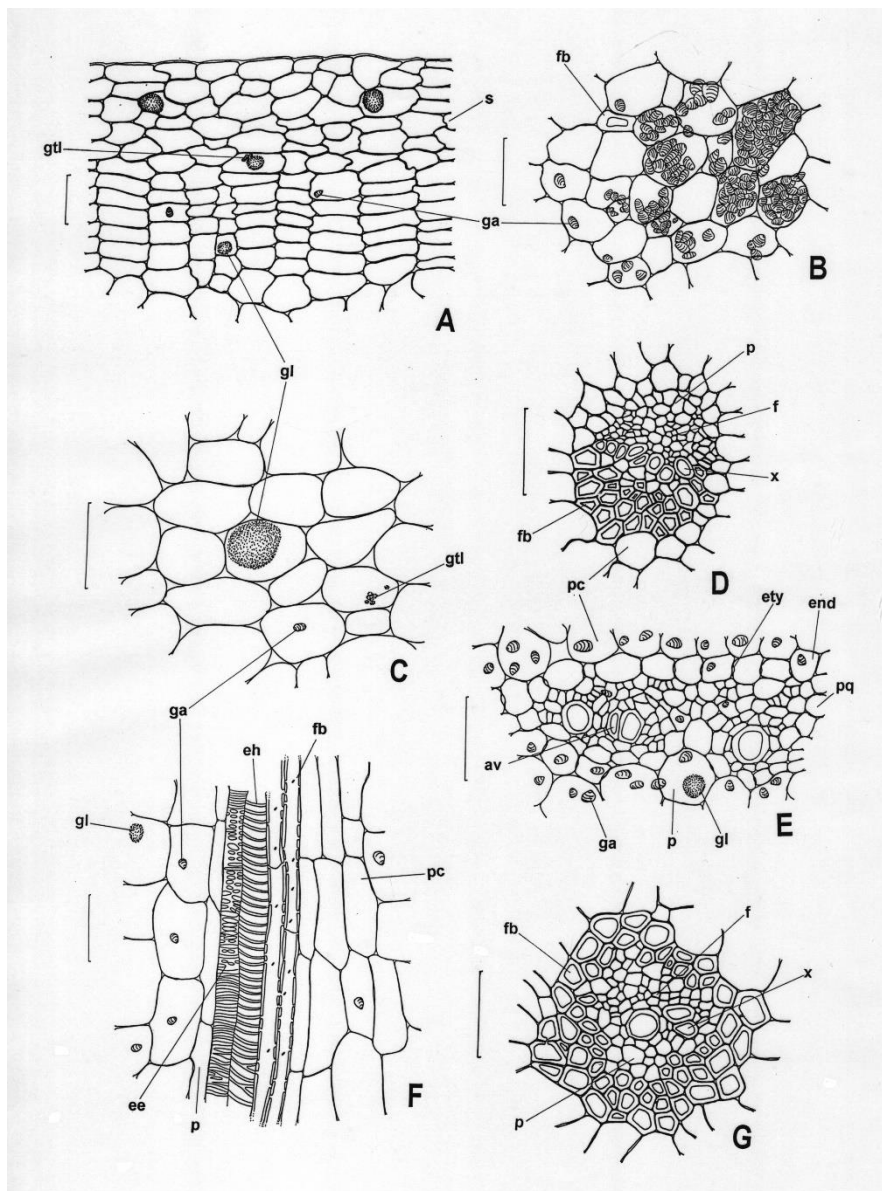
Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e calor.



**Figura 2 - Aspectos macroscópicos e microscópicos do rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe.**

As escalas correspondem em **A** a 2,8 cm; em **B** e **C** a 100  $\mu$ m; em **D** a 5 cm; em **E** a 200  $\mu$ m.

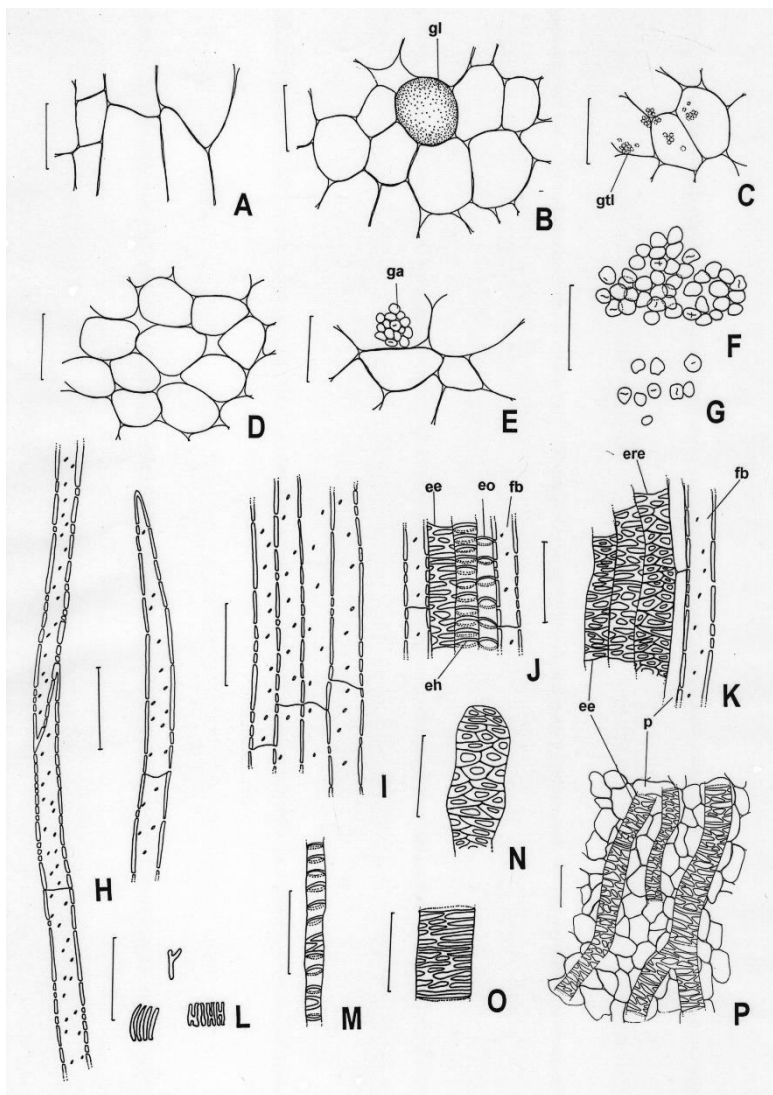
**A** - aspecto geral do rizoma, al: anel; etr: estria; ral: ramificação lateral; **B** - periderme em vista frontal com células quadrangulares; **C** - periderme em vista frontal com células alongadas; **D** - aspecto geral do rizoma em secção transversal; av: agrupamento vascular; cv: cilindro vascular; cx: córtex; end: endoderme; fv: feixe vascular; pe: periderme; ral: ramificação lateral; **E** - detalhe do rizoma em secção transversal como assinalado em D; av: agrupamento vascular; cse: célula secretora; cv: cilindro vascular; cx: córtex; end: endoderme; f: floema; fb: fibra; fv: feixe vascular; ga: grão de amido; gl: gota lipídica; gtl: gotícula lipídica; p: parênquima; pc: parênquima cortical; pe: periderme; pq: parênquima de pequenas células; s: súber; x: xilema.



**Figura 3 - Aspectos microscópicos do rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe.**

As escalas correspondem em **A a G** a 100  $\mu$ m.

**A** - detalhe da periderme em secção transversal; ga: grão de amido; gl: gota lipídica; gtl: gotículas lipídicas; s: súber; **B** - detalhe do parênquima cortical com grãos de amido, em secção transversal; fb: fibra; ga: grão de amido; **C** - detalhe do parênquima cortical com gotas lipídicas, em secção transversal; ga: grão de amido; gl: gota lipídica; gtl: gotículas lipídicas; **D** - detalhe de feixe vascular ocorrente no córtex, em secção transversal; f: floema; fb: fibra; p: parênquima; pc: parênquima cortical; x: xilema; **E** - detalhe da região da endoderme e da região dos agrupamentos vasculares, em secção transversal; av: agrupamento vascular; end: endoderme; ety: estria de Caspary; ga: grão de amido; gl: gota lipídica; p: parênquima; pc: parênquima cortical; pq: parênquima de pequenas células; **F** - detalhe de porção do córtex, em secção longitudinal; ee: elemento de vaso com espessamento escalariforme; eh: elemento de vaso com espessamento helicoidal; fb: fibra; ga: grão de amido; gl: gota lipídica; p: parênquima; pc: parênquima cortical; **G** - detalhe de feixe vascular ocorrente no cilindro vascular, em secção transversal; f: floema; fb: fibra; p: parênquima; x: xilema.



**Figura 4 - Aspectos microscópicos do pó de *Zingiber officinale* Roscoe.**

As escalas correspondem em **A a P** a 100 µm.

**A** - porção de periderme em vista frontal; **B** - porção de parênquima com gota lipídica, em secção transversal; gl: gota lipídica; **C** - porção de parênquima com gotículas lipídicas, em secção transversal; gtl: gotículas lipídicas; **D** - porção de parênquima, em secção transversal; **E** - porção de parênquima com grãos de amido, em secção transversal; ga: grão de amido; **F** - grãos de amido agrupados; **G** - grãos de amido isolados; **H** - porções de fibras isoladas, em secção longitudinal; **I** - porção de agrupamento de fibras, em secção longitudinal; **J** - porção de xilema, em secção longitudinal; ee: porção de elemento de vaso com espessamento helicoidal; eo: porção de elemento de vaso com espessamento anelado; eh: porção de elemento de vaso com espessamento helicoidal; fb: porção de fibra; **K** - porção de xilema, em secção longitudinal; ee: porção de elemento de vaso com espessamento escalariforme; ere: porção de elemento de vaso com espessamento reticulado; fb: porção de fibra; p: porção de parênquima; **L** - fragmentos isolados de espessamentos parietais; **M** - porção de elemento traqueal com espessamento anelado, em secção longitudinal; **N** - porção de elemento traqueal com espessamento reticulado, em secção longitudinal; **O** - porção de elemento traqueal com espessamento escalariforme, em secção longitudinal; **P** - porção de parênquima e elementos vasculares, em secção longitudinal; p: parênquima; ee: elemento de vaso com espessamento escalariforme.

**ROMÃ, fruto**  
***Punica Granati Pericarpium***

A droga é constituída por porções secas do pericarpo do fruto de *Punica granatum* L., contendo, no mínimo, 5,0 % de polifenóis totais, expressos em ácido elágico (C<sub>14</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>8</sub>, 302,20).

IDENTIFICAÇÃO

### A. Descrição macroscópica

O exocarpo consiste em porções irregulares de até 5,0 cm de comprimento e até 2,5 cm de largura; espessura com até 0,9 cm. A superfície externa, em vista frontal, é amarelo-avermelhada a castanho-amarelada e áspera. São observadas várias lenticelas. A superfície interna, em vista frontal, é amarelada a pardo-amarelada e rugosa. Algumas porções evidenciam restos do cálice persistente.

### B. Descrição microscópica

O exocarpo é formado por epiderme unisseriada e coberta por cutícula espessa e lisa. Em vista frontal, as paredes anticliniais das células epidérmicas são retas e espessas. Várias lenticelas estão distribuídas uniformemente no exocarpo. Subjacente às células epidérmicas ocorre parênquima formado por várias camadas de células arredondadas e retangulares onde são observados feixes vasculares colaterais, células esclerenquimáticas arredondadas ou irregulares, isoladas e células pétreas isoladas ou em grupos. O mesocarpo é bem vascularizado e próximo ao floema ocorrem drusas de oxalato de cálcio. Ocorrem fibras de parede espessada e lignificada, evidenciando pequeno lúmen e medindo de 80-150 µm de comprimento e 20-30 µm de largura. Pequenos grãos de amido, circulares e medindo cerca de 5 µm estão distribuídos nas regiões mais internas do mesocarpo.

### C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. Pó de coloração pardo-clara. São observados: fragmentos de epiderme com células conforme descritas, em vista frontal; fragmentos de epiderme com lenticelas, em vista frontal; fragmentos da epiderme, em secção transversal, apresentando cutícula espessa e lisa; fragmentos de parênquima, em secção transversal, contendo feixes vasculares; fragmentos do parênquima, em secção transversal contendo drusas de oxalato de cálcio; fragmentos do parênquima, em secção transversal, com porções de feixes vasculares, fibras observadas em vista longitudinal; drusas isoladas; porções de elementos traqueais com espessamento helicoidal, em vista longitudinal; pequenos grãos de amido.

### 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:* tolueno, acetato de etila e ácido fórmico (4:8:2).

*Solução amostra:* pesar, com exatidão, em balão de fundo redondo de 50 mL, cerca de 0,25 g da droga em pó (250 µm) e adicionar 12,5 mL de metanol. Adicionar pérolas de vidro ao balão e levar a refluxo em banho maria (85 - 95 °C) por 20 minutos. Resfriar o extrato, filtrar, através de algodão, para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Diluir, transferindo uma alíquota de 1 mL para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com metanol.

*Solução referência:* preparar uma solução a 260 µg/mL de punicalaginas e 50 µg/mL de ácido elágico em metanol.

*Revelador (1):* dissolver 5 g de Polietilenoglicol 4000 em metanol e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

*Revelador (2):* preparar uma solução de cloreto férrico a 5% em água.

*Procedimento:* aplicar em duas cromatoplaças, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma por 10 cm. Remover a cromatoplaça, deixar secar ao ar por 15 minutos, em após secar, em estufa, a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 10 minutos. Deixar esfriar e nebulizar a primeira placa com o difenilborato de aminoetanol SR, secar a placa a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 5 minutos, em seguida nebulizar com *Revelador 1*, secar a placa a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 5 minutos (visualizar a placa em 365 nm). Nebulizar a segunda placa com o *Revelador 2* e deixar secar ao ar por 15 minutos (visualizar a placa na luz visível).

*Resultados:* no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa 1		Parte superior da placa 2	
Ácido Elágico: zona de fluorescência	zona de fluorescência	Ácido Elágico: zona de coloração preta	zona de coloração preta

zona de fluorescência

zona de fluorescência

## TESTES

**Água (5.4.1.4).** Método Gravimétrico. No máximo 12,0 %.

**Cinzas totais (5.4.2.4).** No máximo 16,0%.

**Contagem do número total de micro-organismos mesófilos (5.5.3.1.2).** Cumpre o teste.

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

**Pesquisa de micro-organismos patogênicos (5.5.3.1.3).** Cumpre o teste.

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

## DOSEAMENTO

### Polifenóis totais, expressos em ácido elágico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia à líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 256 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida a temperatura de 30 °C; fluxo da fase móvel de 0,7mL/minuto.

*Eluente A:* água e ácido trifluoracético (100:0,01, v/v).

*Eluente B:* acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,08, v/v).

*Gradiente de fase móvel:* adotar sistema de gradiente descrito na tabela a seguir:

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Eluente A (%)</b>	<b>Eluente B (%)</b>	<b>Eluição</b>
0-20	100 → 75	0 → 25	gradiente linear
20-23	75 → 50	25 → 50	gradiente linear
23-25	50 → 0	50 → 100	gradiente linear
25-27	0	100	isocrática
27-28	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
28-33	100	0	isocrática

*Solução amostra:* pesar, com exatidão, em balão de fundo redondo de 50 mL, cerca de 0,25 g da droga em pó (250 µm) e adicionar 12,5 mL de metanol. Adicionar pérolas de vidro ao balão e levar a refluxo em banho maria (85 - 95 °C) por 20 minutos. Resfriar, filtrar, através de algodão, para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Diluir o extrato, transferindo uma alíquota de 1 mL para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com metanol. Filtrar por membrana 0,45 µm.

*Solução referência:* Dissolver 5 mg de ácido elágico (pureza 95 %) em metanol e completar o volume para 50 mL com o mesmo solvente. Pipetar, 1050 µL desta solução e completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente (20 µg/mL).

*Procedimento:* injetar, separadamente, 5 µL da *Solução referência* e da *Solução amostra* em triplicata, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Os tempos de retenção das punicalaginas α e β, na solução amostra foram de aproximadamente 10,5 e 12,1 minutos e do ácido elágico, na solução amostra e de referência de aproximadamente 18,6 minutos. Calcular o teor de polifenóis totais, expressos em ácido elágico, na amostra, a partir da substância referência. O resultado é expresso pela média das determinações em porcentagem de droga vegetal, considerando a determinação de água, segundo a expressão:

$$\text{TFT\%} = \frac{C_p \times [(\Sigma A_{\alpha\beta} \times FR) + (A_{ae})]}{A_p \times m} \times FD \times 100$$

em que,

TFT = Teor de polifenóis totais expressos em ácido elágico % (p/p);

**C<sub>p</sub>** = concentração da solução de referência de ácido elágico em g/mL, considerando pureza do padrão;

**ΣA<sub>αβ</sub>** = somatório das áreas dos picos correspondentes as punicalaginas α e β no cromatograma obtido com a solução amostra;

**A<sub>ae</sub>** = área do pico correspondente ao ácido elágico no cromatograma obtido com a solução amostra;

**A<sub>p</sub>** = área do pico correspondente ao ácido elágico no cromatograma obtido com a *solução de referência*;

**FR** = Fator de resposta para as punicalagina (**3**)

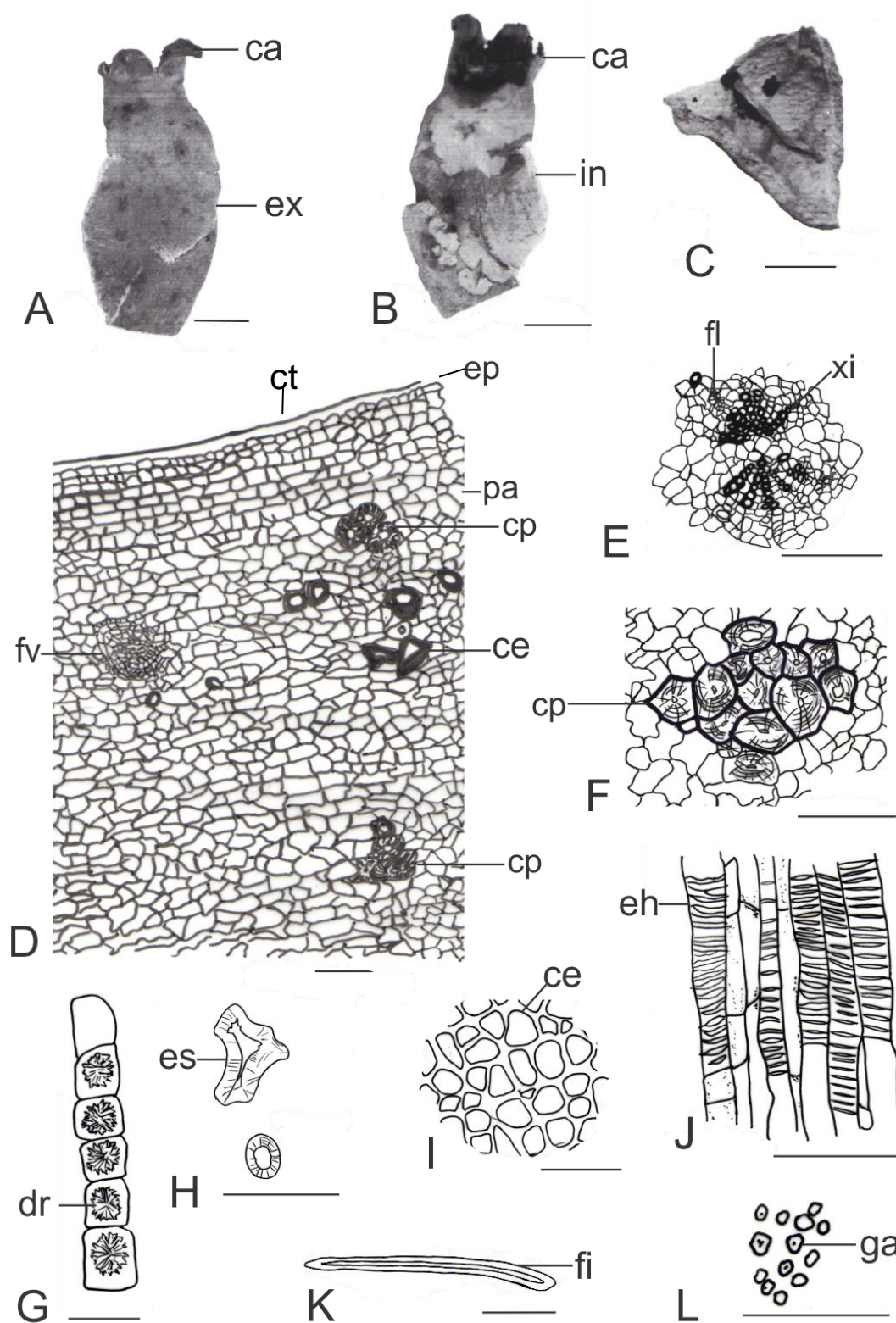
**m** = massa da amostra, em gramas, utilizada na preparação da solução amostra, considerando a perda por dessecação;

**FD** = Fator de diluição da amostra (**125**).

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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





**Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos e microscópicos do pó em *Punica granatum L.***

As escalas correspondem em **A-C** a 1 cm; em **D-L** a 50  $\mu$ m.

**A** – representação esquemática da superfície externa (ex) da casca, em vista frontal contendo cálice persistente (ca). **B** – representação esquemática da superfície interna (in) da casca, em vista frontal contendo cálice persistente (ca). **C** – representação esquemática da superfície interna da casca, em vista frontal. **D** – representação histológica da casca, em secção transversal, mostrando célula esclerenquimática (ce); células parenquimáticas (pa); cutícula (ct); epiderme (ep); feixes vasculares (fv); grupo de células pétreas (cp). **E** –



fragmento do parênquima contendo feixe vascular: floema (fl) e xilema (xi). **F** – fragmento de parênquima contendo grupo de células pétreas (cp). **G** – Grupo de células contendo drusas (dr). **H** – Esclereídes isoladas (es). **I** – fragmento contendo células epidérmicas (ce) em vista frontal. **J** – fragmento de parênquima contendo elementos de vaso com espessamento helicoidal (eh). **K** – fibra (fi) isolada em vista longitudinal. **L** – Grãos de amido (ga).

### **VALERIANA, rizoma e raiz** ***Valerianae rhizoma et radix***

A droga vegetal consiste dos órgãos subterrâneos (raízes, rizomas e estolões), secos, inteiros ou fragmentados, de *Valeriana officinalis* L., contendo, no mínimo, 0,3% de óleos essenciais e, no mínimo, 0,17% de ácidos sesquiterpênicos totais, expressos em ácido valerênico (C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub>, 234,34).

#### IDENTIFICAÇÃO

##### **A. Descrição macroscópica**

A droga vegetal é composta por rizomas e muitas raízes fasciculadas e estolões subterrâneos que emergem do rizoma. O rizoma é castanho-acinzentado a castanho-amarelado, ereto, cônico, podendo alcançar 5 cm de comprimento e 3 cm em diâmetro; geralmente apresenta uma cicatriz, identificando o local de inserção do caule e das folhas basais. As raízes têm aspecto estriado e a mesma coloração do rizoma, com diâmetro de 1 a 3 mm e comprimento que pode ultrapassar 10 cm; as raízes laterais são delgadas, filiformes e frágeis. Os estolões são mais claros que o rizoma e apresentam os nós separados por entrenós estriados, com cerca de 2 a 5 cm de comprimento.

##### **B. Descrição microscópica**

Em secção transversal, a raiz adventícia apresenta células epidérmicas com paredes periclinais externas espessadas e cutinizadas, algumas com resquício de pelos absorventes. A exoderme é formada por uma ou duas camadas de células maiores, poligonais a quadrangulares, com paredes suberizadas, podendo apresentar gotículas de óleo. O córtex é formado por parênquima contendo grãos de amido. Ocasionalmente apresenta uma camada mais externa com células colenquimatosas e conteúdo resinoso. A endoderme consiste de uma única camada de células parenquimáticas com espessamento de suberina nas paredes anticlinais. O periciclo apresenta uma ou mais camadas de células parenquimáticas, geralmente desprovidas de grãos de amido. Os feixes vasculares formam um cilindro interrompido, intercalados por células parenquimáticas, que circundam uma medula preenchida por parênquima amilífero. Os estolões apresentam a mesma caracterização das raízes, porém, a epiderme e a exoderme podem ser substituídas por uma periderme com poucas camadas de súber e a medula pode apresentar células pétreas com paredes espessadas e pontoações simples. O rizoma mostra contorno irregular e uma organização tecidual mais complexa devido à distribuição dos feixes vasculares em direção às raízes e estolões. A epiderme e a exoderme são parcialmente substituídas por periderme pouco desenvolvida. O parênquima cortical é rico em amido e gotículas de substância resinosa e apresenta células pétreas. A endoderme é nítida e contém gotículas de óleo essencial. O parênquima medular contém amido e apresenta espaços intercelulares de vários tamanhos separados por septos transversais; células pétreas também estão presentes.

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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-clara; abundância de grãos de amido arredondados ou romboides isolados, medindo de 5 a 15 µm de diâmetro, com hilo em fenda ou estrelado, quando agregados formam grupos de dois a seis componentes, alcançando 20 µm em diâmetro; fragmentos de súber com células poligonais e conteúdo alaranjado; fragmentos de parênquima com grãos de amido; fragmentos de tecido vascular com elementos de vaso anelar, helicoidal ou reticulado, curtos ou alongados, com placa de perfuração simples e parênquima vascular associado, raros elementos de vaso pontoados.

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

*Fase estacionária:* sílica-gel F254.

*Fase móvel:* ciclohexano, acetato de etila e ácido acético glacial (60:38:2).

*Solução amostra:* pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga vegetal e adicionar 10 mL de álcool metílico.

Levar ao ultrassom durante 10 minutos. Filtrar. Secar o extrato em banho-maria até resíduo, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

*Solução referência (1)*: dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido valerênico em álcool metílico, para obter a concentração de 100 µg/mL

*Solução referência (2)*: dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido acetoxivalerênico em álcool metílico, para obter a concentração de 100 µg/mL.

*Procedimento*: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 15 µL da *Solução referência (1)*, 15 µL da *Solução referência (2)* e 15 µL da *Solução amostra*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com anisaldeído SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco minutos. Examinar a placa sob a luz visível.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido valerênico: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
Ácido acetoxivalerênico: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

## TESTES

**Perda por dessecação (5.2.9.1).** Método gravimétrico. No máximo 10,0%.

**Matéria estranha (5.4.1.3).** No máximo 5,0% de base de caule e no máximo 2,0% de outras matérias.

**Cinzas totais (5.4.1.5.1).** No máximo 12,0%.

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

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

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

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

**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.

## DOSEAMENTO

### Óleos voláteis

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*. Utilizar balão de fundo redondo de 1000 mL contendo 500 mL de água como líquido de destilação. Pesar, com exatidão, cerca de 50,0 g da droga vegetal pulverizada, imediatamente após moagem. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

### Ácidos sesquiterpênicos

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 215 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5  $\mu$ m), mantida à temperatura de 30  $^{\circ}$ C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

*Eluente (A)*: ácido fosfórico 5 mL/L e acetonitrila (80:20)

*Eluente (B)*: acetonitrila e ácido fosfórico 5 mL/L (80:20)

<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Eluente (A) (%)</b>	<b>Eluente (B) (%)</b>	<b>Eluição</b>
0 - 5	55	45	isocrática
5 - 15	55 $\rightarrow$ 20	45 $\rightarrow$ 80	gradiente linear
15 - 25	20	80	isocrática
25 - 28	20 $\rightarrow$ 55	80 $\rightarrow$ 45	gradiente linear
28 - 30	55	45	isocrática

*Solução amostra*: pesar, com exatidão, cerca de 1,00 g da droga vegetal pulverizada (500  $\mu$ m) (5.2.11) e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 20 mL de álcool metílico e aquecer em banho-maria a temperatura de 70  $^{\circ}$ C, sob refluxo, durante 30 minutos. Após resfriamento, filtrar em algodão para balão de fundo redondo de 100 mL. Extrair novamente o resíduo da droga e o algodão com 20 mL de álcool metílico e aquecer, sob refluxo, por mais 10 minutos. Filtrar, reunir todos os filtrados no balão de fundo redondo de 100 mL e secar até resíduo em rotaevaporador, com temperatura não superior a 60  $^{\circ}$ C. Dissolver o resíduo em 5 mL de álcool metílico e levar ao ultrassom durante cinco minutos. Transferir a solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45  $\mu$ m.

*Solução referência*: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido valerênico em álcool metílico, para obter uma solução a 100  $\mu$ g/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45  $\mu$ m.

*Procedimento*: injetar, separadamente, 20  $\mu$ L da *Solução referência* e 20  $\mu$ L da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O pico do ácido acetoxivalerênico é identificado pelo cálculo do tempo de retenção relativo, utilizando o ácido valerênico como referência. O tempo de retenção relativo do ácido acetoxivalerênico é de aproximadamente 0,6. Calcular o teor de ácidos sesquiterpênicos, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TAST} = \frac{C_r \times (A_1 + A_2) \times 10 \times 100}{A_r \times m \times 100}$$

em que,

TAST = teor de ácidos sesquiterpênicos % (p/p);

$C_r$  = concentração do ácido valerênico na *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

$A_r$  = área sob o pico correspondente ao ácido valerênico na *Solução referência*;

$A_1$  = área sob o pico correspondente ao ácido acetoxivalerênico na *Solução amostra*;  $A_2$  = área sob o pico correspondente ao ácido valerênico na *Solução amostra*;

$m$  = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação; 10 = fator de diluição.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

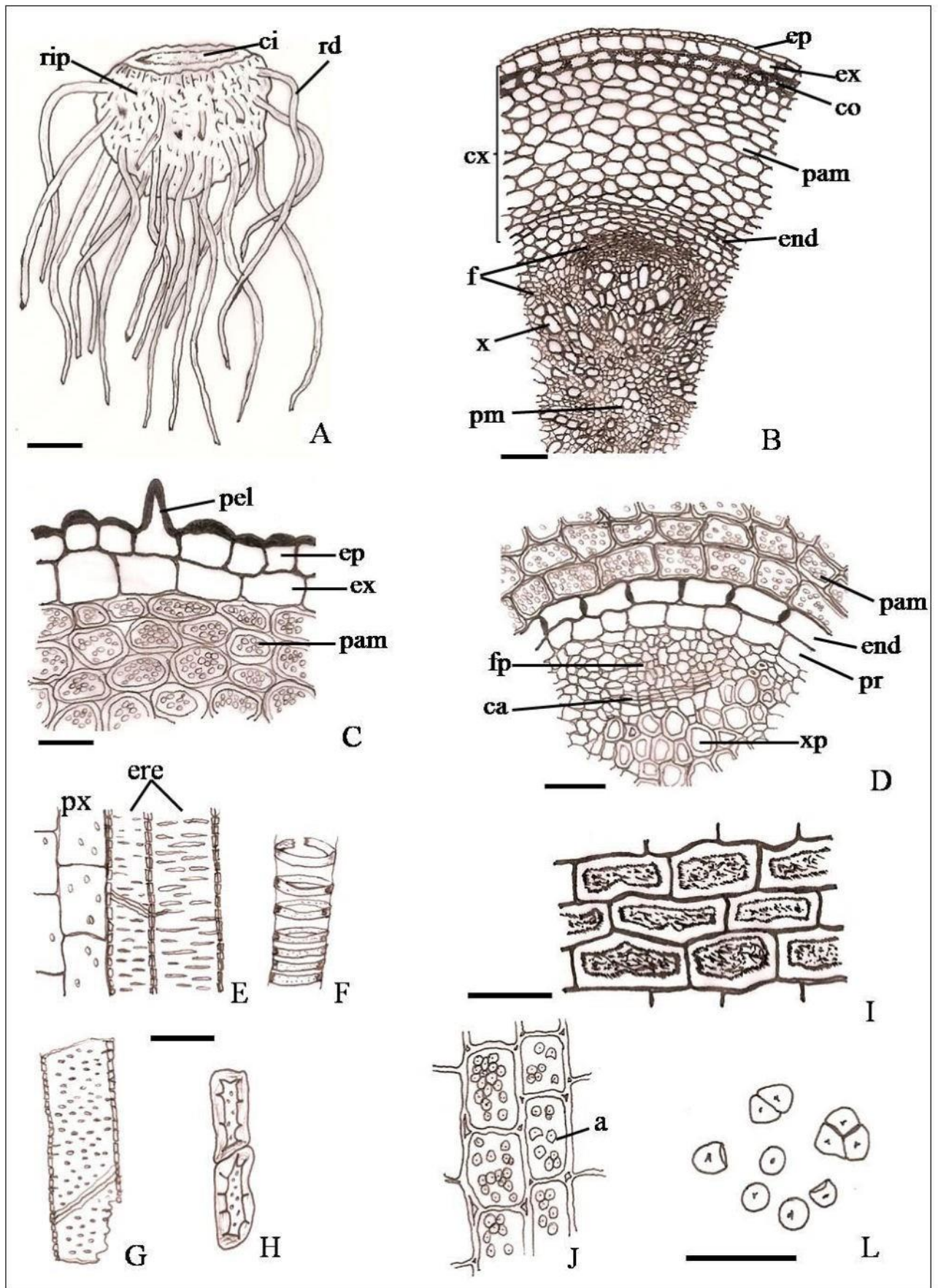


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em

### ***Valeriana officinalis* L.**

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B** a 200 µm e em **C** a **L** a 50 µm.

**A** - aspecto geral do rizoma (rip) e das raízes adventícias (rd); destaque para a cicatriz (ci) na região de inserção do caule. **B** - secção transversal de porção do rizoma mostrando a epiderme (ep); região cortical (cx) com exoderme (ex), colênquima (co), parênquima amilífero (pam), endoderme (end); floema (f); xilema (x); parênquima medular (pm). **C** - detalhe de porção externa do córtex; epiderme (ep); pelo absorvente (pel); exoderme (ex); parênquima amilífero (pam). **D** - detalhe da região interna da raiz mostrando o parênquima amilífero (pam); as células alongadas e o espessamento da parede anticlinal da endoderme (end); periciclo (pr); floema primário (fp); xilema primário (xp); câmbio vascular (ca). **E** a **L** – detalhes observados no pó. **E** - fragmentos de elementos de vaso com espessamento reticulado (ere) com parênquima do xilema associado (px). **F** - fragmento de elemento de vaso com espessamento anelar. **G** - fragmento de elemento de vaso com espessamento pontoado. **H** - células pétreas. **I** - células do súber com conteúdo alaranjado. **J** - parênquima com grãos de amido (ga). **L** - grãos de amido arredondados ou romboides isolados ou agregados.