



Farmacopeia Brasileira

5ª edição

Ugi wpf q" Suplemento

Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Farmacopeia Brasileira

5^a edição

Segundo Suplemento

Brasília
2017

Copyright © 2017. Agência Nacional de Vigilância Sanitária

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.

É vedada a impressão, distribuição, reprodução desta obra para fins comerciais sem a prévia e expressa anuência da Anvisa.

Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br>>

Diretor-Presidente

Jarbas Barbosa da Silva Júnior

Diretores

Fernando Mendes Garcia Neto

Renato Alencar Porto

William Dib

Gerente Geral de Medicamentos e Produtos Biológicos

Varley Dias Sousa – Gerente Geral substituto

Coordenador da Farmacopeia

Varley Dias Sousa

Elaboração e edição:

Agência Nacional de Vigilância Sanitária SIA Trecho 5,

Área Especial 57, Lote 200

71205-050 Brasília - DF

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC N° 167, DE 24 DE JULHO DE 2017

Dispõe sobre a aprovação do 2º Suplemento da Farmacopeia Brasileira, 5ª edição.

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe conferem o art. 15, III e IV aliado ao art. 7º, III, e IV, da Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999, o art. 53, V, §§ 1º e 3º do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 61, de 3 de fevereiro de 2016, resolve adotar a seguinte Resolução da Diretoria Colegiada, conforme deliberado em reunião realizada em 11 de julho de 2017, e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação.

Art. 1º Fica aprovado o 2º Suplemento da Farmacopeia Brasileira, 5ª edição.

Art. 2º Este Suplemento compreende as seguintes atualizações ao texto da Farmacopeia Brasileira, 5ª edição:

I – Inclusão dos seguintes métodos gerais/capítulos: determinação da solubilidade aplicada à bioensação de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica; difração de raios X; ensaios microbiológicos da água para uso farmacêutico; gases medicinais; limite de N,N-dimetilanilina; métodos gerais aplicados a gases medicinais; resíduos da esterilização por óxido de etileno; ressonância magnética nuclear.

II – Inclusão das seguintes monografias: suturas cirúrgicas; cloridrato de diltiazem comprimidos; cloridrato de duloxetine cápsulas; doripenem pó para solução injetável; entacapona comprimidos; micofenolato de sódio comprimidos; nitazoxanida comprimidos; nitazoxanida pó para suspensão oral; pantoprazol sódico grânulos; rabeprazol sódico comprimidos revestidos; sinvastatina cápsulas; sulfato de cefpiroma pó para suspensão injetável; ar comprimido medicinal; oxigênio; água estéril para irrigação; soluções para conservação de órgãos; soluções para diálise peritoneal; soluções para hemofiltração e hemodiafiltração; soluções para irrigação; acetato de dexametasona; acetato de hidrocortisona; acetato de medroxiprogesterona; ácido mefenâmico; ácido nicotínico; adenosina; benzocaína; bissulfato de clopidogrel; carbidopa; carbonato de lítio; cefalotina sódica; cefazolina sódica; cianocobalamina; cipionato de estradiol; ciprofloxacino; clonazepam; cloranfenicol; cloridrato de alfentanila; cloridrato de amilorida; cloridrato de biperideno; cloridrato de bupivacaína; cloridrato de cimetidina; cloridrato de ciprofloxacino; cloridrato de cinchocaína; cloridrato de clindamicina; cloridrato de diltiazem; cloridrato de dopamina; cloridrato de duloxetine; cloridrato de fenilefrina; cloridrato de nafazolina; cloridrato de tetracaína; cloroquina; diazepam; diclofenaco sódico; doripenem; entacapona; fosfato de codeína; furazolidona; griseofulvina; hidróxido de sódio; metotrexato; micofenolato de mofetila; naproxeno; nicotinamida; nitazoxanida; nitrato de tiamina; norfloxacin; piroxicam; propiltiouracil; rabeprazol sódico; sinvastatina; sulfato de cefpiroma; sulfato de zinco; sulpirida; teofilina; heparina sódica bovina; vacina adsorvida difteria, tétano, pertussis, poliomielite 1, 2 e 3 (inativada), e haemophilus influenzae b (conjugada); vacina influenza; vacina influenza; vacina sarampo, caxumba, rubéola e varicela; medronato de sódio (99m Tc); pentetato de sódio (99m Tc); pertecnetato de sódio (99m Tc); acônito, raiz; acônito, tintura; alcachofra, extrato fluido; alcachofra, folha; alcaçuz, extrato fluido; alcaçuz, raiz; algodão, óleo refinado; alho, bulbo; ameixa, fruto; ameixa, extrato fluido; angico, casca; angico, extrato fluido; angico, tintura; anis-doce, óleo; anis-estrelado, tintura; aroeira, casca; aroeira, extrato fluido; aroeira, tintura; bálsamo-de-tolu, tintura; baunilha, tintura; benjoim, tintura; boldo, extrato fluido; calêndula, extrato fluido; calêndula, tintura; camomila, flor; camomila, óleo; camomila, tintura; canela-da-china, óleo; canela-do-ceilão, extrato fluido; canela-do-ceilão, óleo; canela-do-ceilão, tintura; capim-limão, óleo; cera de carnaúba; cáscara-sagrada, casca; cáscara-sagrada, extrato fluido; cáscara-sagrada, tintura; castanha-da-índia, extrato fluido; castanha-da-índia, tintura; coentro, fruto; coentro, óleo; cratego, extrato fluido; cravo-da-índia, botão floral; cravo-da-índia, óleo; cúrcuma, tintura; eucalipto, folha; eucalipto, óleo; eucalipto-limão, óleo; funcho, óleo; funcho-amargo, fruto; funcho-doce, fruto; garra-do-diabo, raiz; genciana, extrato fluido; genciana, tintura; girassol, óleo refinado; goiabeira, folha; guaco-cheiroso, folha; guaraná, extrato fluido; guaraná, tintura; hamamelis, folha; hamamelis, extrato fluido; hortelã-do-brasil, parte aérea; hortelã-do-brasil, óleo; jalapa, raiz; jucá, fruto; jucá, casca; laranja-amarga, óleo; laranja-amarga, extrato fluido; laranja-amarga, tintura; laranja-doce, óleo; limão, óleo; macela, inflorescência; malva, flor; manteiga de cacau; melaleuca, óleo; noz-de-cola, extrato fluido; noz-moscada, óleo; noz-vômica, semente; noz-vômica, extrato fluido; noz-vômica, tintura; oliva, óleo virgem; palma-rosa, óleo; plantago, semente; ratânia, extrato fluido; sene, fruto; tomilho, óleo; uva-ursi, folha; valeriana, rizoma e raiz; valeriana, extrato fluido; valeriana, tintura.

III – Alteração da redação dos seguintes métodos gerais/capítulos: 5.3.1.1 Reações de identificação de íons, grupos e funções. *Cloreto*; 5.4 Métodos de Farmacognosia; 5.5.3.1.5 Limites microbianos; 11 Água para uso farmacêutico.

IV - Alteração da redação das seguintes monografias: água para injetáveis; água purificada; água ultrapurificada; soro antibotrópico; soro antibotrópico (pentavalente) e antilaquético; soro antibotulínico; soro anticrotálico; soro antidiftérico; soro antielapídico; soro antiescorpiônico; soro antilonômico; soro antitetânico; vacina bcg; vacina febre amarela; vacina poliomielite 1, 2 e 3; vacina varicela; abacateiro, folha; alecrim, óleo; aloe, exsudato seco; alteia, raiz; anis-doce, fruto; anis-estrelado, fruto; arnica, flor; babosa, folha; bálsamo-de-tolu; bálsamo-do-peru; barbatimão, casca; baunilha, fruto; beladona, folha; benjoim; boldo, folha; boldo, tintura; calêndula, flor; canela-da-china, casca; canela-do-ceilão, casca; capim-limão, folha; cardamomo, semente; carqueja, caule alado; castanha-da-índia, semente; centelha, folha; chapéu-de-couro, folha; cratego, folha e flor; cúrcuma, rizoma; endro, fruto; espinheira-santa, folha; estêvia, folha; estramônio, folha; genciana, rizoma e raiz; guaraná, semente; hamamelis, tintura; hidraste, rizoma e raiz; hortelã-pimenta, folha; hortelã-pimenta, óleo; jaborandi, tintura; laranja-amarga, exocarpo; maracujá-azedo, folha; maracujá-doce, folha; meimendro, folha; melissa, folha; noz-de-cola, semente; pitangueira, folha; polígala, raiz; quebra-pedra, parte aérea; quebra-pedra, parte aérea; quilaia, casca; quina-amarela, casca; ratânia, raiz; ratânia, tintura; rauvolfia, raiz; ruibarbo, rizoma e raiz; sabugueiro, flor; sabugueiro-do-brasil, flor; salgueiro-branco, casca; sene, folha.

Art. 3º A publicação do 2º Suplemento se dará por meio eletrônico, no Portal da ANVISA.

Art. 4º Esta Resolução entrará em vigor em cento e oitenta (180) dias, contados a partir da data da publicação do arquivo digital com os textos técnicos no sitio eletrônico da Anvisa, em conformidade com o Artigo 3º desta resolução.

JARBAS BARBOSA DA SILVA JÚNIOR
Diretor-Presidente

SUMÁRIO

FARMACOPEIA BRASILEIRA	6
MÉTODOS GERAIS	19
CAPÍTULOS	82
MONOGRAFIAS	113
CORRELATOS	113
GASES MEDICINAIS	119
INSUMOS FARMACÊUTICOS E ESPECIALIDADES	126
PLANTAS MEDICINAIS	312
PRODUTOS BIOLÓGICOS	962
RADIOFÁRMACOS	1006

FARMACOPEIA BRASILEIRA

PRESIDENTES DAS EDIÇÕES ANTERIORES DA FARMACOPEIA BRASILEIRA

RODOLPHO ALBINO DIAS DA SILVA	1ª edição
LUIZ SALGADO LIMA FILHO	2ª edição
FERNANDO AYRES CUNHA	3ª edição
JOÃO GILVAN ROCHA	4ª edição – Parte I
CELSO FIGUEIREDO BITTENCOURT	4ª edição – Parte II
GERSON ANTÔNIO PIANETTI	5ª edição

CONSELHO DELIBERATIVO DA FARMACOPEIA BRASILEIRA – CDFB

PRESIDENTE

VARLEY DIAS SOUSA

VICE-PRESIDENTE

CLÉVIA FERREIRA DUARTE GARROTE

MEMBROS

ADRIANO ANTUNES DE SOUZA ARAÚJO
Universidade Federal de Sergipe – UFS

CLÉVIA FERREIRA DUARTE GARROTE
Universidade Federal de Goiás – UFG

EDUARDO CHAVES LEAL
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

ELAINE BORTOLETI DE ARAÚJO
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN

ELFRIDES EVA SCHERMAN SCHAPOVAL
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

ÉRICO MARLON DE MORAES FLORES
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

GERSON ANTÔNIO PIANETTI
Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

JOSÉ CARLOS TAVARES CARVALHO
Universidade Federal do Amapá – UNIFAP

JOSÉ LUIS MIRANDA MALDONADO
Conselho Federal de Farmácia – CFF

LAÍS SANTANA DANTAS
Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa

LAURO DOMINGOS MORETTO
Confederação Nacional da Indústria – CNI

LEANDRO MACHADO ROCHA
Universidade Federal Fluminense – UFF

MARCELO VOGLER DE MORAES
Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa

MIRACY MUNIZ DE ALBUQUERQUE
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

MIRNA POLIANA FURTADO DE OLIVEIRA MARTINS
Ministério da Saúde – MS

ONÉSIMO ÁZARA PEREIRA
Confederação Nacional da Indústria – CNI

THIAGO DE MELLO MORAES
Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação – MCTI

VARLEY DIAS SOUSA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa

VLADI OLGA CONSIGLIERI
Universidade de São Paulo – USP

COORDENAÇÃO DA FARMACOPEIA
AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – Anvisa

VARLEY DIAS SOUSA – Coordenador

Especialistas em Regulação e Vigilância Sanitária
ELIZABETE REGINA VIANA FREITAS
FERNANDA SMIDT LARA RESENDE
RIVIANE MATOS GONÇALVES

Analista Administrativo
MATHEUS AUGUSTO DE OLIVEIRA RIBEIRO

**COMITÊS TÉCNICOS TEMÁTICOS DA COMISSÃO
DA FARMACOPEIA BRASILEIRA – CTT**

**APOIO À POLÍTICA NACIONAL DE
PLANTAS MEDICINAIS E
FITOTERÁPICOS**

JOSÉ CARLOS TAVARES CARVALHO -
Coordenador
Universidade Federal do Amapá – UNIFAP

ANA CECÍLIA BEZERRA CARVALHO
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

ANA CLÁUDIA FERNANDES AMARAL
Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

ANA MARIA SOARES PEREIRA
Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP

BERTA MARIA HEINZMANN
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

DANIEL CÉSAR NUNES CARDOSO
Ministério da Saúde – MS

ELFRIEDE MARIANNE BACCHI
Universidade de São Paulo – USP

EMÍDIO VASCONCELOS LEITÃO DA
CUNHA
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

LUIZ ANTÔNIO BATISTA DA COSTA
Centro de Excelência em Saúde Integral do
Paraná – CESIP

NILTON LUZ NETTO JÚNIOR
Secretaria de Estado de Saúde do Distrito
Federal – SES/DF

CORRELATOS

TEREZINHA DE JESUS ANDREOLI
PINTO - Coordenadora
Universidade de São Paulo – USP

ADRIANA BUGNO
Instituto Adolfo Lutz – IAL

ALBA VALÉRIA DOS SANTOS
Hospira

DHALIA GUTEMBERG
Câmara Brasileira de Diagnóstico Laboratorial
– CBDL

IRENE SATIKO KIKUCHI
Universidade de São Paulo – USP

LEANDRO SILVA MOURA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

LEILA APARECIDA ALVIM DE PAULA
FERREIRA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

MICHELE FEITOZA SILVA
Instituto Nacional de Controle de Qualidade
em Saúde - INCQS / FIOCRUZ

**DENOMINAÇÕES COMUNS
BRASILEIRAS**

CARLOS CÉZAR FLORES VIDOTTI -
Coordenador
Ministério da Saúde – MS

LISANA REGININI SIRTORI
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

ONÉSIMO ÁZARA PEREIRA
Associação Brasileira da Indústria
Farmacológica e de Insumos Farmacêuticos –
ABIQUIFI

REUS COUTINHO FARIAS
Associação da Indústria Farmacêutica de
Pesquisa - Interfarma

RICARDO CHIAPPA
Ministério da Saúde – MS

ROBERTO PARISE FILHO
Universidade de São Paulo – USP

ROSANA MIGUEL MESSIAS
MASTELLARO
Sindicato da Indústria de Produtos
Farmacêuticos no Estado de São Paulo –
Sindusfarma

SILVÂNIA VAZ DE MELO MATTOS
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa (aposentada)

EQUIVALÊNCIA FARMACÊUTICA E BIOEQUIVALÊNCIA

SÍLVIA STORPIRTIS - Coordenadora
Universidade de São Paulo – USP

CHANG CHIANN
Universidade de São Paulo – USP

GUSTAVO MENDES LIMA SANTOS
Agência Nacional de Vigilância Sanitária -
Anvisa

ISABELA DA COSTA CESAR
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

JACQUELINE DE SOUZA
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP

LEONARDO DE SOUZA TEIXEIRA
Instituto de Ciências Farmacêuticas – ICF

SOLANGE MARIA COUTINHO
BRANDÃO
Instituto Nacional de Controle de Qualidade
em Saúde - INCQS / FIOCRUZ

TERESA CRISTINA TAVARES DALLA
COSTA
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS

ELFRIDES EVA SCHERMAN
SCHAPOVAL - Coordenadora
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

ANIL KUMAR SINGH
Universidade de São Paulo – USP

CLÉSIO SOLDATELI PAIM
Universidade Federal do Pampa – Unipampa

HÉRIDA REGINA NUNES SALGADO
Universidade Estadual Paulista – UNESP

JAIR CALIXTO
Sindicato da Indústria de Produtos
Farmacêuticos no Estado de São Paulo –
Sindusfarma

MARCOS VINICIUS GARCIA SENDA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

MAXIMILIANO SILVA SANGOI
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

NADIA MARIA VOLPATO
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

EXCIPIENTES E ADJUVANTES

PEDRO JOSÉ ROLIM NETO - Coordenador
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

ÁDLEY ANTONINI NEVES DE LIMA
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
– UFRN

CARLOS ROBERTO DOS SANTOS
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

ÉRICO MARLON DE MORAES FLORES
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

FABIANA CREMASCHI PALMA
Associação Brasileira dos Distribuidores e
Importadores de Insumos Farmacêuticos –
ABRIFAR

GABRIELA GONÇALVES DA SILVA
Ministério da Defesa

ROSALI MARIA FERREIRA DA SILVA
Universidade Federal do Pará – UFPA

FARMACOGNOSIA

AMÉLIA TERESINHA HENRIQUES -
Coordenadora
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

ALBERTO JOSÉ CAVALHEIRO
Universidade Estadual Paulista – UNESP

CID AIMBIRÉ DE MORAES SANTOS
Universidade Federal do Paraná – UFPR

LILIAN AULER MENTZ
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

LUIZ ALBERTO LIRA SOARES
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

LUZIA FRANCO TOSCHI
Associação Brasileira das Empresas do Setor
Fitoterápico – ABIFISA

MAÍRA RIBEIRO DE SOUZA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
ANVISA

TATIANE PEREIRA DE SOUZA
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

GASES MEDICINAIS

CRISTIANE RODRIGUES AUGUSTO –
Coordenadora
Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e
Tecnologia – INMETRO

CLÓVIS DE AVELLAR PIRES NETO
Associação Brasileira de Normas Técnicas –
ABNT

DÉSIRÉE MICHELS CORTEZ
Air Liquide Brasil

EDUARDO LUIS TESTA DAS NEVES
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

JOÃO PAULO SILVÉRIO PERFEITO
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

JULIANA ZAMPIERI GIANNINI
Air Products

SÁLVIO FILGUEIRAS
Universidade Anhanguera

HEMOCOMPONENTES E HEMODERIVADOS

JÚLIO CÉSAR CARESTIATO - Coordenador
Universidade Federal Fluminense - UFF

BETTINA MONIKA RUPPELT
Universidade Federal do Paraná – UFPR

ELIZABETH ANGÉLICA LEME MARTINS
Instituto Butantan

JOÃO BATISTA DA SILVA JÚNIOR
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

LYDIA MARCIA DE MELO FRANÇA
Ministério da Saúde

MARISA COELHO ADATI
Instituto Nacional de Controle de Qualidade
em Saúde - INCQS / FIOCRUZ

NEEMIAS SILVA DE ANDRADE
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

SEVERINO BORBA DE ANDRADE
Fundação de Hematologia e Hemoterapia de
Pernambuco – HEMOPE

HOMEOPATIA

LEANDRO MACHADO ROCHA –
Coordenador
Universidade Federal Fluminense – UFF

BIANCA OLIVEIRA LOUCHARD
Universidade Federal do Ceará – UFC

CARLA HOLANDINO QUARESMA
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

EZEQUIEL PAULO VIRIATO
Farmácia e Laboratório Homeopático Almeida
Prado Ltda

FRANCISCO JOSÉ DE FREITAS
Universidade Federal do Estado do Rio de
Janeiro – UNIRIO

KÉLIA XAVIER RESENDE
VASCONCELOS
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

MARCELO CAMILO MORERA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

RINALDO FERREIRA
Associação dos Farmacêuticos Proprietários
de Farmácias do Brasil – AFPFB

INGREDIENTES FARMACÊUTICOS ATIVOS

MIRACY MUNIZ DE ALBUQUERQUE -
Coordenadora
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

ADRIANO ANTUNES DE SOUZA DE
ARAÚJO
Universidade Federal de Sergipe – UFS

GISELE DE LOURDES NIEVA
Libbs Farmacêutica Ltda

LÚCIA DE FÁTIMA FRANCELINO DA
SILVA
Laboratório Central de Saúde Pública de
Pernambuco – LACEN/PE

RICARDO NEVES MARRETO
Universidade Federal de Goiás – UFG

SAID GONÇALVES DA CRUZ FONSECA
Universidade Federal do Ceará – UFC

TATJANA BOTOVCHENCO
SOBESTIANSKY
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

TÉRCIO PASCHKE OPPE
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

MICROBIOLOGIA

CLÉVIA FERREIRA DUARTE GARROTE
- Coordenadora
Universidade Federal de Goiás – UFG

ALINE SIQUEIRA FERREIRA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
ANVISA

ANA CRISTINA REGIS DE BARROS
CORREIA
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

CLÁUDIO KIYOSHI HIRAI
Biolab Farmacêutica

IEDA MARIA SAPATEIRO TORRES
Universidade Federal de Goiás – UFG

ROSEMARIE APARECIDA DE ARAÚJO
BONATTO
Merck

SILÉSIA DE SOUZA AMORIM
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

NORMATIZAÇÃO DE TEXTOS E IDENTIDADE VISUAL

ANTÔNIO BASÍLIO PEREIRA –
Coordenador
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

FERNANDO HENRIQUE ANDRADE
NOGUEIRA
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
– UFRN

GERSON ANTÔNIO PIANETTI
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

GISELE RODRIGUES DA SILVA
Universidade Federal de São João del-Rei –
UFSJ

LAÍS SANTANA DANTAS
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

PAULA CRISTINA REZENDE ENÉAS
Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

PRODUTOS BIOLÓGICOS E DE BIOTECNOLOGIA

EDUARDO CHAVES LEAL - Coordenador
Instituto Nacional de Controle de Qualidade
em Saúde - INCQS/FIOCRUZ

BERNARDO LUIZ MORAES MOREIRA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

HISAKO GONDO HIGASHI
Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR

LILIA RIBEIRO SERÓDIO
Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

MARCO ANTÔNIO STEPHANO
Universidade de São Paulo – USP

ORLANDO SILVA
Eli Lilly do Brasil

PAULO ANTÔNIO DE SOUZA MOURÃO
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

PRODUTOS MAGISTRAIS E OFICINAIS

VLADI OLGA CONSIGLIERI -
Coordenadora
Universidade de São Paulo – USP

ELISABETE PEREIRA DOS SANTOS
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

JOSÉ ANTONIO DE OLIVEIRA
BATISTUZZO
Faculdades Oswaldo Cruz

IVAN DA GAMA TEIXEIRA
Associação Nacional de Farmacêuticos
Magistrais – ANFARMAG

PATRICIA HAUSCHILDT DE OLIVEIRA
MENDES
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

ROBERTO PONTAROLO
Universidade Federal do Paraná – UFPR

RADIOFÁRMACOS

ELAINE BORTOLETI DE ARAÚJO -
Coordenadora
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
– IPEN-CNEN

ANA MARIA SILVEIRA BRAGHIROLI
Instituto de Engenharia Nuclear - IEN-CNEN

CRISTINA MARIA MORIGUCHI JECKEL
Pontifícia Universidade Católica do Rio
Grande do Sul - PUCRS

JULIANA DE CASTRO ZORATTO
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

MARYCEL ROSA FELISA FIGOLS DE
BARBOZA
Hospital Albert Einstein

NEUZA TAEKO OKASAKI FUKUMORI
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
– IPEN

SIMONE ODÍLIA ANTUNES FERNANDES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

SORAYA MARIA ZANDIM MACIEL
DIAS FERREIRA
Centro de Desenvolvimento da Tecnologia
Nuclear – CDTN

SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS DE REFERÊNCIA

PEDRO EDUARDO FRÖEHLICH -
Coordenador
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

ELIZABETE REGINA VIANA FREITAS
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

JULIANO SMANIOTO BARIN
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

MARIA ALICE BÖCKELMANN

MARIA DO CARMO VASQUEZ GARCIA
Instituto Nacional de Controle de Qualidade
em Saúde - INCQS/FIOCRUZ

VALÉRIA PEREIRA DE SOUSA
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

COLABORADORES DO SEGUNDO SUPLEMENTO

ADILSON SARTORATTO
Universidade Estadual de Campinas -
Unicamp

ALEJANDRO PEDRO AYALA
Universidade Federal do Ceará – UFC

ALEX LUCENA DE VASCONCELOS
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

ALEXANDRE MACHADO RUBIM
Centro Universitário Franciscano – Unifra

ALEXSANDRO BRANCO
Universidade Federal da Bahia – UFBA

ALINI DAL CORTIVO LANGE
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

ALISSA DE NOVAIS FREIRE
Universidade Estadual de Campinas -
Unicamp

ANA CAROLINA GUIMARÃES RIBEIRO
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

ANA JULIA MACIEL
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

ANA LUCIA ABOY
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

ANA MARIA FREIRE TOVAR
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

ANDRÉ AUGUSTO GOMES FARACO
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

ANDRÉ LIMA DE OLIVEIRA COSTA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

ANDREAS SEBASTIAN LOUREIRO
MENDEZ
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

ASAPH SANTOS CABRAL DE OLIVEIRA
SANTANA
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

BÁRBARA MARIA NUNES
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

BÁRBARA PRISCYLLA LIRA DE
ARAÚJO
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

BIANCA FERNANDES GLAUSER
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

CAMILA MACHADO BRÊTAS
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

CARLOS PAIVA
Universidade de São Paulo – USP

CARINE SAMPAIO CERQUEIRA SODRÉ
Universidade de Brasília – UnB

CARLOS EDUARDO DE OLIVEIRA
PEREIRA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

CARLOS FARIAS FELGUEIRAS
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
– IPEN-CNEN

CAROLINA BOLZAN RIGHES
Centro Universitário Franciscano – Unifra

CAROLINA DOS SANTOS PASSOS
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

CAROLINY IZABELA NERIS DA SILVA
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

CÁSSIA VIRGINIA GARCIA
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

CATIA INES COSTA
Instituto Nacional de Controle de Qualidade
em Saúde - INCQS / FIOCRUZ

CHRISTIAN FERNANDES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

CONRADO BELTRÃO SCHOPF
Centro Universitário Franciscano – Unifra

CRISTINA DUARTE VIANNA SOARES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

DANIELLE EVANGELISTA RABELO DE
SOUZA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

DIEGO BELTRÃO PEREIRA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

DOUGLAS FERNANDO RAMBO
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

EDUARDO BURGARELLI LAGES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

ELIANA NUNES
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

EVANI DE LEMOS ARAÚJO
Faculdade Pernambucana de Saúde - FPS

FERNANDA LINS BRANDÃO MÜGGE
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

FLÁVIA CAROLINA LINS DA SILVA
Universidade Federal Rural de Pernambuco –
UFRPE

FLÁVIA DIAS MARQUES MARINHO
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

FLÁVIO MACHADO
Universidade de São Paulo – USP

FRANCIELE TAMS GASPERIN
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

FRANCINE GOULART DE OLIVEIRA
ITAMI
Linde Gases

GRAZIELLA GOMES RIVELLI
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

GUILHERME GUEDES TRINDADE
Universidade Paulista - UNIP

GUSTAVO PEREIRA COSENZA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

GUSTAVO RAMALHO CARDOSO DOS
SANTOS
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

ISABELLE CRISTINNE FERRAZ
BEZERRA
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

ISADORA MARQUES BRUM
GONÇALVES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

JAISON CARLOSSO MACHADO
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

JAN SCHRIPSEMA
Universidade Estadual do Norte Fluminense –
UENF

JANE MANFRON BUDEL
Universidade Estadual de Ponta Grossa –
UEPG

JANINE BRAGA DE SOUZA
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP

JAQUELINE RUBENICK
Centro Universitário Franciscano – Unifra

JÉSSICA CAMILLE DE ASSIS
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

JÉSSICA DE CASTRO ALVES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

JOANNA WITTCKIND MANOEL
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

JOSÉ ÂNGELO SILVEIRA ZUANAZZI
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

JOSÉ EDUARDO GONÇALVES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

JOSÉ HUGO DE SOUSA GOMES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

JOSÉ REINALDO SILVA COSTA
Escola Superior de Ciências da Saúde – ESCS

JOSEAN FECHINE TAVARES
Universidade Federal da Paraíba – UFPB

JULIA APARECIDA LOURENÇO DE
SOUZA
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

JULIA BIJOLDO
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

JULIANA MACHADO BRÊTAS
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

KARINA PERRELLI RANDAU
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

LAYSA KARLA SANTANA CHAGAS
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

LETICIA MALGARIM CORDENONSI
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

LORENA FRATINI
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

LORENNA RABELO MARQUES
Universidade de Brasília – UnB

LUCIANE VARINI LAPORTA
Centro Universitário Franciscano – Unifra

MAGDA RHAYANNY ASSUNÇÃO
FERREIRA
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

MARCELA PARCIANELLO MAURER
Centro Universitário Franciscano – Unifra

MARCELO DONADEL MALESUIK
Universidade Federal do Pampa -
UNIPAMPA

MÁRCIA TAÍS OLIVEIRA DE SOUZA
Escola Superior de Ciências da Saúde – ESCS

MÁRCIA VIGNOLI DA SILVA
Universidade Federal de Ciências da Saúde de
Porto Alegre- UFCSPA

MARCOS AURÉLIO MORAES GALVÃO
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

MARCOS ROBERTO DOS SANTOS
Centro Universitário Franciscano – Unifra

MARGARETH MIE MATSUDA
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
– IPEN-CNEN

MARIA ALICE NUNES DA SILVA
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

MARIA APARECIDA AFFONSO BOLLER
Instituto Nacional de Controle de Qualidade
em Saúde - INCQS / FIOCRUZ

MARIA DAS GRAÇAS LINS BRANDÃO
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

MARIA DO CARMO ESTANISLAU DO
AMARAL
Universidade Estadual de Campinas -
Unicamp

MARIA JÚLIA BENVINDO DE JESUS
CASTRO
Universidade Católica de Brasília – UCB

MARIANA KOETZ
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

MARIANA SÁ PEREIRA
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

MARIBETE HOMRICH HOLZSCHUH
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

MARILI VILLA NOVA RODRIGUES
Universidade Estadual de Campinas –
Unicamp

MARINA DA SILVA PINHATTI
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

MARINA ROCHA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

MARINA SCOPEL
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

MARTHA ANA GATTUSO
Universidade Nacional de Rosario, Argentina

MATEUS ARAÚJO CASTRO E SOUZA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

MATHEUS WEILER DO AMARAL
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

MELISSA SCHWANZ
Universidade de Caxias do Sul – UCS

MIRIAM ANDERS APEL
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

NÁDIA SILVIA SOMAVILLA
Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

NÁGILA BARBOSA
Centro Universitário Franciscano – Unifra

NAIALY FERNANDES ARAÚJO REIS
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

NATÁLIA CARVALHO GUIMARÃES
Universidade de Brasília – UnB

NATHALIE RIBEIRO WINGERT
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

NANCY MESAS DO RIO
Johnson & Johnson

NAYARA GABRIELA ANTUNES LOPES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

NEILA MÁRCIA SILVA BARCELLOS
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP

NINA VALÉRIA MACHADO CAPILLÉ
Universidade Federal do Rio de Janeiro –
UFRJ

PATRÍCIA FERNANDA MONTEIRO
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP

PATRÍCIA GOMES
Centro Universitário Franciscano – Unifra

PAULA ROCHA CHELLINI
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

PEDRO HENRIQUE CALVACANTI
FRANCO
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

PEDRO HENRIQUE REIS DA SILVA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

PRISCILA ALVES DE ANDRADE
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

RAFAELA DAMASCENO SÁ
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

RAFAELA MARIN
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

RAFAELLA ANTUNES
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

RAPHAELA ARIANY
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

RAQUEL LIMA E SILVA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

RAQUEL PEREIRA GUIMARÃES
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

REJANE MAGALHÃES DE MENDONÇA
PIMENTEL
Universidade Federal Rural de Pernambuco -
UFRPE

RENATA ANTUNES ESTAIANO DE
REZENDE
Universidade Estadual de Campinas -
Unicamp

RENATA BIEGUELMAYER
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

RENATHA ROMAN
Universidade Federal do Rio Grande do Sul –
UFRGS

RICARDO MARTINS DUARTE BYRRO
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

RICARDO VIANA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

RODNEY ALEXANDRE FERREIRA
RODRIGUES
Universidade Estadual de Campinas –
Unicamp

ROSIMEIRE PEREIRA ALVES DA CRUZ
Agência Nacional de Vigilância Sanitária –
Anvisa

SANDRO AUGUSTO MOREIRA
Hipermercados

SEVERINO GRANJEIRO JÚNIOR
Laboratório Farmacêutico de Pernambuco –
LAFEPE

TAÍZIA DUTRA SILVA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

TATIELE SAMPAIO DOS SANTOS
Centro Universitário Franciscano – Unifra

THIAGO ASSIS MIRANDA
Universidade Federal de Minas Gerais –
UFMG

VOLKER BITTRICH
Universidade Estadual de Campinas –
Unicamp

WALESKA DE FIGUERÊDO LEÃO
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

WLIANA ALVES VITURINO DA SILVA
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

MÉTODOS GERAIS

INCLUSÃO

DIFRAÇÃO DE RAIOS X	20
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR	25
5.3.2.13 ENSAIO LIMITE PARA N,N-DIMETILANILINA	34
5.5.3.7 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS DA ÁGUA PARA USO FARMACÊUTICO.....	35
5.8 MÉTODOS GERAIS APLICADOS A GASES MEDICINAIS	44

REVISÃO

5.3.1.1 ÍONS, GRUPOS E FUNÇÕES	48
5.4 MÉTODOS DE FARMACOGNOSIA.....	48
5.5.3.1.5 LIMITES MICROBIANOS	78

INCLUSÃO

5.2 MÉTODOS FÍSICOS E FÍSICO-QUÍMICOS

[...]

DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A difração de raios X pelo método do pó (DRXP) consiste em medir ângulos de difração e intensidades característicos de um material policristalino, orientado aleatoriamente, irradiado por um feixe de raios X monocromático.

O método DRXP é de natureza não destrutiva (a preparação das amostras é geralmente limitada à moagem para a redução na granulometria para algo em torno de 5 μm). Investigações por meio de DRXP também podem ser efetuadas em condições *in situ* em espécimes expostas a condições não ambientais, como baixa ou alta temperatura e umidade.

Cada fase cristalina de uma dada substância produz um padrão de difração de raios X, característico, que é obtido de um pó cristalino, composto de cristalitos ou fragmentos cristalinos de tamanho característico e aleatoriamente orientados. Essencialmente três tipos de informações podem ser obtidas com um padrão de DRXP: posição angular das linhas de difração (dependendo das dimensões da cela unitária e do seu arranjo geométrico cristalográfico); intensidade das linhas de difração (dependendo principalmente do tipo e arranjo de átomos, e da orientação das partículas dentro da amostra) e perfis de linha de difração (dependendo da resolução instrumental, tamanho do cristalito e microdeformação da amostra).

Ensaio de DRXP que forneçam as posições angulares e intensidades de linhas, das fases cristalinas, são utilizados para identificação das fases, determinação dos teores, estimativa do grau de cristalinidade, microdeformação e tamanho médio do cristalito.

PRINCÍPIO

Todo material cristalino possui uma organização dos átomos que define uma cela unitária. A cela unitária é definida pelas dimensões a , b e c e os ângulos entre eles, α , β e γ (**Figura 1a**). O espaçamento interplanar para um conjunto de planos paralelos hkl é representado por d_{hkl} . Cada conjunto de planos do cristal tem um ângulo de difração de Bragg, θ_{hkl} , associado a ele (para um comprimento de onda específico λ).

A difração de raios X resulta da interação entre os raios X e as nuvens de elétrons dos átomos. Dependendo do arranjo atômico, os raios X dispersos apresentam o fenômeno de interferência construtiva, quando a diferença de caminho entre duas ondas difratadas de raios X é igual a um número inteiro de comprimentos de onda. Essa condição seletiva é descrita pela equação de Bragg (Equação 1), também chamada Lei de Bragg representada na **Figura 1b**.

$$2d_{hkl} \sin \theta_{hkl} = n \lambda \quad (\text{Equação 1})$$

onde,

λ = comprimento de onda (λ) dos raios X característico do anodo do tubo;

θ_{hkl} = ângulo entre o raio incidente e a família de planos da rede;
 n = ordem do comprimento de onda, geralmente adotado com o valor um;
 d_{hkl} = distância entre planos;
 hkl = índices de Miller.

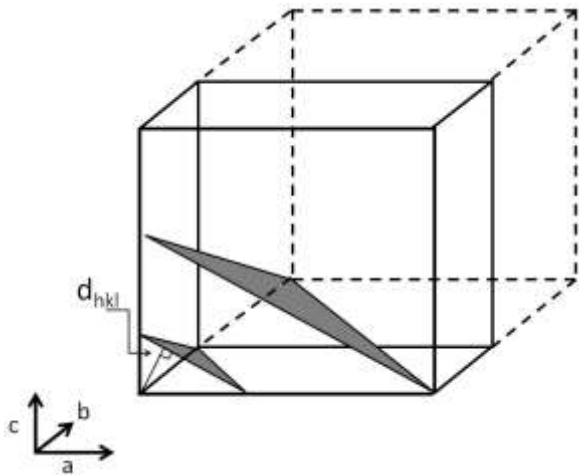


Figura 1a – Representação das distâncias entre planos cristalinos (a, b e c) dimensões da célula unitária.

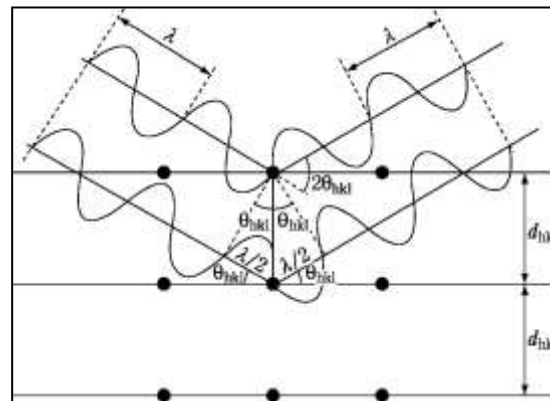


Figura 1b - Difração de raios X por um cristal de acordo com a lei de Bragg.

Uma amostra de pó é considerada policristalina se, para qualquer ângulo θ_{hkl} , sempre houver cristalitos em uma orientação permitindo a difração de acordo com a lei de Bragg. Para um determinado comprimento de onda de raios X, as posições dos picos de difração (também referidos como 'linhas', 'reflexões' ou 'reflexões de Bragg') são características da estrutura cristalina (espaçamentos d). As principais características dos perfis de linha de difração são a posição em 2θ , altura, área e forma do pico (caracterizada, por exemplo, pela largura do pico ou assimetria, função analítica, representação empírica). A **Figura 2** representa um exemplo do tipo de padrões de difração de raios X de pó obtidos para cinco diferentes fases sólidas de uma mesma substância.

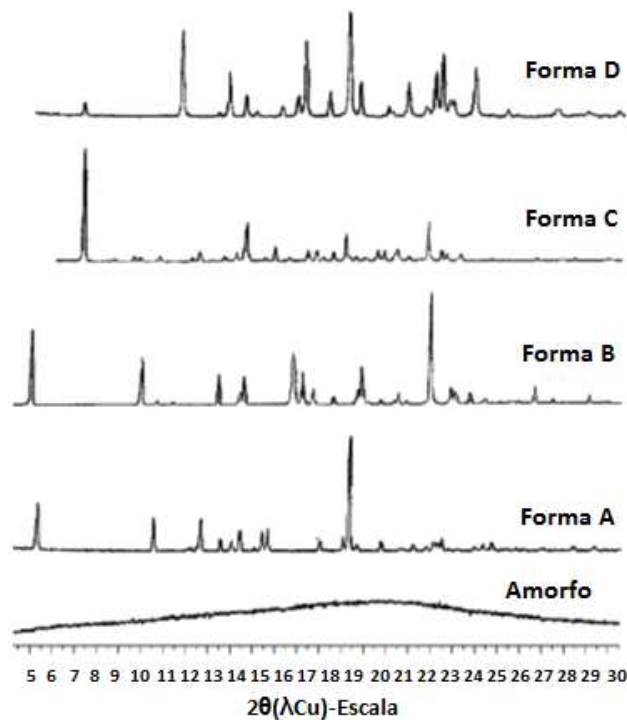


Figura 2 - Exemplos de padrões de difração de raios X de pó coletados para cinco fases sólidas diferentes de uma substância.

Além dos picos de difração, um experimento de difração de raios X gera, também, uma linha de base, sobre a qual se sobrepõem os picos. Os fatores que contribuem para a linha de base são o espalhamento difuso do ar, o equipamento e a presença de amorfos (**Figura 2**). A razão entre as intensidades dos picos e a linha de base pode ser aumentada minimizando a linha de base e escolhendo tempos de exposição prolongados.

APARELHAGEM

Experimentos de difração de raios X geralmente são realizados utilizando difratômetros de pó. Um difratômetro de pó, geralmente, é composto por cinco partes principais: uma fonte de raios X; ótica do feixe incidente (conjunto de fendas para a colimação e focalização do feixe); porta amostra; ótica de feixe difratado (conjunto de fendas para a colimação, focalização do feixe e filtro conveniente para a radiação) e um detector. Sistemas de coleta e processamento de dados são também necessários e compõem o equipamento de medição da difração de raios X. Atualmente, a configuração de Bragg-Brentano é a mais utilizada.

Um determinado instrumento pode fornecer uma geometria $\theta/2\theta$ horizontal ou vertical ou uma geometria vertical θ/θ . Para ambas as geometrias, o feixe de raios X incide formando um ângulo θ com o plano de superfície da amostra e o feixe de raios X difratado forma um ângulo 2θ com a direção do feixe de raios X incidente (um ângulo θ com o plano da superfície da amostra). A geometria básica de difração é representada na **Figura 3**. O feixe de radiação divergente do tubo de raios X (o chamado 'feixe primário') atravessa os colimadores de placas paralelas, uma fenda de divergência e ilumina a superfície plana da amostra. Todos os raios difratados pelos cristalitos devidamente orientados na amostra em um ângulo de 2θ convergem para uma fenda de recepção. Um segundo conjunto de colimadores de placas paralelas e uma fenda de dispersão podem ser colocados atrás, ou antes, da fenda receptora. Os eixos do foco da fonte de raios X e da fenda receptora estão a distâncias iguais do eixo do goniômetro. Os quanta de raios X são contados por um detector de radiação, geralmente um contador de cintilação, um contador proporcional de gás-selado ou um detector de estado sólido, sensíveis à posição, como uma placa de imagem ou um detector CCD. A fenda de recepção e o

detector estão acoplados e se movimentam tangencialmente ao círculo de focagem. Para varreduras $\theta/2\theta$ o goniômetro gira a amostra sobre o mesmo eixo que o do detector, mas à metade da velocidade de rotação, num movimento $\theta/2\theta$. Assim, a superfície da amostra permanece tangencial ao círculo de focagem. O colimador de placa paralela limita a divergência axial do feixe e, portanto, parcialmente controla a forma do perfil de linha difratado.

Um difratômetro também pode ser usado no modo de transmissão. A vantagem com essa tecnologia é a diminuição dos efeitos devidos à orientação preferencial. Um capilar de cerca de 0,5 a 2 mm de espessura também pode ser utilizado para quantidades pequenas de amostra.

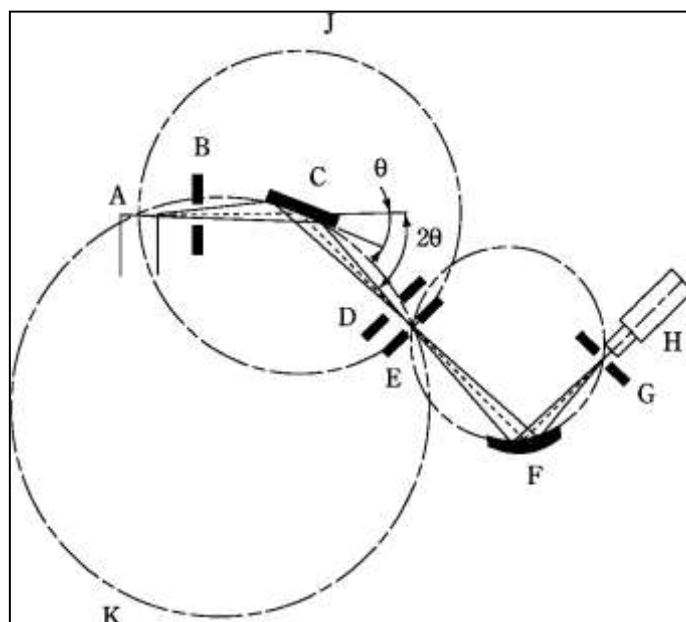


Figura 3 - Arranjo geométrico da geometria parafocal de Bragg-Brentano.

A - Tubo de raios X; B - Fenda de divergência; C - Amostra; D - Fenda de anti-difusão; E - Fenda de recepção; F - Monocromador; G - Fenda de recepção do detector; H - Detector; J - Círculo do difratômetro; K - Círculo de focalização.

RADIAÇÃO DE RAIOS X

No laboratório os raios X são obtidos bombardeando um ânodo de metal com os elétrons emitidos pelo efeito termoiônico e acelerados em um campo elétrico forte (usando um gerador de alta tensão). A maior parte da energia cinética dos elétrons é convertida em calor, o que limita o poder dos tubos de raios X e requer uma refrigeração eficiente do ânodo. Um aumento de 20 a 30 vezes de brilho pode ser obtido usando ânodos rotatórios e por meio da óptica de raios X. Alternativamente, fótons de raios X podem ser produzidos em uma instalação em grande escala (síncrotron).

O espectro emitido por um tubo de raios X operando com tensão suficiente consiste em um fundo contínuo da radiação policromática e de radiação característica adicional que depende do tipo de ânodo. Somente essa radiação característica é utilizada em experimentos de difração de raios X. As principais fontes de radiação empregadas para difração de raios X são tubos de vácuo, utilizando cobre, molibdênio, ferro, cobalto ou cromo como ânodos; raios X produzidos por cobre (CuK_{α}), molibdênio ou cobalto são mais comumente utilizados para substâncias orgânicas (o uso de ânodos de cobalto pode ser especialmente preferido para separar diferentes linhas de raios X). A escolha da radiação a ser utilizada depende das características de absorção da amostra e da possível fluorescência causada por átomos presentes na amostra. Os comprimentos de onda utilizados em difração geralmente correspondem à radiação K_{α} do ânodo. Consequentemente, é vantajoso fazer o feixe de

raios X 'monocromático', eliminando todos os outros componentes do espectro de emissão. Isso pode ser obtido em parte utilizando filtros de K_{β} , ou seja, filtros metálicos selecionados como tendo uma descontinuidade de absorção entre os comprimentos de onda K_{α} e K_{β} emitidas pelo tubo. O filtro geralmente é inserido entre o tubo de raios X e a amostra. Outro método frequentemente utilizado para obter um feixe de raios X monocromático é através de um cristal monocromador. Esse cristal pode ser colocado no feixe incidente obtendo uma monocromatização pura $K_{\alpha 1}$ ou depois da amostra obtendo $K_{\alpha 1,2}$ a diferentes ângulos, para que apenas um deles possa ser selecionado para incidir no detector.

PROTEÇÃO CONTRA RADIAÇÃO

A exposição de qualquer parte do corpo humano aos raios X pode ser prejudicial à saúde. Assim, é essencial que precauções adequadas sejam tomadas para proteger o operador e qualquer outra pessoa nas proximidades de equipamentos de raios X em utilização.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

A amostra pulverizada é frequentemente prensada em um porta-amostra feito de alumínio, vidro ou polímero. Como regra os cristalitos devem estar aleatoriamente orientados. As amostras devem ser moídas em um almofariz de ágata até obter um pó fino.

Em geral, a morfologia de muitas partículas cristalinas tende a gerar uma amostra que apresenta algum grau de orientação preferencial no porta-amostra. Isso é particularmente evidente para cristais com formato de agulhas ou placas quando a redução de tamanho dos cristais produz menores agulhas ou placas. A orientação preferencial da amostra influencia as intensidades de várias reflexões. Assim, algumas são mais intensas e outras menos, em comparação com o que seria de esperar em uma amostra com cristalitos completamente aleatórios. Várias técnicas podem ser empregadas para minimizar a aleatoriedade na orientação dos cristalitos (e, portanto, para minimizar a orientação preferencial), porém a redução do tamanho de partícula é muitas vezes a melhor e mais simples. Em alguns casos, tamanhos de partícula da ordem de 10 μm fornecerão resultados satisfatórios na identificação de fases. No entanto, a redução desse tamanho de partícula pode ser conveniente se não ocorrer mudanças de fase ou amorfização do material. Portanto, é aconselhável comparar o padrão de difração da amostra não moída com a correspondente a uma amostra de tamanho de partícula menor (amostra moída).

CONTROLE DO DESEMPENHO INSTRUMENTAL

O goniômetro e o sistema óptico correspondentes aos feixes de raios X incidente e difratado possuem muitas peças mecânicas que precisam de ajuste. O grau de alinhamento ou desalinhamento influencia diretamente na qualidade dos resultados de uma investigação DRXP. Portanto, os diferentes componentes do difratômetro devem ser cuidadosamente ajustados (sistemas ópticos e mecanismos, etc.) para minimizar os erros sistemáticos, otimizando as intensidades recebidas pelo detector. A busca da intensidade máxima e da resolução máxima sempre são antagônicas quando se alinha um difratômetro. Assim, o melhor equilíbrio deve ser procurado enquanto se executa o procedimento de alinhamento. Cada equipamento possui sua configuração e exige procedimento específico para seu alinhamento.

O desempenho geral do difratômetro deve ser testado e monitorado periodicamente utilizando materiais de referência adequadamente certificados. Dependendo do tipo de análise, outros materiais de referência bem definidos podem também ser empregados, embora o uso de materiais de referência certificados é preferencial.

ANÁLISE QUALITATIVA DE FASES

A identificação, por DRXP, das fases que compõem uma amostra desconhecida baseia-se na comparação visual, ou assistida por computador, com os picos de uma substância química de referência, bem caracterizados ou calculados, a partir do modelo de estrutura cristalina ou a partir de bancos de dados certificados. Idealmente, esses padrões de difração são obtidos em espécimes monofásicos bem caracterizados. Essa abordagem torna possível, na maioria dos casos, identificar uma substância cristalina por meio dos espaçamentos d e de suas intensidades relativas. A lista de espaçamentos d e intensidades normalizadas I_{norm} , também chamada lista (d, I_{norm}) extraída do padrão, é a impressão digital cristalográfica do material e pode ser comparada com as listas (d, I_{norm}) de amostras monofásicas de referência.

Para a maioria dos cristais orgânicos, quando a radiação CuK_{α} é utilizada, convém registrar o padrão de difração em uma faixa de 2θ de 2° a pelo menos 50° . A variação dos ângulos de difração 2θ entre a amostra e a referência deve ser menor de $0,2^{\circ}$ para a mesma forma cristalina, enquanto as intensidades relativas entre amostra e referência podem variar consideravelmente devido a efeitos de orientação preferencial. Por sua própria natureza, hidratos e solvatos são reconhecidos por terem variações das dimensões da cela unitária, por isso mudanças podem ocorrer nas posições dos picos dos padrões DRXP medidos para esses materiais. Nesses casos variação das posições 2θ maiores que $0,2^{\circ}$ são esperadas.

Às vezes é difícil ou mesmo impossível identificar fases nos seguintes casos: substâncias amorfas ou não cristalizadas; quando os componentes a serem identificados estão em baixa concentração; quando a fase não está presente em bancos de dados certificados ou não possui estrutura cristalina determinada; ou quando a amostra compreende muitas fases.

ANÁLISE QUANTITATIVA DE FASES

Se a amostra sob investigação é uma mistura de duas ou mais fases conhecidas, da qual não mais de uma é amorfa, a porcentagem (em volume ou em massa) de cada fase cristalina e da fase amorfa pode, em muitos casos, ser determinada. A análise quantitativa das fases pode basear-se nas intensidades integradas; nas alturas de várias linhas de difração individuais, ou no padrão completo. Essas intensidades integradas; alturas ou dados dos padrões completos são comparados com os valores correspondentes de materiais de referência. Esses materiais de referência devem ser monofásicos ou uma mistura de fases conhecida. As dificuldades encontradas durante a análise quantitativa são devidas à preparação das amostras (a exatidão e a precisão dos resultados exigem uma especial homogeneidade de todas as fases e uma distribuição de tamanho de partícula adequada em cada fase) e a efeitos de matriz. Se as estruturas cristalinas de todos os componentes são conhecidas, o método de Rietveld pode ser usado para quantificá-los com boa precisão. Em casos favoráveis, podem ser determinadas quantidades de fases cristalinas tão pequenas quanto 10% em matrizes sólidas.

[...]

RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

INTRODUÇÃO

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) consiste em um procedimento analítico que se baseia nas propriedades magnéticas de determinados núcleos atômicos. É similar a outras técnicas espectroscópicas em que ocorre a absorção e a emissão de energia em determinada frequência proporcionando a informação analítica. A RMN difere das outras técnicas, pois cria níveis

discretos de energia entre as transições do núcleo de átomos de uma molécula quando submetido a campo magnético.

Os núcleos atômicos quando carregados magneticamente giram sobre o eixo nuclear, criando um momento magnético dipolar (μ) ao longo deste eixo. Aqueles que apresentam esse comportamento são denominados isótopos. O momento angular desse giro nuclear é caracterizado pelo número quântico spin (I). Se o número de massa é ímpar, o valor de I é $\frac{1}{2}$ ou um número inteiro mais $\frac{1}{2}$; caso contrário, tem um valor de zero ou um número inteiro. Quando os núcleos apresentam um número quântico de spin diferente de zero ($I \neq 0$) e estão submetidos a um campo magnético externo estático e uniforme de força (H_0), eles se alinham com o respectivo campo com $(2I + 1)$ orientações possíveis. Entretanto, para os núcleos com $I = \frac{1}{2}$, haverá duas orientações possíveis, que correspondem a dois estados de energias diferentes. Assim, uma ressonância nuclear é a transição entre esses estados de spin, causados pela absorção e emissão da quantidade correspondente de energia. Na **Tabela 1** há os números quânticos de spin de alguns núcleos.

Tabela 1 – Números quânticos e estado de spin de alguns núcleos.

Elemento	^1_1H	^1_2H	$^{12}_6\text{C}$	$^{13}_6\text{C}$	$^{14}_7\text{N}$	$^{16}_8\text{O}$	$^{17}_8\text{O}$	$^{19}_9\text{F}$	$^{31}_{15}\text{P}$
Números quânticos de spin	$\frac{1}{2}$	1	0	$\frac{1}{2}$	1	0	$\frac{5}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
Estado de spin	2	3	0	2	3	0	6	2	2

Em um campo magnético estático, o eixo magnético nuclear sofre um movimento de precessão (precessão de Larmor) ao redor do eixo do campo externo. A velocidade angular de precessão (ω_0) se relaciona com a força do campo magnético por meio da equação $\omega_0 = \gamma H_0$; em que γ é a constante giromagnética e é intrínseca a todos os núcleos de um determinado isótopo. Com a introdução da energia de radiofrequência oscilatória, a absorção da radiação pelo núcleo paramagnético acontece de acordo com a equação:

$$\Delta E = h\nu = \mu H_0 / I$$

Em que h é a constante de Plank, e

$$\nu = \omega_0 / 2\pi = \gamma H_0 / 2\pi$$

Portanto, quando a frequência (ν_0) do campo de energia externo ($E = h\nu$) é a mesma que a velocidade angular de precessão, ocorre a ressonância.

A diferença de energia entre os dois níveis corresponde a uma radiação eletromagnética específica dentro do intervalo das radiofrequências utilizado. Essa é uma função de γ , que é uma propriedade do núcleo, e H_0 que representa a força do campo externo. A frequência de ressonância de um núcleo aumenta quando se incrementa a força do campo magnético.

As características do sinal nos espectros que proporcionam informação analítica são: deslocamento químico, multiplicidade, largura do pico, constante de acoplamento, e intensidade relativa.

A espectroscopia de RMN possui amplo campo de aplicações como, por exemplo, elucidação de estruturas; estudos de termodinâmica; cinética e mecânica em análise quantitativa. Algumas dessas aplicações estão descritas e ao alcance de todos nos métodos farmacopeicos.

EQUIPAMENTO

Atualmente o espectrômetro mais utilizado é o de transformada de Fourier. Os principais componentes de um espectrômetro de RMN são: magneto para fornecer um campo magnético constante (B_0); *probe* com temperatura controlada que recebe a amostra; conduz o pulso de radiofrequência e detecta a irradiação emitida pela amostra; e console eletrônico (computador) para geração dos pulsos de radiofrequência de alta energia, coleta e digitalização do sinal de decaimento livre induzido (do inglês, FID – *free induction decay*).

Os equipamentos utilizam um pulso simples de energia de radiofrequência para excitar simultaneamente todos os núcleos. Os núcleos excitados retornam ao nível mais baixo de energia gerando um acúmulo de sinais de FID em um determinado tempo. O tempo de decaimento e a frequência formam uma transformada de Fourier, gerando um gráfico de amplitude em função da frequência (espectro). Após o tempo em que se possibilita o relaxamento dos núcleos excitados, o pulso pode ser repetido e assim a resposta obtida se acumula na memória dos computadores promovendo maior resolução.

Na **Figura 1** estão registradas as partes instrumentais que compõem um espectrômetro de pulso de alta resolução (RMN).

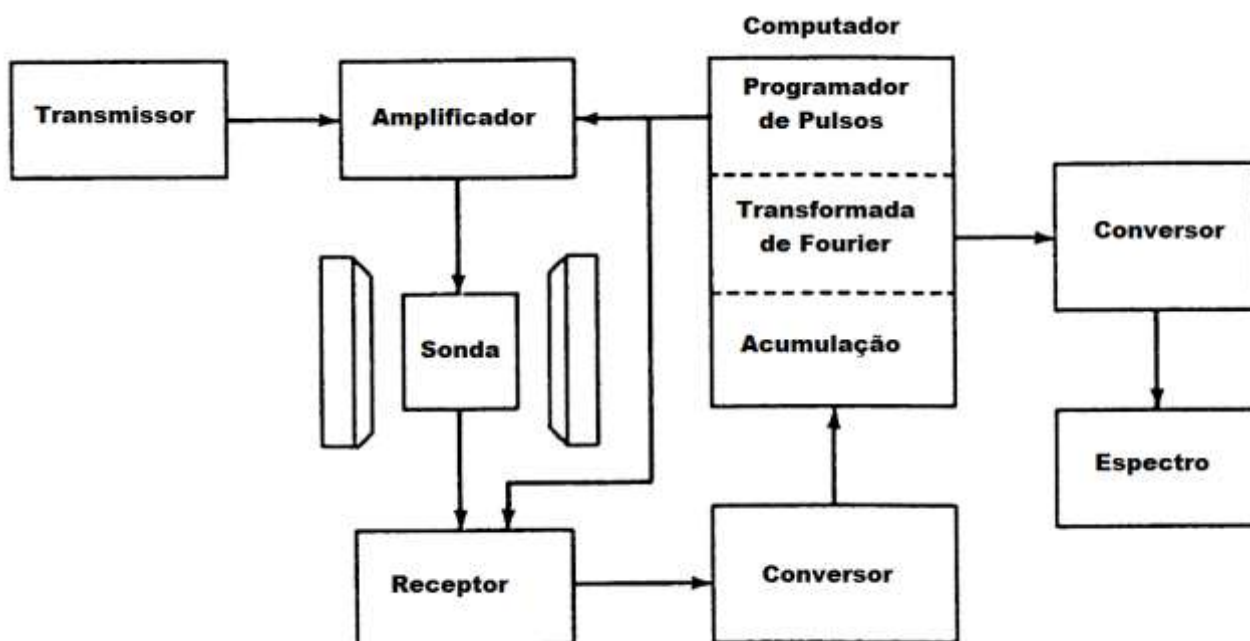


Figura 1 – Esquema representativo de espectrômetro de alta resolução (RMN).

A configuração básica de um espectrômetro de RMN contém um solenoide supercondutor (criogênico) como fonte de campo magnético, *probe* e console eletrônico. Esses equipamentos podem fornecer espectros de muitos núcleos químicos, possibilitando obter espectros em pouco tempo de análise e com pequenas quantidades de amostras.

PROTEÇÃO FRENTE A CAMPOS MAGNÉTICOS E ONDAS DE RÁDIO

A exposição do operador a campos magnéticos e ondas de rádio pode ser prejudicial à saúde. Assim, é essencial que precauções adequadas devem ser adotadas para proteger o operador e qualquer outra pessoa na proximidade de equipamentos de RMN em utilização.

O ESPECTRO

Os picos em um espectro de RMN se caracterizam por: frequência, multiplicidade e intensidade relativa. A utilidade analítica da técnica de RMN reside no fato de que os mesmos núcleos, quando se encontram em diferentes ambientes moleculares, mostram diferentes frequências de ressonância. A razão para essa diferença é que o campo eletromagnético experimentado por um núcleo em particular está composto por um campo externo proporcionado pelo instrumento e o campo gerado pela circulação dos elétrons desse. Esse último se opõe ao campo externo e ao fenômeno de acoplamento. Assim, é possível medir com exatidão a diferença de frequência entre os sinais de ressonância (picos). A posição de um sinal em um espectro de RMN se descreve por sua separação de outro sinal de ressonância tomado como referência. Essa separação se chama deslocamento químico.

O deslocamento químico é diretamente proporcional à força do campo magnético (a frequência do emissor de radiofrequência). Entretanto, a razão entre o deslocamento químico (em unidades de frequência) e a frequência do instrumento é constante. Isso possibilita a definição de um parâmetro adimensional de deslocamento químico (δ) que é independente da frequência do instrumento:

$$\delta = (\nu_s - \nu_r)/\nu_p + \delta_r$$

em que, ν_s é a frequência da substância em análise, ν_r é a frequência de referência, ν_p é a frequência do equipamento (em MHz) e δ_r é o deslocamento químico da referência.

A equação anterior é aplicável a quase todos os métodos com poucas exceções. O tetrametilsilano (TMS) é a referência de deslocamento químico mais empregado para obter espectros de hidrogênio e carbono por ser quimicamente inerte, apresenta único sinal a campo mais alto que a maioria dos sinais e é volátil possibilitando rápida recuperação da amostra. Ao usar a equação, é possível utilizar o deslocamento químico de qualquer espécie conhecida como deslocamento químico de referência, por exemplo, solventes deutерados que contenham resíduo de ^1H . Alguns cuidados são necessários quando o TMS não é utilizado como solvente.

Nos espectros de RMN a força do campo magnético aumenta da esquerda para a direita. Os núcleos que apresentam ressonância sob forças altas de campo magnético (para a direita) estão mais protegidos (maior densidade eletrônica) que aqueles que apresentam ressonância sob forças de campo magnético mais baixas.

Na **Figura 2** há o espectro de RMN de hidrogênio do acetato de benzoíla. Esse composto contém hidrogênios em grupo metila, metileno e aromático. Esses grupos estão situados em ambientes moleculares distintos, observados no espectro como três diferentes picos de hidrogênios referentes a metila (CH_3), metileno (CH_2) além do pico correspondente a ressonância dos hidrogênios aromáticos (H-Ar) (*a*, *b* e *c*, respectivamente).

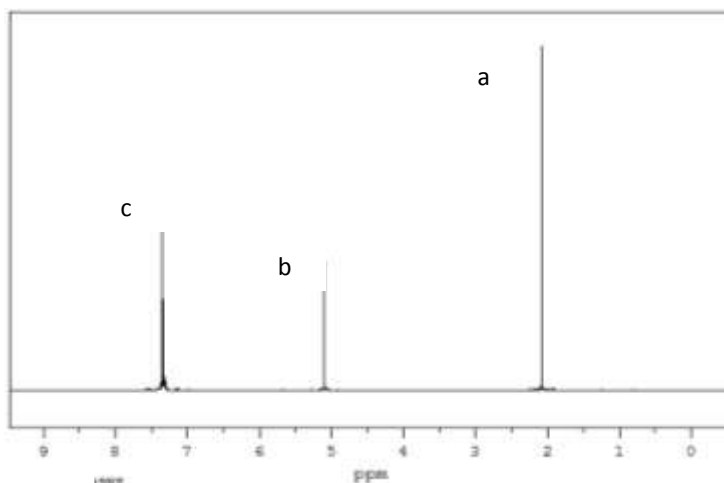


Figura 2 – Espectro de RMN de ^1H do acetato de benzoíla.

Outra informação a ser obtida no espectro de RMN é o fenômeno da interação *spin-spin*. Assim, o acoplamento entre os núcleos, denominado acoplamento *spin-spin* (J), corresponde à separação (em Hertz) entre os picos individuais do sinal (multipeto). Quando a interação dos núcleos ocorre de forma recíproca, as constantes de acoplamento observadas nos multipetos são iguais. Em adição, J é independente da força do campo magnético.

Em um sistema de *spin* de primeira ordem relativamente simples, o número de picos individuais que se espera em um multipeto e as intensidades relativas dos picos são previsíveis. O número de picos é determinado por $2n + 1$ (somente quando J é igual), onde n é o número de núcleos em grupos adjacentes que compartilham o mesmo sinal. Para hidrogênio é conveniente $(n + 1)$ picos. Em geral, a intensidade relativa de cada pico é o sinal multipeto seguido do coeficiente de expansão binomial $(a + b)^n$. Esses coeficientes podem ser encontrados utilizando o triângulo de Pascal, que produz as seguintes áreas relativas para os sinais relacionados: duplete (1:1), tripeto (1:2:1), quarteto (1:3:3:1), quinteto (1:4:6:4:1), hexteto (1:5:10:10:5:1), e hepteto (1:6:15:20:15:6:1). Esse sistema ordenado, geralmente $D\nu$ referido a um comportamento de primeira ordem, pode ser esperado quando a relação $D\nu$ e J é maior do que 10; $D\nu$ é a diferença de deslocamento químico entre os núcleos e os grupos de núcleos equivalentes. Dois exemplos de espectros com acoplamento de primeira ordem são mostrados na **Figura 3**.

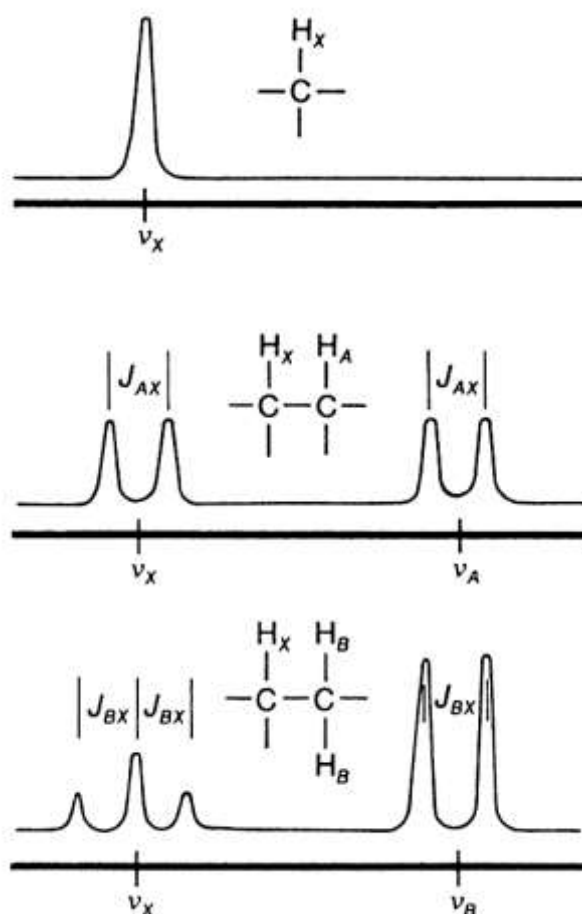


Figura 3 – Exemplo de acoplamento de primeira ordem.

Na **Figura 4** há um espectro com sinais de tripeto e quarteto. Podemos notar que os hidrogênios do metileno são divididos em um quarteto (quatro picos) e que o grupo metila é dividido em um tripeto (três picos).

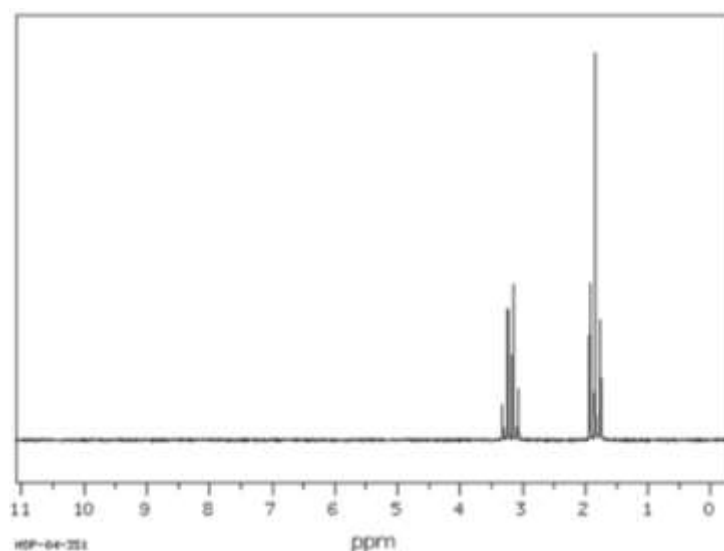


Figura 4 - Espectro de RMN de ^1H do iodeto de etila.

A intensidade relativa é outra característica do experimento que tem vastas aplicações analíticas. A área de um sinal é diretamente proporcional ao número de hidrogênios presentes em um espectro. Como resultado, é possível determinar a razão relativa de diferentes tipos de hidrogênios, ou outros núcleos, em uma amostra.

O espectro de RMN pode conter sinais não relacionados à amostra devido à falta de homogeneidade do campo magnético. Esses sinais, chamados bandas laterais de grande rotação, indicam que é necessário ajustar as bobinas de compensação e são facilmente identificáveis. A separação dos sinais é igual à frequência da velocidade do giro do tubo da amostra.

O MÉTODO

A preparação da amostra ou os ajustes e parâmetros instrumentais incorretos podem conduzir a diminuição da sensibilidade (baixa resolução), a artefatos espectrais e a dados errôneos. É necessário que o usuário esteja familiarizado com a teoria da RMN, com as propriedades das amostras e com os princípios de operação dos instrumentos. Devem ser seguidos estritamente os manuais de instrução fornecidos pelos fabricantes e realizar frequentes controles de calibração e funcionamento do equipamento.

Os procedimentos aqui descritos se referem especificamente a RMN de hidrogênio (RMN ^1H) e de flúor (RMN ^{19}F), e podem ser aplicados com algumas modificações a outros núcleos. O espectro de RMN é obtido a partir de amostras líquidas ou sólidas dissolvidas em solvente apropriado.

Seleção do solvente - Os solventes apropriados além de possuírem boas propriedades dissolventes, não devem apresentar picos de ressonância que interfiram naqueles originados pela amostra em análise. Os solventes mais utilizados em RMN de hidrogênio e de carbono estão descritos na **Tabela 2**. Os solventes deutерados também proporcionam seus sinais para sistemas heteronucleares possibilitando a fixação do campo. A pureza isotópica do solvente deve ser a mais alta possível para evitar que os picos dessas impurezas possam dificultar a visualização de qualquer sinal da amostra. O deutério ($J = 1$) não apresenta ressonância nas condições de ^1H , mas pode causar acoplamento J .

Tabela 2 - Valores de deslocamentos químicos de ^1H (ppm) para alguns solventes normalmente empregados em RMN.

<i>Solvente</i>	<i>Forma deuterada</i>	<i>Deslocamento químico (Multiplicidade)</i>
Acetona	Acetona- d_6	2,05 (5)
Acetonitrila	Acetonitrila- d_3	1,93 (5)
Benzeno	Benzeno- d_6	7,15 (largo)
Tetracloroeto de carbono	----	----
Clorofórmio	Clorofórmio- d	7,25 (1)
Dimetilssulfóxido	Dimetilssulfóxido- d_6	2,49 (5)
Água	Óxido de deutério	4,82 (1)
Metanol	Metanol- d_6	4,84 (1) hidroxila 3,30 (5) metila
Cloreto de metileno	Cloreto de metileno- d_2	5,32 (3)

Em alguns solventes (D_2O e CD_3OD) podem ocorrer trocas rápidas de deutério com o hidrogênio da amostra eliminando o sinal de uma série de grupos: $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ e $-\text{NH}_2$. Os hidrogênios de álcoois e aminas não são trocados rapidamente, exceto em presença de D_2O e alguns outros solventes (CD_3OD), que podem ser restaurados com pequenas concentrações de ácido ou base.

Para RMN de ^{19}F , pode utilizar-se a maioria dos solventes empregados em RMN de ^1H , os mais comuns são CHCl_3 , CCl_4 , H_2O , CS_2 , ácidos e bases aquosas, e dimetilacetamida. Em geral, pode utilizar-se qualquer solvente não fluorado, sempre que se quer realizar a calibração espectroscópica. Obviamente, não ocorre interferência dos grupos funcionais próticos com o solvente. Entretanto, os grupos funcionais próticos e o ^{19}F da amostra apresentam acoplamento J , a menos que estejam desacoplados.

Preparação da amostra – A solução é preparada em recipiente adequado e transferida para o tubo de análise de RMN. O volume requerido depende do tamanho do tubo de análise e da geometria do instrumento. O nível da solução no tubo de análise deve estender-se acima das bobinas quando ele é inserido no *probe* e girar. A concentração de soluto depende do objetivo com o experimento e do tipo de instrumento. A detecção de contaminantes em pequena quantidade pode requerer soluções mais concentradas.

Os tubos de amostras para RMN devem cumprir estritamente as especificações de tolerância de diâmetro, espessura de parede e curvatura. Os tubos mais utilizados têm um diâmetro externo de 5 mm e medem entre 15 e 20 cm. Existem microtubos para análise de quantidades pequenas de amostras.

Procedimento – O tubo contendo amostra é introduzido em um *probe* perpendicular ao campo magnético. O *probe* contém um circuito eletrônico que inclui um emissor de radiofrequência, e acessórios para girar o tubo contendo amostra.

O instrumento se ajusta antes de cada experimento. A velocidade de giro do tubo contendo amostra se ajusta de tal forma que as bandas laterais de rotação não interferem com os picos de interesse e o vórtice não deve ultrapassar as bobinas do *probe*. Para otimizar o rendimento do instrumento, pode ajustar-se os gradientes do compressor magnético nos espectrômetros RMN para que não ocorra o fenômeno de oscilação.

A operação de um espectrômetro de RMN por intermédio de um computador possibilita o controle do equipamento; a programação do experimento; a obtenção e processamento dos dados. A programação do experimento envolve o registro dos valores de um grande número de variáveis (picos), incluindo a largura do espectro que será examinado (expansão); a duração do pulso de

excitação; o tempo de aquisição de dados e o período de espera entre a aquisição de dados de uma amostra e a seguinte. O tempo de análise de um acumulado é da ordem de segundos. O número de acúmulo a ser adquirido depende da concentração da amostra; do tipo de núcleo e do objetivo com o experimento. Ao finalizar o experimento, o FID se armazena de forma digital na memória aparecendo no monitor do vídeo. Esse FID pode ser processado matematicamente para melhorar a resolução ou a sensibilidade e pode ser convertido em espectros na faixa de frequência utilizando a transformada de Fourier. A integração dos picos resulta em um gráfico com linhas escalonadas. Sinais mais precisos podem ser obtidos quando são integrados separadamente.

Utilizando-se os espectrômetros de RMN pode obter-se dados qualitativos e quantitativos. Em experimentos quantitativos, devem tomar-se precauções especiais para que as áreas dos sinais sejam proporcionais ao número de hidrogênios. Os tempos de espera entre os pulsos devem ser suficientes para possibilitar o relaxamento total de todos os núcleos excitados. Isso aumenta consideravelmente o tempo de análise e perde-se um pouco da resolução. A análise qualitativa normalmente é realizada em condições não quantitativas, com experimento desenhado para obtenção de uma análise rápida com máximo de resolução e sensibilidade.

ANÁLISE QUALITATIVA

A comparação de um espectro descrito na literatura ou o de uma substância de referência com o de uma amostra em análise pode ser usada para confirmar a identidade de um composto e detectar a presença de impurezas. Os espectros de RMN de estruturas simples podem ser descritos adequadamente mediante o uso de valores numéricos para os deslocamentos químicos, constantes de acoplamento e mediante o número de hidrogênio correspondente a cada sinal (os instrumentos incluem programas que geram espectros simulados de substâncias com esses dados). Também podem ser adicionados aos espectros os detalhes experimentais, como, por exemplo, o solvente, a concentração da amostra e a referência do deslocamento químico.

Para amostras desconhecidas, a análise por RMN, usualmente acompanhada de outras informações analíticas, é uma poderosa técnica para elucidação estrutural. Os deslocamentos químicos proporcionam informações quanto ao ambiente químico dos núcleos. Existem muitas publicações com tabelas de correlação e regras para analisar esses deslocamentos químicos. A multiplicidade dos sinais proporciona informações estereoquímicas importantes. A partição mútua de sinais de grupos funcionais indicam suas proximidades. A magnitude da constante de acoplamento J entre hidrogênios residuais em estruturas aromáticas, oleofínicas ou cicloalquílicas substituídas é utilizada para identificar a posição relativa dos substituintes.

Existem várias técnicas especiais (dupla ressonância; troca química; uso de reativos de deslocamento; análise bidimensional; etc) para simplificar alguns dos espectros mais complexos; identificar certos grupos funcionais e determinar correlações de acoplamento.

Na técnica de dupla ressonância, em um sistema simples de hidrogênio geralmente designado como sistema AX, cada hidrogênio aparece como um duplete. Se introduzirmos um campo fluente de radiofrequência na frequência de X, enquanto o campo de radiofrequência normal que mantém a frequência responsável pela ressonância de A, o deslocamento entre A e X será anulado (deslocamento homonuclear). Dessa forma, o sinal de A não será acoplado, e aparece agora como um singlete. Os espectros de rotina de ^{13}C se obtêm em condições de desacoplamento protônico que anula todos os acoplamentos heteronucleares ^{13}C - ^1H . Como resultado desse desacoplamento, os sinais de carbono aparecem como singletos, a menos que estejam presentes outros núcleos que não estão desacoplados (por exemplo, ^{19}F , ^{31}P).

Os grupos funcionais que contêm hidrogênios intercambiáveis unidos a heteroátomos como, por exemplo, -OH, -NH₂ ou -COOH podem ser identificados mediante intercâmbio rápido dos hidrogênios com D₂O. Para determinar a presença e posição desses grupos é necessário testar a substância em CDCl₃ ou DMSO-*d*₆ e depois acrescentar algumas gotas de D₂O no tubo de amostra, agitar e analisar novamente. Os picos de ressonância desses grupos se colapsam nessa segunda análise e são substituídos por singlete HDO entre 4,7 e 5,0 ppm.

Essa troca química serve para exemplificar o efeito da velocidade dos processos intermoleculares e intramoleculares nos espectros de RMN. Se um hidrogênio pode experimentar diferentes ambientes em virtude deste processo (tautomerismo; rotação em torno de um eixo; equilíbrios de troca; inversão de anel; etc), a aparência do espectro será função da velocidade do processo. Os processos lentos (em escala de tempo em RMN) proporcionam mais de um sinal, enquanto que os processos rápidos proporcionam sinais estreitos, e os outros processos intermediários sinais largos.

Os programas computacionais contidos nos equipamentos de RMN contêm sequência de pulsos variados com a acumulação repetitiva de transientes descritos anteriormente. Esses experimentos incluem análises bidimensionais homonucleares ou heteronucleares, que determinam a correlação de acoplamentos e podem simplificar a interpretação de espectros mais complexos.

ANÁLISE QUANTITATIVA

Se o instrumento está calibrado corretamente para uma análise quantitativa, as áreas sob os picos são proporcionais ao número total de hidrogênios que as geram.

$$A_1/A_2 = N_1/N_2$$

Se os picos se originam a partir de grupos funcionais de uma mesma molécula, a equação pode ser simplificada

$$A_1/A_2 = n_1/n_2$$

Em que n_1 e n_2 são o número de hidrogênios nos respectivos grupos funcionais.

Se os sinais se originam a partir de diferentes espécies moleculares,

$$A_1/A_2 = n_1m_1/n_2m_2 = (n_1W_1/M_1)/(n_2W_2/M_2)$$

Em que m_1 e m_2 são o número de moles; W_1 e W_2 são as massas, e M_1 e M_2 são as massas moleculares dos compostos 1 e 2 respectivamente.

A análise das equações acima possibilita verificar que a análise quantitativa por RMN pode ser realizada em forma absoluta ou relativa. No método absoluto, um padrão interno deve ser adicionado à amostra e a área sob o pico de ressonância procedente da substância de prova deve ser comparada com a área sob o pico de ressonância do padrão interno. Se as substâncias em questão se equivalem com exatidão, pode calcular-se a quantidade da substância. Um bom padrão interno tem que ter as seguintes propriedades: apresentar um pico de ressonância de referência, preferencialmente singlete, em uma posição do campo distinta de todos os picos da amostra; ser solúvel no solvente usado; sem peso equivalente protônico (quando o peso dividido entre o número de hidrogênios que gera um pico de referência é baixo) e não interagir com o composto em análise. A escolha do padrão interno será ditada pelo espectro da amostra.

O método relativo pode ser usado para determinar a fração molar de uma impureza em uma amostra (ou componentes de uma mistura) mediante a equação supracitada.

As análises quantitativas e a detecção de traços de impurezas têm melhorado com o desenvolvimento de instrumentos modernos.

5.3.2.13 ENSAIO LIMITE PARA N,N-DIMETILANILINA

Método A

Sistema cromatográfico: empregar um equipamento de cromatografia a gás com detector de ionização de chama e uma coluna de sílica fundida de 25 m de comprimento x 0,32 mm de diâmetro interno, recoberta com uma película de polimetilfenilsiloxano reticulado de 0,52 µm de espessura. Manter a temperatura da coluna a 150 °C por cinco minutos, em seguida aumentar a temperatura na razão de 20 °C por minuto até 275 °C e manter a esta temperatura por durante três minutos. A temperatura do injetor deve ser de 220 °C e do detector 300 °C. Utilizar hélio como gás de arraste com uma relação de divisão de fluxo de 1:20, pressão na cabeça da coluna de 50 kPa e divisor de fluxo de 20 mL por minuto. A camisa do divisor de fluxo, consiste em uma coluna de aproximadamente 1 cm de comprimento, preenchida com terra diatomácea para cromatografia gasosa impregnada com 10 % de polidimetilsiloxano.

Solução padrão interno: dissolver 50 mg de N,N-dietilanilina em 4 mL de ácido clorídrico 0,1 M e diluir a 50 mL com água. Diluir 1 mL desta solução a 100 mL com água.

Solução padrão: dissolver 50,0 mg de N,N-dimetilamina em 4 mL de ácido clorídrico 0,1 M e diluir a 50,0 mL com água. Diluir 1,0 mL desta solução a 100,0 mL com água. Diluir 1,0 mL desta solução a 30,0 mL com água. Adicionar 1,0 mL de *Solução padrão interno* e 1,0 mL de hidróxido de sódio 10,5 M. Adicionar 2,0 mL de trimetilpentano. Agitar por dois minutos e esperar a separação das fases. Utilizar a solução sobrenadante límpida.

Solução amostra: transferir cerca de 0,50 g de amostra pesada, com exatidão, para um tubo de centrífuga e adicionar 30 mL de água. Adicionar 1,0 mL de *Solução padrão interno* e ajustar a temperatura da solução entre 26-28 °C. Adicionar 1,0 mL de hidróxido de sódio 10,5 M e agitar até dissolução completa. Adicionar 2,0 mL trimetilpentano. Agitar por dois minutos e esperar a separação das fases. Utilizar a solução sobrenadante límpida.

Procedimento: injetar separadamente no cromatógrafo volumes iguais (aproximadamente 1 µL) da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e as respostas dos picos principais. Os tempos de retenção devem ser de aproximadamente 3,6 minutos para a N,N-dimetilanilina e 5,0 minutos para a N,N-dietilanilina. A razão entre as respostas dos picos de dimetilanilina e dietilanilina, obtidos a partir da *Solução amostra*, não deve ser maior que aquela obtida a partir da *Solução padrão* (0,002 %).

Método B

Sistema cromatográfico: empregar um equipamento de cromatografia a gás com detector de ionização de chama e uma coluna de vidro de 2 m de comprimento x 2 mm de diâmetro interno, empacotada com suporte de diatomáceas silanizada para cromatografia gasosa impregnado com 3% de polimetilfenilsiloxano. Manter a coluna a 120 °C e a temperatura do injetor e do detector a 150 °C. Utilizar nitrogênio como gás de arraste a um fluxo de 30 mL por minuto.

Solução padrão interno: dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de naftaleno em cicloexano para obter uma solução de aproximadamente 0,05 mg/mL.

Solução padrão: transferir cerca de 50,0 mg de N,N-dimetilamina pesada, com exatidão, para um balão volumétrico de 50,0 mL, adicionar 25,0 mL de ácido clorídrico 1 M, agitar até dissolver, diluir com água até volume e homogeneizar. Diluir 5,0 mL desta solução para 250,0 mL com água e homogeneizar. Transferir 1,0 mL da solução resultante para um tubo de centrifuga, adicionar 5,0 mL de hidróxido de sódio 1 M e 1,0 mL da *Solução padrão interno*, agitar vigorosamente por um minuto e centrifugar. Utilizar a solução sobrenadante límpida.

Solução amostra: transferir cerca de 1,0 g de amostra pesada, com exatidão, para um tubo de centrifuga, adicionar 5 mL de hidróxido de sódio 1 M até completa dissolução. Adicionar 1,0 mL da *Solução padrão interno*, agitar vigorosamente por um minuto e centrifugar. Utilizar a solução sobrenadante límpida.

Procedimento: injetar separadamente no cromatógrafo volumes iguais (aproximadamente 1 µL) da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e registrar as respostas dos picos principais. A razão entre as respostas dos picos de dimetilnilina e naftaleno, obtidos a partir da *Solução amostra*, não deve ser maior que aquela obtida a partir da *Solução padrão* (0,002%).

5.5.3.7 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS DA ÁGUA PARA USO FARMACÊUTICO

AMOSTRAGEM

A amostragem é uma etapa importante na avaliação da qualidade da água, uma vez que a amostra retirada para análise deve refletir com precisão o desempenho do sistema de produção e distribuição e a qualidade da água utilizada. Uma amostragem inadequada pode levar a uma avaliação equivocada, gerando intervenções desnecessárias no sistema de purificação, ou comprometendo a veracidade do estado da qualidade da água por meio de um resultado impreciso.

Considerando as particularidades de cada sistema, as amostras de água devem ser retiradas desde o local de sua geração até os pontos de uso, visto que os resultados obtidos na geração podem não refletir a qualidade da água nos pontos de uso.

A coleta de amostras nos pontos de uso deve ser realizada utilizando práticas idênticas às aquelas empregadas rotineiramente na utilização da água naquele ponto, para imitar a operação de uso (purga da válvula, utilização de mangueiras, sanitização do ponto, etc).

O plano de amostragem inicial é normalmente desenvolvido para um programa de validação do sistema de produção de água para uso farmacêutico, a fim de caracterizar a sua capacidade de purificação, distribuição e fornecimento de água. O plano de amostragem é de curta duração (por exemplo, de duas a quatro semanas) e determina uma frequência elevada de coleta de amostras, a fim de gerar um volume significativo de dados, que proporcione uma avaliação inicial do desempenho do sistema, para orientar as decisões sobre o uso da água produzida.

O plano de amostragem inicial é reavaliado quando o sistema é colocado em operação, geralmente para buscar a redução da quantidade de dados que está sendo gerada sem comprometer a capacidade de identificar operações/eventos anômalos, especialmente durante a fase inicial do ciclo de vida do sistema de água. Na ausência de tais desvios de qualidade durante o período de amostragem inicial,

a frequência de amostragem pode ser reduzida para garantir que em um prazo um pouco mais longo (por exemplo, por pelo menos, mais duas a quatro semanas), não ocorram tendências adversas da qualidade. Durante este período de tempo de validação do segundo plano de amostragem, o uso da água na rotina pode ser considerado um risco. Após a conclusão da avaliação, se bem-sucedida, o monitoramento pode, eventualmente, ser reduzido novamente para o plano de amostragem que será adotado na rotina.

Periodicamente, é necessário revisar a operação e o monitoramento do sistema para avaliar a variabilidade sazonal da fonte de água, a eficácia da sanitização e os eventos de manutenção de rotina. Essa revisão deve ser realizada durante o ciclo completo de vida do sistema de produção de água, normalmente anualmente, para evidenciar tendência de desvios da qualidade dos dados de longo prazo.

O plano de amostragem adotado na rotina também deve ser reavaliado periodicamente, com base nos dados disponíveis, para reavaliar a frequência e os locais de amostragem adequados. Esta etapa oferece uma oportunidade para melhorar a avaliação dos dados e reduzir as cargas de trabalho com base no que os dados indicam sobre o processo e o controle de qualidade. O plano de amostragem adotado na rotina deve ter uma base racional para a frequência e locais de amostragem estabelecidos, a fim de justificar como os dados resultantes serão utilizados para caracterizar a operação geral do sistema e para a liberação da água para uso.

As amostras devem ser coletadas em recipientes de vidro borossilicato estéreis ou bolsas plásticas esterilizadas apropriadas para o uso microbiológico. O volume da amostra deve ser suficiente para realizar todas as análises necessárias. A quantidade de amostra adicionada nos recipientes deve permitir a homogeneização antes da realização dos ensaios, sendo sugerido um espaço de pelo menos 2,5 cm acima da superfície da água (*headspace*).

Agentes desinfetantes, como cloro ou outros compostos halogenados, quando presentes nas amostras de água, devem ser neutralizados antes da realização dos testes, para garantir uma recuperação adequada dos micro-organismos possivelmente presentes. Um agente neutralizante comumente usado é a solução de tiosulfato de sódio (0,1 mL de uma solução a 3% neutraliza acima de 5 mg/L de cloro residual em uma amostra de 120 mL).

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os testes devem ser realizados na amostra em até duas horas após a coleta e, caso não seja possível proceder ao teste neste intervalo, a amostra deve ser mantida em temperatura de refrigeração na faixa de 2 °C a 8 °C por, no máximo, 12 horas para manter as características microbiológicas até a análise. Em situações em que nem mesmo isso seja possível (tais como quando se utiliza laboratórios contratados fora do local), o ensaio dessas amostras refrigeradas deve ser realizado dentro do período de 24 horas após a coleta.

MEIOS DE CULTURA

Ágar caseína-soja

Peptona de caseína pancreática	15,0 g
Farinha de soja obtida por digestão papaínica	5,0 g
Cloreto de sódio	5,0 g
Ágar	15,0 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

pH $7,3 \pm 0,2$. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

Ágar endo C

Hidrolisado péptico de tecido animal	10,0 g
Lactose	10,0 g
Fosfato dibásico de potássio	3,5 g
Sulfito de sódio	2,5 g
Fucsina básica	0,5 g
Ágar	15,0 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

pH $7,4 \pm 0,2$. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

Ágar eosina azul de metileno

Hidrolisado pancreático de gelatina	10,0 g
Lactose	5,0 g
Sacarose	5,0 g
Fosfato dibásico de potássio	2,0 g
Ágar	13,5 g
Eosina Y	0,4 g
Azul de metileno	0,065 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

pH $7,2 \pm 0,2$. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

Ágar M-Pa-C

L-lisina	5,0 g
Cloreto de sódio	5,0 g
Extrato de levedura	2,0 g
Xilose	1,25 g
Sacarose	1,25 g
Lactose	1,25 g
Vermelho de fenol	0,08 g
Citrato de amônio e ferro III	0,8 g
Sulfato de magnésio	1,5 g
Ágar	12,0 g
Tiosulfato de sódio	5,0 g
Canamicina	8,0 mg
Ácido nalidíxico	37,0 mg
Água purificada estéril q.s.p.	1000 mL

pH $7,1 \pm 0,2$. Não autoclavar. Ferver o meio por um minuto. Determinar o prazo de validade do meio preparado.

Ágar MacConkey

Hidrolisado pancreático de gelatina	17,0 g
Hidrolisado pancreático de caseína	1,5 g
Hidrolisado péptico de tecido animal	1,5 g
Lactose	10,0 g
Sais biliares	1,5 g
Cloreto de sódio	5,0 g

Vermelho neutro	0,03 g
Cristal violeta	0,001 g
Ágar	13,5 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

pH 7,1 ± 0,2. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

Ágar m-HPC

Peptona	20,0 g
Gelatina	25,0 g
Glicerol	10,0 mL
Ágar	15,0 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

Misturar todos os ingredientes, exceto o glicerol. Ajustar o pH para 7,1 ± 0,2, aquecer para dissolver e adicionar o glicerol. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

Ágar para contagem em placa (plate count agar - PCA)

Peptona de caseína	5,0 g
Extrato de levedura	2,5 g
Glicose	1,0 g
Ágar	15,0 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

pH 7,0 ± 0,1. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

Ágar R2A

Peptona (caseína ou tecido animal)	0,5 g
Ácido Casamino	0,5 g
Extrato de Levedura	0,5 g
Piruvato de Sódio	0,3 g
Glicose	0,5 g
Sulfato de Magnésio heptahidratado	0,05 g
Amido solúvel	0,5 g
Fosfato de Hidrogênio Dipotássico	0,3 g
Ágar	15,0 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

pH 7,2 ± 0,1. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

Caldo EC ou EC-MUG

Triptose ou tripticase	20,0 g
Lactose	5,0 g
Mistura de sais biliares	1,5 g
Fosfato de hidrogênio dipotássico	4,0 g
Fosfato de dihidrogênio potássico	1,5 g
Cloreto de sódio	5,0 g
4-metil-umbeliferil-β-D-glicoronídeo (MUG)	0,05 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

pH 6,9 ± 0,2. Antes da esterilização, dispensar em tubos que não apresentem fluorescência em altos comprimentos de onda da luz UV (366 nm). Não é necessário tubo de Durham. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

Caldo lactose bile verde brilhante

Peptona	10,0 g
Lactose	10,0 g
Oxgall	20,0 g
Verde brilhante	0,0133 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

pH $7,2 \pm 0,2$. Antes da esterilização, colocar um tubo de Durham invertido em cada tubo de ensaio para detectar a produção de gás. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

Caldo lauril triptose

Triptose	20,0 g
Lactose	5,0 g
K ₂ HPO ₄	2,75 g
KH ₂ PO ₄	2,75 g
NaCl	5,0 g
Lauril sulfato de sódio	0,1 g
Água purificada q.s.p.	1000 mL

pH $6,8 \pm 0,2$. Antes da esterilização, colocar um tubo de Durham invertido em cada tubo de ensaio para detectar a produção de gás. Esterilizar em autoclave usando ciclo validado.

5.5.3.7.1 Contagem do número total de bactérias heterotróficas

Os métodos apresentados são opcionais e podem ou não ser ideais para a recuperação dos micro-organismos, incluindo aqueles indesejáveis. A escolha deverá ser efetuada por meio de experimentos, determinando-se quais são os métodos adequados para o monitoramento de seu processo, como para a recuperação dos micro-organismos específicos que podem ser encontrados nos sistemas de purificação de água e que podem ser indesejáveis para os produtos a serem manipulados.

Existem duas categorias de meios de cultura para a contagem do número total de bactérias heterotróficas: os com alta concentração de nutrientes, tendo como exemplos o ágar para contagem em placa (*plate count agar* - PCA), ágar caseína-soja e o ágar m-HPC, sendo adequados para isolamento geral e enumeração de bactérias heterotróficas ou copiotróficas, e os de baixa concentração de nutrientes, como o ágar R2A, o qual é indicado para recuperação de bactérias oligotróficas.

A temperatura e tempo de incubação são aspectos críticos para os testes microbiológicos da água, devido aos tipos de micro-organismos encontrados nos sistemas de água. Incubações a baixas temperaturas (por exemplo, de 20 °C a 25 °C ou de 25 °C a 30 °C) por períodos mais longos, por pelo menos quatro dias, podem levar a recuperações mais altas de micro-organismos, do que as temperaturas clássicas. Os meios com baixa quantidade de nutrientes requerem períodos de incubação mais longos (pelo menos cinco dias), pois esses meios promovem crescimento mais lento. Mesmo aqueles com alta concentração de nutrientes podem algumas vezes resultar em alta recuperação microbiana por longos períodos de incubação e temperaturas mais baixas.

A decisão sobre o tipo de meio de cultura e a temperatura de incubação para se testar um sistema de purificação de água deve ser baseada em estudos comparativos de cultivo usando um microbioma nativo dos sistemas de purificação da água em análise.

PROCEDIMENTO

Método por profundidade em placa

Adicionar 1 mL da amostra em placa de Petri e verter 15 mL a 20 mL do meio de cultura mantido de 45 °C a 50 °C, conforme **Tabela 1**. Realizar o teste pelo menos em duplicata.

Método de filtração em membrana

Utilizar equipamento de filtração que possibilite a transferência da membrana para os meios de cultura. Utilizar membrana estéril com 47 mm de diâmetro e porosidade de 0,45 µm, lavando-se a membrana, após a filtração da amostra, com três porções de 20 mL a 30 mL de água purificada estéril. O volume a ser filtrado poderá variar de acordo com a amostra obedecendo a um volume máximo que forneça de 20 UFC a 200 UFC por membrana.

Tabela 1 - Condições para contagem do número total de bactérias heterotróficas.

<i>Método</i>	<i>Tipos de água</i>		
	<i>Água potável</i>	<i>Água purificada</i>	<i>Água para injetáveis e água ultrapurificada</i>
Tipo de método	Profundidade em placa ou Filtração em membrana	Profundidade em placa ou Filtração em membrana	Filtração em membrana
Tamanho sugerido da amostra ^a	1,0 mL/100 mL ^b	1,0 mL/100 mL ^b	200,0 mL
Meio ^c	Ágar R2A, PCA	Ágar R2A, PCA	Ágar R2A, PCA
Período de incubação	Ágar R2A: 4-7 dias (ou mais longo) PCA: 48-72 horas (ou mais longo)	Ágar R2A: 4-7 dias (ou mais longo) PCA: 48-72 horas (ou mais longo)	Ágar R2A: 4-7 dias (ou mais longo) PCA: 48-72 horas (ou mais longo)
Temperatura de incubação	Ágar R2A: 20-25 °C ou 30-35 °C PCA: 30-35 °C	Ágar R2A: 20-25 °C ou 30-35 °C PCA: 30-35 °C	Ágar R2A: 20-25 °C ou 30-35 °C PCA: 30-35 °C

^a O tamanho da amostra deve ser apropriado para a esperada contagem microbiana da água para se obter contagens de colônias estatisticamente válidas.

^b 1,0 mL para profundidade em placa e 100,0 mL para filtração em membrana.

^c Para otimizar a recuperação, um meio alternativo pode ser mais adequado (m-HPC, ágar Caseína-soja).

5.5.3.7.2 Pesquisa de coliformes totais e fecais

O grupo coliforme consiste de várias bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae. A histórica definição desse grupo foi baseada no método utilizado para detecção: fermentação da lactose em detrimento dos princípios da bacteriologia sistemática. Por conseguinte, quando a técnica de fermentação é utilizada, esse grupo é definido como anaeróbicos facultativos, bastonetes Gram negativos, não formadores de esporos e fermentadores da lactose com formação de gás e ácido quando

incubados por 48 horas a 35 °C. O teste padrão para o grupo coliforme pode ser conduzido pelos seguintes métodos: fermentação em tubos múltiplos, filtração em membrana ou cromogênico.

Para todos os tipos de água para uso farmacêutico, independentemente do método utilizado, coliformes totais e fecais devem estar ausentes.

PROCEDIMENTO

Método de fermentação em tubos múltiplos

Fase presuntiva - Usar Caldo lauril triptose. Se o meio for refrigerado após a esterilização, deixar em temperatura ambiente antes do uso. Descartar os tubos que apresentarem crescimento ou bolhas. Preparar o Caldo lauril triptose em uma concentração tal que, ao adicionar 100 mL, 20 mL ou 10 mL da amostra ao meio, a concentração dos ingredientes da fórmula não será reduzida, como descrito na **Tabela 2**. Garantir que os tubos de Durham invertidos estejam livres de bolhas.

Tabela 2 – Preparo do Caldo lauril triptose.

<i>Amostra (mL)</i>	<i>Quantidade de meio/tubo (mL)</i>	<i>Volume de meio + amostra (mL)</i>	<i>Caldo lauril triptose requerido (g/L)</i>
1	10 ou mais	11 ou mais	35,6
10	10	20	71,2
10	20	30	53,4
20	10	30	106,8
100	50	150	106,8
100	35	135	137,1
100	20	120	213,6

Agitar a amostra vigorosamente. Usar cinco porções de 20 mL, 10 porções de 10 mL ou uma amostra única de 100 mL. Misturar as porções da amostra no meio agitando levemente. Incubar a 35 °C ± 0,5 °C. Após 24 ± 2 horas, agitar cada tubo levemente e observar a presença de crescimento ou formação de gás e, se nenhum gás for evidente, reincubar os tubos e reexaminar ao final de 48 ± 3 horas. Registrar a presença ou ausência de crescimento e gás. A turvação ou produção de gás nos tubos dentro de 48 ± 3 horas constitui uma reação presuntiva positiva. Nesse caso, prosseguir com a fase confirmatória.

Fase confirmatória - Usar Caldo lactose bile verde brilhante. Garantir que os tubos de Durham invertidos estejam livres de bolhas. Agitar levemente os tubos de fermentação do Caldo lauril triptose positivos e inocular uma ou mais alçadas da cultura em Caldo bile lactose verde brilhante. Incubar os tubos de Caldo bile lactose verde brilhante a 35 °C ± 0,5 °C. O crescimento e formação de qualquer quantidade de gás dentro de 48 ± 3 horas constitui uma fase confirmatória positiva, indicando a presença de coliformes totais.

Para estimar a densidade de coliformes, calcular o número mais provável (NMP) a partir do número de tubos positivos do Caldo bile lactose verde brilhante (**Tabelas 3 e 4**).

Tabela 3 - Índice do NMP e limites de 95% de confiança para todas as combinações de resultados positivos e negativos quando são usadas cinco porções de 20 mL da amostra.

<i>Nº de tubos com resultado positivo (20 mL de amostra cada)</i>	<i>Índice de NMP/100 mL</i>	<i>95% de limite de confiança (exato)</i>	
		<i>Baixo</i>	<i>Alto</i>
0	< 1,1	-	3,5
1	1,1	0,051	5,4
2	2,6	0,40	8,4
3	4,6	1,0	13
4	8,0	2,1	23
5	> 8,0	3,4	-

Tabela 4 - Índice do NMP e limites de 95% de confiança para todas as combinações de resultados positivos e negativos quando são usadas 10 porções de 10 mL da amostra.

<i>Nº de tubos com resultado positivo (10 mL de amostra cada)</i>	<i>Índice de NMP/100 mL</i>	<i>95% de limite de confiança (exato)</i>	
		<i>Baixo</i>	<i>Alto</i>
0	< 1,1	-	3,4
1	1,1	0,051	5,9
2	2,2	0,37	8,2
3	3,6	0,91	9,7
4	5,1	1,6	13
5	6,9	2,5	15
6	9,2	3,3	19
7	12	4,8	24
8	16	5,8	34
9	23	8,1	53
10	>23	13	-

Fase completa - Agitar levemente os tubos de fermentação do Caldo bile lactose verde brilhante positivos e inocular uma ou mais alçadas da cultura no Caldo EC ou EC-MUG. Alternativamente, a inoculação no Caldo EC ou EC-MUG pode ser feita a partir da cultura em Caldo lauril triptose simultaneamente à inoculação em Caldo bile lactose verde brilhante na fase confirmatória. Incubar os tubos de EC ou EC-MUG à temperatura de $44 \pm 0,2$ °C por 24 ± 2 horas.

A observação de crescimento e produção de gás nos tubos de EC ou EC-MUG indica a presença de coliformes fecais ou *E. coli*, respectivamente. Paralelamente, culturas positivas de Caldo bile lactose verde brilhante com resultados negativos nos Caldos EC ou EC-MUG indicam a presença de coliformes não fecais.

Testes confirmatórios utilizando meios seletivos e diferenciais e testes bioquímicos para identificação das espécies podem ser realizados quando necessário.

Método de filtração em membrana

Utilizar equipamento de filtração que possibilite a transferência da membrana para os meios de cultura. Utilizar membrana estéril com 47 mm de diâmetro e porosidade de 0,45 µm, lavando-se a membrana, após a filtração da amostra, com três porções de 20 mL a 30 mL de água purificada estéril. O volume a ser filtrado poderá variar de acordo com a amostra obedecendo a um volume máximo que forneça de 20 UFC a 200 UFC por membrana. Para pesquisa de coliformes, a membrana deve ser incubada em meio específico (por exemplo, MacConkey, endo C, eosina azul de metileno, etc), às temperaturas preconizadas para as pesquisas de coliformes totais e fecais por 24 horas.

Método cromogênico

Meios de cultura contendo na sua formulação substratos enzimáticos específicos possibilitam melhorias significativas na recuperação dos micro-organismos e na identificação dos mesmos.

No caso da pesquisa de coliformes totais e de *E. coli*, há métodos alternativos que se correlacionam com os métodos tradicionais de filtração em membrana e de tubos múltiplos. Existem testes baseados na utilização de um substrato específico, que permitem a pesquisa simultânea de coliformes totais e de *E. coli* em menor tempo. Por exemplo, testes baseados na atividade da β-galactosidase sobre o substrato ONPG (O-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo) e da β-D-glicuronidase sobre o substrato MUG (4-metilumbeliferil-β-D-glicuronídeo). O teste baseia-se na adição de 100 mL de amostra aos substratos e incubação a 35 °C a 37 °C por 24 horas. A atividade dos coliformes totais sobre o substrato ONPG produz uma coloração amarela, indicando a sua presença. A presença da *E. coli* pode ser confirmada por fluorescência sob a luz UV, devido sua atuação sobre o substrato MUG.

5.5.3.7.3 Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*

A pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* na água para uso farmacêutico pode ser realizada pelo método de filtração por membrana. Para todos os tipos de água para uso farmacêutico, *P. aeruginosa* deve estar ausente.

PROCEDIMENTO

Método de filtração por membrana

Filtrar 200 mL da amostra através de membrana de filtração estéril. Colocar cada membrana sobre a placa de ágar M-Pa-C de modo que não fique espaço entre a membrana e a superfície do ágar. Inverter as placas e incubar a $41,5 \pm 0,5$ °C por 72 horas. Tipicamente, as colônias de *P. aeruginosa* possuem de 0,8 mm a 2,2 mm de diâmetro e são aparentemente planas com borda clara e centro de acastanhado a verde escuro. Contar as colônias típicas, de preferência a partir do filtro contendo de 20 a 80 colônias. Confirmar a presença de *P. aeruginosa* por meio de testes bioquímicos adequados.

Podem ser utilizados outros métodos e meios de cultura, desde que devidamente validados.

5.8 MÉTODOS GERAIS APLICADOS A GASES MEDICINAIS

5.8.1 DETERMINAÇÃO DE GASES

5.8.1.1 DETERMINAÇÃO DE GASES UTILIZANDO TUBOS DETECTORES

São tubos selados cilíndricos constituídos por um material transparente inerte, constituídos de modo a possibilitar a passagem de gás. Eles contêm reagentes adsorvidos em substratos inertes apropriados para visualizar a substância a ser detectada e podem conter camadas preliminares e/ou filtros adsorventes para eliminar as impurezas que interferem com a substância a ser detectada. Essas camadas contêm um único reagente para a detecção de uma determinada impureza ou vários reagentes para a detecção de várias substâncias (tubo monocamada ou multicamada).

O teste é realizado passando o volume necessário de gás a ser analisado através do tubo indicador. A extensão da camada colorida ou a intensidade da mudança de cor em uma escala graduada dá uma indicação das impurezas.

O usuário deve garantir a adequabilidade dos tubos detectores para o uso pretendido e sua utilização deve ser realizada de acordo com as instruções do fabricante ou conforme o procedimento a seguir.

O suprimento do gás deve estar conectado a um regulador de pressão e a uma válvula de agulha adequados. Conectar um tubo flexível a um T para o ajuste do fluxo do gás a ser analisado e para a purga do tubo, de modo a obter um fluxo adequado (**Figura 1**). Acoplar o tubo indicador à bomba dosadora e ligar a outra extremidade ao T. Operar a bomba de forma a passar um volume adequado do gás a ser analisado através do tubo. Ler o valor correspondente à extensão da camada colorida ou a intensidade da cor na escala graduada.

Se o resultado for negativo, o tubo indicador pode ser verificado por meio de um gás de calibração contendo a impureza adequada.

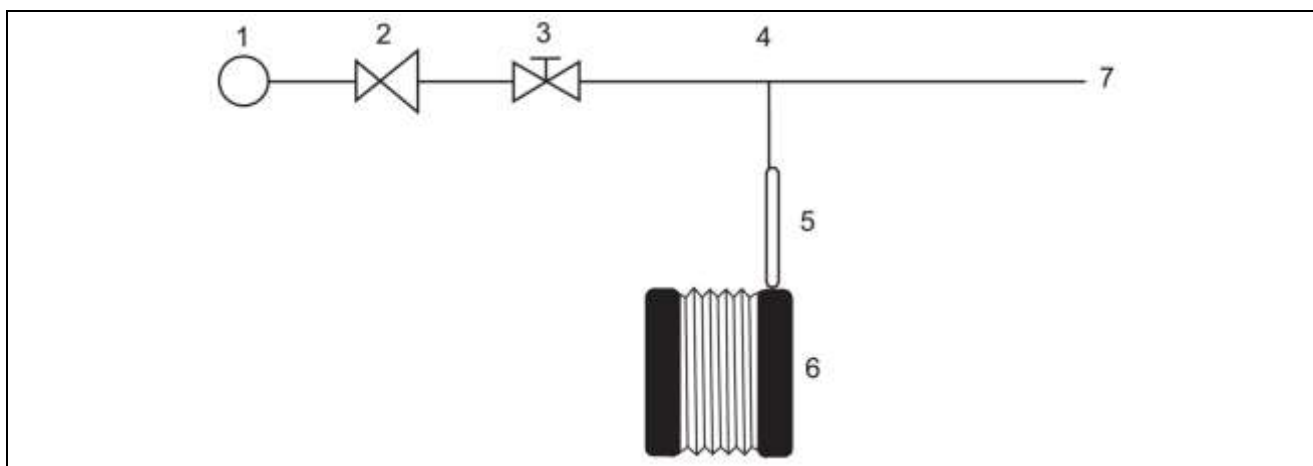


Figura 1 – Montagem para tubos detectores de gases.

1 Suprimento do gás; 2 Válvula reguladora de pressão; 3 Válvula agulha; 4 Peça em T; 5 Tubo indicador; 6 Bomba dosadora e 7 Saída para atmosfera.

Monóxido de carbono: o tubo detector de monóxido de carbono deve indicar a concentração mínima de 5 micromol/mol (ppm), com o desvio padrão relativo dos resultados de, no máximo, 15%.

Dióxido de carbono: o tubo detector de dióxido de carbono deve indicar a concentração mínima de 100 micromol/mol (ppm), com o desvio padrão relativo dos resultados, no máximo, de 15%.

Dióxido de enxofre: o tubo detector de dióxido de enxofre deve indicar a concentração mínima de 0,5 micromol/mol (ppm), com o desvio padrão relativo dos resultados, no máximo, de 15%.

Monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio: o tubo detector de monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio deve indicar a concentração mínima de 0,5 micromol/mol (ppm), com o desvio padrão relativo dos resultados, no máximo, de 15%.

5.8.1.2 DETERMINAÇÃO DE GASES POR ESPECTROFOTOMETRIA NO INFRAVERMELHO NÃO DISPERSIVO

Gases absorvem luz em um ou mais comprimentos de ondas específicos. Essa propriedade é amplamente utilizada para determinação de suas concentrações.

A técnica analítica que utiliza o analisador infravermelho pode ser usada para determinação de impurezas, como monóxido de carbono, dióxido de carbono, entre outras.

O analisador compreende dois geradores de feixes infravermelhos idênticos: um feixe atravessa uma cela com a amostra e o outro atravessa uma cela com o gás de referência. A radiação infravermelha emitida por uma fonte é convertida em luz intermitente por meio de um interruptor giratório (*chopper*) e entra na câmara do detector após passar por uma das celas de medida. Uma parte da radiação é absorvida pela impureza porventura existente na cela da amostra produzindo uma diferença na intensidade nos dois feixes que entram nas câmaras do detector. Essa diferença produz uma corrente elétrica que é proporcional à quantidade de impureza existente na amostra.

Sempre que o equipamento for ligado, ele deverá ser ajustado conforme descrito na monografia específica de cada gás.

5.8.1.3 DETERMINAÇÃO DE GASES POR ANÁLISE PARAMAGNÉTICA

O sinal paramagnético identifica o oxigênio na amostra. O princípio do método está baseado na alta sensibilidade paramagnética da molécula do oxigênio. O oxigênio exerce uma forte interação no campo magnético, cujo sinal é medido eletronicamente, amplificado e convertido em um valor transmitido no leitor de concentração de oxigênio.

O equipamento deve ser calibrado periodicamente. A faixa de leitura do equipamento é de 0 a 100,0% v/v, com resolução de 0,1%, com linearidade de $\pm 0,1\%$ e com precisão de 0,1%.

Para a calibração do equipamento, ajustar o zero passando o gás nitrogênio padrão certificado com pureza mínima de 99,99% v/v pelo aparelho até que uma leitura constante seja atingida; configurar para a escala de 100% passando o gás de calibração (oxigênio padrão certificado com pureza mínima de 99,99% v/v) com o mesmo fluxo utilizado ao realizar a calibração do zero até que uma leitura constante seja atingida.

PROCEDIMENTO

Passar o gás a ser analisado pelo analisador com o mesmo fluxo utilizado no ato da calibração até que uma leitura constante seja atingida. Registrar a concentração do gás amostra lida no instrumento. O resultado deve estar em porcentagem de volume de oxigênio.

5.8.1.4 DETERMINAÇÃO DE GASES POR ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA

A técnica analítica que utiliza o analisador de fluorescência no ultravioleta pode ser usada para determinação de impurezas, como dióxido de enxofre, dióxido de nitrogênio, total de sulfurados, entre outras.

O aparelho compõe-se de um sistema gerador da radiação ultravioleta; de comprimento de onda específico para determinação de cada impureza gasosa, constando de uma lâmpada de ultravioleta, um colimador e um filtro seletivo, uma câmara de reação, na qual circula o gás em ensaio e um sistema de detecção da radiação emitida no comprimento de onda específico, constituído por um filtro seletivo, um tubo fotomultiplicador e um amplificador. O feixe luminoso é periodicamente interrompido por um interruptor giratório (*chopper*) rodando a alta velocidade.

Sempre que o equipamento for ligado, ele deverá ser calibrado conforme descrito na monografia específica de cada gás.

5.8.1.5 DETERMINAÇÃO DE GASES POR LUMINESCÊNCIA QUÍMICA

O analisador opera por meio do princípio de que o óxido nítrico (NO) e o ozônio (O₃) reagem produzindo uma luminescência característica, com uma intensidade linearmente proporcional à concentração de NO. A reação de luminescência química está descrita a seguir:



Para que ocorra a reação de quimiluminescência a espécie nitrogenada deve estar na forma de NO. A corrente de amostra é dividida em duas correntes, uma que passa por um conversor de NO_x em NO e outra corrente que não passa pelo conversor. A corrente que passa pelo conversor terá uma concentração de NO maior que a real, e a corrente que não passa pelo conversor terá a concentração real de NO. A diferença entre as duas revelará a concentração de NO₂.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

A amostra entra no equipamento, atravessa o capilar e segue para uma válvula que divide o fluxo de amostra em duas correntes, uma para a câmara de reação e outra para o conversor de NO₂ em NO. Um medidor de vazão indica a vazão de amostra que segue para a câmara. Por outro orifício entra ar seco, passa por um controlador de vazão e segue para o gerador de ozônio que produz o ozônio necessário para a reação de quimiluminescência. Logo na saída da câmara de reação o PMT (*photomultiplier tube*) detecta a luminescência gerada. As concentrações de NO e NO_x são determinadas e a diferença entre estas concentrações é a concentração de NO₂.

5.8.2 DETERMINAÇÃO DE VAPOR D'ÁGUA EM GASES MEDICINAIS

5.8.2.1 DETERMINAÇÃO DE VAPOR D'ÁGUA UTILIZANDO HIGRÔMETRO ELETROLÍTICO

Esse equipamento possui uma célula de medida que consiste em um filme fino de pentóxido de difósforo entre dois fios de platina espiralados que funcionam como eletrodos. O vapor d'água no gás a ser examinado é absorvido pelo pentóxido de difósforo que é transformado em ácido fosfórico, um condutor elétrico. Uma voltagem contínua aplicada nos eletrodos produz a eletrólise da água e a regeneração do pentóxido de difósforo. O valor obtido da corrente elétrica, que é proporcional à concentração de vapor d'água no gás examinado, é determinado. O sistema é autocalibrável desde que a lei de Faraday seja obedecida.

PROCEDIMENTO

Coletar uma amostra do gás a ser examinado e aguardar sua estabilização à temperatura ambiente. Realizar a purga da célula continuamente até que um valor constante seja obtido. Medir a concentração de vapor d'água no gás examinado, certificando-se de que a temperatura é constante no sistema de introdução de gás no aparelho.

5.8.2.2 DETERMINAÇÃO DE VAPOR D'ÁGUA UTILIZANDO TUBOS DETECTORES

Proceder conforme descrito em *Tubos detectores (5.8.1.1)*.

O tubo detector de vapor d'água deve indicar a concentração mínima de 67 micromol/mol (ppm), com desvio padrão relativo dos resultados de, no máximo, 20%.

5.8.3 DETERMINAÇÃO DE ÓLEO EM GASES MEDICINAIS

Proceder conforme descrito em *Tubos detectores (5.8.1.1)*.

O tubo detector de óleo deve indicar a concentração mínima de 0,1 micromol/mol (ppm), com o desvio padrão relativo dos resultados, no máximo, de 30%.

REVISÃO

5.3.1.1 ÍONS, GRUPOS E FUNÇÕES

[...]

Cloreto

Com nitrato de prata SR, as soluções de cloreto produzem um precipitado branco grumoso, que é insolúvel em ácido nítrico, porém solúvel em um ligeiro excesso de hidróxido de amônio 6 M.

Quando se analisam cloridratos de aminas (incluídos os alcaloides) que não respondem ao ensaio anterior, adicionar uma gota de ácido nítrico diluído e 0,5 mL de nitrato de prata SR em 2 mL da solução em análise que contenha aproximadamente 2 mg de íon cloreto, a menos que se especifique de outro modo na monografia individual. Deverá se formar um precipitado branco, grumoso. Imediatamente centrifugar a mistura e decantar a camada sobrenadante. Lavar o precipitado com três porções de 1 mL de uma solução de ácido nítrico (1 em 100) e desprezar os sobrenadantes. Adicionar ao precipitado, algumas gotas de amoníaco SR. O precipitado se dissolverá rapidamente.

Quando uma monografia específica que a substância sólida responde aos ensaios para cloretos, misturar a amostra com a mesma quantidade de dióxido de manganês, umedecer com ácido sulfúrico e aquecer moderadamente a mistura. Se produz cloro, é reconhecido pela produção de uma cor azul no papel umedecido com amido iodetado.

[...]

5.4 MÉTODOS DE FARMACOGNOSIA

5.4.1 MÉTODOS DE ANÁLISE DE DROGAS VEGETAIS

5.4.1.1 AMOSTRAGEM

Devido às características das drogas vegetais, em particular a falta de homogeneidade, são necessários procedimentos especiais em relação aos ensaios a realizar.

Os procedimentos de amostragem levam em consideração três aspectos: número de embalagens que contêm a droga; grau de divisão da droga e quantidade de droga disponível.

NÚMERO DE EMBALAGENS

Examinar a integridade dos recipientes de embalagem e a natureza da droga neles contida. Se o exame externo das embalagens e rótulos indicar que o lote é homogêneo, tomar amostras individuais de um número de embalagens selecionadas aleatoriamente, segundo indicado na **Tabela 1**. Se o lote não for homogêneo, deve-se fracioná-lo em sublotes da forma mais uniforme possível. Realizar a amostragem com cada fração como um lote.

Tabela 1 - Número de embalagens a serem amostradas

<i>Número total de embalagens</i>	<i>Número de embalagens a serem amostradas</i>
1 a 3	Todas
4 a 10	3
11 a 20	5
21 a 50	6
51 a 80	8
81 a 100	10
Mais de 100	10%

GRAU DE DIVISÃO E QUANTIDADE DE DROGA

Tomar amostras das partes superior, média e inferior de cada embalagem de cima para baixo e de baixo para cima (direção vertical) e lateralmente (direção horizontal).

Fragmentos inferiores a 1 cm

Em se tratando de pós ou materiais com fragmentos inferiores a 1 cm, retirar a amostra com auxílio de um aparelho de amostragem (tubo provido de um dispositivo de fechamento na base). Recolher amostras de, no mínimo, 250 g para lotes de até 100 kg de droga. Para lotes maiores que 100 kg, tomar amostras de 250 g a cada 100 kg de droga e obter uma amostra final, por quarteamento, de 250 g.

Fragmentos superiores a 1 cm

Para drogas com dimensões superiores a 1 cm, retirar as amostras manualmente. Misturar as amostras retiradas de cada embalagem aberta, tomando a precaução de não aumentar o grau de fragmentação ou modificar significativamente o conteúdo de umidade durante a manipulação.

Para quantidades de droga até 100 kg, a amostra deve constituir-se de, no mínimo, 500 g. Havendo mais de 100 kg de droga, proceder à amostragem seguida de seleção por quarteamento, gerando amostra de 500 g no final do processo.

Observações

Em ambos os casos, drogas com dimensões inferiores ou superiores a 1 cm, é permissível amostrar quantidades inferiores às especificadas acima desde que a quantidade total de droga disponível seja inferior a 10 kg. Todavia, a amostra final não deverá ser inferior a 125 g.

Em caso de fardos ou embalagens grandes, as amostras devem ser recolhidas a mais de 10 cm das bordas, devido ao conteúdo de umidade superficial ser diferente em relação às camadas internas.

Quarteamento

Combinar e misturar as amostras retiradas de cada embalagem aberta, tomando a precaução de não aumentar seu grau de fragmentação ou modificar significativamente o conteúdo de umidade durante a manipulação.

Distribuir homogeneamente a amostra na forma de um quadrado, dividi-la em quatro partes iguais e desprezar as porções em dois quadrados opostos em uma das diagonais. Juntar as duas porções restantes e repetir o processo, até a obtenção da quantia indicada. Havendo diferença acentuada em

dimensões de fragmentos, executar separação manual e anotar as porcentagens aproximadas dos componentes de diferentes graus de divisão encontrados na amostra.

5.4.1.2 EXAME SENSORIAL E INSPEÇÃO MICROSCÓPICA DE DROGAS VEGETAIS

A identidade, pureza e qualidade de um material vegetal devem ser estabelecidas mediante detalhado exame visual, macroscópico e microscópico. Sempre que possível, o material vegetal deve ser comparado com matéria-prima de referência, ou derivada de amostra perfeitamente identificada de acordo com farmacopeias. A amostra que não for semelhante em cor, consistência e odor deve ser descartada por não apresentar os requisitos mínimos especificados nas monografias. A identificação macroscópica das drogas, quando inteiras, é baseada na forma, tamanho, cor, superfície, textura, fratura e aparência da superfície de fratura. Em virtude dessas características de identificação serem subjetivas, e existirem adulterantes parecidos, são necessárias análises microscópica e físico-química da amostra. A inspeção microscópica é indispensável quando o material estiver rasurado ou em pó.

Tamanho

Medidas de comprimento, largura e espessura devem coincidir com aquelas citadas nas monografias. Frutos e sementes pequenos exigem uma amostra de dez unidades e posteriores cálculos da média e do desvio padrão.

Cor

Examinar a amostra antes de qualquer tratamento, à luz do dia ou sob lâmpada de comprimento de onda similar ao da luz do dia. A cor da amostra deve ser comparada com o material de referência.

Superfície, textura e fratura

Examinar a amostra antes de qualquer tratamento. Quando necessário, utilizar lente de aumento de cinco vezes a dez vezes. Quando indicado na monografia, umedecer com água ou com reagente especificado para observar características da superfície de fratura. Tocar no material para verificar se é macio ou duro, dobrar e partir o material para a obtenção de informações quanto à fragilidade e aparência da fratura, se fibrosa, lisa, rugosa, granulada, entre outras.

Odor

Antes de verificar o odor do material, certificar-se de que não existe risco à saúde. Colocar uma pequena amostra na palma da mão ou em recipiente de vidro e inalar devagar e repetidamente. Se o odor for indistinto, pressionar parte do material entre os dedos e inalar novamente. Quando a monografia indicar risco tóxico, colocar um pouco de material esmagado em água quente. Primeiramente, determinar a intensidade do odor: nenhum, fraco, distinto ou forte; e, a seguir, a sensação causada pelo odor: aromático, frutado, mofado ou rançoso. Quando possível, é importante a comparação do odor com substância definida, como, por exemplo, hortelã-pimenta deve ter odor similar ao mentol e cravo-da-índia, similar ao eugenol.

Sabor

Testar o sabor apenas quando exigido na monografia.

Preparação do material para análise microscópica.

Hidratação ou amolecimento do material - Os órgãos vegetais ou suas partes normalmente se apresentam secos, e para serem seccionados e observados ao microscópio óptico é conveniente primeiro amolecê-los mediante tratamento com água quente ou solução de hidratação. O tempo necessário para o amolecimento de cada órgão vegetal ou suas partes varia de acordo com a sua

textura. Tratando-se de órgãos frescos, apenas necessitam de tal tratamento os de consistência mais firme.

Método de hidratação para materiais secos.

Colocar a amostra, em recipiente adequado: a) em placa aquecedora, ou tela metálica com água, em quantidade de 20 a 30 vezes o volume da amostra, aquecendo suavemente até a ebulição, mantendo por cinco minutos e se não houver o amolecimento necessário acrescentar detergente e ferver por mais cinco minutos; ou b) em uma solução de hidratação, preparada com cinco partes de água, quatro partes de etanol, uma parte de glicerol e cinco gotas de detergente comercial para cada 200 mL de solução, em estufa a 60 °C, por um período variável, de acordo com a textura do material. Flores e folhas costumam hidratar em poucos minutos, enquanto que materiais duros, como cascas e sementes exigem um tempo variável em água aquecida como em a); de acordo com o grau de lignificação, ou horas ou dias na solução de hidratação b). Na hidratação direta em água a), observar, cuidadosamente, o tempo, pois pode ocorrer amolecimento demasiado, impedindo a observação ao microscópio óptico. Nas duas técnicas, verificar periodicamente a consistência do material. Para análises futuras, determinar o tempo que cada droga vegetal necessita para adquirir a consistência que permita o seccionamento.

Obtenção dos cortes histológicos.

Uma vez hidratados e amolecidos, proceder à preparação dos cortes dos órgãos vegetais ou suas partes. Em regra, os cortes são transversais ao eixo do órgão, sendo que em algumas monografias são solicitados cortes longitudinais ou tangenciais (cascas, raízes etc.), ou ainda paradérmicos, para observação da epiderme de órgãos foliáceos (folhas, sépalas e pétalas). As secções à mão livre são realizadas com o auxílio de lâminas cortantes. Estruturas muito pequenas ou muito finas exigem que a amostra seja firmada ou incluída em material adequado. Secções de melhor qualidade podem ser obtidas com o emprego de micrótomos. Selecionar os cortes mais finos para observar ao microscópio em 10 vezes.

Coloração e montagem das lâminas.

Submergir os cortes em solução de hipoclorito de sódio a 50% para eliminar o conteúdo celular. Deixar atuar até que os cortes fiquem transparentes (no máximo, 10 a 15 minutos). Lavar os cortes com água destilada até eliminação do hipoclorito de sódio até pH neutro. Colocar os cortes em solução de azul de toluidina a 0,05%, durante 10 segundos. Lavar com água destilada, e a seguir com solução de ácido acético a 0,5%, e novamente com água destilada. Colocar entre lâmina e lamínula com duas a três gotas de uma mistura de glicerina-água destilada (1:1) e observar ao microscópio óptico a 10vezes e 40vezes. As paredes celulósicas tingir-se-ão de rosa-púrpura. As paredes lignificadas e as paredes com taninos tingir-se-ão de cor azul-esverdeado brilhante. [NOTA: a coloração obtida dessa forma não é estável.

DISSOCIAÇÃO DE TECIDOS

Esse método é empregado principalmente para a análise de folhas, caules herbáceos e cascas. Os cristais se mantêm intactos. Os grãos de amido perdem a sua estrutura característica.

Colocar em um béquer de 30 mL uma porção do material vegetal. Adicionar 10 mL de solução de hidróxido de sódio a 5% e levar à ebulição durante cinco minutos. Resfriar. Transferir para um tubo de centrífuga. Centrifugar durante dois minutos. Descartar a solução sobrenadante. Lavar com água destilada. Colocar uma porção do centrifugado sobre uma lâmina com duas ou três gotas de uma mistura de glicerina-água (1:1). Colocar a lamínula e pressionar. Observar ao microscópio óptico em 10vezes e 40vezes.

Observação da droga em pó

Pesar 1 a 2 mg da droga em pó e colocar uma pequena porção, com um pincel fino e macio, sobre uma lâmina. Adicionar duas ou três gotas de solução de ácido láctico a 5% (diafanizante), e se necessário, antes de colocar a lamínula, acrescentar uma ou duas gotas de água ou de mistura de glicerol e etanol (1:1), misturando bem com o pincel. Colocar a lamínula. Observar ao microscópio óptico em 10vezes e 40vezes.

Determinação do índice de estômatos

O índice estomático é utilizado na análise de estruturas laminares, como folhas, folíolos e brácteas, contando o número de estômatos em uma determinada área da epiderme. Para essa contagem é necessário preparar porções de cerca de 0,5 cm por 0,5 cm da lâmina foliar, submersas em uma mistura de 10 mL de hidrato de cloral e água (5:2), em béquer, levando à ebulição por 10 a 15 minutos, até que o material fique transparente. Realizar a operação em capela. Colocar um pedaço da folha preparada em uma lâmina, com a epiderme abaxial voltada para cima. Para folhas muito espessas seccionar cada porção próximo à epiderme abaxial, cuidando que essa face seja colocada corretamente na lâmina, com a camada epidérmica voltada para a lamínula. Acrescentar duas a três gotas da mistura de hidrato de cloral e água (5:2) e cobrir com lamínula. Observar ao microscópio óptico, em 10vezes. Contar as células epidérmicas e os estômatos que aparecem na área. O índice é calculado segundo a equação $100S/(E+S)$, sendo S o número de estômatos em uma área determinada da superfície da folha e E o número de células epidérmicas, incluindo os tricomas existentes no mesmo campo microscópico observado. Para cada amostra, efetuar e calcular a média de, no mínimo, dez determinações.

Reações histoquímicas

As reações podem ser realizadas com material fresco ou seco seccionado, material cortado em micrótomo ou com o pó da droga vegetal. O material é colocado adequadamente distribuído sobre uma lâmina, adicionando-se uma ou duas gotas do reativo. Colocar lamínula e observar ao microscópio em 10vezes e/ou 40vezes.

Amido. Adicionar uma ou duas gotas de solução de iodo SR diluída (1:5) em água. Os grãos de amido adquirem coloração azul ou azul-violeta.

Concreções de carbonato de cálcio (cistólitos) e de cristais de oxalato de cálcio. Adicionar uma ou duas gotas de ácido clorídrico 2 M ou ácido acético a 6% (p/v). A presença de carbonato de cálcio está indicada pela efervescência. Os cristais de oxalato de cálcio demoram mais tempo a se dissolver, não desprendem bolhas e são insolúveis em ácido acético a 6%.

Hidroxiانtraquinonas. Adicionar uma gota de hidróxido de potássio a 5% (p/v). As células que contêm 1,8-diidroxiانtraquinonas coram de vermelho.

Inulina. Adicionar uma gota de solução de 1-naftol a 20% em metanol, seguido de uma gota de ácido sulfúrico. Os esferocristais de inulina coram-se de vermelho ou castanho-avermelhado e se dissolvem.

Lignina. Adicionar uma gota de floroglucina SR, aquecer rapidamente a lâmina e adicionar uma gota de ácido clorídrico a 25% (p/v). A lignina cora-se de vermelho.

Lipídeos (incluindo cutina, ceras e suberina). Adicionar uma ou duas gotas de reativo de Sudan III SR ou Sudan IV SR, deixando em contato por 10 minutos, lavar com etanol a 70% (v/v). Lipídios, cutina e suberina coram-se de laranja-avermelhado a vermelho em pouco tempo.

Pectinas e mucilagens. Submergir a amostra seca em solução de tionina, deixando repousar por 15 minutos, lavar em etanol a 20% (v/v). As mucilagens aparecem como glóbulos esféricos de coloração violeta-avermelhada, enquanto que a celulose, a pectina e os tabiques lignificados se colorem de azul ou azul-violeta. A mucilagem também aparece como fragmentos esféricos dilatados e transparentes sobre um fundo negro, adicionando-se uma gota de tinta nanquim sobre amostra seca.

Proteínas. Realizar esse procedimento somente com material fresco. Adicionar ninidrina a 0,5% (p/v) em etanol absoluto, e manter a 37 °C por 24 horas. Lavar em etanol absoluto seguido de água destilada, adicionar reativo de Schiff SR e deixar em contato por 10 a 30 minutos. Lavar em água e adicionar bissulfito de sódio a 2% (p/v), deixar em contato por um a dois minutos. Lavar em água corrente por 10 a 20 minutos. As proteínas coram-se de vermelho púrpura.

Saponinas. Adicionar uma gota de ácido sulfúrico. Ocorre uma sequência de cor amarela, seguida de cor vermelha e, finalmente, cor violeta ou azul-esverdeada.

Taninos. Adicionar cloreto férrico a 5% (p/v) e uma pequena quantidade de carbonato de sódio, deixar em contato por dois a três minutos, lavar com água destilada. Os taninos coram-se de azul-esverdeado escuro.

5.4.1.3 DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA ESTRANHA

Matéria estranha é qualquer material que não conste da definição da droga descrita na monografia correspondente. As drogas devem ser isentas de fungos, de insetos e de outras contaminações de origem animal. Salvo indicação em contrário, a porcentagem de elementos estranhos não deve ser superior a 2% (p/p). Matéria estranha à droga é classificada em três tipos: a) partes do organismo ou organismos dos quais a droga deriva, excetuados aqueles incluídos na definição e descrição da droga, acima do limite de tolerância especificado na monografia; b) quaisquer organismos, porções ou produtos de organismos não especificados na definição e descrição da droga, em sua respectiva monografia; e c) impurezas de natureza mineral ou outras sujidades, não inerentes à droga. Durante o armazenamento, os produtos devem ser mantidos em uma área limpa, de modo a evitar contaminação. Tomar precauções especiais para evitar a proliferação de fungos, uma vez que alguns deles podem produzir toxinas.

Procedimento

Se não estiver especificado de outro modo na monografia correspondente, obter por quarteamento as seguintes quantidades da amostra:

- raízes, rizomas, cascas, planta inteira e partes aéreas: 500 g;
- folhas, flores, frutos e sementes: 250 g;
- drogas vegetais fragmentadas de 0,5 g ou menores: 50 g;
- pós: 25 g.

Espalhar a amostra em camada fina sobre superfície plana. Separar, manualmente os materiais estranhos à droga, inicialmente a olho nu e, em seguida, com auxílio de lente de aumento (cinco a dez vezes). Pesar o material separado e determinar a porcentagem de matéria estranha com base no peso da amostra submetida ao ensaio.

5.4.1.4 DETERMINAÇÃO DE ÁGUA EM DROGAS VEGETAIS

Para a determinação de água em drogas vegetais são empregados três métodos: método gravimétrico (dessecação); método azeotrópico (destilação com tolueno) (5.2.20.2) e método volumétrico (Karl Fischer) (5.2.20.1). O primeiro, tecnicamente mais simples e rápido, não é aplicável quando a droga contém substâncias voláteis. O método azeotrópico é o indicado para drogas vegetais contendo óleo volátil. Os demais métodos requerem equipamentos especiais e compreendem técnicas mais complexas.

Preparo da amostra.

Reduzir a amostra por corte; granulação ou fragmentação das drogas não pulverizadas ou trituradas, de forma a limitar a dimensão de seus componentes a aproximadamente 3 mm de espessura. Sementes e frutos, mesmo de dimensões inferiores a 3 mm, devem ser quebrados. Evitar moinhos de alta velocidade para preparar a amostra e tomar as precauções necessárias para não modificar o conteúdo de umidade da amostra.

Método gravimétrico.

Transferir 1 a 10 g, ou o especificado na monografia, exatamente pesados, de amostra preparada conforme instruções anteriores, para pesa-filtro exatamente pesado, previamente dessecado nas mesmas condições a serem adotadas para a amostra, durante 30 minutos. Dessecar a amostra entre 100 °C e 105 °C durante 5 horas, até peso constante, ou seja, até que a diferença entre duas pesagens sucessivas corresponda a, no máximo, 0,25% de amostra. Calcular a porcentagem de água em relação à droga seca ao ar.

5.4.1.5 DETERMINAÇÃO DE CINZAS

As cinzas totais incluem cinzas fisiológicas e cinzas não-fisiológicas.

5.4.1.5.1 Determinação de cinzas totais

Procedimento

Pesar, analiticamente, cerca de 3 g da amostra pulverizada, ou a quantidade especificada na monografia, e transferir para cadinho de porcelana previamente tarado. Distribuir a amostra uniformemente no cadinho e incinerar aumentando, gradativamente, a temperatura até, no máximo, (600 ± 50) °C, até que todo o carvão seja eliminado. Pode ser utilizado um gradiente de temperatura (30 minutos a 200 °C, 60 minutos a 400 °C e 90 minutos a 600 °C). Resfriar em dessecador e pesar. Nos casos em que o carvão não puder ser eliminado totalmente, resfriar o cadinho e umedecer o resíduo com cerca de 2 mL de água ou solução saturada de nitrato de amônio. Evaporar até secura em banho-maria e, em seguida, colocar sobre chapa quente, e incinerar até que a diferença entre duas pesagens sucessivas seja, no máximo, 1,0 mg. Calcular a porcentagem de cinzas em relação à droga seca.

5.4.1.5.2 Determinação de cinzas sulfatadas

Procedimento

Aquecer um cadinho de porcelana ao rubro por 10 minutos, deixar esfriar em um dessecador e pesar. Pesar, com exatidão, cerca de 1,0 g da droga no cadinho previamente tarado e umedecer a droga com ácido sulfúrico concentrado. Carbonizar; e umedecer novamente com ácido sulfúrico concentrado e incinerar com aquecimento gradativo até 800 °C. Esfriar, pesar novamente, e incinerar por mais 15 minutos. Repetir esse procedimento até que a diferença entre duas pesagens sucessivas seja, no máximo, 1,0 mg.

5.4.1.5.3 Determinação de cinzas insolúveis em ácido

Cinzas insolúveis em ácido constituem o resíduo obtido na fervura de cinzas totais ou sulfatadas com ácido clorídrico diluído, após filtragem, lavagem e incineração. O método destina-se à determinação de sílica e constituintes silícicos da droga.

Procedimento

Aquecer até ebulição as cinzas obtidas, segundo indicado em cinzas totais, com 25 mL de ácido clorídrico 2 M durante 5 minutos em um cadinho coberto por um vidro de relógio. Lavar o vidro de relógio com 5 mL de água quente, juntando a água de lavagem ao cadinho. Recolher o material insolúvel em ácido em um papel de filtro com teor de cinzas conhecidas, lavado com água quente até que o filtrado se mostre neutro. Transferir o papel de filtro contendo o resíduo para o cadinho original, secar sobre chapa quente e incinerar a cerca de 500 °C até que a diferença entre duas pesagens sucessivas seja, no máximo, 1,0 mg. Calcular a porcentagem de cinzas insolúveis em ácido em relação à droga seca.

5.4.1.6 DETERMINAÇÃO DE ÓLEOS VOLÁTEIS

O teor de óleos voláteis em drogas vegetais é determinado pelo processo de hidrodestilação ou arraste de vapor, em equipamentos descritos a seguir.

O equipamento 1 (**Figura 1**), confeccionado em vidro resistente, de qualidade apropriada, compreende:

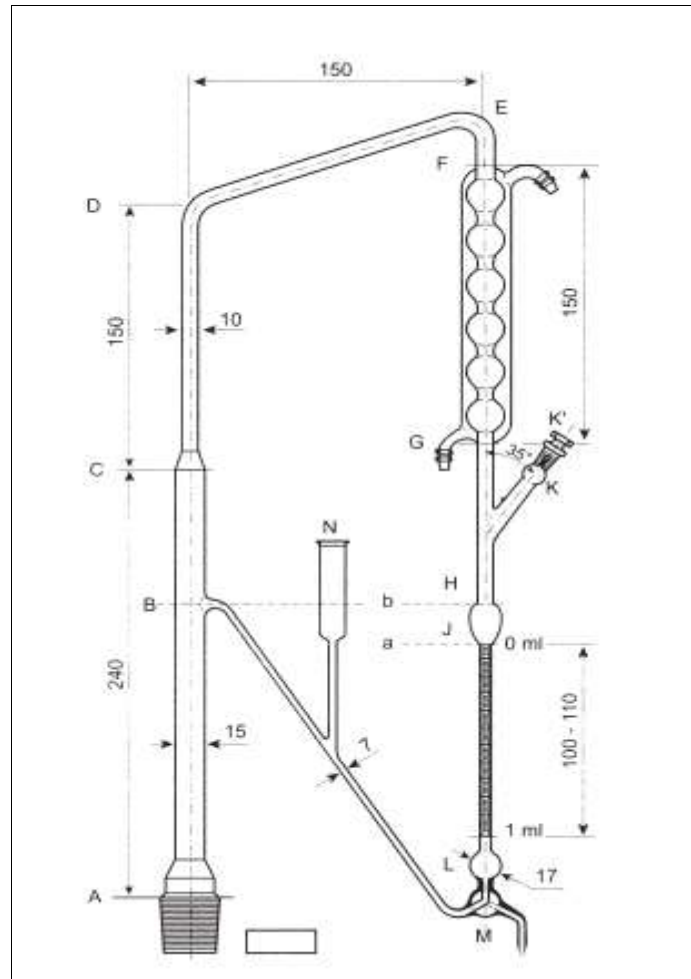


Figura 1 - Aparelho para determinação do teor de óleos voláteis em drogas vegetais pelo processo de hidrodestilação

- 1) balão de fundo redondo de 500 mL a 1000 mL de capacidade, de colo curto, provido de uma junta 24/40, fêmea;
- 2) condensador, adaptável ao balão por meio de uma junta esmerilhada 24/40, macho, construído em peça única de vidro, compreendendo as partes descritas a seguir, com as respectivas medidas:
 - 2.1) tubo vertical (AC) de 240 mm de comprimento e 13-15 mm de diâmetro interno;
 - 2.2) tubo dobrado, com segmentos (CD) e (DE) medindo 150 mm de comprimento cada e diâmetro interno de 10 mm;
 - 2.3) condensador de bolas, tipo Allihn (FG), de 150 mm de comprimento e diâmetro interno de 15 mm nas bolas e 8-10 mm nos estreitamentos;
 - 2.4) rolha (junta esmerilhada 14/20) (K') contendo orifício de cerca de 1 mm de diâmetro, que obtura uma saída lateral (K) provida de junta esmerilhada 14/20 fêmea, na extremidade;
 - 2.5) tubo (GH) de 30-40 mm de comprimento e 7-8 mm de diâmetro interno, formando as partes (HK) ângulo (GHK) de 35°;
 - 2.6) alargamento em forma de pera (J) de 3 mL de capacidade;
 - 2.7) tubo (JL) provido de escala graduada de 100-110 mm; de 1 mL de capacidade e subdividida em 0,01 mL;
 - 2.8) alargamento em forma de bola (L) de aproximadamente 2 mL de capacidade;
 - 2.9) torneira de três vias;
 - 2.10) tubo de conexão (BM) de 7-8 mm de diâmetro, provido de tubo de segurança. O ponto de inserção (B) encontra-se a 20 mm acima da parte mais alta da escala graduada;

- 3) dispositivo de aquecimento apropriado permitindo uma regulação precisa;
- 4) suporte vertical com um anel horizontal coberto com material isolante.

Utilizar um aparelho perfeitamente limpo. Depois de seco, deve ser montado em local protegido de correntes de ar. A escala graduada deve ser aferida e, se necessário, estabelecer um fator de correção para cada aparelho. Proceder ao doseamento segundo a natureza da droga em ensaio.

Procedimento

Proceder ao ensaio conforme as características da droga a ser examinada. Introduzir no balão o volume do líquido indicado na monografia correspondente e fragmentos de porcelana porosa ou pérolas de vidro. Adaptar o condensador ao balão. Introduzir a água pelo tubo (N) até alcançar o nível (B). Retirar a rolha esmerilhada (K') e introduzir na quantidade prescrita de xileno com auxílio de uma pipeta, pela abertura (K), apoiando-se a ponta da pipeta no fundo da saída lateral (K). Colocar a tampa K' assegurando que os orifícios de K e K' coincidam entre si. Aquecer o líquido no interior do balão até o início da ebulição e destilar na razão de 2 a 3 mL por minuto, ou conforme indicado na monografia correspondente.

Para determinar a velocidade da destilação, escoar a água com auxílio de torneira de três vias, até que o menisco esteja no traço de referência inferior *a* (**Figura 2**). Fechar a torneira e cronometrar o tempo necessário até o líquido alcançar a marca superior *b*. Abrir a torneira e continuar a extração por 30 minutos, modificando o aquecimento para regular a velocidade de destilação. Desligar o aquecimento, deixar esfriar por pelo menos 10 minutos e fazer a leitura do volume de xileno no tubo graduado.

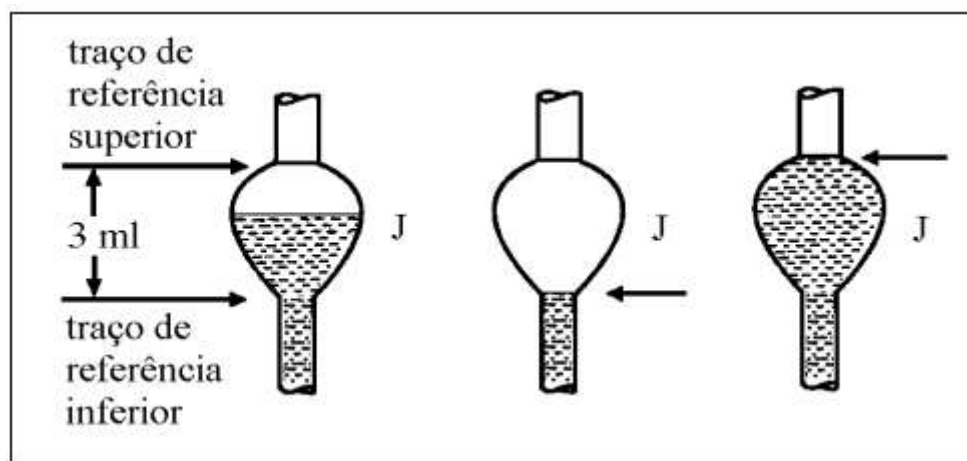


Figura 2 - Indicação para determinação da velocidade de destilação.

Introduzir no balão a quantidade de droga prescrita na monografia e destilar como descrito acima, pelo tempo e na velocidade indicada na monografia. Terminada a operação, deixar esfriar por 10 minutos e ler o volume do óleo volátil recolhido no tubo graduado. Subtrair da leitura o volume do xileno determinado anteriormente. A diferença representa a quantidade de óleo volátil contida na amostra. Calcular o resultado em mililitros de óleo volátil por 100 g da droga.

Quando a determinação de óleo volátil tem finalidade analítica, a obtenção da mistura de óleo volátil e xileno, livre de água é realizada conforme descrito a seguir: retirar a tampa K' e transferir 1,1 mL de uma solução de fluoresceinato de sódio a 0,1% e 0,5 mL de água. Reduzir o volume da mistura de óleo essencial e xileno dentro do tubo L utilizando a válvula de três vias. Deixar em repouso durante 5 minutos e retirar a mistura lentamente até o nível da válvula M. Abrir a válvula no sentido anti-horário, de modo que a água flua para fora do tubo de ligação BM. Lavar o tubo, primeiro com acetona

e depois com tolueno, introduzidos pelo tubo N. Girar a válvula no sentido anti-horário de modo que seja possível coletar a mistura de xileno e óleo volátil em recipiente apropriado.

O equipamento 2 (**Figura 3**), confeccionado em vidro resistente, de qualidade apropriada, compreende:

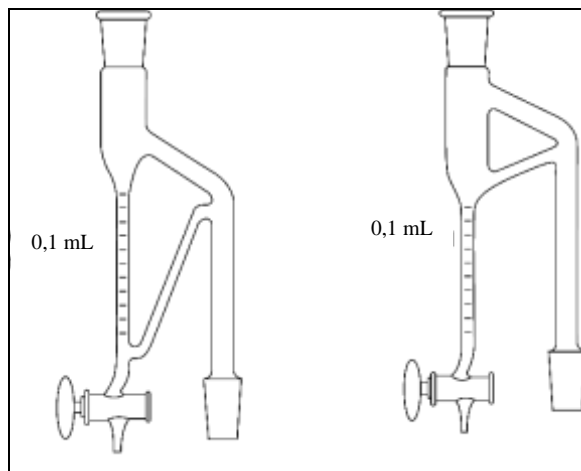


Figura 3 - Aparelho para determinação do teor de óleos voláteis em drogas vegetais pelo processo de hidrodestilação, para óleos mais e menos densos que a água.

Pesar quantidade suficiente da droga para se obter de 0,5 a 2 mL de óleo volátil em um balão de fundo redondo apropriado e adicionar água até a metade do recipiente. Conectar o condensador. Levar à fervura mantendo ebulição branda durante duas horas, ou conforme especificado na monografia.

Deixar em repouso durante 10 minutos à temperatura ambiente, abrir a torneira do aparelho e retirar a água lentamente até que a superfície da camada de óleo alcance a linha zero no tubo graduado. Deixar em repouso à temperatura ambiente por cerca de 1 hora e, em seguida, ler o volume (mL) do óleo obtido.

5.4.1.7 DETERMINAÇÃO DE ÓLEOS FIXOS

A determinação de óleos fixos baseia-se na sua extração por solvente que, depois de evaporado, deixa como resíduo o óleo cuja quantidade é determinada por pesagem.

Caso a amostra contenha uma quantidade elevada de componentes hidrossolúveis (carboidratos, ureia, ácido láctico, entre outros), pode ser necessário um pré-tratamento da amostra a fim de evitar interferência na determinação de matérias graxas. Para tanto, transferir a tomada de ensaio para funil contendo papel de filtro, lavar com água e secar o resíduo em estufa a 105 °C durante 2 horas.

Empregar o aparelho de Soxhlet (**Figura 4**). O equipamento, confeccionado em vidro resistente, de qualidade apropriada, compreende balão de fundo redondo (A), com 500 mL a 1000 mL de capacidade, conectado ao extrator Soxhlet (B) e condensador de refluxo (C).

Antes da utilização, o aparelho deve ser adequadamente limpo. Depois de seco, deve ser montado em local protegido de correntes de ar.

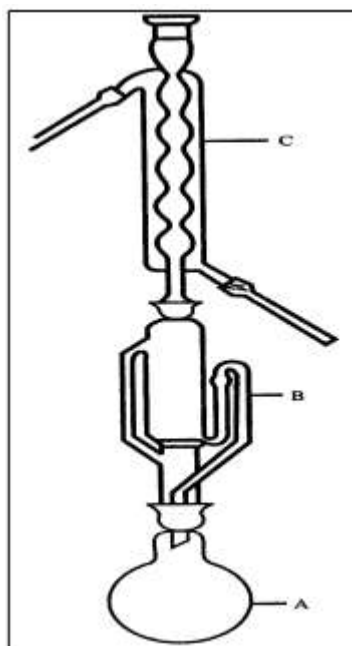


Figura 4 - Aparelho de Soxhlet.

Procedimento

Transferir, quantitativamente, cerca de 10 g de droga previamente dessecada conforme descrito em *Determinação de água em drogas vegetais, Método gravimétrico*, e transferir para aparelho extrator de Soxhlet (B), cobrindo-a com algodão desengordurado. Pesar o balão (A) limpo e seco (contendo fragmentos de porcelana ou contas de vidro) e montá-lo no aparelho sobre banho-maria, tomando a precaução de assegurar vedação na junta esmerilhada do balão (recomenda-se operação em capela). Transferir para o extrator éter de petróleo em quantidade suficiente para realizar três sifonagens e encaixar o condensador de refluxo (C). Proceder à extração sob aquecimento suficiente para manter o solvente em ebulição moderada durante 4 horas.

Concluída a extração, aguardar esfriamento, transferir o conteúdo do cartucho para almofariz de porcelana e adicionar quantidade aproximadamente igual de areia lavada e seca. Pulverizar a droga e transferi-la novamente, no interior do cartucho, para o extrator. Reiniciar e manter a extração nas condições acima por período adicional de 2 horas. Desligar o balão do aparelho e evaporar o solvente (de preferência por destilação sob corrente de dióxido de carbono). Transferir o balão para estufa a 105 °C, resfriar e pesar. Repetir a operação até peso constante. Calcular a porcentagem de óleos fixos na droga com base na massa de droga pesada e na massa de óleo obtida.

5.4.1.8 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ESPUMA

Pesar, exatamente, 1 g do material vegetal reduzido a pó fino (malha de 180 μm) e transferir para erlenmeyer contendo 50 mL de água fervente. Manter sob fervura durante 30 minutos. Resfriar, filtrar para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume, através do filtro, para 100 mL. Distribuir o filtrado obtido, em 10 tubos de ensaio com tampa (16 mm de diâmetro por 16 cm de altura), em séries sucessivas de 1, 2, 3, até 10 mL, e ajustar o volume do líquido em cada tubo a 10 mL com água. Tampar os tubos e agitá-los com movimentos verticais por 15 segundos, com duas agitações por segundo. Deixar em repouso por 15 minutos e medir a altura da espuma.

Se a altura da espuma de todos os tubos for inferior a 1 cm, o índice de espuma é menor do que 100. Se, em qualquer um dos tubos, a altura da espuma medida for 1 cm, a diluição do material vegetal

nesse tubo (A) é o índice observado. Se esse tubo for o primeiro ou segundo na série, é necessário fazer uma diluição intermediária, pelo mesmo método descrito anteriormente, para obter um resultado mais preciso. Se a altura da espuma for maior do que 1 cm em todos os tubos, o índice de espuma é maior do que 1000. Nesse caso, a determinação deve ser feita com uma nova série de diluições do decocto para se obter um resultado preciso. O índice de espuma é calculado segundo a equação $1000/A$, sendo A o volume, em mililitros, do decocto usado para preparação da diluição no tubo onde a espuma foi observada.

5.4.1.9 DETERMINAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS EXTRAÍVEIS

Esse método determina a quantidade de constituintes ativos extraídos com solventes de uma determinada quantidade de material vegetal. É empregado para materiais para os quais ainda nenhum ensaio químico ou biológico adequado existe.

MÉTODO A: EXTRAÇÃO A FRIO

Pesar um Erlenmeyer de 250 mL, de boca esmerilhada e transferir para ele, quantitativamente, cerca de 4,0 g de droga vegetal seca e pulverizada. Macerar, com 100 mL de solvente especificado no ensaio para a droga vegetal, durante 6 horas, agitando frequentemente, e deixar em repouso por 18 horas. Filtrar, rapidamente, sem deixar perder qualquer quantidade de solvente; transferir 25 mL do filtrado para um cristalizador previamente pesado e evaporar até secura em banho de água. Secar em estufa a 105 °C até peso constante. Calcular a porcentagem de materiais extraídos em mg/g de material vegetal seco (*Determinação de água em drogas vegetais*).

MÉTODO B: EXTRAÇÃO A QUENTE

Pesar um Erlenmeyer de 250 mL, de boca esmerilhada, transferir para ele, quantitativamente, cerca de 4,0 g de droga vegetal seca e pulverizada. Adicionar 100 mL de solvente especificado no ensaio para a droga vegetal e pesar para obter o peso total, incluindo o frasco. Tampar, agitar bem e deixar descansar por 1 hora. Acoplar um condensador de refluxo e aquecer, suavemente, por 1 hora, resfriar e pesar. Corrigir o peso original com o solvente utilizado. Agitar e filtrar, rapidamente, num filtro seco. Transferir 25 mL do filtrado para um cristalizador previamente pesado e evaporar até secura em banho de água. Secar em estufa a 105 °C até peso constante. Calcular a porcentagem de materiais extraídos em mg/g de material vegetal seco (*Determinação de água em drogas vegetais*).

MÉTODO C: EXTRAÇÃO POR SOXHLET

Pesar, com exatidão, cerca de 2 g da droga e transferir para cartucho do extrator de Soxhlet, previamente tarado e seco. Introduzir no balão do extrator 0,2 g de hidróxido de sódio e etanol absoluto em quantidade suficiente. Extrair por 5 horas, retirar o cartucho com o resíduo e secá-lo em estufa a 105 °C até peso constante. Calcular a porcentagem de materiais extraídos em mg/g de material vegetal seco (*Determinação de água em drogas vegetais*).

5.4.1.10 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE AMARGOR

O índice de amargor de uma substância, um líquido ou um extrato é o inverso da diluição limite que ainda apresenta sabor amargo. É determinado pela comparação com cloridrato de quinina cujo índice de amargor é estabelecido em 200.000.

Determinação do fator de correção

É recomendado que o grupo de experimentadores seja constituído de no mínimo seis pessoas nesse ensaio. Cada experimentador deve enxaguar sua boca com água potável antes do ensaio. Para corrigir as diferenças individuais na determinação do sabor amargo entre os experimentadores é necessário determinar o fator de correção para cada membro.

Solução estoque

Dissolver 0,1 g de cloridrato de quinina em água potável e diluir até 100 mL com o mesmo solvente. Diluir 1,0 mL dessa solução para 100 mL com água potável.

Soluções de referência

Preparar uma série de diluições adicionando no primeiro tubo 3,6 mL da solução estoque e aumentando o volume em 0,2 mL em cada tubo subsequente até um total de 5,8 mL. Completar o volume de cada tubo para 10,0 mL com água potável.

Determinar a maior diluição que ainda apresenta sabor amargo. Colocar na boca 10 mL da solução mais fraca e passá-la de um lado para o outro por baixo da língua durante 30 segundos. Se não for encontrado nítido sabor amargo, rejeitar a solução e esperar 1 minuto. Enxaguar a boca com água potável. Depois de 10 minutos, testar a solução subsequente em ordem crescente de concentração. Calcular o fator de correção (k) para cada experimentador usando a expressão a seguir:

$$k = \frac{n}{5,00}$$

n = volume em mililitros da maior diluição da solução estoque em que foi encontrado nítido sabor amargo.

Experimentadores incapazes de sentir nítido sabor amargo na solução de referência preparada com 5,8 mL da solução estoque devem ser excluídos do grupo.

Preparação da amostra

Se necessário, reduzir a amostra a pó (710 μ m). Para 1,0 g da amostra e adicionar 100 mL de água potável fervente. Aquecer em banho-maria por 30 minutos, agitando continuamente. Deixar esfriar e compensar o volume de água evaporada com água potável. Agitar vigorosamente e filtrar, descartando os primeiros 2 mL do filtrado. O filtrado é denominado C-1 e tem um fator de diluição (FD) de 100.

Para amostras líquidas, tomar 1 mL e diluir com solvente apropriado para 100 mL denominando-a C-1.

Determinação do índice de amargor

Soluções amostra:

10,0 mL de C-1 é diluído com água para 100 mL:	C-2	FD 1000
10,0 mL de C-2 é diluído com água para 100 mL:	C-3	FD 10 000
20,0 mL de C-3 é diluído com água para 100 mL:	C-3A	FD 50 000
10,0 mL de C-3 é diluído com água para 100 mL:	C-4	FD 100 000

Iniciando pela diluição C-4, cada experimentador determina a diluição na qual sente o nítido sabor amargo. Essa solução é designada D. A FD dessa solução D é igual Y.

Iniciando pela solução D, preparar sequência de diluição conforme **Tabela 2**.

Tabela 2 - Sequência de diluição da solução D para determinação de índice de amargor.

<i>Solução D (mL)</i>	1,2	1,5	2,0	3,0	6,0	8,0
<i>Água potável (mL)</i>	8,8	8,5	8,0	7,0	4,0	2,0

Determinar o volume em mililitros da solução D em que, quando diluída para 10 mL, ainda apresenta nítido sabor amargo (X).

Calcular o Índice de Amargor para cada experimentador conforme a fórmula:

$$IA = \left(\frac{Y \times k}{X \times 0,1} \right)$$

O Índice de Amargor da amostra é o valor médio dos experimentadores.

5.4.1.11 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE INTUMESCÊNCIA

O índice de intumescência é a medida do volume ocupado pelo intumescimento de 1 g da droga, pela adição de água ou outro agente intumescente, em condições definidas.

Conduzir, simultaneamente, no mínimo, três determinações. Pesar, exatamente, 1 g da droga vegetal pulverizada e colocar em proveta de 25 mL de boca esmerilhada. O comprimento da parte graduada deve ser de, aproximadamente, 125 mm e o diâmetro, interno, próximo a 16 mm, subdividido em 0,2 mL, marcado de 0 a 25 mL, de forma ascendente. Adicionar 25 mL de água, ou outro agente definido, e agitar a cada 10 minutos, por uma hora. Deixar a mistura repousar por 3 horas, à temperatura ambiente. Medir o volume, em mililitros, ocupado pelo material vegetal acrescido da mucilagem ou qualquer outro material aderido subtraído do volume inicial da droga. Calcular o valor médio obtido a partir das várias determinações individuais realizadas e relacionar a 1 g de material vegetal.

5.4.2 MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E ANÁLISE DE EXTRATOS VEGETAIS

5.4.2.1 MÉTODOS DE PREPARAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS

PRODUÇÃO

Extratos são produzidos por meio de processo apropriado empregando álcool etílico ou outro líquido extrator apropriado. Lotes diferentes de uma droga vegetal específica podem ser combinados antes da extração. A droga também pode ser submetida a tratamentos preliminares tal como a inativação de enzimas, trituração ou desengorduramento. Adicionalmente, substâncias indesejáveis (p. ex., tóxicas ou insolúveis), podem ser removidas após a operação de extração.

Drogas vegetais, solventes orgânicos devem atender as exigências das respectivas monografias. E outros materiais utilizados para a preparação de extratos devem ter a qualidade adequada e devem estar em conformidade com os requisitos farmacopeicos e de boas práticas de fabricação. Solventes recuperados a partir do processo de concentração ou secagem de extratos podem ser reutilizados desde que os processos de recuperação sejam controlados e monitorados, de modo que assegure que o solvente atenda as especificações antes de sua reutilização ou mistura com outros materiais. A água utilizada para a produção de extratos deve estar em conformidade com as exigências da monografia de água purificada.

Quando aplicável, as soluções extrativas podem ser concentradas até a consistência pretendida, utilizando métodos adequados, geralmente sob pressão reduzida e em temperatura na qual a possibilidade de degradação dos constituintes é reduzida.

Óleos voláteis que foram separados durante o processamento, podem ser incorporados aos extratos em etapa apropriada do processo de produção.

Excipientes adequados podem ser adicionados em diferentes fases do processo de produção para incrementar as propriedades tecnológicas (por exemplo, como parte do processo de secagem, ou para melhorar a homogeneidade ou a manutenção das qualidades do extrato).

A extração com um determinado solvente leva a obtenção de constituintes típicos a partir da secagem do líquido extrator. Durante a produção de extratos padronizados e quantificados, procedimentos de purificação podem ser aplicados para aumentar a proporção de determinados constituintes. Tais extratos são denominados como purificados.

IDENTIFICAÇÃO

Os extratos são identificados utilizando métodos adequados.

TESTES

No processo de produção dos extratos, os testes para verificar a qualidade microbiológica (5.5.3.1), metais pesados (5.3.2.3), micotoxinas (5.4.4), e resíduos de pesticidas (5.4.3), podem ser necessários, conforme regulamento específico. Sempre que um teste para metais pesados é realizado na droga vegetal, os mesmos limites para os metais pesados indicados nas monografias das drogas vegetais são aplicáveis aos extratos, salvo indicação em contrário na monografia do extrato individual, ou salvo motivo justificado e autorizado.

ENSAIOS

Os extratos devem ser analisados por métodos preconizados.

ROTULAGEM

O rótulo deve informar:

- nome da droga;
- a forma do extrato (por exemplo, líquido, tintura, mole, seco ou oleoresina);
- se o extrato é padronizado, quantificado ou outros;
- para extratos padronizados, a definição do conteúdo dos constituintes responsáveis pela atividade terapêutica;
- para extratos quantificados, a faixa especificada do conteúdo de marcadores;
- quando aplicável, se o extrato é purificado;
- razão entre a quantidade de droga e a quantidade de extrato líquido (solução extrativa) ($RDE_{\text{genuíno}}$) expresso como relação massa/massa para extratos moles, oleoresinas e extratos secos, e, tanto em massa/massa ou massa/volume para as preparações de extratos líquidos;
- solvente ou solventes utilizados na extração;
- nome e quantidade de quaisquer excipientes presentes no extrato, inclusive estabilizantes e conservantes;
- para extratos quantificados e outros extratos, a razão entre a quantidade de droga e a quantidade de extrato líquido (solução extrativa) ($RDE_{\text{genuíno}}$) expresso como relação massa/massa para

- extratos moles, oleoresinas e extratos secos, e, tanto em massa/massa ou massa/volume para as preparações de extratos líquidos;
- quando aplicável, a porcentagem de resíduo seco;
 - as condições de armazenamento.

Preparações extrativas líquidas

Preparações extrativas líquidas consistem em produtos diversificados, obtidos por extração à líquido, descritos por seus solventes de extração, métodos de produção e relação droga-solvente ou relação droga-extrato. Incluem produtos obtidos utilizando como solventes de extração etanol, água, glicerol, propilenoglicol e óleos fixos. Extratos fluidos e tinturas pertencem a essa categoria.

5.4.2.1.1 Extrato fluido

Extratos fluidos são preparados utilizando etanol, misturas hidroetílicas em proporções apropriadas, ou água. Quando necessário, outras substâncias poderão ser adicionadas (por exemplo, glicerol ou solução de amônia) para auxiliar na extração ou na dissolução de um extrato mole ou seco da droga vegetal (os quais devem ser produzidos usando o mesmo solvente de extração que seria utilizado para preparar o extrato fluido por extração direta) tanto em água ou etanol na concentração necessária.

Extratos fluidos podem ser ajustados, se necessário, de modo a satisfazer os quesitos de conteúdo de solvente. Extratos fluidos podem ser filtrados, se necessário.

Um leve sedimento pode se formar quando em repouso.

PROCESSOS DE PREPARAÇÃO DE EXTRATOS FLUIDOS

Em sua maioria são preparados por um dos quatro processos gerais, descritos a seguir e designados pelas letras **A**, **B**, **C** e **D**.

O tempo de maceração e a vazão da percolação variam de acordo com a droga, visando extrair completamente os marcadores específicos da droga.

A vazão do percolato é determinada pelas expressões percolar lentamente (até 1 mL por minuto); percolar rapidamente (3 a 5 mL por minuto) e percolar à velocidade moderada (1 a 3 mL por minuto), em referência à extração de 1000 g de droga.

Um extrato, que, com o tempo, deposite algum sedimento, pode ser filtrado ou decantado, desde que o líquido resultante obedeça às especificações farmacopeicas.

São os seguintes processos gerais de produção:

5.4.2.1.1.1 “Processo A”

Esse processo é empregado na preparação dos extratos fluidos por percolação, no qual o líquido extrator é o etanol ou uma mistura hidroetílica.

Procedimento

Umedecer uniformemente 1000 g da droga pulverizada, com quantidade suficiente do líquido extrator indicado, e deixar em maceração em recipiente apropriado até o intumescimento da droga vegetal. Em seguida, transferir para um percolador. Comprimir a droga fortemente e verter sobre ela quantidade adicional e suficiente de líquido extrator até restar um excesso de líquido sobrenadante.

Quando o líquido começar a gotejar, fechar a saída inferior do percolador, tampar e deixar macerar pelo tempo prescrito na monografia. Proceder à percolação na velocidade especificada, adicionando mais líquido extrator até esgotar a droga. Coletar separadamente os primeiros 850 mL do percolato (se não houver outra determinação na monografia). Continuar a percolação até esgotamento da droga e concentrar esse percolato restante até a consistência xaroposa, em temperatura que não exceda 60 °C. Adicionar esse extrato concentrado ao percolato previamente separado e, adicionar, se necessário, quantidade suficiente de líquido extrator empregado, para obter 1000 mL de extrato fluido. Esse processo pode ser substituído pelo **Processo C**.

5.4.2.1.1.2 “Processo B”

Empregar esse processo na preparação dos extratos fluidos em cuja extração são usadas, além do etanol ou da mistura hidroetífica, quantidades determinadas de outros componentes, tais como ácidos, bases ou polióis (glicerol, etilenoglicol etc.), utilizados, sucessivamente, em dois líquidos extractores. O *líquido extrator I* contém mistura hidroetífica e outros componentes na proporção exigida para a quantidade de droga empregada e o *líquido extrator II*, uma mistura hidroetífica, na proporção indicada, utilizada para completar o esgotamento da droga.

Procedimento

Umedecer uniformemente 1000 g da droga pulverizada com quantidade suficiente do *líquido extrator I* (essa operação requer de 600 mL a 800 mL de líquido extrator). Deixar a droga, assim umedecida, em repouso por cerca de 15 minutos. A seguir, transferir para um percolador, comprimir a droga fortemente, e adicionar o restante do *líquido extrator I*. Quando o líquido começar a gotejar, fechar a saída do percolador, tampar e deixar a droga em maceração durante o tempo prescrito na monografia. Proceder à percolação na vazão indicada e, quando o nível do *líquido extrator I* atingir a superfície da droga, continuar a percolação com o *líquido extrator II* até o esgotamento da droga. Coletar separadamente os primeiros 850 mL de percolato. Continuar a percolação até esgotamento da droga e concentrar esse percolato restante até a consistência xaroposa, em temperatura que não exceda 60 °C. Adicionar esse extrato concentrado ao percolato previamente separado e, juntar, se necessário, quantidade suficiente de *líquido extrator II*, para obter 1000 mL de extrato fluido ou ajustar o volume de acordo com doseamento.

O processo pode ser substituído pelo **Processo C**, com o devido ajuste no líquido extrator.

5.4.2.1.1.3 “Processo C”

Esse processo é o da percolação fracionada, especialmente em substituição aos processos **A** ou **B** e indicado para as drogas que contêm constituintes voláteis ou termolábeis e/ou quando não houver equipamento adequado para concentração e destilação. Ao empregar o **Processo C** em substituição ao **Processo B**, empregar o *líquido extrator I* em todo o transcurso de percolação.

Procedimento

Dividir 1000 g da droga pulverizada em três porções de 500 g, 300 g e 200 g respectivamente. Umedecer uniformemente a primeira porção (500 g) com quantidade suficiente do líquido extrator. Transferir o pó umedecido para um percolador adequado, cuja capacidade não deve exceder, de muito, o volume da droga no percolador. Adicionar líquido extrator até cobrir completamente a droga e macerar pelo tempo prescrito na monografia. A seguir proceder à percolação, coletando separadamente os primeiros 200 mL (F1) e recolher depois, separadamente, cinco frações sucessivas de 300 mL de percolato, numerando-as na ordem em que forem obtidas (F2-F6).

Umedecer a segunda porção da droga (300 g), com quantidade suficiente do percolato F2; percolar, procedendo como com a primeira porção da droga, usando como líquido extrator, as porções restantes do percolato (F3-F6), obtidas na primeira operação, e usando-as na ordem em que foram recolhidas. Coletar e separar os primeiros 300 mL do novo percolato (F7) e recolher mais cinco frações, de 200 mL, cada uma, numerando-as na ordem em que forem obtidas (F8-F12).

Umedecer a terceira porção da droga (200 g) com quantidade suficiente do percolato F8 e proceder à percolação como na operação precedente, empregando como líquido extrator as frações de 200 mL de percolato da segunda porção (F9-F12), na ordem em que foram recolhidas. Se não houver doseamento, recolher e separar 500 mL de percolato (F13). Misturar os três percolatos (F1, F7 e F13) separados das três porções da droga, para obter 1000 mL de extrato fluido.

Quando necessário dosear o extrato fluido preparado pelo **Processo C**, recolher e separar somente 420 mL de percolato da terceira porção ao invés dos 500 mL determinados anteriormente (F13). Misturar os três percolatos separados (F1, F7 e F13), obtidos das três porções da droga e dosear uma fração da mistura. Se o teor for maior que o preconizado, ajustar usando o líquido extrator. Se o teor for menor que o preconizado, esgotar o líquido extrator do percolador e repetir a extração iniciando com o percolato mais concentrado (F1, F7 e F13) e em seguida os percolatos restantes.

5.4.2.1.1.4 “Processo D”

Esse processo é empregado para preparar extratos fluidos nos quais o líquido extrator é água fervente, adicionando-se etanol ao percolato concentrado, como conservante.

Procedimento

A 1000 g da droga grosseiramente pulverizada juntar cerca de 3000 mL de água fervente, misturar bem e deixar em maceração em recipiente adequado por 2 horas. Transferir para um percolador e eluir na velocidade especificada, juntando, pouco a pouco, água fervente até completo esgotamento da droga. Evaporar os percolatos, em banho-maria ou em destilador a vácuo, até o volume determinado; deixar esfriar, juntar o etanol e deixar a mistura em repouso, em recipiente fechado, durante 24 horas. Decantar o líquido transparente, filtrar o restante, misturando-os e lavar o resíduo do filtro, com quantidade suficiente do líquido extrator de modo a obter 1000 mL.

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). Quando aplicável, o extrato fluido deve estar em conformidade com os limites prescritos.

Etanol (5.3.3.8). Para extratos fluidos etanólicos, deve-se realizar a determinação do teor de etanol. O teor de etanol deve estar em conformidade com os limites prescritos.

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Máximo de 0,05% (v/v) para extratos fluidos etanólicos, a menos que prescrito de outra forma ou justificado e autorizado.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). Quando aplicável, o extrato fluido deve estar em conformidade com os limites prescritos.

ARMAZENAMENTO

Proteger da luz

ROTULAGEM

Os rótulos devem conter, além dos requisitos listados acima, o teor de etanol em porcentagem (v/v), quando aplicável.

5.4.2.1.2 Tinturas

Tinturas são normalmente preparadas por maceração ou percolação, usando etanol em concentração apropriada para extrair a droga vegetal, ou por dissolução de um extrato mole ou seco da droga vegetal (que tenham sido produzidos utilizando o mesmo solvente de extração que seria usado para preparar a tintura por extração direta) em etanol na concentração requerida.

As tinturas podem ser ajustadas, se necessário, de modo a satisfazer os quesitos de conteúdo de solvente. Tinturas podem ser filtradas, se necessário.

Um leve sedimento pode se formar quando em repouso.

5.4.2.1.2.1 Produção de tinturas por maceração.

Processo no qual, salvo indicação em contrário, a droga vegetal é cominuída a uma granulometria apropriada, misturada com o solvente de extração definido e deixada em repouso num recipiente fechado durante um tempo apropriado, com agitação, quando necessário. O marco é separado da solução extrativa e, se necessário, prensado. Nesse caso, o líquido é adicionado à solução extrativa e o volume/massa do produto final é ajustado.

5.4.2.1.2.2 Produção de tinturas por percolação.

Processo no qual, salvo indicação em contrário, a droga vegetal é cominuída a uma granulometria apropriada e misturada com uma porção do solvente da extração prescrito e deixada intumescer durante um tempo apropriado. A mistura é transferida para um percolador e o solvente de extração é adicionado até que a droga vegetal esteja completamente coberta com uma camada de solvente de extração. O percolado é deixado fluir lentamente, recolhido na base do percolador, enquanto mais solvente de extração é lentamente adicionado ao topo do percolador, assegurando que a droga vegetal esteja constantemente coberta com solvente de extração, até que tenha sido adicionado todo o solvente. A percolação continua até que o percolado seja recuperado. Se o marco é prensado, os dois líquidos são combinados.

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). Quando aplicável, a tintura deve estar em conformidade com os limites prescritos.

Etanol (5.3.3.8). O teor de álcool etílico deve estar em conformidade com os limites definidos nas monografias individuais.

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Máximo de 0,05% (v/v), a menos que definido de outra forma ou justificado e autorizado.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). Quando aplicável, a tintura deve estar em conformidade com os limites definidos.

ARMAZENAMENTO

Proteger da luz

ROTULAGEM

Os rótulos devem conter, além dos requisitos listados acima, o teor de álcool etílico em porcentagem (v/v).

5.4.2.1.3 Extratos moles

TESTES

Resíduo seco (5.4.2.2.2). O extrato mole deve estar em conformidade com os limites definidos.

Solventes. Resíduos de solventes devem ser controlados, a menos que definido ou justificado e autorizado.

ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermético, protegido da luz.

5.4.2.1.4 Oleoresina

Os requisitos abaixo se aplicam a oleoresinas produzidas por extração e não oleoresinas naturais.

TESTES

Água (5.2.20). A oleoresina deve estar em conformidade com os limites definidos.

Solventes. Resíduos de solventes devem ser controlados, a menos que definido ou justificado e autorizado.

ARMAZENAMENTO

Em um recipiente hermético, protegido da luz.

5.4.2.1.5 Extrato seco

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). Quando aplicável, o extrato seco deve estar em conformidade com os limites definidos.

Água (5.2.20). Quando o teste de perda por dessecação não for aplicável, o extrato seco deve estar em conformidade com os limites definidos.

Solventes. Resíduos de solventes devem ser controlados, a menos que definido ou justificado e autorizado.

ARMAZENAMENTO

Em um recipiente hermético, protegido da luz.

5.4.2.2 MÉTODOS DE ANÁLISE DE EXTRATOS VEGETAIS

5.4.2.2.1 Determinação de metanol e 2-propanol em extratos fluidos

Proceder à destilação do extrato conforme descrito em *Determinação de etanol (5.3.3.8.1)*. Examinar o destilado por *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*, utilizando cromatógrafo provido de detector de ionização de chama, coluna cromatográfica de vidro com 2 m de comprimento e 2 mm de diâmetro interno, empacotada com copolímero de etilvinilbenzeno / divinilbenzeno, partículas de 125 µm a 150 µm, e nitrogênio para cromatografia como gás de arraste, com fluxo de 30 mL/minuto. Manter a temperatura da coluna em 130 °C, a temperatura do injetor em 200 °C e a temperatura do detector em 220 °C.

Solução padrão interno: solução de 1-propanol a 2,5% (v/v) em água.

Solução amostra: adicionar a um volume determinado do destilado 2 mL da *solução padrão interno*. Diluir para 50 mL com água ou etanol a 90% (v/v), ajustando o teor de etanol para 10% (v/v).

Solução padrão: preparar 50 mL de solução contendo 2 mL de *Solução padrão interno*, 10% de etanol (v/v), 0,05% de 2-propanol (v/v) e 0,05% de metanol anidro (v/v).

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular os teores de metanol e 2-propanol em relação à amostra submetida à destilação a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

5.4.2.2.2 Determinação de resíduo seco dos extratos

Em um cristalizador, de cerca de 50 mm de diâmetro e 30 mm de altura, pesar, rapidamente, 2 g ou medir 2,0 mL de extrato. Evaporar à secura em banho de água e secar em estufa entre 100 °C e 105 °C durante três horas. Esfriar em dessecador em presença de pentóxido de difósforo concentrado, ou gel de sílica anidro concentrado e pesar. Expressar o resultado em porcentagem m/m ou em g/L.

5.4.2.2.3 Perda por dessecação dos extratos

Em um cristalizador, de cerca de 50 mm de diâmetro e 30 mm de altura pesar 0,5 g de extrato seco e pulverizado. Secar em estufa entre 100 °C e 105 °C durante três horas. Esfriar em dessecador em presença de pentóxido de difósforo concentrado, ou gel de sílica anidro concentrado, e pesar. Expressar o resultado em porcentagem m/m.

5.4.3 RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS

Para efeitos da Farmacopeia, um agrotóxico é qualquer substância ou mistura de substâncias destinadas a prevenir; eliminar ou controlar qualquer praga; espécies não desejadas de plantas ou animais que causam prejuízo ou que interferem de qualquer outra forma na produção, elaboração, armazenamento, transporte ou comercialização de drogas vegetais. A definição compreende também substâncias empregadas como reguladoras de crescimento, hormônios, desfolhantes e dessecantes, assim como qualquer outra substância aplicada à culturas antes ou depois da colheita/coleta para prevenir a deterioração durante o armazenamento e transporte. Os resíduos de agrotóxicos devem ser controlados em drogas vegetais e seus derivados.

Limites

A menos que indicado na monografia específica, a droga vegetal a ser examinada deve estar de acordo minimamente com os limites indicados na tabela a seguir. O limite a ser aplicado aos agrotóxicos não estabelecidos na tabela e cuja presença é suspeita por qualquer razão devem estar de acordo com os limites referenciados na legislação brasileira. Os limites que não estiverem listados na tabela ou indicados na legislação brasileira devem ser calculados conforme as seguintes fórmulas.

$$LAR_{DV} = (IDA \times M) / (DDD_{DV} \times 100)$$

Em que:

LAR_{DV} = Limite Aceitável de Resíduos de Agrotóxicos em mg/kg da droga vegetal;

IDA = Ingestão Diária Aceitável de agrotóxicos em mg/kg de peso corporal, conforme legislação vigente;

M = peso corporal em kg (tomando-se como convenção 60 kg);

DDD = Dose Diária da Droga em kg;

O fator de 100 corresponde à participação da ingestão da droga na dieta diária (1%). Para casos especiais, esse fator pode ser alterado segundo os hábitos alimentares da população devidamente documentados.

Os limites máximos de resíduos de agrotóxicos em derivados vegetais se calculam pela fórmula a seguir:

$$\text{Se } RDE \leq 10 \quad LAR_D = LAR_{DV} \times RDE$$

$$\text{Se } RDE > 10 \quad LAR_D = (IDA \times M) / (DDD_D \times 100)$$

Em que:

LAR_{DV} = Limite Aceitável de Resíduos de Agrotóxicos em mg/kg da droga vegetal constante na tabela a seguir; na legislação vigente ou calculado conforme formula anterior;

LAR_D = Limite aceitável de resíduos de agrotóxicos em mg/kg do preparado do derivado vegetal.

RDE = Relação droga extrato.

As análises podem ser dispensadas total ou parcialmente pela autoridade competente conforme formas de obtenção da matéria-prima que indiquem ausência do risco em relação à presença de resíduos de agrotóxicos.

<i>Substância</i>	<i>Limite (mg/kg)</i>
Acefato	0,1
Alacloro	0,05
Aldrin e dieldrin (soma de)	0,05
Azinfós – etílico	0,1
Azinfós – metílico	1
Bromofós – etílico	0,05
Bromofós – metílico	0,05
Bromopropilato	3
Clordano (soma de <i>cis-</i> , <i>trans</i> - e oxiclordano)	0,05
Clorfenvinfós	0,5
Clorpirifós-etílico	0,2
Clorpirifós-metílico	0,1
Clortal – dimetílico	0,01

Ciflutrina (soma de)	0,1
λ -Cialotrina	1
Cipermetrina e isômeros (soma de)	1
DDT (soma de <i>o,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDE, <i>o,p'</i> -DDT, <i>p,p'</i> -DDT, <i>o,p'</i> -TDE e <i>p,p'</i> -TDE)	1
Deltametrina	0,5
Diazinona	0,5
Diclofuanida	0,1
Diclorvós	1
Dicofol	0,5
Dimetoato e ometoato (soma de)	0,1
Ditiocarbamatos (expresso como CS ₂)	2
Endosulfan (soma de isômeros e sulfato de endosulfan)	3
Endrin	0,05
Etiona	2
Etrinfós	0,05
Fenclorfós/ Fenclorfós-oxona (soma de Fenclorfós e Fenclorfós-oxona)	0,1
Fenitrotiona	0,5
Fenpropatrina	0,03
Fensulfotona (soma de fensulfotona, fensulfotona-oxona, fensulfotona-oxossulfona e fensulfotona-sulfona)	0,05
Fentiona (soma de fentiona, fentiona-oxona, fentiona-oxona-sulfona, fentiona-oxona-sulfóxido, fentiona-sulfona e fentiona-sulfóxido)	0,05
Fenvalerato	1,5
Flucitrinato	0,05
τ -Fluvalinato	0,05
Fonofós	0,05
Heptacloro (soma de heptacloro, <i>cis</i> – heptacloroepóxido e <i>trans</i> – heptacloroepóxido)	0,05
Hexaclorobenzeno	0,1
Hexaclorociclohexano (soma de isômeros α -, β -, δ - e ϵ)	0,3
Lindan (γ – hexaclorociclohexano)	0,6
Malationa e Malaoxona (soma de)	1
Mecarbam	0,05
Metacrifós	0,05
Metamidofós	0,05
Metidationa	0,2
Metoxicloro	0,05
Mirex	0,01
Monocrotofós	0,1
Parationa – etílica e Paraoxona – etílica (soma de)	0,5
Parationa – metílica e Paraoxona – metílica (soma de)	0,2
Pendimetalina	0,1
Pentacloroanisol	0,01
Permetrina e isômeros (soma de)	1
Fosalona	0,1
Fosmete	0,05
Butóxido de piperonila	3
Pirimifós – etílico	0,05
Pirimifós – metílico (soma de pirimifós – metílico e N – disetil pirimifós – metílico)	4
Procimidona	0,1

Profenofós	0,1
Protiofós	0,05
Piretro (soma de cinerina I, cinerina II, jasmolina I, jasmolina II, piretrina I e piretrina II)	3
Quinalfós	0,05
Quintozeno (soma de quintozeno, pentacloroanilina e sulfureto pentaclorofenil metílico)	1
S-421	0,02
Tecnazene	0,05
Tetradifona	0,3
Vinclozolina	0,4

Amostragem

Deve ser realizada de acordo com os critérios estabelecidos em *Métodos gerais*.

Análise qualitativa e quantitativa de resíduos de agrotóxicos

Os procedimentos analíticos empregados devem ser validados de acordo com o documento SANCO em sua versão mais atualizada “*Guidance Document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues in food and feed*” e atender no mínimo os critérios a seguir.

O método de extração escolhido deve ser apropriado para a mistura de agrotóxicos que se pretende investigar e não provocar interferências.

Devem ser consideradas as interferências possíveis da matriz, por exemplo, interferências de compostos sulfurados em brassicáceas e aliáceas na determinação de ditiocarbamatos como CS₂. As soluções referência e soluções amostra devem estar na faixa de linearidade do detector.

Os limites de detecção e quantificação devem ser determinados para cada combinação de agrotóxicos e matrizes a serem analisadas.

A recuperação deve estar entre 70 e 110%.

A repetibilidade e a reprodutibilidade do método não devem ser inferiores ao indicado na **Tabela 3**.

Tabela 3 - A repetibilidade e a reprodutibilidade.

<i>Concentração de pesticida (mg/kg)</i>	<i>Repetibilidade (±mg/kg)</i>	<i>Reprodutibilidade (±mg/kg)</i>
0,01	0,005	0,01
0,1	0,025	0,05
1	0,125	0,25

5.4.4 DETERMINAÇÃO DE AFLATOXINAS

Aflatoxinas são muito tóxicas. Manusear com extremo cuidado.

Aflatoxinas são fotossensíveis. Proteger da luz as soluções padrões e amostras.

Método I

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

O método de determinação de aflatoxinas por *Cromatografia em camada delgada* pode ser usado para detectar possível presença de aflatoxinas em Drogas vegetais e derivados, sempre que na monografia não estiver recomendado outro método específico.

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

Fase móvel: clorofórmio e acetona (9:1).

Solução reveladora: examinar sob luz ultravioleta a 360-365 nm; solução de ácido sulfúrico a 30% (v/v).

Solução tampão fosfato pH 7,4: transferir 1,0 g de cloreto de potássio, 1,0 g de fosfato monobásico de potássio, 5,8 g de fosfato dibásico de sódio anidro e 40,0 g de cloreto de sódio para um balão volumétrico de 5 L. Adicionar cerca de 4,5 L de água e dissolver. Ajustar a pH 7,4 com ácido clorídrico ou hidróxido de sódio. Completar o volume com água, homogeneizar e aferir novamente o pH.

Solução mãe de aflatoxinas: dissolver o conteúdo do padrão de aflatoxina em uma mistura de benzeno e acetonitrila (98:2). Diluir quantitativamente e em etapas com o mesmo solvente até obtenção de soluções com concentração de 8 µg/mL a 10 µg/mL de cada aflatoxina. Agitar vigorosamente a solução por 1 minuto. Determinar a absorvância de cada solução a 350 nm em espectrofotômetro apropriado, empregando uma mistura de benzeno e acetonitrila (98:02) como branco. Calcular a concentração da respectiva aflatoxina, em mg/mL, usando a seguinte fórmula:

$$C = \frac{1000 \times A \times M}{\epsilon}$$

em que,

M = massa molecular;

ϵ = absorvância molar no solvente indicado da aflatoxina correspondente; e

A = absorvância da solução

Esses valores estão indicados na

Tabela 44.

Tabela 4 - Correlação de absorvância molar, massa molar e tipo de aflatoxina.

<i>Aflatoxina</i>	<i>M (massa molar)</i>	<i>ϵ (absorvância molar)</i>
B1	312	19 800
B2	314	20 900
G1	328	17 100
G2	330	18 200

Solução padrão: transferir para frascos de 3 mL com tampa alíquotas de cada uma das soluções mãe de aflatoxinas anteriormente preparadas. Adicionar quantidades suficientes de benzeno e acetonitrila (98:02) para obter soluções com 1 µg/mL de B1, 0,5 µg/mL de B2, 1 µg/mL de G1 e 0,5 µg/mL de G2.

Preparação da amostra

Coluna: usar coluna cromatográfica de imunoafinidade (IAC) com anticorpos monoclonais específicos para aflatoxinas.

Solvente de extração: dissolver 5 g de cloreto de sódio em 200 mL de metanol e água (70:30)

Procedimento: transferir 25 g de amostra, exatamente pesados, previamente moída e tamisada com tamis nº 20, para um erlenmeyer de 500 mL. Adicionar quantidade suficiente de solvente de extração para embeber toda a amostra. Agitar em agitador mecânico por 1 hora ou por 5 minutos em liquidificador a alta velocidade. Filtrar e recolher o filtrado em erlenmeyer de 250 mL. Transferir 80,0 mL do extrato, exatamente medidos, para um erlenmeyer de 250 mL, agregar 160 mL de solução tampão de fosfato pH 7,4. Agitar e filtrar em membrana filtrante de porosidade entre 0,8 – 1,6 µm. Aplicar 120 mL do filtrado (equivalente a 5 g de amostra) na coluna cromatográfica de imunoafinidade, mantendo uma vazão de uma a duas gotas por segundo, tendo a precaução de que a coluna não seque. Lavar a coluna com 20 mL de solução tampão e secar passando ar através da coluna com auxílio de uma seringa. Descartar o líquido de lavagem. Eluir lentamente as aflatoxinas adsorvidas na coluna, por ação da gravidade, com 2 mL de metanol. Recolhido todo o eluato em um balão de 25 mL com um pequeno reservatório no fundo, previamente pesado com precisão. Secar usando evaporador rotatório a 60 °C. Pesquisar para obter a massa do resíduo. Dissolver o resíduo em 100 µL de uma mistura de benzeno e acetonitrila (98:02).

Solução fortificada com solução padrão: misturar 10 µL da *Solução amostra* com 4 µL da *Solução padrão*.

Análise de aflatoxinas

Procedimento: aplicar em separado 10 µL da *Solução amostra*, 2 µL, 4 µL e 6 µL da *Solução padrão* e 10 µL da *Solução fortificada com solução padrão*. Deixar secar as aplicações e desenvolver os cromatogramas até que a frente do solvente percorra aproximadamente 11 cm. Retirar a placa da câmara para marcar a frente do solvente. Secar a placa ao ar, protegida da luz. Examinar a placa sob a luz ultravioleta a 360 nm: as aflatoxinas B1 e B2 aparecem como manchas azuis e G1 e G2 como manchas verdes. Os valores de Rf são aproximadamente: 0,4 para G2, 0,5 para G1, 0,6 para B2 e 0,7 para B1. Para confirmar, pulverizar a placa com a *Solução reveladora*. Deixar secar ao abrigo da luz e observar sob a luz ultravioleta a 360 nm: as quatro aflatoxinas são observadas como manchas amarelas. Calcular a concentração de cada aflatoxina, em µg/kg, na porção da amostra tomada, pela fórmula:

$$C = \frac{P \times C \times V}{S \times m}$$

em que,

P = volume, em µL, da *Solução padrão*;

C = concentração de aflatoxina na *Solução padrão* (G1 e B1 1 µg/mL e G2 e B2 0,5 µg/mL);

V = volume, em µL, da solução final do resíduo;

S = volume de *Solução de amostra*; e

m = peso do resíduo em g.

Critérios de aceitação

Ausência de manchas nas aplicações de solução teste nas zonas em que são observadas as manchas da *Solução padrão*. Se alguma mancha for observada na *Solução amostra*, verificar a correspondência com alguma mancha fluorescente da *Solução padrão* para identificar essa aflatoxina. A intensidade da mancha de aflatoxina, se presente na *Solução amostra*, quando comparada com a intensidade da mancha correspondente das aflatoxinas nas soluções padrão, fornecerá a concentração aproximada das aflatoxinas na *Solução amostra*. Os limites máximos aceitos são menores que 5 µg/kg para aflatoxina B1 e menor que 20 µg/kg para a soma de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, exceto quando outros valores forem recomendados em monografia específica.

Método II

Determinação de aflatoxinas por *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)* com detecção por fluorescência, recomendado para drogas vegetais e derivados do ginseng, gengibre, unha-de-gato e frutos de sene, com a ressalva de que para outras matrizes o método deverá ser testado, eventualmente adaptado e validado.

Solução estoque primária de aflatoxinas: dissolver a aflatoxina B1 em mistura de acetonitrila e tolueno (2:98) para obter uma solução a 10 µg/mL. Para determinar a concentração exata de aflatoxina B1 na solução estoque, registrar a curva de absorção entre 330-370 nm em cela de quartzo. Calcular a concentração de aflatoxina B1, em µg/mL, usando a seguinte fórmula:

$$C = \frac{A \times M \times 100}{\epsilon \times l}$$

em que,

A = absorvância determinada no máximo da curva de absorção;

M = massa molar de aflatoxina B1 (312 g/mol);

ϵ = absortividade molar de aflatoxina B1 na mistura de acetonitrila e tolueno (1930 m²/mol); e

l = comprimento do caminho óptico na cela (1 cm).

Solução estoque secundária de aflatoxina B1: preparar solução secundária contendo 100 ng/mL de aflatoxina B1 diluindo a solução estoque primária com mistura de acetonitrila e tolueno (2:98). Envolver o frasco da solução com folha de alumínio e aguardar o conteúdo atingir a temperatura ambiente. Se a solução for estocada por longo período (por exemplo, um mês), pesar o frasco e registrar a massa antes de cada uso da solução.

Soluções padrão de aflatoxinas: transferir os volumes de solução estoque secundária de aflatoxinas indicados na **Tabela 5** para balões volumétricos separados. Aplicar gás nitrogênio nessas soluções, à temperatura ambiente, até evaporação do solvente. Em cada balão, adicionar 75 mL de metanol, aguardar dissolução total e completar o volume com água até 250 mL.

Tabela 5 - Soluções de aflatoxina B1 para preparação da curva analítica.

<i>Solução padrão</i>	<i>Volume de solução estoque secundária (µL)</i>	<i>Concentração final de AFB1 na solução padrão (µL/mL)</i>
1	125	0,05
2	250	0,1
3	500	0,2
4	750	0,3
5	1000	0,4

Curva analítica: preparar a curva analítica usando as soluções padrão de aflatoxina B1 um a cinco, que abrangem uma faixa de concentração de 1 µg/kg a 8 µg/kg de aflatoxina B1 na droga vegetal. Verificar se a curva possui linearidade adequada. Se o teor de aflatoxina B1 na amostra a ser examinada estiver fora da faixa da curva analítica, a solução teste deverá ser diluída até que o teor de aflatoxinas fique adequado para a curva de calibração estabelecida.

Coluna: C18, 250 mm por 4,6 mm, 5 µm.

Fase móvel A: mistura de acetonitrila, metanol e água (2:3:6) para a derivação pós-coluna com reator fotoquímico ou brometo de piridínio.

Fase móvel B: adicionar 0,12 g de brometo de potássio e 350 mL de ácido nítrico diluído por litro de *Fase móvel A* para derivação pós-coluna com brometo derivado eletroquimicamente.

Fluxo da Fase móvel: 1,0 mL/minuto.

Deteção: detector de fluorescência (filtro de excitação a 360 nm e filtro de emissão a 420 nm). Se usar detector com comprimentos de ondas ajustáveis, usar 365 nm para excitação e 435 nm para emissão.

Derivação pós-coluna com brometo-perbrometo de piridínio (PBPB)

- bomba sem pulso;
- T com volume morto igual a zero;
- tubo de reação de teflon (PTFE) (l = 0,45 m, di = 0,5 mm);
- *Fase móvel A*;
- *Reagente de pós-derivação:* dissolver 50 mg de PBPB em 1000 mL de água (proteger da luz e usar em até quatro dias); e
- fluxo do reagente de derivação: 0,4 mL/minuto.

Derivação pós-coluna com reator fotoquímico (PHRED)

- reator com lâmpada de bulbo de mercúrio de baixa pressão (mínimo de 8 W) a 254 nm;
- placa de suporte polida;
- bobina de reação: tubo de PTFE firmemente trançado em torno do bulbo de UV, comprimento de 25 cm e diâmetro de 0,25 mm, volume morto nominal de 1,25 mL;
- tempo de exposição de 2 minutos; e
- *Fase móvel A*.

Derivação pós-coluna com bromo gerado eletroquimicamente (KOBRA)

- KOBRA-cell: célula eletroquímica que gera uma forma reativa de bromo para derivação de aflatoxinas, resultando em intensificação da fluorescência;
- fonte de corrente contínua em série com a KOBRA-cell, que forneça corrente constante de cerca de 100 µA;
- tubo de reação de PTFE, comprimento = 0,12 cm e diâmetro = 0,25 mm; e
- *Fase móvel B*.

Coluna de imunoafinidade (IAC)

Usar uma coluna de imunoafinidade contendo anticorpos contra aflatoxina B1, com capacidade de, no mínimo, 100 ng de aflatoxina B1 e que deve possibilitar recuperação de, no mínimo, 80% quando

uma solução de 5 ng de aflatoxina B1 em uma mistura de metanol e água (12,5:87,5) é aplicada. Condicionar a IAC à temperatura ambiente.

Procedimento: a 5 g de material vegetal seco e pulverizado adicionar 100 mL da mistura de água e metanol (30:70) e extrair por sonicação durante 30 minutos. Filtrar em papel de filtro pregueado. Pipetar 10 mL do filtrado claro para um erlenmeyer de 150 mL. Adicionar 70 mL de água. Passar 40 mL através da coluna de imunoafinidade (IAC) a uma vazão de 3 mL/minuto (não exceder 5 mL/minuto). Lavar a coluna com dois volumes de 10 mL de água, a uma vazão que não exceda 5 mL/minuto. Secar a IAC usando leve vácuo por 5 a 10 segundos ou passar ar com uma seringa, por 10 segundos. Aplicar 0,5 mL de metanol no topo da coluna e deixar eluir por gravidade. Coletar o eluato em um balão volumétrico de 5 mL. Depois de 1 minuto, aplicar mais 0,5 mL de metanol. Depois de 1 minuto, aplicar uma terceira porção de metanol. Coletar a maioria do solvente aplicado passando ar comprido no topo da coluna ou usando leve vácuo. Diluir para 5 mL com água e agitar bem. Se a solução estiver clara, pode ser usada diretamente. Caso contrário, filtrar em unidade filtrante antes da análise. Use uma unidade de filtro descartável (por exemplo, filtro de politetrafluoretileno com poros de 0,45 µm) que não causem perda de aflatoxinas por retenção.

Volume de injeção: 500 µL.

Ordem de eluição: aflatoxina G2, G1, B2 e B1.

Cálculo: determinar a equação da curva analítica ($y = ax + b$) com a concentração de aflatoxina B1 (ng/mL) no eixo x e o sinal (S) no eixo y. A concentração de aflatoxina B1 na solução teste é igual a $C = \frac{S-b}{a}$.

Calcular o teor de aflatoxina B1 na droga vegetal, em ng/g, usando a seguinte expressão:

$$C = \frac{V_1 \times V_2 \times C}{m \times V_i}$$

em que,

m = massa de droga vegetal, em g;

V_1 = volume do solvente usado na extração, em mL;

V_i = alíquota usada na IAC, em mL;

V_2 = volume final da solução depois da eluição da IAC e diluição, em mL; e

C = concentração de aflatoxina B1 na solução teste, em ng/mL.

A presença de aflatoxina B1 pode ser confirmada registrando-se o cromatograma sem derivação pós-coluna, que resulta em grande redução (maior que 10 vezes) na resposta devida a aflatoxina B1.

5.4.5 LIMITES DE METAIS PESADOS EM DROGAS VEGETAIS

Proceder conforme *Ensaio limite para metais pesados (5.3.2.3)*.

Quando não determinado na monografia deverá ser observado o valor máximo total de metais pesados de 20 ppm, não podendo ultrapassar os limites especificados na **Tabela 6**.

Tabela 6 - Limite para metais pesados.

<i>Metais</i>	<i>Limite</i>
cádmio	1,0 ppm
chumbo	5,0 ppm
mercúrio	0,1 ppm
arsênio	5,0 ppm

REATIVOS

Floroglucina SR: dissolver 1 g de floroglucinol em etanol e diluir para 100 mL com o mesmo solvente, conservando em recipiente bem fechado e ao abrigo da luz.

Iodo SR (Solução aquosa de iodo – iodetada): dissolver 1 g de iodo em 100 mL de água, acrescentar 2 g de iodeto de potássio, agitar, deixar em repouso por algumas horas e filtrar em lã de vidro. Conservar em frasco âmbar bem fechado.

1-Naftol SR: dissolver 20 g de 1-naftol em 100 mL de etanol. Preparar para uso imediato.

Reativo de Schiff SR (= fucsina descorada): dissolver 1 g de fucsina básica em 600 mL de água, adicionar 100 mL de sulfito de sódio anidro a 10% (p/v). Resfriar externamente com gelo, sob agitação. Adicionar, lentamente, 10 mL de ácido clorídrico, diluir com água para 1000 mL e filtrar. Se a solução escurecer, agitar com 0,2 a 0,3 g de carvão ativado até descoloração, filtrando imediatamente. Se ainda permanecer a coloração rósea, adicionar de 2 a 3 mL de ácido clorídrico e agitar. Deixar em repouso durante 1 hora antes da utilização, mantendo ao abrigo da luz.

Solução de Sudan III: dissolver 0,5 g de Sudan III em 100 mL de etanol 80%, aquecendo a 60 °C, esfriar e filtrar.

Solução de Sudan IV: dissolver 2,0 g de Sudan IV em 100 mL de etanol 92%, aquecendo a 60 °C, esfriar, filtrar e adicionar 5 mL de glicerina.

Solução de Tionina: preparar uma solução de acetato de tionina a 0,2% em etanol 25% por imersão da amostra seca na solução. Após 15 minutos, lavar o excesso de reagente com etanol 25%.

5.5.3.1.5 Limites microbianos

A contaminação microbiana de um produto não estéril (especialidade e matéria-prima farmacêutica) pode conduzir não somente à sua deterioração, com as mudanças físicas e químicas associadas, mas também ao risco de infecção e toxi-infecção para o usuário. Consequentemente, os produtos farmacêuticos orais e tópicos (cápsulas, comprimidos, suspensões, cremes, etc.), que não são estéreis, devem ser submetidos aos controles da contaminação microbiana.

A garantia de qualidade e os controles de produção devem ser tais que os micro-organismos capazes de proliferar e contaminar o produto estejam dentro dos limites. Os limites microbianos devem ser adequados às várias categorias de produtos que reflitam o tipo de contaminação mais provável introduzida durante a fabricação, bem como a via de administração, o consumidor final (neonatos, crianças, idosos, debilitados), o uso de agentes imunossuppressores, corticosteroides e outros fatores.

Ao avaliar os resultados dos testes microbiológicos, o número e os tipos de micro-organismos presentes devem ser considerados no contexto do uso do produto proposto.

O teste microbiológico de produtos não estéreis e de matéria-prima para uso farmacêutico é realizado segundo a metodologia descrita em *Ensaio microbiológicos para produtos não estéreis (5.5.3.1)*.

Os limites de aceitação estão descritos na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Limites microbianos para produtos não estéreis.

<i>Via de administração</i>	<i>Contagem total de bactérias aeróbias</i> <i>UFC/g ou mL^a</i>	<i>Contagem total de fungos</i> <i>UFC/g ou mL^a</i>	<i>Pesquisa de patógenos^{b, c}</i>
1 Produtos acabados de origem sintética ou biológica^d			
Aquoso para uso oral	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1g ou mL.
Não aquoso para uso oral	10 ³	10 ²	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1g ou mL.
Para uso retal	10 ³	10 ²	-
Para uso tópico (oromucosa, nasal, gengival, cutâneo, auricular)	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em 1 g ou mL.
Inalatórios	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e bactéria Gram negativa bile tolerante ^e em 1 g ou mL.
Para uso vaginal	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i> em 1 g ou mL.
Dispositivo transdérmico (limite por unidade)	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> /dispositivo.
2 Produtos de origem vegetal^d			
2.1 Produto acabado			
Para uso oral, contendo insumo ativo que foi submetido a pré-tratamento que reduz a carga microbiana.	10 ⁴	10 ²	Ausência de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em 1g ou mL. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g ou 10 mL. Limite máximo de 10 ² bactéria Gram negativa bile tolerante ^e em 1g ou mL.
Para uso oral que será submetido a processo extrativo a quente (por exemplo, infusões ou decocções).	10 ⁷	10 ⁴	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1g. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g. Limite máximo de 10 ⁴ bactéria Gram negativa bile tolerante ^e em 1g.
Para uso oral, contendo insumo ativo que não foi submetido a pré-tratamento que reduz a carga microbiana.	10 ⁵	10 ³	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1g. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g. Limite máximo de 10 ³ bactéria Gram negativa bile tolerante ^e em 1g.
Para uso tópico (oromucosa, nasal, gengival, cutâneo, auricular)	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Clostridium</i> em 1g. Limite máximo

			de 10 ² bactéria Gram negativa bile tolerante ^e em 1g.
Para uso vaginal	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i> em 1 g ou mL.
Para uso inalatório	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e bactéria Gram negativa bile tolerante ^e em 1 g ou mL.
2.2 Insumos farmacêuticos vegetais			
Droga vegetal (rasurado ou triturado) que será submetida a pré-tratamento que reduz a carga microbiana	10 ⁷	10 ⁴	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1 g. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g. Limite máximo de 10 ³ bactéria Gram negativa bile tolerante ^e em 1g.
Droga vegetal (rasurada ou triturada) que não será submetida a pré-tratamento que reduz a carga microbiana.	10 ⁵	10 ³	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1g. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g. Limite máximo de 10 ³ bactéria Gram negativa bile tolerante ^e em 1g.
Extrato seco, extrato fluido e tintura	10 ⁴	10 ²	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1 g. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g.
3 Produtos de origem animal ou mineral^d			
Para uso oral	10 ⁴	10 ²	Ausência de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em 1g ou mL. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g ou 10 mL. Limite máximo de 10 ² bactéria Gram negativa bile tolerante ^e em 1g ou mL.
Para uso tópico	10 ²	10 ¹	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em 1 g ou mL.
4 Substâncias para uso farmacêutico			
Matéria prima ^f , base galênica	10 ³	10 ²	Ausência de <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em 1g ou mL.

- (a) É aceitável um resultado duas vezes o valor de especificação em virtude da variabilidade maior de execução dos testes para determinação da biocarga, porém, quando estes valores são encontrados com frequência, é necessário rever o processo produtivo. Assim:
- 10¹ UFC: valor máximo aceitável = 20
 - 10² UFC: valor máximo aceitável = 200
 - 10³ UFC: valor máximo aceitável = 2000 e assim sucessivamente.
- (b) Resultados de contagem de bactérias e fungos dentro dos limites aceitáveis não exclui a necessidade da pesquisa de patógenos.
- (c) Além dos micro-organismos listados na Tabela, a significância de outros micro-organismos recuperados deve ser avaliada levando em consideração:
- o uso do produto: considerar a via de administração a ser utilizada;
 - a natureza do produto: o produto é susceptível ao crescimento microbiano?
 - o usuário: considerar o risco para neonatos, infantes e debilitados.
- (d) Para produtos que se enquadrem em mais de uma situação prevalecerão os limites mais restritivos.
- (e) Outras enterobactérias.
- (f) Para matérias-primas, a frequência da realização dos testes de contagem e identificação de patógenos deve ser determinada considerando a sua susceptibilidade à contaminação microbiana. Resultados de baixa atividade de água (igual ou inferior a 0,75 medidos a 25 °C), assim como baixo ou alto pH, diminuem essa susceptibilidade.

Com base em dados históricos dos testes de monitoramento microbiológico, da baixa carga microbiana da matéria-prima, dos ingredientes aquosos, do processo de fabricação, da formulação, a frequência do teste para a determinação do limite microbiano pode ser alterada para as formas farmacêuticas se apresentarem atividade de água (Aa) inferior a 0,75 medida a 25 °C.

Para os correlatos, considerar como limite microbiano àqueles expressos de acordo com a via de aplicação.

CAPÍTULOS

INCLUSÃO

RESÍDUOS DA ESTERILIZAÇÃO POR ÓXIDO DE ETILENO.....	83
DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE APLICADA À BIOSENÇÃO DE ACORDO COM O SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA	86
GASES MEDICINAIS	89

REVISÃO

11 ÁGUA PARA USO FARMACÊUTICO	100
-------------------------------------	-----

INCLUSÃO

7 PREPARAÇÃO DE PRODUTOS ESTÉREIS

[...]

RESÍDUOS DA ESTERILIZAÇÃO POR ÓXIDO DE ETILENO

O controle de resíduos em produtos esterilizados por óxido de etileno é necessário para garantir um risco mínimo para o paciente na utilização do produto. Os níveis residuais de óxido de etileno (OE), etilenocloridrina (ECH) e etilenoglicol (EG) devem ser acompanhados para minimizar a exposição de profissionais e pacientes.

Nesse capítulo estão estabelecidos os resíduos máximos admissíveis para OE e ECH. Efeitos locais, como irritação, são considerados e incorporados no limite de contato tolerável (LCT). Não há limite definido para EG, pois a avaliação de risco disponível indica que os níveis calculados admissíveis são mais altos do que os níveis residuais que podem ser encontrados nos produtos.

Nos limites descritos considerou-se a proteção contra os efeitos sistêmicos. O nível residual de OE é considerado no momento da liberação do produto.

Para estabelecer as doses diárias máximas de OE e ECH, os produtos devem ser classificados de acordo com a duração do contato com o paciente:

- **exposição limitada:** produtos com uso ou contato cumulativo único, múltiplo ou repetido de até 24 horas;
- **exposição prolongada:** produtos com uso ou contato cumulativo único, múltiplo ou repetido de longa duração - de 24 horas a 30 dias;
- **contato permanente:** produtos com uso ou contato cumulativo único, múltiplo ou repetido de longa duração - acima de 30 dias.

A utilização múltipla significa o uso repetido do mesmo tipo de produto, como por exemplo cartuchos dialisadores.

Se um produto for classificado em mais de uma categoria de duração, as considerações mais rigorosas de teste e/ou avaliação devem ser aplicadas. Para as exposições múltiplas, a classificação deve levar em conta o efeito cumulativo potencial, considerando o período de tempo em que essas exposições ocorrem.

Os limites para produtos de contato permanente e de exposição prolongada são expressos como doses diárias médias máximas. Se os dados estiverem disponíveis, deve considerar-se a redução proporcional de limites caso múltiplos produtos sejam usados de uma só vez, ou o aumento proporcional de limites quando o produto é usado apenas em parte do período de exposição.

Para produtos de contato permanente, a dose diária média de OE é no máximo 0,1 mg. A dose máxima de OE é 4 mg nas primeiras 24 horas; 60 mg nos primeiros 30 dias e 2,5 g durante a vida. A dose diária média de ECH é no máximo 0,4 mg. A dose máxima de ECH é 9 mg nas primeiras 24 horas; 60 mg nos primeiros 30 dias e 10 g durante a vida.

Para produtos de exposição prolongada, a dose diária média de OE é no máximo 2 mg. A dose máxima de OE é 4 mg nas primeiras 24 horas e 60 mg nos primeiros 30 dias. A dose diária média de ECH é no máximo 2 mg/dia. A dose máxima de ECH é 9 mg nas primeiras 24 horas e 60 mg nos primeiros 30 dias.

Para produtos de exposição limitada, a dose diária média de OE é no máximo 4 mg e a dose diária média de ECH é no máximo 9 mg.

O limite de contato tolerável (LCT) é estabelecido para prevenir a irritação localizada pela liberação de OE ou ECH do produto, sendo expresso em unidades de microgramas por centímetro quadrado ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) para OE e em miligramas por centímetro quadrado (mg/cm^2) para ECH, em que a unidade de centímetro quadrado representa a área superficial da interface do produto com o paciente.

Para implantes e produtos de contato, o LCT de OE é no máximo $10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ou apresentar irritação pouco perceptível. O LCT de ECH é no máximo $5 \text{mg}/\text{cm}^2$ ou apresentar irritação pouco perceptível.

Na norma ISO 10993-7 estão descritos os limites aceitáveis para situações especiais, como lentes intraoculares; separadores de células sanguíneas, usados na coleta de sangue; oxigenadores e separadores sanguíneos; produtos usados em procedimentos de *bypass* cardiopulmonar; produtos de purificação sanguínea, extracorpóreos e gases.

O procedimento para determinar a conformidade com os limites consiste em extrair o resíduo de amostras; determinar a superfície de contato do produto; analisar e interpretar os dados.

Um método validado de extração e medição deve ser utilizado para determinar os níveis residuais de OE e ECH no produto. Muitos métodos analíticos têm sido investigados e a grande variedade de materiais e formatos de produtos estéreis podem eventualmente apresentar problemas para determinar os resíduos. Portanto, qualquer método analítico deve ser validado antes do uso.

Quando os resíduos estão dentro dos requisitos para os produtos testados por extração exaustiva, não há necessidade de testar o produto por extração de uso simulado, desde que os resultados estejam abaixo dos limites especificados. Quando a extração exaustiva é utilizada, atenção deve ser dada aos limites para as primeiras 24 horas e para os primeiros 30 dias. Produtos pequenos devem ser extraídos em um recipiente adequado. Quando um produto for muito grande para ser extraído em sua totalidade, pode ser necessário extrair muitas porções representativas dos componentes do produto para garantir a confiabilidade dos dados derivados.

Muitos fatores influenciam os níveis iniciais de resíduos e sua taxa de dissipação e cuidados devem ser observados, como o momento da retirada da amostra da carga esterilizada; transporte para o laboratório; efeitos das condições de laboratório sobre a taxa de aeração, bem como a segurança do analista e do operador. As amostras devem permanecer com a carga de produto até o dia de análise ou até que as amostras de teste sejam retiradas e congeladas imediatamente. As amostras devem ser lacradas, enviadas em gelo seco e armazenadas sob congelamento até sua análise. As amostras de teste podem também ser retiradas diretamente da carga de produto no intervalo desejado de aeração e, imediatamente, colocadas em frasco de espaço confinado (*headspace*) lacrado e enviado ao laboratório para análise. Alternativamente, as amostras podem ser extraídas e o fluido de extração enviado para análise. Se o fluido de extração for água, o envio deve ser feito de forma que o líquido seja mantido em baixas temperaturas ($<10 \text{ }^\circ\text{C}$) até sua chegada ao laboratório. O teste deve ser realizado para medir a hidrólise de OE para EG.

As amostras devem ser colocadas em uma capela de exaustão, removidas da embalagem, preparadas de acordo com as instruções de uso do produto e as extrações devem ser iniciadas logo após a remoção

da embalagem ou a conclusão dos preparativos de pré-uso.

Um branco da amostra deve ser testado para verificar a presença de interferências. O branco deve ser preparado usando uma amostra não esterilizada submetida ao mesmo procedimento aplicado às amostras testes. As condições cromatográficas devem ser modificadas para separar o pico de interferência do pico do analito, ou um procedimento analítico alternativo pode ser usado quando os tempos de retenção são conflitantes ou sobrepostos.

A natureza e tamanho da amostra do produto serão considerados para estabelecer o volume de fluido ideal para a extração, sendo que as razões de amostra/fluido de extração não devem comprometer a sensibilidade de detecção. Para maximizar a sensibilidade analítica, uma quantidade mínima de fluido de extração deve ser utilizada, sendo que produtos com materiais altamente absorventes podem exigir razões de amostra/fluido de extração aumentado.

Dois métodos de extração básica são usados na determinação de resíduos de OE: extração de uso simulado e extração exaustiva. O método escolhido deve ser adequado ao uso do produto e exemplos podem ser verificados na norma ISO 10993-7.

As temperaturas e os tempos de extração devem ser determinados com base na natureza da exposição do paciente e da duração de contato com o produto. A norma ISO 10993-12 é uma referência para temperaturas de extração.

Para determinados produtos, a extração de uso simulado pode resultar em volumes de eluição relativamente grandes, podendo aumentar significativamente o limite de detecção para o material residual, comprometendo a determinação de conformidade. Em produtos muito grandes, a extração de porções representativas pode ser utilizada para assegurar a confiança nos dados.

A extração aquosa de uso simulado é o método de referência, pois é o único que produz resultados diretamente comparáveis com os limites especificados.

A água, normalmente utilizada para a recuperação de resíduos de OE e ECH em extrações de uso simulado, é usada para a eluição de resíduos de OE a partir da amostra e não para dissolver a amostra. No caso de simulação de uso por envase, o produto deve ser preenchido para eliminar bolhas de ar, a 37 °C para produtos que estão em contato total ou parcial com o corpo durante o uso (temperatura corporal) e a 25 °C para produtos sem qualquer contato imediato com o corpo durante sua utilização (temperatura ambiente). Se o teste não for realizado imediatamente, o extrato deve ser retirado da amostra e lacrado em frasco revestido de poli-tetrafluoroetileno. O *headspace* do frasco de solução padrão ou extrato deve ser inferior a 10% do volume total. O extrato pode ser armazenado no refrigerador por vários dias. Cuidado deve ser tomado quando se utiliza água, uma vez que o OE pode ser convertido para EG e/ou ECH durante o período de extração, bem como durante o armazenamento do extrato.

As quantidades de OE ou ECH extraídas por meio da simulação de uso normal do produto não são necessariamente iguais ao conteúdo residual total do produto.

Os métodos de extração exaustiva são destinados a recuperar todo o conteúdo residual do produto, sendo alternativa aceitável em certas situações.

Uma variedade de fluidos de extração pode ser utilizada para a recuperação exaustiva de OE residual, sendo sua seleção dependente da composição do material do produto e dos seus componentes.

A norma ISO 10993-7 é um guia detalhado para avaliação de resíduos da esterilização por OE e indica

como converter a concentração de resíduo observada nos extratos para a quantidade administrada a um paciente, em miligramas.

Se dados experimentais suficientes sobre a cinética de difusão de resíduos estiverem disponíveis, pode ser possível agrupar produtos para testes com base na similaridade dos materiais, processos de fabricação e utilização.

Curvas de dissipação podem ser usadas para estimar o tempo de pós-esterilização requerido para os produtos ou famílias de produtos similares, para alcançar os limites de resíduos, principalmente para o OE. Os produtos devem ser liberados de acordo com os tempos e condições de pós-esterilização, pré-determinados e definidos por curvas de dissipação experimentais de modo que os níveis alvo de resíduos de OE para o produto sejam assegurados. As preocupações de aeração de produtos devem ser consideradas reunindo dados de cargas de esterilização coletados do armazenamento de quarentena ou aeração em diferentes épocas do ano, caso as temperaturas de aeração sejam diferentes. A reesterilização do produto e a presença de outros produtos esterilizados com OE em áreas adjacentes também devem ser considerados ao obter dados experimentais para gerar tais curvas de dissipação.

Quando os dados da curva de dissipação não estão disponíveis, o produto pode ser liberado se os dados foram obtidos a partir de testes realizados de acordo com procedimentos e cumprir os limites descritos para o OE e, se aplicável, para o ECH.

O produto está em conformidade quando satisfaz aos limites descritos para o OE e, se aplicável, para o ECH.

A liberação de produtos fabricados e esterilizados em condições controladas pode ser efetuada considerando dados de pelo menos três lotes de esterilização em épocas diferentes.

[...]

10 EQUIVALÊNCIA FARMACÊUTICA E BIOEQUIVALÊNCIA DE MEDICAMENTOS

[...]

DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE APLICADA À BIOISENÇÃO DE ACORDO COM O SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA

Neste capítulo, são abordados os temas relacionados à determinação da solubilidade em equilíbrio de insumo farmacêutico ativo (IFA) pelo método da agitação orbital em frascos (*shake flask*). A solubilidade de IFA é um dos parâmetros utilizados para determinar sua classe de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). Com as informações, visa-se contribuir para a realização dos ensaios necessários à submissão de registro de um medicamento considerando a bioisenção, ou seja, a possibilidade de isentar uma indústria farmacêutica da realização de um estudo *in vivo* de bioequivalência ou biodisponibilidade relativa. As informações sobre a solubilidade do IFA em meios de dissolução na faixa de pH fisiológico contribuem para realização da avaliação de riscos inerentes à decisão de bioisenção utilizando como critério o SCB.

Ressalta-se, ainda, que os aspectos científicos e técnicos apresentados estão em consonância com aqueles preconizados internacionalmente, bem como com a regulamentação técnica vigente no Brasil relacionada aos temas abordados. Nesse contexto, é importante salientar que os atos de registro e pós-registro de medicamentos são responsabilidade da autoridade sanitária competente.

Bioisenção

A bioisenção consiste na isenção ou substituição dos estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência por testes *in vitro* relacionados à solubilidade e à permeabilidade do IFA e à sua dissolução a partir da forma farmacêutica sólida oral de liberação imediata, em condições previamente estabelecidas, de acordo com o SCB.

Sistema de classificação biofarmacêutica

O SCB foi proposto por Amidon e colaboradores em 1995 e consiste de quatro classes de acordo com as características de solubilidade e permeabilidade do IFA (**Quadro 1**).

Quadro 1 – O sistema de classificação biofarmacêutica segundo Amidon e colaboradores, 1995.

Classe	Solubilidade	Permeabilidade
I	Alta	Alta
II	Baixa	Alta
III	Alta	Baixa
IV	Baixa	Baixa

Um IFA é considerado altamente solúvel quando sua maior dose administrada oralmente como uma forma farmacêutica de liberação imediata (dose máxima por administração descrita em bula) solubiliza-se completamente em até 250 mL de cada uma das soluções tampão utilizadas dentro da faixa de pH fisiológico (1,2 a 6,8), a 37 ± 1 °C. Insumos farmacêuticos ativos de alta permeabilidade são aqueles cuja extensão da absorção em humanos é igual ou superior a 85%.

Solubilidade em equilíbrio

A solubilidade em equilíbrio de um IFA é um tipo de equilíbrio dinâmico que ocorre quando o IFA no estado sólido está em equilíbrio com a sua solução. Pode ser obtida pela determinação da concentração do IFA em uma solução saturada, após determinado tempo e sob agitação.

Determinação da solubilidade em equilíbrio

No contexto da bioisenção, segundo o SCB, é preconizado o método da agitação orbital em frasco (*shake flask*) para determinação da solubilidade de IFA.

Método da agitação orbital em frasco

No método da agitação orbital em frasco, mais conhecido como “*shake flask*”, a solubilidade em equilíbrio é avaliada por meio da adição de excesso do IFA a ter sua solubilidade determinada em soluções aquosas tamponadas com pH entre 1,2 e 6,8. Deve-se adicionar o IFA à solução aquosa e submeter à agitação em velocidade e temperatura controladas. Após ser atingido o estado de equilíbrio da solução saturada, a solubilidade em equilíbrio pode ser determinada. Para confirmação da obtenção do equilíbrio entre as fases, a solubilidade deve ser constante em determinações realizadas em tempos consecutivos. Durante os experimentos, não retirar alíquotas da solução tampão que, ao serem somadas, ultrapassem 10% do volume total de solução, pois, ao realizar a reposição do volume retirado, pode ocorrer diluição. Esse procedimento é necessário para manter a hidrodinâmica do sistema e a quantidade de IFA acima do ponto de saturação.

Para os estudos de solubilidade, algumas regras devem ser observadas: elevada pureza dos solventes; manutenção da temperatura a 37 °C durante todo o experimento; a saturação deve ser atingida e o método para quantificação do analito na solução saturada deve ser validado. Imediatamente após a coleta de alíquota de meio contendo o analito, é necessária a filtração, certificando-se de que não ocorra adsorção do IFA pelos componentes do sistema de filtração.

Para insumos farmacêuticos ativos reconhecidamente de alta solubilidade (classes I e III do SCB), pode haver necessidade de grande quantidade de IFA para observar a formação de sólido não dissolvido. Nesses casos, para evitar o uso de grande quantidade do IFA, é aceitável a demonstração de que a dose máxima do IFA por administração descrita em bula se dissolve em até 250 mL das três soluções tampão na faixa de pH fisiológico estabelecida.

Parte experimental

Equipamento: agitador (tipo *shaker*) com movimentação orbital, por mancais e eixo excêntrico com controle de temperatura ajustado para 37,0 °C e variação de, no máximo, 1,0 °C.

Soluções tampão: para a determinação da solubilidade em equilíbrio, devem ser utilizados: solução de HCl 0,1 M ou fluido gástrico simulado sem enzimas pH 1,2; solução tampão acetato 0,05 M pH 4,5 e solução tampão fosfato de pH 6,8 ou fluido intestinal simulado sem enzimas pH 6,8 descritos em *Reagentes (14)*. Caso as soluções tampão descritas não sejam adequadas por motivos de natureza física ou química, outras soluções tampão podem ser utilizadas mantendo-se os valores de pH especificados, desde que tecnicamente justificado.

Procedimento

Definição da quantidade de IFA e tempo para o experimento (ensaio preliminar)

A partir dos dados de solubilidade do IFA disponíveis na literatura, pesar um excesso de, no mínimo, 10% em massa e transferir para erlenmeyer contendo volume adequado das soluções tampão pH 1,2; 4,5 e 6,8. Verificar a presença de sólido não dissolvido. No caso de ausência de dados de solubilidade em literatura, pesar quantidade suficiente para verificar a presença de sólido não dissolvido. Homogeneizar e medir o valor de pH e, caso ocorra alteração em relação ao valor de pH da solução tampão sem o IFA, utilizar uma solução cuja capacidade tamponante mantenha o valor de pH especificado para o meio. Tampar o erlenmeyer e adaptá-lo ao agitador orbital. Ajustar a temperatura para 37,0 ± 1,0 °C e a velocidade de agitação entre 50 e 150 rpm. A velocidade de agitação deve ser estabelecida de acordo com o volume de meio, de modo a favorecer o equilíbrio entre as fases, porém

evitando a formação de vórtice. Ao retirar alíquotas e realizar a reposição da solução, evitar que a soma dos volumes repostos ultrapasse 10% do total de meio. Após esse procedimento, filtrar a alíquota e quantificar o IFA. Determinar a quantidade de IFA dissolvido em função do tempo e traçar um gráfico, que apresentará uma linha ascendente seguida de um platô, que irá indicar o equilíbrio entre o IFA dissolvido e a solução saturada. A determinação da solubilidade deverá ser realizada no tempo e com a quantidade de IFA utilizados para atingir o platô definido neste ensaio. Medir o valor de pH das soluções tampão após a definição do tempo para obtenção do equilíbrio.

Composição do sistema e determinação da solubilidade

Pesar com exatidão, no mínimo em triplicata, para cada condição de pH que será avaliada, quantidade de IFA, no mínimo, 10% acima da massa determinada durante o ensaio preliminar e transferir para erlenmeyer contendo volume adequado de soluções tampão pH 1,2; 4,5 e 6,8. Homogeneizar e medir o valor de pH. Retirar alíquota e quantificar o IFA. Adaptar os erlenmeyers ao agitador orbital, ajustar a temperatura para $37,0 \pm 1,0$ °C e a velocidade de agitação. Coletar alíquota da solução sobrenadante no tempo previamente determinado, no qual o equilíbrio foi estabelecido. Filtrar e quantificar o IFA por meio de método previamente validado e indicativo de estabilidade. Anotar o valor de pH da solução ao final do experimento. Não deve ocorrer variação superior a 0,1 unidade entre o pH medido no início e final do teste. O pH do meio não deve ser ajustado durante o procedimento, uma vez que pode deslocar o equilíbrio de dissociação, alterando a solubilidade.

Cálculos

Determinar a solubilidade em mg/mL. Calcular o desvio padrão relativo (DPR) entre os resultados de solubilidade obtidos. Os resultados de DPR devem ser de, no máximo, 5% entre as replicatas de cada condição de ensaio.

Para classificação do IFA quanto à solubilidade, de acordo com o SCB, é necessário calcular a razão entre a dose máxima do IFA por administração descrita em bula de uma única vez (em mg) e a sua solubilidade (em mg/mL). Com resultados menores ou iguais a 250 mL, o IFA é classificado como de alta solubilidade. Resultados maiores que 250 mL indicam que o IFA é de baixa solubilidade.

Validação do método analítico

Deve-se validar o método analítico para quantificação do IFA nos três meios utilizados. Para tal deve observar-se a adequação dos resultados dos seguintes parâmetros de validação: linearidade, precisão, exatidão, limite de quantificação e seletividade. É necessário também atestar que o método proposto é capaz de quantificar o IFA independentemente de possíveis produtos de degradação originados durante os experimentos.

GASES MEDICINAIS

GLOSSÁRIO

Caminhão tanque: veículo contendo um recipiente de grande porte afixado para o transporte de líquidos criogênicos.

CAS: Chemical Abstract Service.

Cilindro de gás para uso medicinal: recipiente transportável e pressurizado com capacidade medida em volume de água que não exceda 150 litros.

CNTP: condições normais de temperatura e pressão.

DCB: Denominação Comum Brasileira.

Envase ou enchimento: operação que possibilita o acondicionamento de gases medicinais em cilindros e líquidos criogênicos medicinais em tanques criogênicos móveis.

FISPQ: Ficha de Informação de Produtos Químicos.

Gás: substância ou mistura de substâncias cuja pressão de vapor situa-se acima de 300 kPa absoluta a 50 °C ou permanece na forma gasosa a 20 °C na pressão absoluta de 101,3 kPa.

Gás comprimido: qualquer gás ou mistura de gases que exerça no recipiente que o contém uma pressão absoluta maior ou igual a 280 kPa a 20 °C.

Gás excipiente: qualquer gás componente, que não seja substância ativa, adicionado intencionalmente à formulação de uma mistura de gases.

Gás liquefeito: gás na pressão de vapor que permanece parcialmente liquefeito em temperatura acima de - 50 °C.

Gás medicinal: gás, ou mistura de gases, para tratamento ou prevenção de doenças em humanos ou administrados para fins de diagnóstico médico ou para restaurar; corrigir; ou modificar funções fisiológicas.

Gás ou líquido criogênico: gás altamente refrigerado em equilíbrio de fase (líquido e sua pressão de vapor) e com ponto de ebulição menor ou igual a - 150 °C na pressão absoluta de 101,3 kPa.

Planta de separação de gases do ar atmosférico (ASU – Air Separation Unit): instalação industrial onde se capta o ar atmosférico e, por meio de processos de purificação; limpeza; compressão; resfriamento; liquefação e destilação; realiza seu fracionamento, de modo a obter e isolar os gases oxigênio, nitrogênio e argônio.

Sistema concentrador de oxigênio (SCO): sistema composto de equipamentos e acessórios que filtra; retém umidade e concentra o oxigênio do ar atmosférico por meio do processo de adsorção molecular. Esse sistema é conhecido também como usina concentradora de oxigênio, *Pressure Swing Adsorption* (PSA).

Tanque criogênico fixo ou tanque estacionário é um recipiente, isolado termicamente, apropriado para armazenar gases medicinais na forma de líquido criogênico.

Tanque criogênico móvel ou tanque de armazenagem móvel é um recipiente transportável, isolado termicamente, capaz de armazenar gases medicinais na forma de líquido criogênico.

Teste de pressão hidrostática: teste realizado por razões de segurança, a fim de garantir que cilindros e tanques suportem as pressões para os quais foram projetados.

Válvula é um dispositivo capaz de modificar a pressão ou vazão (fluxo) de gases, ou de vácuo, seja no cilindro ou no sistema centralizado de gases.

Válvula de retenção, anti-retorno ou unidirecional é uma válvula que possibilita a passagem do gás ou proporciona o vácuo em apenas um sentido.

INTRODUÇÃO

O objetivo pretendido com esse capítulo é apresentar as informações básicas e necessárias para a interpretação das monografias dos principais gases e misturas utilizados em Serviços de Saúde; dos gases componentes das misturas utilizadas nos testes clínicos e dos gases utilizados na preservação de material biológico.

Esse capítulo abrange os gases classificados pela ANVISA como medicamentos e os demais gases utilizados em Serviços de Saúde e em laboratórios clínicos.

Os gases utilizados em Serviços de Saúde podem ser acondicionados comprimidos sob pressão; liquefeitos sob alta pressão (pressão de vapor saturada); liquefeitos a baixa pressão (gases criogênicos); ou produzidos no local de consumo.

Os gases medicinais consistem de substâncias ativas ou de uma mistura de substâncias ativas e excipientes gasosos.

As misturas podem consistir de duas ou mais substâncias ou uma substância ativa diluída em um gás excipiente. A fórmula percentual (v/v) é obtida a partir das condições normais de temperatura e pressão (CNTP). A densidade ou o fator de compressibilidade para cada gás sob condições padrão (21 °C, 1 atm) são obtidos a partir de dados científicos.

Nas monografias estão descritos os métodos de análise e os padrões de referência para a garantia da qualidade do produto fabricado e incluem detalhes do estado físico, peso molecular, número de registro CAS (*Chemical Abstracts Service*), número de DCB (Denominação Comum Brasileira) da pureza mínima, das impurezas e das características físicas e organolépticas para cada gás, armazenamento e rotulagem.

Nota - O ar comprimido medicinal ou oxigênio 93% v/v oriundos de sistemas de compressão ou de sistemas concentradores de oxigênio, quando produzidos *in situ* nos Serviços de Saúde devem seguir os métodos de análises especificados nas suas respectivas monografias.

APLICAÇÕES

Os gases medicinais descritos nesse capítulo representam os principais gases existentes no mercado.

Oxigênio medicinal (O₂)

Na prática médica, com o uso do oxigênio objetiva-se manter a respiração do paciente em condição de saturação no sangue arterial igual ou superior a 90% v/v. Nas situações em que o oxigênio é administrado diluído em outro gás, sua concentração mínima na mistura deve ser de 21% v/v.

O oxigênio medicinal é utilizado principalmente na terapia intensiva e nos procedimentos anestésicos, como suporte ventilatório de pacientes com insuficiência respiratória de origens clínicas diversas.

Nas situações de emergências respiratórias agudas, possibilita a reanimação cardiorrespiratória de pacientes.

Em uso domiciliar, é utilizado na oxigenoterapia, nos casos de enfermidades pulmonares.

O oxigênio é também utilizado na terapia hiperbárica e como veículo na administração de medicamentos por nebulização ou inalação.

Óxido nitroso medicinal (N₂O)

O óxido nitroso é utilizado na medicina e na odontologia como um gás analgésico e, quando associado a outros agentes anestésicos nos procedimentos de anestesia, como um anestésico de potência regular. Não deve ser administrado em altas concentrações (acima de 79% v/v) a pacientes, devido ao risco de hipóxia. O óxido nitroso, nas misturas com diversas concentrações, é sempre diluído com oxigênio medicinal.

As principais aplicações do óxido nitroso medicinal estão nos procedimentos de anestesia inalatória, sempre em conjunto com outros anestésicos voláteis, nos procedimentos odontológicos como analgésico leve e como auxiliar no controle do nível de tensão de pacientes.

Dióxido de carbono medicinal (CO₂)

O dióxido de carbono é utilizado na área médica principalmente nas cirurgias endoscópicas, onde atua como insuflador, como exemplo, na laparoscopia exploratória.

Nas situações em que o gás é misturado com oxigênio e nitrogênio, produz-se uma atmosfera próxima à fisiológica, aplicada na criação de atmosferas anaeróbicas e aeróbicas, para culturas de micro-organismos.

As misturas de dióxido de carbono com nitrogênio ou com nitrogênio e oxigênio ou o gás de dióxido de carbono puro, são utilizados para calibração de aparelhos de análise sanguínea e de difusão pulmonar.

Ar medicinal (sintético e comprimido)

O ar medicinal (sintético e comprimido) é utilizado como fonte de ar fresco nos procedimentos anestésicos inalatórios e como suporte ventilatório a pacientes com insuficiência respiratória de origem e situações clínicas diversas, associado ou não ao oxigênio.

Pode ser utilizado para a nebulização de pacientes, como veículo de medicamentos nas crises broncoasmáticas.

Na terapia hiperbárica, é utilizado como gás de enchimento de grandes câmaras, para criar ambientes onde os pacientes são submetidos a pressões acima da atmosférica.

É também utilizado como gás para a movimentação de diversos tipos de aparelhos pneumáticos em Serviços de Saúde.

Nitrogênio medicinal (N₂)

O nitrogênio medicinal tem aplicação na prática médica no estado gasoso e no estado líquido criogênico.

No estado gasoso, é utilizado como agente de impulsão para equipamentos pneumáticos nas cirurgias ortopédicas, neurológicas e outras.

Como líquido criogênico é utilizado nos processos de congelamento de hemoderivados, células e embriões, medula óssea e na conservação de órgãos. Também pode ser utilizado nas técnicas cirúrgicas denominadas criocirurgias, por exemplo, em tratamento cirúrgico de dermatoses infecciosas.

Mistura de gás comprimido v/v com 50% de N₂O + 50% de O₂

Com essa mistura tem-se como objetivo principal diminuir o nível de tensão do paciente e, conseqüentemente, aumentar a tolerância à dor.

A mistura de gás comprimido v/v 50% de N₂O + 50% de O₂ é utilizada em procedimentos de analgesia, tais como: trauma ortopédico; queimaduras; tratamentos estéticos e pediátricos.

Essa mistura não deve ser utilizada em equipamentos e misturadores para procedimentos de analgesia, como óxido nitroso medicinal puro ou oxigênio medicinal puro.

MÉTODOS DE FABRICAÇÃO

Nitrogênio medicinal (N₂)

O processo de destilação fracionada é iniciado com a captação do ar atmosférico em grandes volumes, passando por dois filtros em plantas de gases do ar, denominadas ASU – *Air Separation Unit*.

O primeiro filtro, denominado pré-filtro, retém as partículas maiores, enquanto que o segundo, do tipo bolsa, retém as partículas menores.

O ar atmosférico depois de filtrado é succionado pelo compressor principal. Esse ar, após a compressão, é enviado para o sistema de purificação onde são eliminados os contaminantes, tais como CO₂, H₂O, THC (Teor de Hidrocarbonetos Totais).

Após a purificação, o ar comprimido passa pelo trocador de calor que é composto por dois estágios, onde é resfriado a baixas temperaturas e enviado à coluna de destilação de alta pressão.

Na coluna de destilação, o ar é resfriado a baixas temperaturas, possibilitando a separação do nitrogênio em forma de gás que sobe através de bandejas de separação e ao atingir o topo da coluna, uma parte é reciclada e a outra entra no condensador. Nesse por sua vez, uma parte retorna para a coluna de refluxo e outra parte é enviada para o tanque criogênico fixo de nitrogênio líquido.

Oxigênio medicinal (O₂)

Para a obtenção do oxigênio é utilizada uma parte remanescente da destilação do nitrogênio. O oxigênio é transferido da coluna de alta para a coluna de baixa pressão provocando uma nova liquefação.

O oxigênio líquido obtido na extremidade inferior da coluna de baixa pressão é enviado ao tanque criogênico fixo de oxigênio líquido.

Basicamente, não existem resíduos no processo de separação, mesmo que um dos gases vaze para a atmosfera e, automaticamente, se reintegrará à composição do ar.

Nota – Se continuar o processo de destilação do ar atmosférico o próximo produto a ser obtido será o argônio.

Ar comprimido medicinal

1 Por meio de liquefação do ar atmosférico.

O ar atmosférico depois de filtrado é succionado pelo compressor de ar principal.

O ar comprimido é enviado para o sistema de purificação onde são eliminados os contaminantes, a saber, CO₂, H₂O, THC (Teor de Hidrocarbonetos Totais).

Após a purificação o ar comprimido passa pelo trocador de calor principal onde é resfriada a baixas temperaturas. O ar atmosférico na forma criogênica é enviado à sucção do compressor. Esse ar obtido, após a saída do compressor, é utilizado para envasamento em cilindros de ar comprimido medicinal.

2 Por meio de compressores

O ar atmosférico pode ser comprimido por meio de bombas e compressores.

O ar atmosférico comprimido é obtido a partir de compressores onde o ar atmosférico é succionado e comprimido. Os pontos de sucção devem estar fora de locais contaminados, como por exemplo, fontes de combustão, escapamento de veículos, lixo hospitalar e ou ambientes com descarga de saída de dutos de ar condicionado e outros pontos de descarga.

É necessário investimento em compressores, filtros, secadores e outros equipamentos que lhe dão a qualidade adequada ao uso.

Ar sintético medicinal

O processo de fabricação do ar sintético para uso medicinal é composto de uma mistura binária de oxigênio e nitrogênio grau medicinal.

O oxigênio é introduzido nos cilindros e em seguida é adicionado o nitrogênio. A introdução do nitrogênio e em seguida do oxigênio não altera nem modifica a composição final, devendo ficar a sua concentração final em conformidade com a monografia desse compêndio.

Óxido nitroso medicinal (N₂O)

A fabricação do óxido nitroso medicinal, também conhecido como protóxido de azoto, protóxido de nitrogênio, gás hilariante ou gás do riso, ocorre a partir da decomposição térmica do nitrato de amônio. O nitrato de amônio é transportado em duas formas: em escamas sólidas acondicionadas em sacos de fibra natural ou transportado já na forma líquida à temperatura de 80 °C, em caminhões específicos. As escamas sólidas ou o produto na forma líquida são transferidos para reatores onde ocorre a decomposição térmica, que ocorre por volta de 250 °C e, conseqüentemente, a separação do óxido nitroso e da água dos demais componentes, conforme Equação 1.



O óxido nitroso é purificado em torres com permanganato de potássio, ácido sulfúrico e hidróxido de sódio.

O óxido nitroso purificado é armazenado em tanques fixos onde ocorre a transferência para os caminhões tanques ou então utilizados para envasamentos em cilindros, ambos destinados para a aplicação final.

Dióxido do carbono medicinal (CO₂)

O processo de obtenção do dióxido de carbono medicinal, também conhecido como anidrido carbônico ou gás carbônico pode ser feito a partir da fermentação em indústria sucro-alcooleiras, ou a partir da combustão de materiais, ou mesmo como sub produto de processos químicos diversos.

Conforme o processo de obtenção do dióxido de carbono medicinal, ocorrem diferentes tipos de impurezas, por exemplo, alto teor de hidrocarbonetos em um processo de combustão e alto teor de óxidos de nitrogênio em um processo de fermentação.

A purificação do dióxido de carbono para uso medicinal é feito durante o processo de obtenção.

Mistura de gás comprimido v/v 50% de N₂O + 50% de O₂

Trata-se de uma mistura gasosa comprimida, homogeneizada, acondicionada sob alta pressão.

O processo de fabricação da mistura binária para uso medicinal é realizado pela adição de oxigênio medicinal ao óxido nitroso medicinal.

O óxido nitroso medicinal é inicialmente introduzido no cilindro, seguido pela adição do oxigênio medicinal.

A introdução do oxigênio medicinal e em seguida do óxido nitroso medicinal não altera nem modifica a composição final, porém, a pressão final da mistura será reduzida em função da pressão crítica do óxido nitroso.

Oxigênio 93% v/v (O₂)

O oxigênio 93% v/v para o uso hospitalar pode ser obtido por sistema concentrador de oxigênio (SCO).

Nesse sistema, o concentrador de oxigênio é instalado nas dependências do Serviço de Saúde e possibilita a concentração do oxigênio ao submeter o ar atmosférico a uma peneira molecular sob baixa pressão. O processo retém nitrogênio do ar que será descartado e possibilita que o oxigênio, na concentração nominal de 93% v/v, atravesse o leito adsorvente (peneira molecular) como produto final.

Para a utilização em Serviços de Saúde, é indispensável a monitoração da concentração do oxigênio (por meio de analisadores de oxigênio) durante os procedimentos.

MANUSEIO E SEGURANÇA

Para os gases medicinais há diversas recomendações para seu manuseio apropriado de forma a garantir a segurança na utilização dos produtos. Existem recomendações específicas que variam conforme o tipo de acondicionamento e o tipo do gás medicinal.

Os cilindros para gases medicinais, por se constituírem de um recipiente cilíndrico estreito e pesado, devem sempre ser utilizados na posição vertical, devidamente fixados ou sobre suportes na sua base. Permite-se exceção aos cilindros destinados para transporte, em que suas dimensões e pesos são menores.

Os gases medicinais envasados em cilindros normalmente se encontram acondicionados sob alta pressão, exigindo cuidados adicionais ao abrir a válvula ou conectar acessórios.

Os gases medicinais podem estar, também, na forma líquida, normalmente em tanques criogênicos isolados a vácuo. Nesse caso, esses gases podem estar a uma temperatura criogênica, abaixo de - 185 °C. Os gases acondicionados nessa forma líquida podem queimar a pele e outros órgãos do corpo quando em contato direto.

Dependendo do tipo de gás, podem ser altamente comburentes, asfixiantes ou tóxicos. Recomenda-se que o ambiente de utilização dos gases medicinais possua boa ventilação natural ou uma boa renovação do sistema de ar ambiente.

Todas as recomendações de segurança, quanto ao manuseio adequado de gases medicinais, devem ser verificadas nas Fichas de Informação de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ), nos rótulos de segurança e nos símbolos de perigo disponibilizados pelos fabricantes em conformidade com os requisitos da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT NBR 14725 - Produtos Químicos – informações sobre segurança, saúde e meio ambiente.

PADRÕES USADOS NA ANÁLISE DE GASES MEDICINAIS

As monografias de gases medicinais da Farmacopeia Brasileira requerem que os padrões usados para as determinações analíticas sejam materiais de referência certificados (MRC), com rastreabilidade metrológica declarada. Estes MRC são produzidos por institutos de metrologia de diversos países ou por organizações, brasileiras ou estrangeiras, reconhecidas como produtores de materiais de referência certificados. Na ausência destes MRC, podem ser utilizados outros materiais de referência (MR) produzidos de acordo com normas e guias internacionalmente reconhecidos, como ISO 17034 - *General requirements for the competence of reference material producers*.

FORMAS DE ACONDICIONAMENTO

Os gases medicinais encontram-se, em sua maioria, acondicionados em cilindros sob pressão ou em tanques criogênicos.

Cilindros para gases

Os cilindros para gases são em sua maioria cilindros em material metálico, como por exemplo o aço carbono ou o alumínio, fabricados sem costuras ou emendas e equipados com válvulas em seu topo. Tais válvulas possuem conexões com roscas diferenciadas para cada tipo de gás de forma a impedir a aplicação indevida do gás. As roscas dessas conexões são de diâmetros e passos diferentes, internas ou externas, à direita ou à esquerda para minimizar a possibilidade de se conectar cilindros contendo gases incompatíveis com a aplicação.

Os cilindros para gases possuem diferentes tamanhos e suportam diferentes níveis de pressão, que determinam a capacidade de armazenamento do gás na forma comprimida. Normalmente o gás puro é armazenado nos cilindros numa faixa entre 125 a 200 bar podendo, entretanto, variar em faixas maiores ou menores para algumas aplicações específicas.

Em cilindros para gases podem existir gases medicinais na forma comprimida, sob alta pressão, ou na forma liquefeita, onde o produto é envasado como líquido e consumido na forma gasosa.

A confecção dos cilindros segue normas internacionais DOT 3AA, DOT 3A e normas brasileiras ABNT EB 1199, ABNT EB 926 e outras, proporcionando segurança para as pessoas que os manuseiam conforme os procedimentos corretos de segurança.

O conhecimento sobre as informações estampadas na calota do cilindro também é importante, conforme registrado na **Figura 1**.

O manuseio de cilindros com informações inexistentes ou incompletas é extremamente perigoso. Nessas circunstâncias o mais indicado é consultar a FISPQ ou empresas especializadas na área de gases para verificar as condições específicas de utilização do recipiente.

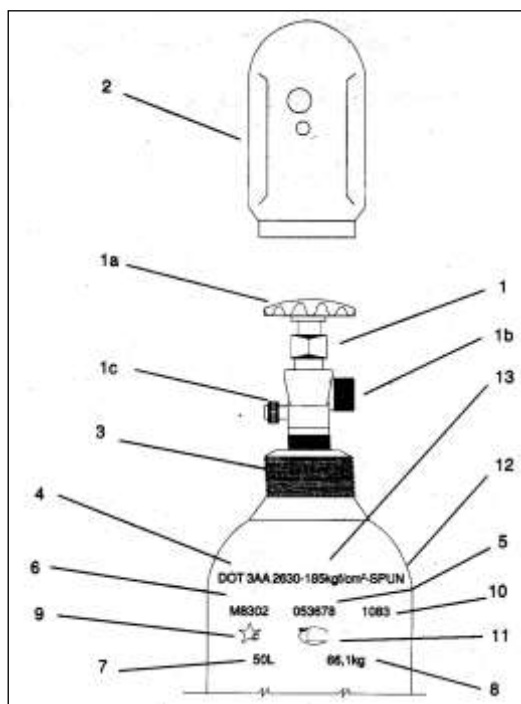


Figura 1 – Dados constantes do cilindro e da válvula.

(1) Válvula; (1a) Volante da válvula; (1b) Conexão CGA; (1c) Dispositivo de segurança; (2) Capacete do cilindro; (3) Colarinho; (4) Especificação da fabricação do cilindro; (5) Número de série; (6) Número de registro do fabricante no DOT; (7) Capacidade hidráulica; (8) Tara do cilindro; (9) Símbolo do fabricante; (10) Data do último teste de pressão hidrostática; (11) Código da entidade certificadora; (12) Processo de fabricação; (13) Pressão máxima de serviço

A válvula é a parte do conjunto menos robusta, por isso, quando o cilindro não estiver em uso, recomenda-se mantê-lo com o capacete ou outro dispositivo de proteção para protegê-la em caso de queda do cilindro ou outros imprevistos. Na **Figura 2** há um exemplo de uma válvula de cilindro utilizada para gases medicinais.

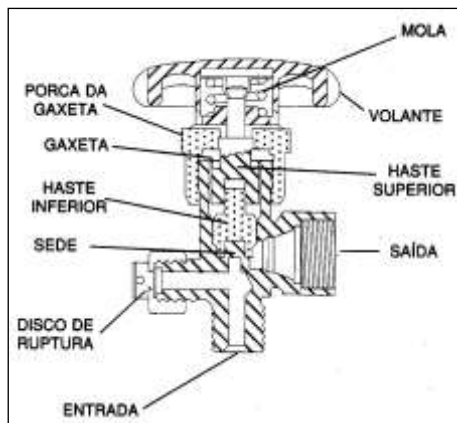


Figura 2 – Válvula de cilindro.

Tanques criogênicos

Os tanques criogênicos armazenam gases medicinais na forma líquida em temperaturas extremamente baixas. Esses tanques são constituídos de duas câmaras uma dentro da outra, geralmente em aço carbono ou aço inoxidável. Essas câmaras estão isoladas entre si por vácuo e revestimentos específicos, a fim de conservar o produto sob temperatura criogênica. O objetivo de se estocar o gás medicinal na forma líquida é ampliar sua autonomia, uma vez que a utilização para tratamentos humanos é sempre sob a forma gasosa.

Em algumas situações, o gás medicinal é utilizado sob a forma líquida, como por exemplo, para gotejamento de nitrogênio para tratamentos dermatológicos ou para armazenamento de nitrogênio líquido para conservação de amostras biológicas de longa preservação.

Os tanques criogênicos podem ser do tipo fixo ou estacionário. Os tanques criogênicos fixos são instalados em serviços de saúde e são reabastecidos com gases medicinais por meio de caminhões tanque. O reabastecimento dos tanques criogênicos móveis, contendo gases medicinais na forma líquida, não é realizado no Serviço de Saúde, pois são substituídos após o consumo.

Dispositivo de segurança

Os gases medicinais acondicionados nas formas descritas acima devem estar em equipamentos com dispositivos de segurança que possibilitem aliviar a pressão gasosa, caso ocorra uma elevação acima do previsto, evitando assim acidentes graves. A pressão de alívio ou ruptura desses dispositivos é calculada em função das características do gás e do cilindro em questão.

Basicamente, há quatro tipos de dispositivos de segurança:

bujão fusível: contém liga de baixo ponto de fusão que em caso de aquecimento do cilindro possibilita a passagem do gás;

disco de ruptura: é um disco metálico calculado para romper-se à determinada pressão e possibilitar o esgotamento total do cilindro ou do tanque;

disco de ruptura + bujão fusível: conjugação dos dois dispositivos anteriores;

segurança de mola: possibilita o alívio de pressão e fecha, automaticamente, quando a pressão do cilindro ou do tanque diminuem.

FORMAS DE TRANSPORTE

Os gases medicinais, envasados em cilindros ou tanques criogênicos móveis, são transportados em caminhões que garantam uma boa ventilação a fim de evitar confinamentos de gases por questões de segurança, em posição vertical e bem afixados, uma vez que os recipientes dos gases, no caso de quedas, podem provocar graves acidentes.

Os gases medicinais liquefeitos são transportados em caminhões tanques, que se constituem de duas câmaras, uma dentro da outra, isolados por vácuo e outros revestimentos que garantem a conservação da temperatura a níveis criogênicos. Com os gases medicinais transportados dessa forma se realiza o abastecimento dos tanques criogênicos fixos instalados nos serviços de saúde.

O transporte de gases medicinais deve obedecer às regras de transporte de produtos químicos perigosos, conforme resoluções da ANTT – Agência Nacional de Transporte Terrestre, uma vez que os gases medicinais também são classificados como produtos químicos perigosos e os veículos de entrega devem ser apropriados e com as devidas identificações de segurança.

Portanto, os gases medicinais somente podem ser transportados em veículos devidamente apropriados.

Estão relacionados a seguir alguns cuidados que devem ser obedecidos no transporte de cilindro de gases:

- ao manusear os cilindros, deve manter-se as mãos e as luvas isentas de óleo ou graxa;
- proteger os cilindros contra choques. Não os deixar cair e sofrer impactos;
- transportar os cilindros sempre com o dispositivo de proteção da válvula;
- nunca os utilizar como roletes ou suportes de apoio, mesmo vazios;
- não elevar ou transportar os cilindros por meio de cabos de aço adaptados à válvula e/ou ao capacete;
- verificar, antecipadamente, se todas as válvulas estão completamente fechadas e se não existem vazamentos;
- desconectar dos cilindros todos os equipamentos (reguladores, mangueiras) antes de seu transporte;
- todos os cilindros devem ser adequadamente fixados nos veículos, sempre em posição vertical.

REVISÃO

11 ÁGUA PARA USO FARMACÊUTICO

INTRODUÇÃO

Nesse capítulo são considerados como água para uso farmacêutico os diversos tipos de água empregados na síntese de fármacos; na formulação e produção de medicamentos; em laboratórios de ensaios; diagnósticos e demais aplicações, relacionadas à área da saúde, inclusive como principal componente na limpeza de utensílios, equipamentos e sistemas.

A estrutura química da água é peculiar, com um momento dipolo e grande facilidade em formar ligações de hidrogênio. Essas propriedades tornam a água um excelente meio para solubilizar, absorver, adsorver ou suspender diversos compostos, inclusive para carrear contaminantes e substâncias indesejáveis, que podem alterar a pureza e eficácia de um produto farmacêutico.

Em face de suas características, os processos de purificação; armazenamento e distribuição devem garantir que as especificações farmacopeicas sejam atendidas, mantidas e controladas adequadamente.

Os requisitos de qualidade da água dependerão de sua finalidade e emprego, e a escolha do sistema de purificação destina atender ao grau de pureza estabelecido. O usuário é responsável pela seleção do tipo de água adequado aos seus objetivos, bem como pelos controles e verificações necessários, em intervalos que garantam a manutenção da qualidade desejada. Ele deve assegurar que o sistema apresente desempenho adequado e capacidade para fornecer água com o nível de qualidade estabelecido, para atender aos parâmetros especificados nas monografias correspondentes.

Nesse capítulo não se esgota o tema e não há o propósito de substituir a legislação ou monografias oficiais já existentes sobre água para fins farmacêuticos. Tem-se como finalidade apresentar subsídios que possibilitem aos usuários um melhor entendimento de pontos fundamentais relativos à qualidade da água no momento da obtenção e durante a distribuição e uso.

O controle da contaminação da água é crucial, uma vez que a água tem grande capacidade de agregar compostos e, também, de se contaminar novamente após a purificação. Os contaminantes da água são representados por dois grandes grupos: químico e microbiológico.

Contaminantes químicos

Os contaminantes orgânicos e inorgânicos têm origens diversas: da fonte de alimentação; da extração de materiais com os quais a água entra em contato; da absorção de gases da atmosfera; de resíduos poluentes, ou resíduos de produtos utilizados na limpeza e sanitização de equipamentos, dentre muitos outros. Incluem-se aqui as endotoxinas bacterianas, resultantes de micro-organismos aquáticos Gram negativos, contaminantes críticos que devem ser removidos adequadamente.

Esses contaminantes podem ser avaliados, principalmente, pelos ensaios de carbono orgânico total – COT (5.2.30) e de condutividade (5.2.24). A condutividade, medida em microsiemens/cm, é recomendada para avaliar água com grande quantidade de íons e o seu recíproco, a resistividade, em megohm.cm, é medida quando há baixa concentração de íons dissolvidos.

A maioria dos compostos orgânicos pode ser removida por osmose reversa, entretanto, aqueles com baixo peso molecular demandam técnicas adicionais, como a resina de troca iônica, eletrodeionização, carvão ativado ou oxidação por ultravioleta ou ozônio, para serem removidos.

Os limites estabelecidos para os parâmetros dos contaminantes químicos orgânicos e inorgânicos destinam-se a proteger a saúde e evitar que compostos químicos críticos possam interferir na fase de pré-tratamento dos sistemas de água, considerando que, posteriormente, podem ser de difícil remoção.

Contaminantes microbiológicos

São representados principalmente por bactérias e apresentam um grande desafio à qualidade da água. São originários da própria microbiota da fonte de água e de alguns equipamentos de purificação. Podem surgir, também, devido a procedimentos de limpeza e sanitização inadequados, que possibilitam a formação de biofilmes e, por consequência, instalam um ciclo contínuo de crescimento a partir de compostos orgânicos que, em última análise, são os próprios nutrientes para os micro-organismos.

As bactérias podem afetar a qualidade da água por desativar reagentes ou alterar substratos por ação enzimática, aumentar o conteúdo em COT, alterar a linha de base (ruído de fundo) em análises espectrais e produzir pirogênios, como as endotoxinas.

A contagem de bactérias é reportada em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) e, em geral, aumenta com o tempo de estocagem da água. Os contaminantes mais frequentes são bastonetes Gram negativos, principalmente dos gêneros *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Aeromonas* e *Acinetobacter*.

O padrão microbiológico é especificado, em paralelo aos contaminantes químicos, e consiste na ausência de coliformes totais e termotolerantes (micro-organismos patogênicos de origem fecal), além de enterovírus, cistos e oocistos de protozoários, como *Giardia* sp e *Cryptosporidium* sp em amostra de 100 mL.

Para atender a esses limites, as estações de tratamento utilizam processos de desinfecção com substâncias químicas contendo cloro ou outros oxidantes, empregadas há décadas, e consideradas relativamente seguras para os seres humanos. Entretanto, esses oxidantes podem reagir com o material orgânico de origem natural e gerar produtos secundários da desinfecção, como trihalometanos, cloraminas ou ainda deixar resíduos dos próprios desinfetantes. Esses produtos indesejáveis requerem atenção especial, por parte dos legisladores e usuários.

As cloraminas, em particular, podem danificar irreversivelmente um equipamento de decloração integrante de um sistema de purificação, além de apresentarem risco de formação e liberação de amônia.

Além desses dois grupos fundamentais de contaminantes, existem os particulados, constituídos por sílica, resíduos da tubulação ou coloides e que, além de ser um risco à qualidade da água purificada, podem provocar entupimentos e prejudicar gravemente o processo de purificação, por reduzir seu desempenho, ou até mesmo causar danos irreversíveis aos equipamentos. Podem ser detectados por filtração combinada com gravimetria ou microscopia. Em geral não é necessário identificar o tipo de partícula, apenas removê-la.

Nesse capítulo são abordadas algumas considerações acerca dos principais sistemas de purificação normalmente utilizados na produção da água para uso farmacêutico; suas principais aplicações;

monitoramento e manutenção. Abrange, também, os parâmetros de pureza estabelecidos para aqueles tipos de água que não são abordados na legislação vigente.

TIPOS DE ÁGUA

Basicamente, há três tipos de água para uso farmacêutico: a água purificada (AP); a água para injetáveis (API) e a água ultrapurificada (AUP), cujas monografias encontram-se nessa Farmacopeia. Compêndios oficiais internacionais especificam, além desses, outros tipos de água, como: acondicionadas em frascos, estéreis ou bacteriostáticas, para irrigação ou inalação. Porém, todas possuem características de pureza semelhante aos tipos fundamentais já mencionados.

Além destas, há a água potável e a água reagente, que são amplamente utilizadas e têm aplicação direta em instalações farmacêuticas, principalmente em procedimentos gerais de limpeza. Assim, são considerados os cinco tipos de água a seguir, em relação às suas características principais e as sugestões de aplicação. As monografias específicas, quando disponíveis, detalham os parâmetros de pureza estabelecidos para cada tipo.

Água potável

Como diretriz fundamental, o ponto de partida para qualquer processo de purificação de água para fins farmacêuticos é a água potável. Esta é obtida por tratamento da água retirada de mananciais, por meio de processos adequados para atender às especificações da legislação brasileira relativas aos parâmetros físicos, químicos, microbiológicos e radioativos, para um determinado padrão de potabilidade e, portanto, não possui monografia específica nesse compêndio.

A água potável é empregada, normalmente, nas etapas iniciais de procedimentos de limpeza e como fonte de obtenção de água de mais alto grau de pureza. Pode ser utilizada, também, na climatização térmica de alguns aparatos e na síntese de ingredientes intermediários.

O controle rigoroso e a manutenção de conformidade dos parâmetros de potabilidade da água são fundamentais, críticos e de responsabilidade do usuário do sistema de purificação que será alimentado. O controle deve ser periódico para garantir que o sistema de purificação utilizado esteja apropriado para as condições da fonte de alimentação e que não houve alteração na qualidade da água fornecida. No entanto, a maioria das aplicações requer tratamentos adicionais da água potável, seja por destilação, deionização, troca iônica, osmose reversa, isolados ou acoplados, ou outro processo adequado para produzir a água purificada, livre da interferência de contaminantes que possam afetar a qualidade dos medicamentos produzidos. Outra variante da água potável é a água reagente.

Água reagente

É produzida por um ou mais processos, como destilação simples, deionização, filtração, descloração ou outro, adequados às características específicas de seu uso. Geralmente a água reagente é empregada na limpeza de materiais e de alguns equipamentos e na fase final da síntese de ingredientes ativos e de excipientes. Tem aplicação no abastecimento de equipamentos, autoclaves, banho-maria e em histologia. Devem ser adotadas medidas para evitar a proliferação microbiana nos pontos de circulação, distribuição e armazenamento. Os principais parâmetros que caracterizam a água reagente são: condutividade de, no máximo, 5,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (resistividade $> 0,2 \text{ MW-cm}$) e carbono orgânico total (COT) $< 0,20 \text{ mg/L}$. Este tipo de água não possui monografia específica e é uma variante da água potável.

Água purificada (AP)

A água purificada é produzida a partir da água potável ou da água reagente e deve atender às especificações estabelecidas na respectiva monografia. Não contém qualquer outra substância adicionada. É obtida por uma combinação de sistemas de purificação, em uma sequência lógica, tais como: múltipla destilação; troca iônica; osmose reversa; eletrodeionização; ultrafiltração, ou outro processo capaz de atender, com a eficiência desejada, aos limites especificados para os diversos contaminantes.

É empregada como excipiente na produção de formas farmacêuticas não parenterais e em formulações magistrais, desde que não haja nenhuma recomendação de pureza superior no seu uso ou que não necessite ser apirogênica. Também, pode ser utilizada na lavagem de material, preparo de soluções reagentes, meios de cultura, tampões, diluições diversas, microbiologia em geral, análises clínicas, técnicas por Elisa ou radioimunoensaio, aplicações diversas na maioria dos laboratórios, principalmente em análises qualitativas ou quantitativas menos exigentes (determinações em porcentagem). É utilizada nos ensaios e determinações que indiquem o emprego de água, a não ser que haja especificação em contrário quanto ao nível de pureza requerido, como por exemplo, alguns métodos analíticos instrumentais e análises que exijam água apirogênica ou de pureza química superior. Pode ser empregada em cromatografia a líquido de alta eficiência, quando confirmado que o seu emprego não afeta a exatidão nem a precisão dos resultados.

Dependendo da aplicação, pode ser esterilizada, sem necessariamente atingir o limite de endotoxinas bacterianas estabelecido para a *Água para injetáveis*.

Necessita monitoramento de contagem do total de organismos aeróbicos viáveis, na produção e estocagem, visto que não possui nenhum inibidor de crescimento adicionado. Minimamente, é caracterizada por condutividade de, no máximo, 1,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25,0 °C (resistividade > 1,0 MW-cm) e COT $\leq 0,50$ mg/L e contagem total de bactérias ≤ 100 UFC/mL, a não ser que especificado de forma diferente. Todo o sistema de obtenção, armazenamento e distribuição deve ser devidamente validado e monitorado quanto aos parâmetros de condutividade e contagem microbiana.

Ainda que seja especificada uma contagem microbiana máxima de 100 UFC/mL na monografia, cada instalação deverá estabelecer o seu limite de alerta ou de ação, caso as características específicas de utilização sejam mais restritivas.

Água ultrapurificada (AUP)

A água ultrapurificada possui baixa concentração iônica, baixa carga microbiana e baixo nível de COT. Essa modalidade de água é requerida em aplicações mais exigentes, principalmente em laboratórios de ensaios, para diluição de substâncias de referência, em controle de qualidade e na limpeza final de equipamentos e utensílios utilizados em processos que entrem em contato direto com a amostra que requeira água com esse nível de pureza. É ideal para métodos de análise que exijam mínima interferência e máxima precisão e exatidão. A utilização de água ultrapurificada em análises quantitativas de baixos teores de analito é essencial para obtenção de resultados analíticos precisos. Outros exemplos de aplicação da água ultrapurificada são: análises de resíduos, dentre eles os traços de elementos minerais, endotoxinas, preparações de calibradores, controles, substância química de referência, espectrometria de absorção atômica em geral, ICP/IOS, ICP/MS, espectrometria de massa, procedimentos enzimáticos, cromatografia a gás, cromatografia a líquido de alta eficiência (determinação de resíduos em ppm ou ppb), métodos em biologia molecular e com cultivo celular etc. Deve ser utilizada no momento em que é produzida, ou no mesmo dia da coleta.

O laboratório deve utilizar o mesmo tipo de água requerida para a leitura final da análise na preparação das amostras, na obtenção da curva padrão, de controles, preparo de soluções, brancos,

lavagem final do material e em toda a vidraria que estará em contato direto com a amostra, sempre que for apropriado.

A água ultrapurificada caracteriza-se por condutividade de, no máximo, 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25,0 $^{\circ}\text{C}$ (resistividade $> 18,0 \text{ MW-cm}$), COT $\leq 0,50 \text{ mg/L}$, endotoxinas $< 0,25 \text{ UE/mL}$ (quando alta qualidade biológica é requerida) e contagem total de bactérias $\leq 10 \text{ UFC}/100 \text{ mL}$.

Água para injetáveis (API)

Água para injetáveis é utilizada como excipiente na preparação de produtos farmacêuticos parenterais de pequeno e grande volume, na fabricação de princípios ativos de uso parenteral, de produtos estéreis, demais produtos que requeiram o controle de endotoxinas e não são submetidos à etapa posterior de remoção. É utilizada ainda na limpeza e preparação de processos, equipamentos e componentes que entram em contato com fármacos e medicamentos estéreis durante sua produção.

O processo de purificação de primeira escolha é a destilação, em equipamento cujas paredes internas sejam fabricadas em metal apropriado, como o aço inox AISI 316L, vidro neutro ou quartzo. Alternativamente, a API pode ser obtida por processo equivalente ou superior à destilação para a remoção de contaminantes químicos e micro-organismos, desde que seja validado e monitorado quanto aos parâmetros estabelecidos. A água de alimentação deve ser, no mínimo, potável e, em geral, necessitará ser pré-tratada para alimentar os equipamentos. O processo é assim especificado em razão da robustez que tais equipamentos apresentam quanto à operação e ao desempenho.

A água para injetáveis deve atender aos ensaios físico-químicos preconizados para a água purificada, além dos testes de contagem total de bactérias $\leq 10 \text{ UFC}/100 \text{ mL}$ e de endotoxinas bacterianas, cujo valor deve ser menor que 0,25 UE/mL.

Alguns parâmetros de qualidade e sugestões de aplicações são registrados, na **Tabela 1**, para cada tipo de água para uso farmacêutico.

Tabela 1 – Tipos de água para uso farmacêutico e parâmetros de qualidade.

<i>Tipo de água</i>	<i>Características</i>	<i>Parâmetros críticos sugeridos</i>	<i>Exemplos de aplicação</i>
Água potável	Obtida de mananciais ou da rede de distribuição pública.	Possui legislação específica.	Limpeza em geral e fonte de alimentação de sistemas de tratamento.
Água reagente	Água potável tratada por deionização ou outro processo. Possui baixa exigência de pureza.	Condutividade máxima de 5,0 $\mu\text{S/cm}$ a 25,0 °C (resistividade > 0,2 $\text{M}\Omega\text{-cm}$); COT < 0,20 mg/L.	Lavagem de material, abastecimento de equipamentos, autoclaves, banho-maria, histologia, usos diversos.
Água purificada	Níveis variáveis de contaminação orgânica e bacteriana. Exige cuidados de forma a evitar a contaminação química e microbiológica. Pode ser obtida por osmose reversa ou por uma combinação de técnicas de purificação a partir da água potável ou da reagente.	Condutividade máxima de 1,3 $\mu\text{S/cm}$ a 25,0 °C (resistividade > 1,0 $\text{M}\Omega\text{-cm}$); COT \leq 0,50 mg/L; Contagem do número total de bactérias heterotróficas: no máximo, 100 UFC/mL; Ausência de Pseudomonas e coliformes.	Produção de medicamentos e cosméticos em geral, farmácias, lavagem de material, preparo de soluções reagentes, meios de cultura, tampões, diluições, microbiologia em geral, análises clínicas, técnicas por Elisa, radioimunoensaio, aplicações diversas na maioria dos laboratórios, principalmente em análises qualitativas ou quantitativas menos exigentes (em %). Em CLAE (em %).
Água para injetáveis	Água purificada tratada por destilação ou processo similar.	Atende aos requisitos químicos da água purificada e exige controle de endotoxinas. Contagem do número total de bactérias heterotróficas: no máximo, 10 UFC/100 mL. Endotoxinas < 0,25 UE/mL. Ausência de Pseudomonas e coliformes.	Como veículo ou solvente de injetáveis, fabricação de princípios ativos de uso parenteral, lavagem final de equipamentos, tubulação e recipientes usados em preparações parenterais. Usada como diluente de preparações parenterais.
Água ultrapurificada	Para análises que exigem mínima interferência e máxima precisão e exatidão. Baixa concentração iônica, baixa carga microbiana e baixo nível de carbono orgânico total. Água purificada tratada por processo complementar.	Condutividade máxima de 0,1 $\mu\text{S/cm}$ a 25,0 °C (resistividade > 18,0 $\text{M}\Omega\text{-cm}$); COT \leq 0,50 mg/L; Contagem do número total de bactérias heterotróficas: no máximo, 10 UFC/100 mL. Endotoxinas: < 0,25 UE/mL (quando alta qualidade biológica é requerida) Ausência de Pseudomonas e coliformes.	Dosagem de resíduos minerais ou orgânicos, endotoxinas, preparações de calibradores, controles, SQR, espectrometria de absorção atômica, ICP/IOS, ICP/MS, espectrometria de massa, procedimentos enzimáticos, cromatografia a gás, CLAE (ppm ou ppb), biologia molecular e cultivo celular etc. Eventualmente em preparações farmacêuticas que requeiram água de alta pureza.

COT = Carbono orgânico total;

UFC = Unidades formadoras de colônias; população microbiológica viável.

SISTEMAS DE PURIFICAÇÃO DE ÁGUA – TECNOLOGIAS DE PURIFICAÇÃO

Os projetos, instalações e operação de sistemas para produção de água purificada (AP), água ultrapurificada (AUP) e a água para injetáveis (API) possuem componentes, controles e procedimentos similares. A diferença reside na presença do parâmetro endotoxinas bacterianas na água para injetáveis e nos seus métodos de preparação, especificamente no último estágio. Essas similaridades de parâmetros de qualidade possibilitam estabelecer uma base comum para o projeto de sistemas destinados à obtenção de AP, AUP ou API, sendo pontos críticos diferenciais o grau de controle do sistema e os estágios finais de purificação necessários para remover bactérias, endotoxinas bacterianas e reduzir a condutividade.

Os processos de obtenção empregam operações unitárias sequenciais – os estágios de purificação – que estão voltados à remoção de determinados contaminantes e à proteção de estágios de purificação subsequentes. Note-se que a operação unitária final para obtenção de água para injetáveis é limitada à destilação ou outro processo equivalente ou superior, na remoção de contaminantes químicos, bem como micro-organismos e seus componentes. A tecnologia de destilação é consagrada pelo seu longo histórico de confiabilidade e pode ser validada para produção de água para injetáveis. Porém, outras tecnologias ou combinação de tecnologias podem igualmente ser efetivas e validadas para essa finalidade. A ultrafiltração colocada em uma sequência após outras tecnologias de purificação de contaminantes químicos pode ser adequada para a produção de água para injetáveis, se demonstrar a mesma eficácia e confiabilidade da destilação na validação.

Para produzir a água para injetáveis, há novas e promissoras aplicações validáveis devido ao desenvolvimento de novos materiais para tecnologias como osmose reversa e ultrafiltração, que permitem operar e sanitizar em temperatura mais elevada, possibilitando uma redução microbiana mais efetiva.

O projeto de instalação de um sistema de purificação de água deve considerar a qualidade da água de fornecimento e da água desejada ao final, a vazão necessária, a distância entre o sistema de produção e os pontos de uso, o traçado da tubulação e conexões, o material empregado, facilidades de assistência técnica e manutenção e os instrumentos adequados para o monitoramento.

As tecnologias de purificação destinam-se à remoção de contaminantes nos diversos estágios da sequência de purificação. As principais tecnologias apresentadas a seguir estão em uma ordem sequencial lógica, porém a escolha de quais serão utilizadas e a ordem em que são aplicadas dependerão da qualidade da água potável de entrada e do tipo de água que se busca obter.

Pré-filtração

Também conhecida como filtração de profundidade ou filtração inicial, destina-se a remover contaminantes particulados na faixa de tamanho entre 5 e 10 μm , essencialmente para proteger as tecnologias subsequentes, utilizando filtros de areia ou combinação de filtros.

Adsorção por carvão vegetal ativado

Essa tecnologia emprega a capacidade de adsorção do carvão vegetal ativado em contato com compostos orgânicos ou contaminantes, como as cloraminas. Além disso, remove agentes oxidantes por redução química, em especial o cloro livre, que afeta outras tecnologias baseadas em membrana, como a osmose reversa ou a ultrafiltração.

A retirada de agentes sanitizantes propicia o crescimento bacteriano e a formação de biofilme, o que implica na necessidade de sanitização do próprio carvão ativado, com vapor direto ou água quente, por exemplo, e do controle de partículas e contagem microbiana de seu efluente.

Tratamento com aditivos químicos

O uso de aditivos químicos refere-se àqueles que se destinam a ajustar o pH ou a remover carbonatos e amônia, para a proteção de outras tecnologias, entre elas a osmose reversa.

Como aditivos químicos podem ser empregados o ozônio, comumente usado no controle de micro-organismos, e o metabissulfito, aplicado como agente redutor para cloro livre, em substituição ao carvão vegetal ativado.

Os aditivos químicos são, necessariamente, removidos em algum estágio posterior de purificação e não podem deixar resíduo na água final.

Tratamento com abrandadores

Nos casos em que a água de alimentação é “dura”, torna-se necessário usar os abrandadores. Essa tecnologia emprega resinas regeneráveis de troca iônica, que capturam os íons cálcio e magnésio, e liberam íons sódio na água. O abrandamento é utilizado na proteção de tecnologias sensíveis à incrustação, como a osmose reversa.

É necessário controlar a contagem microbiana, com regeneração frequente, recirculação ou outras formas de redução de contagem microbiana, para evitar a formação de biofilme.

Deionização e eletrodeionização contínua

A deionização e a eletrodeionização contínua são tecnologias eficazes para a remoção de sais inorgânicos dissolvidos. Os sistemas de deionização, também conhecidos como deionização convencional, produzem água purificada de uso rotineiro, por meio de resinas de troca iônica específicas para cátions ou para ânions. São polímeros orgânicos, geralmente sulfonados, na forma de pequenas partículas. As resinas catiônicas capturam os íons liberando o íon H^+ na água e as aniônicas liberam OH^- . São regeneráveis com ácidos e bases, respectivamente. Esse processo isolado não produz água de alta pureza, por haver fuga de pequenos fragmentos da resina, facilidade de crescimento microbiano e por haver baixa remoção de orgânicos.

Os sistemas de eletrodeionização contínua combinam resinas catiônicas e aniônicas com membranas semipermeáveis e a aplicação de um campo elétrico, promovendo a remoção de íons de forma contínua, isto é, sem necessidade de parada para regeneração. Em ambos os casos é necessário ter um controle sobre a geração de partículas decorrente das regenerações sucessivas, além de micro-organismos. Isso pode ser realizado controlando-se as regenerações, no caso da deionização, utilizando-se recirculação da água e aplicando-se radiação UV para o controle de micro-organismos na saída, cuja eficácia precisa ser comprovada.

Osmose reversa

A osmose reversa é uma tecnologia de purificação baseada em membranas semipermeáveis e com propriedades especiais de remoção de íons; micro-organismos e endotoxinas bacterianas. Remove 90 a 99% da maioria dos contaminantes. Entretanto, diversos fatores, como pH; pressão diferencial ao

longo da membrana; temperatura; tipo do polímero da membrana e a própria construção dos cartuchos de osmose reversa podem afetar significativamente essa separação.

As membranas de osmose reversa devem ser devidamente controladas quanto à formação de incrustações provenientes de sais de cálcio, magnésio e outros, e de biofilme, fonte crítica de contaminação microbiana e de endotoxinas. Por isso é imprescindível instalar um sistema de pré-tratamento antes da osmose reversa, que remova partículas e agentes oxidantes, e, em paralelo, deve-se fazer, periodicamente, a sanitização do sistema. Essa prática ajuda a aumentar a vida útil das membranas e reduz a frequência de sua regeneração.

Existem os sistemas de osmose reversa de duplo passo, em que a água purificada pelo primeiro estágio alimenta o segundo estágio, incrementando e complementando a purificação.

Ultrafiltração

A ultrafiltração é frequentemente utilizada em sistemas de água para uso farmacêutico para a remoção de endotoxinas. A ultrafiltração é realizada utilizando-se uma membrana especial com a propriedade de reter moléculas conforme o seu peso molecular e estereoquímica. Denomina-se de Corte Nominal de Peso Molecular “*cut off*” a faixa utilizada para a separação das partículas, caracterizado pelo tamanho do peso molecular. Na remoção de endotoxinas são utilizados filtros na faixa de 10 000 Da, que retêm moléculas com massa molecular, maior ou igual a 10 000 Da.

Essa tecnologia pode ser usada em uma etapa final ou intermediária do sistema de purificação, desde que validada, e, da mesma forma que a osmose reversa, requer um pré-tratamento, um controle adequado das condições operacionais e procedimentos apropriados de limpeza e sanitização, para manter a qualidade da água conforme o estabelecido.

Filtração com carga eletrostática

Esse tipo de filtração emprega cargas positivas na superfície das membranas e destina-se a reduzir os níveis de endotoxinas que possuem natureza elétrica negativa. Apresentam uma capacidade marginal de remoção de micro-organismos, porém sua maior eficiência é devido à remoção de endotoxinas. Apresenta uma limitação importante: quando as cargas estão totalmente neutralizadas, por saturação pela captura das endotoxinas, a remoção se paralisa. Por essa razão, filtros com carga eletrostática são extremamente difíceis de validar, dada essa imprevisibilidade, quanto ao momento em que efetivamente não mais retêm esses contaminantes.

Microfiltração – retenção de micro-organismos

Essa tecnologia utiliza membranas microporosas, com uma especificação de tamanho de poro de 0,2 ou 0,22 μm . Devem ser validadas quanto à retenção, por meio de um teste bacteriológico, que determina o valor da redução logarítmica dos micro-organismos nas membranas. O modelo usado emprega uma suspensão de *Brevundimonas diminuta* a 10^7 UFC/cm² de área filtrante e testa a esterilidade do filtrado. Ainda que a membrana seja especificada como 0,2 ou 0,22 μm de diâmetro de poro, não necessariamente será esterilizante se não produzir um filtrado estéril por meio desse teste, ou seja, um valor de redução logarítmica igual a 7. Caso a redução logarítmica obtida não seja da ordem de sete, a membrana pode ser utilizada para reduzir a contagem microbiana, porém não deve ser utilizada para esterilizar.

A microfiltração é aplicada na filtração de gases, ou ventilação de tanques de armazenamento, para evitar contaminação da água neles contida. Nesses casos, utilizam-se membranas hidrofóbicas, para que o filtro opere sem acúmulo de água condensada, a partir da umidade do próprio ar.

Radiação ultravioleta (UV)

A radiação UV é utilizada em sistemas de purificação de água em dois comprimentos de onda: 185 nm e 254 nm, que promovem dois efeitos:

- 185 nm e 254 nm – Oxidação de compostos orgânicos e consequente redução de sua concentração, para atender aos limites da AP, AUP e API;
- 254 nm – Ação germicida nos diversos pontos da sequência de purificação, para reduzir a contagem microbiana.

Para a oxidação de orgânicos a água deve estar no estágio final da purificação, e essa remoção será mais efetiva quanto menor for a carga de contaminantes. Deve-se monitorar a intensidade da lâmpada e considerar a profundidade/espessura do leito e o fluxo de água no local da radiação.

Destilação

Em instalações industriais pode haver destiladores simples, de múltiplos efeitos e os de compressão de vapor, que são usados, em geral, para sistemas de produção de grandes volumes. A água de alimentação para esses equipamentos requer controles diferentes daqueles usados em osmose reversa. Nesse caso, a concentração de silicatos é crítica, como em qualquer sistema de geração de vapor. Outro aspecto importante é a possibilidade de carreamento de compostos voláteis no condensado. Isso é especialmente importante no que se refere a impurezas orgânicas, como trihalometanos e gases dissolvidos na água, como dióxido de carbono e amônia. Assim, é fundamental o controle da água potável de entrada, conforme mencionado sobre a água de alimentação para sistemas de purificação.

DISTRIBUIÇÃO, SANITIZAÇÃO, ARMAZENAMENTO E VALIDAÇÃO

Distribuição

O desenho do sistema de distribuição deve levar em consideração a recirculação constante da água purificada e da água para injetáveis e a manutenção da temperatura da água contida no tanque. Caso necessário, deverá conter um trocador de calor para fornecer água mais fria aos pontos de uso.

Tubulações, válvulas, instrumentos e outros dispositivos devem ter construção e acabamento sanitário, de forma a não contribuírem para que ocorra a contaminação microbiana e serem sanitizados.

Não devem ser utilizados filtros de retenção microbiológica na saída, ou no retorno dos sistemas de distribuição, pois são repositórios de micro-organismos retidos e, portanto, uma fonte crítica para a formação de endotoxinas. Os pontos de uso devem ser projetados de forma a evitar volumes mortos e possibilitar que a água recircule totalmente neles quando estiverem fechados.

Sanitização

Diversos são os métodos de sanitização dos sistemas de produção, armazenamento e distribuição.

O material de construção do sistema deve ser resistente aos agentes empregados e a temperatura utilizada no processo é crítica. É comum utilizar temperaturas de 80 °C ou de 65 °C, com circulação contínua da água. No entanto, para impedir a formação de biofilmes normalmente é empregada uma

combinação de calor e agentes químicos na sanitização. O procedimento de sanitização deve ser devidamente validado.

Como agentes químicos, geralmente são usados oxidantes, como os compostos halogenados, peróxido de hidrogênio, ozônio ou uma combinação desses. A frequência da sanitização é determinada pelo histórico dos resultados do monitoramento e das curvas de tendência, de forma que o sistema funcione sem exceder o limite de alerta.

Armazenamento

As condições de estocagem devem ser adequadas à qualidade da água. A água ultrapurificada não deve ser armazenada por período superior a 24 horas. A diretriz fundamental para o armazenamento da água purificada, da água ultrapurificada ou da água para injetáveis é ponderar que, quanto maior o grau de purificação da água, mais rapidamente ela tende a se recontaminar.

Sendo assim, a água deve ser mantida em recirculação constante, por meio de seu sistema de distribuição, sempre que aplicável. As primeiras porções de água produzida por um sistema de purificação que tenha ficado inativo por mais de quatro horas devem ser desprezadas proporcionalmente ao volume morto do recipiente. Essas variáveis devem ser validadas para as condições específicas de cada sistema bem como devem ser estabelecidos os parâmetros a serem considerados na validação.

O reservatório utilizado para a sua manutenção deve ser apropriado aos fins a que se destina, sendo composto por material inerte, limpo e não servir de fonte de contaminação ao conteúdo. O material de construção deve apresentar características e rugosidade apropriadas para dificultar a aderência de resíduos, a formação de biofilme e a corrosão pelos agentes sanitizantes. O aço inoxidável 316L eletropolido, com rugosidade menor que 0,5 microRA, é a escolha mais frequente para atender a essas exigências. O reservatório deve estar protegido de fontes de luz e calor impróprios e a geometria deve permitir seu esgotamento total pelo fundo, sem volumes mortos.

Procedimentos adequados devem ser adotados para evitar a contaminação por particulados, orgânicos ou micro-organismos. Deve possuir um filtro de “respiro”/ventilação para evitar que haja contaminação do volume do tanque pela admissão de ar/umidade contaminados e evitar uma recontaminação por essa via.

Em particular, mas não exclusivamente, reservatórios de água para injetáveis devem ser encamisados para manter a água circulante em temperatura superior a 80 °C, o que restringe significativamente o crescimento bacteriano.

Validação

O propósito fundamental da validação é assegurar a confiabilidade de um sistema de purificação de água, envolvendo sua obtenção, armazenamento, distribuição e qualidade no ponto de uso.

A validação inclui a qualificação do projeto (QP); da instalação (QI); da operação (QO) e do desempenho (QD).

O plano de validação para um sistema de água envolve as seguintes etapas:

- a) conhecer o padrão de qualidade da fonte de alimentação;
- b) estabelecer o padrão de qualidade da água purificada;

- c) definir as tecnologias de purificação e sua sequência, a partir da qualidade da água de entrada;
- d) selecionar os materiais de construção dos sistemas de produção, armazenamento, distribuição e monitoramento dos pontos de uso;
- e) desenvolver os protocolos de qualificação de projeto, instalação, operação e desempenho;
- f) estabelecer os parâmetros críticos, níveis de alerta e de ação e a periodicidade de sanitização e de monitoramento;
- g) estabelecer um plano de manutenção da validação, que incluirá mecanismos para o controle de mudanças nos sistemas de água e proporcionará subsídios para um programa de manutenção preventiva.

Os protocolos de qualificação devem estar previamente aprovados antes de sua execução.

MONITORAMENTO DA QUALIDADE DA ÁGUA

O processo empregado na produção de água para uso farmacêutico deve ser validado e, sistematicamente, os parâmetros estabelecidos na legislação e nas monografias específicas de cada tipo de água devem ser verificados.

O monitoramento da qualidade da água deve abranger todos os pontos críticos e representativos do sistema, de acordo com o planejamento estabelecido, de forma consistente e contínua.

Assim, devem ser estabelecidos procedimentos operacionais e de sanitização, um programa de monitoramento abrangente, com manutenção preventiva e um sistema de controle de mudanças, que determine criteriosamente se o sistema necessitará ser revalidado após qualquer modificação. As questões sazonais que podem afetar a qualidade da água da fonte de fornecimento devem ser consideradas na elaboração do plano. A frequência de coleta das amostras é definida na validação do sistema, bem como os ensaios necessários para garantir a manutenção da qualidade da água requerida. Qualquer alteração no plano original deve ser reavaliada.

Os equipamentos e aparatos utilizados nas verificações devem ser capazes de fornecer a leitura na faixa requerida para a pureza estabelecida. Os equipamentos utilizados devem estar devidamente calibrados. As verificações realizadas devem ser registradas em formulário próprio, em que conste, pelo menos, o(s) parâmetro(s) medido(s), a data da medição, o valor obtido, a faixa de aceitação e o responsável pela leitura. O pessoal que realiza essa tarefa deve conhecer o plano de amostragem e os métodos utilizados, bem como os limites de alerta e de ação estabelecidos. Caso o usuário terceirize esse controle, deve garantir que o terceirizado cumpra com os requisitos e procedimentos definidos.

Os dados obtidos são comparados com as especificações típicas e os limites de alerta e de ação. Esses são estabelecidos pelo usuário, com base nos dados da validação, no histórico do sistema de purificação e distribuição e nas exigências de qualidade para uma determinada aplicação.

O usuário deve definir os limites de alerta e de ação, de forma a evitar a obtenção do produto com especificação de qualidade inferior à requerida para uma dada aplicação. O limite de alerta indica que um desvio na qualidade pode acontecer e não necessariamente requer uma medida corretiva. Pode ser estabelecido com base em uma análise estatística do histórico de tendências, utilizando dois desvios-padrão, por exemplo, ou cerca de 70% do limite de ação, ou 50% da contagem do número de unidades

viáveis, o que for menor. O limite de ação indica que o desvio da qualidade excedeu os parâmetros toleráveis e requer interrupção da atividade para a correção.

Resultados não conformes requerem uma intervenção extraordinária no local, em adição às operações normais, a fim de restaurar o sistema para que o padrão de qualidade esperado seja mantido.

O monitoramento da qualidade da água deve ser realizado por meio de análises físico-químicas e microbiológicas.

MONITORAMENTO FÍSICO-QUÍMICO

O monitoramento físico-químico acompanha, principalmente, a condutividade e o carbono orgânico total, que também podem ser medidos em linha. Esses ensaios abrangem um grande número de contaminantes inorgânicos. Caso a amostra não seja analisada em seguida à coleta, deve ser preservada e armazenada em condições que garantam a sua integridade e conservação por período adequado. Dependendo da aplicação requerida os parâmetros críticos a serem monitorados podem variar.

MONITORAMENTO MICROBIOLÓGICO

A importância do controle da água para uso farmacêutico está em garantir sua qualidade de modo a atender aos parâmetros determinados em cada monografia e evitar o carreamento da contaminação para os produtos. Sendo assim, requer rigoroso controle de qualidade microbiológico, visto que, por suas características intrínsecas e pelos processos envolvidos na sua produção, é altamente suscetível à contaminação microbiana.

O alvo do controle microbiológico são as bactérias patogênicas, existindo a necessidade de identificar ou selecionar certas espécies de micro-organismos que podem ser prejudiciais a processos e produtos, como, por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. Os ensaios destinados ao monitoramento microbiológico da água para uso farmacêutico estão descritos no método geral **5.5.3.7**.

MONOGRAFIAS CORRELATOS

INCLUSÃO

SUTURAS CIRÚRGICAS ABSORVÍVEIS (CATEGUTE)	114
SUTURAS CIRÚRGICAS ABSORVÍVEIS SINTÉTICAS	115
SUTURAS CIRÚRGICAS NÃO ABSORVÍVEIS.....	117

INCLUSÃO

SUTURAS CIRÚRGICAS ABSORVÍVEIS (CATEGUTE)

DESCRIÇÃO

O categute é constituído por fitas de colágeno proveniente do intestino de animais herbívoros saudáveis, seleccionadas, purificadas, torcidas, secadas, polidas e esterilizadas. O categute pode ser submetido a tratamentos químicos tais como sais de cromo para prolongar sua resistência à absorção, sendo por esta razão classificado em simples ou não tratado e cromado ou tratado.

O comprimento, diâmetro e a resistência à tração do categute deverão estar de acordo com os limites descritos nesta monografia.

CARACTERÍSTICAS

Nota: os quatro testes a seguir devem ser executados imediatamente após a remoção do categute cirúrgico do líquido conservante, sem submeter à secagem prévia.

Comprimento. Deve ser determinado sem submeter o categute a estiramento. O comprimento de cada sutura não deve ser inferior a 90% do comprimento descrito no rótulo.

Diâmetro (5.7.2). Determinar o diâmetro de dez suturas conforme descrito em *Diâmetro de suturas*. A média, e não menos que vinte de trinta determinações em amostragem de dez suturas, deve estar dentro dos limites de diâmetro descritos na **Tabela 1**, para o respectivo número cirúrgico. Nenhuma das medidas deve ser menor que o valor médio da faixa do número cirúrgico, imediatamente inferior, ou maior que o valor médio da faixa para o número cirúrgico, imediatamente superior.

Resistência à tração (5.7.1). Determinar a resistência à tração de dez suturas conforme descrito em *Resistência à tração*. A resistência mínima à tração correspondente a cada número cirúrgico é representada pela média dos resultados obtidos nas dez suturas analisadas, descritas na **Tabela 1**. Se mais do que um fio estiver fora da especificação individual, repetir o ensaio com no mínimo 20 fios adicionais. Os requisitos do ensaio são preenchidos se nenhum dos fios adicionais estiver abaixo do limite individual e se a força média de todos os fios ensaiados não estiver abaixo do valor encontrado na respectiva tabela.

Tabela 1 – Categute cirúrgico estéril: diâmetro e resistência à tração sobre-nó.

Número		Diâmetro		Resistência à tração			
				Média (Mínimo)		Valor individual (Mínimo)	
Cirúrgico	Métrico	Mínimo mm	Máximo mm	kgf	N	kgf	N
9-0	0,4	0,040	0,049	-	-	-	-
8-0	0,5	0,050	0,069	0,045	0,44	0,025	0,24
7-0	0,7	0,070	0,099	0,07	0,69	0,055	0,54
6-0	1	0,10	0,149	0,18	1,77	0,10	0,98
5-0	1,5	0,15	0,199	0,38	3,73	0,20	1,96
4-0	2	0,20	0,249	0,77	7,55	0,40	3,92
3-0	3	0,30	0,339	1,25	12,26	0,68	6,67
2-0	3,5	0,35	0,399	2,00	19,62	1,04	10,2
0	4	0,40	0,499	2,77	27,17	1,45	14,2
1	5	0,50	0,599	3,80	37,28	1,95	19,1
2	6	0,60	0,699	4,51	44,24	2,40	23,5
3	7	0,70	0,799	5,90	57,88	2,99	29,3
4	8	0,80	0,899	7,00	68,67	3,49	34,2

Resistência ao encastamento da agulha (5.7.3). As suturas nas quais são fixadas agulhas devem atender aos requisitos descritos em *Resistência ao encastamento da agulha*.

Esterilidade (5.5.3.2.1). O categute cirúrgico deve satisfazer às exigências descritas no *Teste de esterilidade*.

Compostos solúveis de cromo. Pesar uma quantidade de sutura equivalente a não menos que 250 mg e transferir para um erlenmeyer contendo 1 mL de água para cada 10 mg de amostra. Fechar o erlenmeyer e deixar em repouso a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Após este tempo, resfriar e decantar ou filtrar o líquido e pipetar 5 mL para um tubo de ensaio. Em um tubo similar, pipetar 5 mL de uma solução padrão de dicromato de potássio de concentração igual a $2,83\text{ }\mu\text{g}$ por mL. Adicionar a ambos os tubos 2 mL de uma solução de difenilcarbazida a 1% (p/v) em etanol e 2 mL de ácido sulfúrico 2 N. Qualquer cor que se desenvolva na solução teste não deve ser mais intensa que a da solução padrão (0,0001% de Cr).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

O categute cirúrgico deve ser acondicionado em embalagem adequada, de modo a manter sua condição de esterilidade até a sua abertura.

SUTURAS CIRÚRGICAS ABSORVÍVEIS SINTÉTICAS

DESCRIÇÃO

As suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas são formadas por um fio esterilizado, mono ou multifilamentar, preparado a partir de polímeros sintéticos. O comprimento, diâmetro e a resistência à tração das suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas deverão estar de acordo com os limites descritos nesta monografia.

CARACTERÍSTICAS

Nota: os quatro testes a seguir devem ser executados imediatamente após a remoção da sutura de sua embalagem.

Comprimento. Deve ser determinado sem submeter a sutura à estiramento. O comprimento de cada sutura não deve ser inferior a 95% do comprimento inscrito no rótulo.

Diâmetro (5.7.2). Determinar o diâmetro de dez suturas conforme instruções em *Diâmetro de suturas*. A média deve estar dentro dos limites de diâmetro descritos na **Tabela 2**, para o respectivo número cirúrgico. Nenhuma das medidas deve ser menor que o valor médio da faixa do número cirúrgico imediatamente inferior ou maior que o valor médio da faixa para o número cirúrgico imediatamente superior.

Resistência à tração (5.7.1). Determinar a resistência à tração de dez suturas conforme descrito em *Resistência à tração*. A resistência mínima à tração correspondente a cada número cirúrgico é representada pela média dos resultados obtidos nas dez suturas analisadas e deve atender aos requisitos descritos na **Tabela 2**.

Tabela 2 – Suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas esterilizadas: diâmetro e resistência à tração sobre-nó.

Número		Diâmetro		Resistência à tração	
				Média (Mínimo)	
Cirúrgico	Métrico	Mínimo mm	Máximo mm	kgf	N
12-0	0,01	0,001	0,009	-	-
11-0	0,1	0,010	0,019	-	-
10-0	0,2	0,020	0,029	0,025 ⁽¹⁾	0,24 ⁽¹⁾
9-0	0,3	0,030	0,039	0,050 ⁽¹⁾	0,49 ⁽¹⁾
8-0	0,4	0,040	0,049	0,07	0,69
7-0	0,5	0,050	0,069	0,14	1,37
6-0	0,7	0,070	0,099	0,25	2,45
5-0	1	0,10	0,149	0,68	6,67
4-0	1,5	0,15	0,199	0,95	9,32
3-0	2	0,20	0,249	1,77	17,4
2-0	3	0,30	0,339	2,68	26,3
0	3,5	0,35	0,399	3,90	38,2
1	4	0,40	0,499	5,08	49,8
2	5	0,50	0,599	6,35	62,3
3 e 4	6	0,60	0,699	7,29	71,5
5	7	0,70	0,799	-	-

(1) Valores de resistência à força de tração direta (exceções).

Resistência ao encastamento da agulha (5.7.3). As suturas nas quais são fixadas agulhas devem atender aos requisitos descritos em *Resistência ao encastamento da agulha*.

Esterilidade (5.5.3.2.1). As suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas devem satisfazer às exigências descritas no *Teste de esterilidade*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

As suturas cirúrgicas absorvíveis sintéticas devem ser acondicionadas em embalagem adequada, de modo a manter sua condição de esterilidade até a sua abertura.

SUTURAS CIRÚRGICAS NÃO ABSORVÍVEIS

DESCRIÇÃO

As suturas cirúrgicas não absorvíveis são fios esterilizados que, quando utilizados em um organismo vivo não são absorvidos pelo mesmo. Variam na origem, que pode ser animal, vegetal ou sintética. Podem ser monofilamentos cilíndricos ou multifilamentos. Estes consistem de fibras elementares que são reunidas por torção ou trançamento.

Podem ser tratados para se tornarem não capilares.

As suturas cirúrgicas não absorvíveis são classificadas em:

- Classe I – compostas por seda ou fibras sintéticas de monofilamento, de construção torcida ou trançada.
- Classe II – composta por fibras de algodão, linho ou sintéticas que possuam um revestimento formando uma película de espessura significativa.
- Classe III – composta por fios metálicos mono ou multifilamentos.

O comprimento, diâmetro e resistência dos fios cirúrgicos não absorvíveis deverão estar de acordo com os limites descritos nesta monografia.

CARACTERÍSTICAS

***Nota:** se a sutura estiver em uma embalagem com um líquido conservante, os quatro testes a seguir devem ser executados imediatamente após a remoção da sutura de sua embalagem.*

Comprimento. Deve ser determinado sem submeter a sutura à estiramento. O comprimento de cada fio não deve ser inferior a 95% do comprimento descrito no rótulo.

Diâmetro (5.7.2). Determinar o diâmetro de dez fios conforme descrito em *Diâmetro de suturas*. A média deve estar dentro dos limites de diâmetro descritos na **Tabela 3**, para o respectivo número cirúrgico. No caso de suturas trançadas ou torcidas, nenhuma das medidas deve ser menor que o valor médio da faixa do número cirúrgico imediatamente inferior ou maior que o valor médio da faixa para o número cirúrgico imediatamente superior.

Resistência à tração (5.7.1). Determinar a resistência à tração de dez fios conforme descrito em *Resistência à tração*. A resistência mínima à tração correspondente a cada número cirúrgico é representada pela média dos resultados obtidos nos dez fios analisados, e deve ser a descrita na **Tabela 3**.

Tabela 3 – Suturas cirúrgicas não absorvíveis esterilizadas: diâmetro e resistência à tração sobre-nó.

Número		Diâmetro mm		Resistência à tração (média - mínimo)					
Cirúrgico	Métrico	Mínimo	Máximo	Classe I ⁽¹⁾		Classe II ⁽²⁾		Classe III ⁽³⁾	
				kgf	N	kgf	N	kgf	N
12-0	0,01	0,001	0,009	0,001 ⁽⁴⁾	0,01	-	-	0,002 ⁽⁴⁾	0,02 ⁽⁴⁾
11-0	0,1	0,010	0,019	0,006 ⁽⁴⁾	0,06 ⁽⁴⁾	0,005 ⁽⁴⁾	0,05 ⁽⁴⁾	0,02 ⁽⁴⁾	0,20 ⁽⁴⁾
10-0	0,2	0,020	0,029	0,019 ⁽⁴⁾	0,194 ⁽⁴⁾	0,014 ⁽⁴⁾	0,14 ⁽⁴⁾	0,06 ⁽⁴⁾	0,59 ⁽⁴⁾
9-0	0,3	0,030	0,039	0,043 ⁽⁴⁾	0,424 ⁽⁴⁾	0,029 ⁽⁴⁾	0,28 ⁽⁴⁾	0,07 ⁽⁴⁾	0,69 ⁽⁴⁾
8-0	0,4	0,040	0,049	0,06	0,59	0,040	0,39	0,11	1,08
7-0	0,5	0,050	0,069	0,11	1,08	0,06	0,59	0,16	1,57
6-0	0,7	0,070	0,099	0,20	1,96	0,11	1,08	0,27	2,65
5-0	1	0,100	0,149	0,40	3,92	0,23	2,26	0,54	5,30
4-0	1,5	0,150	0,199	0,60	5,88	0,46	4,51	0,82	8,04
3-0	2	0,200	0,249	0,96	9,41	0,66	6,47	1,36	13,3
2-0	3	0,300	0,339	1,44	14,1	1,02	10,0	1,80	17,6
0	3,5	0,350	0,399	2,16	21,2	1,45	14,2	3,40	33,3
1	4	0,400	0,499	2,72	26,67	1,81	17,8	4,76	46,7
2	5	0,500	0,599	3,52	34,5	2,54	24,9	5,90 ⁽⁴⁾	57,8 ⁽⁴⁾
3 e 4	6	0,600	0,699	4,88	47,8	3,68	36,1	9,11 ⁽⁴⁾	89,3 ⁽⁴⁾
5	7	0,700	0,799	6,16	60,4	-	-	11,4 ⁽⁴⁾	112 ⁽⁴⁾
6	8	0,800	0,899	7,28	71,4	-	-	13,6 ⁽⁴⁾	133 ⁽⁴⁾
7	9	0,900	0,999	9,04	88,6	-	-	15,9 ⁽⁴⁾	156 ⁽⁴⁾
8	10	1,000	1,099	-	-	-	-	18,2 ⁽⁴⁾	178 ⁽⁴⁾
9	11	1,100	1,199	-	-	-	-	20,5 ⁽⁴⁾	201 ⁽⁴⁾
10	12	1,200	1,299	-	-	-	-	22,8 ⁽⁴⁾	224 ⁽⁴⁾

(1) A classe I é formada por seda ou monofilamentos de fibras sintéticas (torcidas ou trançadas), onde o possível revestimento não afeta significativamente o diâmetro. Por exemplo: seda trançada, poliéster, polipropileno, poliamida, monofilamento de poliamida ou propileno.

(2) A classe II é formada por fios de algodão, de algodão misto, linho (com ou sem revestimento), com fibras sintéticas onde o revestimento afeta significativamente o diâmetro, porém não contribui significativamente na resistência à tração.

(3) A classe III é formada por fios metálicos.

(4) Exceções: valores de resistência à tração por tração direta.

Resistência ao encastamento da agulha (5.7.3). As suturas nas quais são fixadas agulhas devem atender ao previsto em *Resistência ao encastamento da agulha*.

Esterilidade (5.5.3.2.1). As suturas cirúrgicas não absorvíveis devem satisfazer às exigências descritas no *Teste de esterilidade*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

As suturas cirúrgicas não absorvíveis devem ser acondicionadas em embalagem adequada, de modo a manter sua condição de esterilidade até a sua abertura.

MONOGRAFIAS

GASES MEDICINAIS

INCLUSÃO

AR COMPRIMIDO MEDICINAL	120
OXIGÊNIO.....	123

INCLUSÃO

AR COMPRIMIDO MEDICINAL

Aer medicinalis

Essa monografia é aplicável ao ar comprimido medicinal, obtido por compressão do ar atmosférico ou por meio do processo de liquefação criogênica, seguido de compressão.

ESPECIFICAÇÃO GERAL

Contém uma concentração mínima de 19,5% v/v e máxima 23,5% v/v de oxigênio.

DESCRIÇÃO

Características físicas. O ar medicinal, nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP), é um gás incolor, insípido, inodoro, não tóxico, não inflamável. O ar medicinal a 1 atm de pressão e à temperatura ambiente encontra-se no estado gasoso.

Solubilidade. Baixa solubilidade em água.

Informações adicionais. As análises do ar medicinal descritas nessa monografia não necessitam ser realizadas pelo serviço de saúde, desde que esse não produza localmente o produto e atenda aos requisitos das normas e regulamentações em vigor.

IDENTIFICAÇÃO

Cumpra os requerimentos de *Pureza*, em *Ensaio de pureza*.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por análise paramagnética (5.8.1.3)*. A pureza do ar medicinal deve ser no mínimo 19,5% v/v e no máximo 23,5% v/v.

Vapor d'água. No máximo, 67 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando higrômetro eletrolítico (5.8.2.1)*.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando tubos detectores (5.8.2.2)*.

Monóxido de carbono. No máximo, 5 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no infravermelho não dispersivo (5.8.1.2)*.

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 3,5 e 4,5 micromol/mol (ppm) de monóxido de carbono de pureza mínima de 99,99% v/v em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de monóxido de carbono.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores (5.8.1.1)*.

Dióxido de carbono. No máximo, 500 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no infravermelho não dispersivo (5.8.1.2)*.

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 200 e 250 micromol/mol (ppm) de dióxido de carbono de pureza mínima de 99,999% v/v em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de dióxido de carbono.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores (5.8.1.1)*.

Dióxido de enxofre. No máximo, 1 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no ultravioleta (5.8.1.4)*.

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de enxofres totais < 0,1 micromol/mol (ppm), monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol

(ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 0,5 e 1 micromol/mol (ppm) v/v de dióxido de enxofre de pureza mínima de 99,9% v/v em nitrogênio, de pureza mínima 99,999% v/v, contendo impurezas de enxofres totais < 0,1 micromol/mol (ppm), monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de dióxido de enxofre.

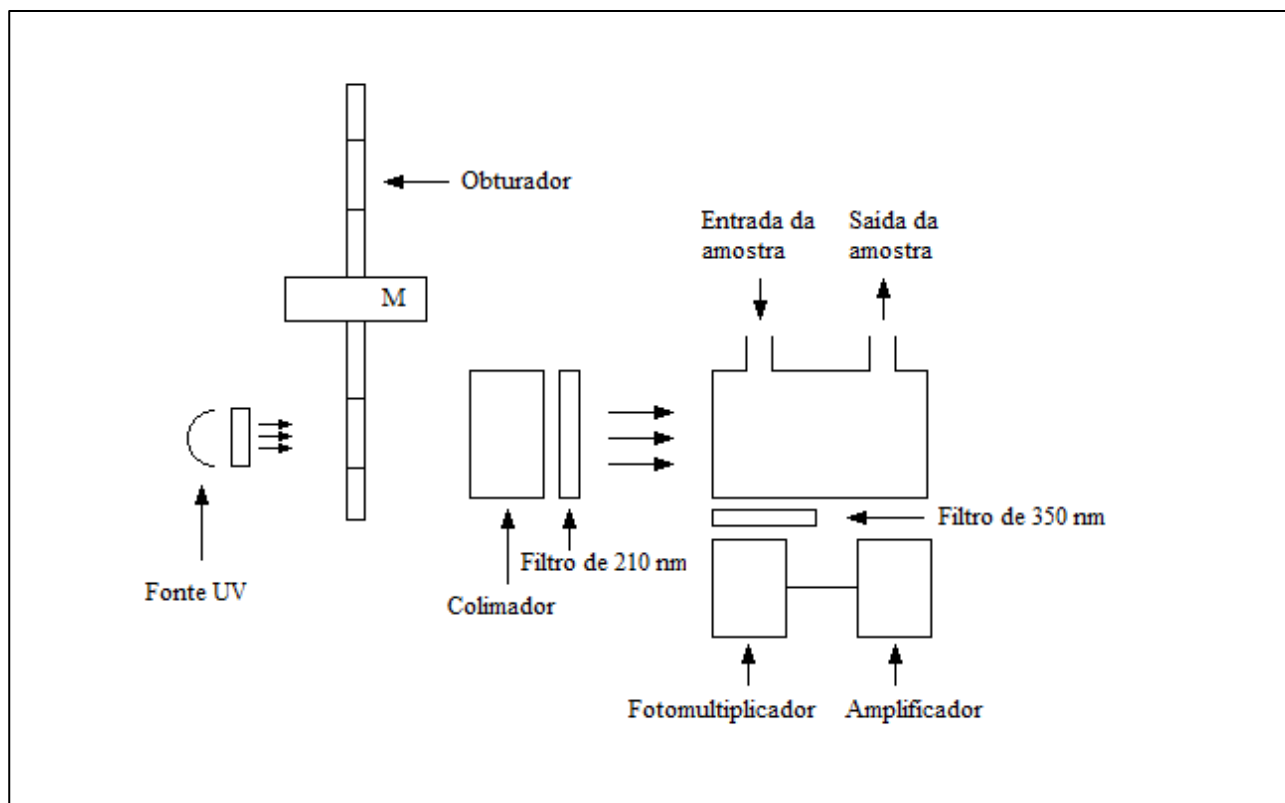


Figura 1 – Analisador de fluorescência no UV.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores (5.8.1.1)*.

Monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio. No máximo, o total de 2 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por luminescência química (5.8.1.5)*.

Ajuste do equipamento: passar pela cela da amostra para ajuste do zero a mistura contendo uma concentração nominal de 21% v/v de oxigênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de nitrogênio e argônio < 100 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 10 micromol/mol (ppm) e monóxido de carbono < 5 micromol/mol (ppm), em nitrogênio de pureza mínima 99,999%, contendo impurezas monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm). A mistura deve conter

menos que 0,05 micromol/mol (ppm) de monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração nominal de 2,0 micromol/mol (ppm) de monóxido de nitrogênio de pureza mínima de 98,0% v/v, em nitrogênio de pureza mínima 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de monóxido de nitrogênio e dióxido de nitrogênio.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores (5.8.1.1)*.

Óleo. No máximo, 0,1 micromol/mol (ppm). Proceder conforme descrito em *Determinação de óleo em gases medicinais (5.8.3)*, apenas para o caso do uso de compressores lubrificados a óleo.

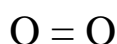
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir com o estabelecido em Gases Medicinais.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

OXIGÊNIO Oxygenium



O₂; 32,00
oxigênio; 11121
[7782-44-7]

Essa monografia é aplicável ao oxigênio para uso medicinal, comprimido ou não, obtido por meio do processo de liquefação criogênica.

ESPECIFICAÇÃO GERAL

Contém oxigênio na pureza mínima de 99,0% v/v.

DESCRIÇÃO

Características físicas. O oxigênio, nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP), é um gás incolor, insípido, inodoro, não tóxico, comburente, não combustível. O oxigênio a 1 atm de

pressão e a $-183\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperatura, encontra-se no estado líquido (criogênico) e de coloração levemente azulada.

Solubilidade. Baixa solubilidade em água. Um volume de oxigênio solubiliza-se em, aproximadamente, 32 volumes de água e em sete volumes de etanol (95 °GL) a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e pressão de 101,3 kPa.

Constantes físico-químicas. 1000 mL de oxigênio a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ e à pressão de 101,3 kPa pesam em torno de 1,429 g.

Informações adicionais. As análises do oxigênio 99,0% descritas nesta monografia não necessitam ser realizadas pelo serviço de saúde.

IDENTIFICAÇÃO

Cumpra os requerimentos de *Pureza*, em *Ensaio de pureza*.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por análise paramagnética (5.8.1.3)*. A pureza deve ser maior ou igual a 99,0% v/v.

Vapor d'água. No máximo, 67 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando higrômetro eletrolítico (5.8.2.1)*.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de vapor d'água utilizando tubos detectores (5.8.2.2)*.

Observação: os ensaios a seguir (*Monóxido de carbono e Dióxido de carbono*) somente devem ser realizados para os produtos que são envasados em cilindros. Portanto os produtos líquidos acondicionados em tanques criogênicos e caminhões tanque, ficam isentos da realização dos ensaios a seguir.

Monóxido de carbono. No máximo, 5 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no infravermelho não dispersivo (5.8.1.2)*.

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono $< 0,5$ micromol/mol (ppm), dióxido de carbono $< 0,5$ micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais $< 0,1$ micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 3,5

e 4,5 micromol/mol (ppm) de monóxido de carbono de pureza mínima de 99,99% v/v em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de monóxido de carbono.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores (5.8.1.1)*.

Dióxido de carbono. No máximo, 300 micromol/mol (ppm).

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases por espectrofotometria no infravermelho não dispersivo (5.8.1.2)*.

Ajuste do equipamento: passar o gás nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm), pela cela da amostra para ajuste do zero. Em seguida, realizar o ajuste do analisador passando a mistura contendo uma concentração entre 200 e 250 micromol/mol (ppm) de dióxido de carbono de pureza mínima de 99,999% v/v em nitrogênio de pureza mínima de 99,999% v/v, contendo impurezas de monóxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), dióxido de carbono < 0,5 micromol/mol (ppm), oxigênio + argônio < 1 micromol/mol (ppm), umidade < 2 micromol/mol (ppm), hidrocarbonetos totais < 0,1 micromol/mol (ppm).

Procedimento: após o ajuste do equipamento, passar a amostra para determinação do teor de dióxido de carbono.

B. Proceder conforme descrito em *Determinação de gases utilizando tubos detectores (5.8.1.1)*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir com o estabelecido em Gases Medicinais.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

MONOGRAFIAS

INSUMOS FARMACÊUTICOS E ESPECIALIDADES

INCLUSÃO

ACETATO DE DEXAMETASONA.....	129
ACETATO DE HIDROCORTISONA.....	131
ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA.....	134
ÁCIDO MEFENÂMICO.....	136
ÁCIDO NICOTÍNICO.....	139
ADENOSINA.....	141
ÁGUA ESTÉRIL PARA IRRIGAÇÃO.....	144
BENZOCAÍNA.....	145
BISSULFATO DE CLOPIDOGREL.....	147
CARBIDOPA.....	150
CARBONATO DE LÍTIO.....	153
CEFALOTINA SÓDICA.....	155
CEFAZOLINA SÓDICA.....	157
CIANOCOBALAMINA.....	160
CIPIONATO DE ESTRADIOL.....	162
CIPROFLOXACINO.....	164
CLONAZEPAM.....	167
CLORANFENICOL.....	171
CLORIDRATO DE ALFENTANILA.....	174
CLORIDRATO DE AMILORIDA.....	176
CLORIDRATO DE BIPERIDENO.....	179
CLORIDRATO DE BUPIVACAÍNA.....	181
CLORIDRATO DE CIMETIDINA.....	183
CLORIDRATO DE CINCHOCAÍNA.....	186
CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINO.....	188
CLORIDRATO DE CLINDAMICINA.....	191
CLORIDRATO DE DILTIAZEM.....	193
CLORIDRATO DE DILTIAZEM COMPRIMIDOS.....	195
CLORIDRATO DE DOPAMINA.....	197
CLORIDRATO DE DULOXETINA.....	199

CLORIDRATO DE DULOXETINA CÁPSULAS.....	202
CLORIDRATO DE FENILEFRINA	205
CLORIDRATO DE NAFAZOLINA	208
CLORIDRATO DE TETRACAÍNA	210
CLOROQUINA.....	212
DIAZEPAM	214
DICLOFENACO SÓDICO	216
DORIPENEM.....	218
DORIPENEM PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL.....	221
ENTACAPONA	223
ENTACAPONA COMPRIMIDOS.....	226
FOSFATO DE CODEÍNA	229
FURAZOLIDONA.....	231
GRISEOFULVINA	232
HIDRÓXIDO DE SÓDIO.....	234
METOTREXATO	236
MICOFENOLATO DE MOFETILA	239
MICOFENOLATO DE SÓDIO COMPRIMIDOS.....	241
NAPROXENO	243
NICOTINAMIDA	246
NITAZOXANIDA	248
NITAZOXANIDA COMPRIMIDOS	251
NITAZOXANIDA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL.....	254
NITRATO DE TIAMINA.....	256
NORFLOXACINO.....	258
PANTOPRAZOL SÓDICO GRÂNULOS GASTRORRESISTENTES	260
PIROXICAM.....	262
PROPILTIOURACIL.....	264
RABEPRAZOL SÓDICO.....	267
RABEPRAZOL SÓDICO COMPRIMIDOS.....	269
SINVASTATINA.....	272
SINVASTATINA CÁPSULAS	275
SOLUÇÕES PARA CONSERVAÇÃO DE ÓRGÃOS.....	276
SOLUÇÕES PARA DIÁLISE PERITONEAL.....	278
SOLUÇÕES PARA HEMOFILTRAÇÃO E HEMODIAFILTRAÇÃO	286
SOLUÇÕES PARA IRRIGAÇÃO.....	293
SULFATO DE CEFPIROMA	294

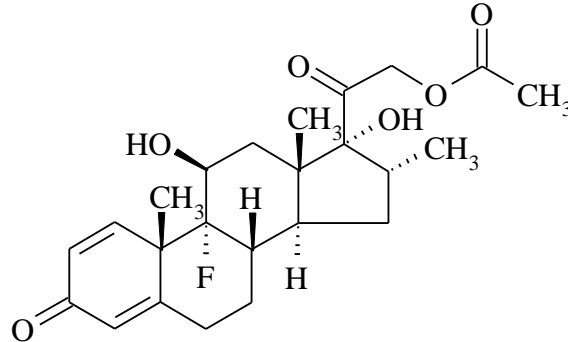
SULFATO DE CEFFIROMA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL ...	297
SULFATO DE ZINCO.....	300
SULPIRIDA	301
TEOFILINA	304

REVISÃO

ÁGUA PARA INJETÁVEIS	307
ÁGUA PURIFICADA.....	308
ÁGUA ULTRAPURIFICADA	310

INCLUSÃO

ACETATO DE DEXAMETASONA Dexamethasoni acetas



$C_{24}H_{31}FO_6$; 434,51

acetato de dexametasona; 02819

(11 β , 16 α)-9-fluor-11,17-diidroxí-16-metil-3,20-dioxopregna-1,4-dieno-21-il acetato
[1177-87-3]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{24}H_{31}FO_6$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em dioxano, álcool etílico e em metanol

Constantes físico-químicas.

Poder rotatório específico (5.2.8): +82° a +88°, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em óleo mineral, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de acetato de dexametasona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução amostra a 15 $\mu\text{g/mL}$ em metanol, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de acetato de dexametasona SQR. As absorvidades respectivas, calculadas no comprimento de onda de absorvância máxima em torno de 239 nm, não diferem mais que 3%.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250

mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo fenila (4 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Tampão formato pH 3,6: transferir 1,32 g de formato de amônio para balão volumétrico de 1 000 mL, adicionar 900 mL de água e homogeneizar. Ajustar o pH para 3,6 com ácido fórmico e completar o volume com o mesmo solvente.

Fase móvel: mistura de *Tampão formato pH 3,6* e acetonitrila (3:2). Fazer ajustes se necessário.

Solução teste: transferir, quantitativamente, exatamente cerca de 200 mg de acetato de dexametasona para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em acetonitrila, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 40 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL, diluir com *Tampão formato pH 3,6* para 100 mL e homogeneizar.

Procedimento: injetar 10 µL da *Solução teste*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos obtidos. A eficiência da coluna não deve ser menor do que 5 400 pratos teóricos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico principal, não é superior a 2,0% da área total dos picos obtidos, incluindo a do pico principal. Nenhuma impureza individual obtida com a *Solução teste* poderá ser superior a 1,0%, comparada à área total dos picos obtidos.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a vácuo, a 105 °C, por três horas. No máximo 0,4%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (10 µm); fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Solução tampão pH 6,0: transferir 3 mL de solução de hidróxido de sódio *M SR*, 138 mL de cloreto de potássio 0,5 *M* e 50 mL de fosfato de potássio monobásico 0,5 *M SR* para balão volumétrico de 1000 mL. Diluir com água para 1000 mL e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (55:45). Fazer ajustes se necessário.

Diluyente: mistura de acetonitrila e *Solução tampão pH 6,0* (1:1).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de, 25 mg da amostra para balão volumétrico de 250 mL. Adicionar 100 mL do *Diluyente* e deixar em ultrassom até obter uma solução límpida. Completar o volume com *Diluyente* e homogeneizar.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de, 25 mg de acetato de dexametasona SQR para balão volumétrico de 250 mL, solubilizar com o *Diluyente*, completar o volume com *Diluyente* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna não deve ser menor que 1 500 pratos teóricos. O fator de capacidade deve ser menor do que 2,0. O fator de cauda é, no máximo, e 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₂₄H₃₁FO₆ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz. Armazenar entre 15 °C e 30 °C.

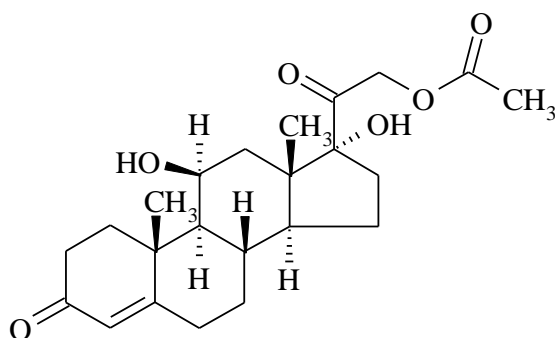
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

ACETATO DE HIDROCORTISONA Hydrocortisoni acetat



C₂₃H₃₂O₆; 404,50

acetato de hidrocortisona; 04666

Acetato de 11β,17-dihidroxi-3,20-dioxopregn-4-eno-21-il
[50-03-3]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de C₂₃H₃₂O₆, em relação à base anidra.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino de coloração branca. *Ponto de fusão (5.2.2):* em torno de 220 °C, com decomposição.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico absoluto.

Constantes físico-químicas

Poder rotatório específico (5.2.8): entre +158° a +167°, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 10 mg/mL em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra dispersa em brometo de potássio apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de acetato de hidrocortisona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica gel GF₂₅₄ como suporte, e mistura de diclorometano, éter, metanol e água (73:15:10:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução teste: dissolver 10 mg da amostra em metanol: diclorometano (1:9) e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (1): dissolver 20 mg de acetato de hidrocortisona SQR em metanol: diclorometano (1:9) e completar o volume para 20 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): dissolver 10 mg de acetato de cortisona em *solução (1)* e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *solução teste* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *solução (1)*. Nebulizar a placa com solução alcoólica de ácido sulfúrico SR. Aquecer a 120 °C durante 10 minutos ou até o aparecimento de manchas e deixar arrefecer. Examinar à luz do dia e sob luz ultravioleta (365 nm). A mancha principal obtida com a *solução teste*, corresponde em posição, cor à luz do dia, fluorescência sob luz ultravioleta (365 nm) e dimensões, à mancha principal obtida com a *solução (1)*. O cromatograma da *solução (2)* demonstra duas manchas claramente separadas.

C. Adicionar cerca de 2 mg de amostra em 2 mL de ácido sulfúrico e agitar até completa dissolução. Aguardar cinco minutos. Desenvolver-se-á uma intensa coloração castanho-avermelhada com fluorescência verde que é principalmente intensa quando visualizada em luz ultravioleta (365 nm). Adicionar a essa solução 10 mL de água e homogeneizar. A coloração enfraquece e a fluorescência sob luz ultravioleta permanece.

D. Responde às reações do grupo *Acetila (5.3.1.1)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (40:60).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, 25,0 mg de amostra para balão volumétrico de 10,0 mL, dissolver, completar o volume com metanol e homogeneizar.

Solução padrão: transferir 2,0 mg de acetato de hidrocortisona SQR e 2,0 mg de acetato de cortisona para balão volumétrico de 100,0 mL, dissolver, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir 1,0 mL dessa solução em balão de 100,0 mL com *Fase móvel*, completar com *Fase móvel* e homogeneizar

A resolução entre os picos de acetato de hidrocortisona e acetato de cortisona é, no mínimo, 4,2.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções amostra e padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular o percentual de cada impureza da porção de acetato de hidrocortisona. Para qualquer impureza individual, no máximo 1,0% da área do pico principal obtido com a *Solução padrão* e, no máximo, um pico com área maior que 0,5% da área do pico principal obtido na *Solução padrão*. Para o total de impurezas encontradas, no máximo 1,5% da área do pico principal obtido com a *Solução padrão*. Ignorar picos com área menor que 0,05% do pico principal obtido na *Solução padrão*.

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 0,5 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por três horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar, com exatidão, cerca de, 0,1 g da amostra e dissolver em álcool etílico 96%. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em álcool etílico 96%, até concentração de 0,002% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 241 nm, utilizando álcool etílico (96%) para ajuste do zero. Calcular o teor de C₂₃H₃₂O₆ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

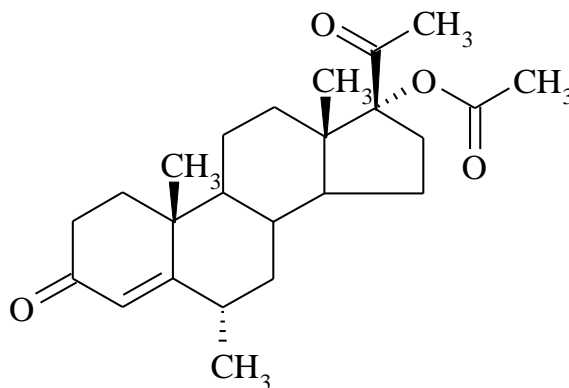
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Corticosteroide.

ACETATO DE MEDROXIPROGESTERONA Medroxyprogesteroni acetat



$C_{24}H_{34}O_4$; 386,53

acetato de medroxiprogesterona; 05563

Acetato de 6-metil-3,20-dioxopregn-4-eno-17-il
[71-58-9]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de $C_{24}H_{34}O_4$, em relação à base anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca a quase branca.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, solúvel em dioxano e ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas

Poder rotatório específico (5.2.8): entre +45° a +51°. Determinar em solução a 1% (p/v) em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra dispersa em brometo de potássio apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de acetato de medroxiprogesterona SQR, preparado de maneira idêntica. Não é necessário dessecar a amostra.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,001% (p/v) em álcool etílico, exibe máximo em 241 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de acetato de medroxiprogesterona SQR.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (3:2). Fazer ajustes se necessário.

Solução amostra: transferir aproximadamente 62,5g de acetato de medroxiprogesterona para balão volumétrico de 25,0 mL, dissolver, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada de acetato de medroxiprogesterona SQR na *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 50 µg/mL.

Solução de resolução: dissolver adequadamente, em separado, quantidade de acetato de megestrol e de acetato de medroxiprogesterona SQR em *Fase móvel* para obter solução de 40 µg/mL para ambos.

Injetar 20 µL da *solução de resolução*. A resolução entre os picos de acetato de megestrol e acetato de medroxiprogesterona é, no mínimo, menor que 1,5. Injetar replicatas de *Solução padrão* e o desvio padrão relativo das áreas dos picos registrados é no máximo 3,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular o percentual de cada impureza da porção de acetato de medroxiprogesterona. No máximo 1,0% de qualquer impureza individual. No máximo 1,5% do total de impurezas encontradas. Ignorar picos com área menor que 0,05% do pico principal obtido na *Solução padrão*.

Limite de acetato de medroxiprogesterona composto relacionado A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de hexano, éter metil *terc*-butílico, tetrahidrofurano (45:45:10), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em cloreto de metileno e completar para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar

Solução (2): dissolver 0,2 g de acetato de medroxiprogesterona SQR e 1 mg do composto relacionado acetato de medroxiprogesterona A SQR em cloreto de metileno e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar e desenvolver o cromatograma novamente. Remover a placa, deixar secar em estufa a 120 °C por 10 minutos. Nebulizar a placa com uma solução alcoólica de ácido p-tolueno sulfônico 0,02 g/mL. Aquecer a placa a 120 °C por 10 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). Qualquer mancha fluorescente azul com valor de R_f maior que a mancha principal de acetato de medroxiprogesterona obtida a partir da *Solução (1)*, tem intensidade máxima igual a mancha obtida com valor de R_f correspondente obtida na *Solução (2)* (0,5%).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por três horas. No máximo 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de **250** mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e água (60:40).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de, 25 mg de amostra, para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 30 mL de *Fase móvel* e deixar em ultrassom por 20 minutos, completar o volume com o mesmo diluente e homogeneizar. Transferir 5,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, pesada com exatidão, de acetato de medroxiprogesterona SQR na *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 100 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₂₄H₃₄O₄ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%. O fator de cauda é, no máximo, 2,0.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente opaco, hermeticamente fechado e ao abrigo da luz.

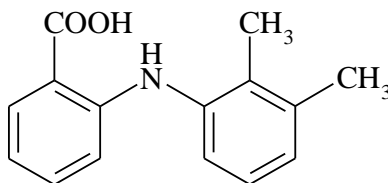
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Progestágeno.

ÁCIDO MEFENÂMICO Acidum mefenamicum



C₁₅H₁₅NO₂; 241,29

ácido mefenâmico; 00286

Ácido 2-[(2,3-dimetilfenil)amino]benzoico

[61-68-7]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{15}H_{15}NO_2$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó microcristalino branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico e metanol. Solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação B. e C. podem ser omitidos se for realizado o teste A. O teste A. pode ser omitido se forem realizados os ensaios B. e C.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido mefenâmico SQR, preparado de maneira idêntica. Caso o espectro da amostra não se apresente idêntico ao do padrão, dissolver, separadamente, a amostra e o padrão em álcool etílico 96%, evaporar até secura e repetir o teste com os resíduos.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 250 nm a 380 nm, de solução a 0,002% (p/v) em mistura de ácido clorídrico *M* e metanol (1:99), exibe máximos em 279 nm e em 350 nm. A razão entre os valores de absorbância medidos em 279 nm e 350 nm está compreendida entre 1,1 e 1,3.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução padrão* e *Solução teste* como descrito a seguir.

Solução teste: transferir, quantitativamente, cerca de 100 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em *Fase móvel* até completar o volume e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de ácido mefenâmico SQR em *Fase móvel* de modo a obter uma solução a 10 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL de cada solução, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos obtidos. Nenhuma impureza individual obtida com a *Solução teste* poderá ser maior que 0,1%, comparada ao pico principal obtido com a *Solução padrão*, nem o somatório de todas as impurezas é maior que 0,5%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por quatro horas, até peso constante. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 5,0: fosfato monobásico de amônio 50,0 mM, pH 5,0, ajustado com hidróxido de amônio 3 M.

Fase móvel: mistura de acetonitrila, *Tampão fosfato pH 5,0* e tetraidrofurano (46:40:14). Desgaseificar e filtrar.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 500 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de ácido mefenâmico SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 0,2 mg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna não é menor que 8 200 pratos teóricos. O fator de cauda não é maior que 1,6. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados não é maior do que 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₁₅H₁₅NO₂ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

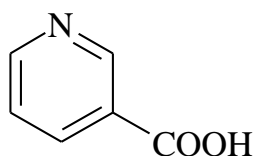
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico.

ÁCIDO NICOTÍNICO

Acidum nicotinicum



C₆H₅NO₂; 123,11

ácido nicotínico; 00296

Ácido 3-piridinacarboxílico

[59-67-6]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de C₆H₅NO₂, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino branco ou cristais brancos. *Ponto de fusão (5.2.2):* em torno de 235 °C.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em água fervente e em álcool etílico fervente. Facilmente solúvel em soluções de hidróxidos e carbonatos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação B. e C. podem ser omitidos se for realizado o teste A. O teste de identificação A. pode ser omitido se forem realizados os testes B. e C.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em óleo mineral, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ácido nicotínico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 300 nm, da *Solução amostra* obtida no método de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de ácido nicotínico SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 237 nm e 262 nm está compreendida entre 0,46 e 0,50.

C. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição, cor e intensidade a mancha principal no cromatograma obtido com a *Solução (3)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 250 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida a 15°C; fluxo da *Fase móvel* 1,0 mL/minuto.

Eluente A: misturar 2 mL de ácido acético glacial em 950 mL de água, pH 5,6 previamente ajustado com amônia diluída, diluir com água para 1000 mL e homogeneizar.

Eluente B: mistura de acetonitrila:metanol (50:50).

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema gradiente descrito na tabela a seguir:

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 - 10	100	0	Isocrático
10 - 30	100 → 20	0 → 80	Gradiente linear
30 - 35	20	80	Isocrático
35 - 40	20 → 100	80 → 0	Gradiente linear
40 - 48	100	0	Isocrático

Solução (1): dissolver 0,12 g da amostra, exatamente pesada, em 200 µL de amônia diluída e diluir para 10 mL com *Eluente A*.

Solução (2): diluir 1,0 mL da *Solução (1)* para 100 mL com *Eluente A*. Diluir 1,0 mL dessa solução para 10 mL com *Eluente A* e homogeneizar.

Solução (3): preparar solução contendo 12 µg/mL de impureza A (ácido 6-metilnicotínico) e de impureza B (ácido 6,6'-dinicotínico) em *Eluente A* ou dissolver o conteúdo do frasco de mistura de impurezas do ácido nicotínico SQR (contendo as impurezas A e B) em 1,0 mL do *Eluente A*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução (3)*. A resolução entre os picos das impurezas A e B não é menor que 1,5. Em relação ao ácido nicotínico (tempo de retenção em torno de seis minutos), o tempo de retenção relativo da impureza A = cerca de 2,7; da impureza B = cerca de 2,8.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Solução (1)* e *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza relatada na *Solução (1)*. Para cada impureza, no máximo 0,5 vez a área do pico principal do cromatograma obtido com *Solução (2)* (0,05%). No máximo 0,5 vez a área do pico principal do cromatograma obtido com *Solução (2)* para impurezas totais (0,05%). Não considerar picos com área inferior a 0,3 veza área do pico principal do cromatograma obtido com *Solução (2)* (0,03%).

Cloretos (5.3.2.1). Pesas, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 40 mL de água aquecida. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para cloretos (5.3.2.1)*. Utilizar 0,30 mL de ácido clorídrico 0,01 M SV. No máximo 0,02% (200 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Pesas, com exatidão, cerca de 0,5 g da amostra e dissolver em 40 mL de água aquecida. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos (5.3.2.2)*. Utilizar 0,20 mL de ácido sulfúrico 0,005 M SV. No máximo 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Misturar 1 g da amostra com 4 mL de ácido acético M, diluir em água para 25 mL, aquecer cautelosamente a preparação até completa solubilização e resfriar. Prosseguir com o ajuste do pH e diluição com água, conforme descrito no *Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por uma hora. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar, com exatidão, cerca de 200 mg da amostra e dissolver em *Tampão fosfato pH 7,0*. Completar o volume para 500 mL com o mesmo solvente. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar com *Tampão fosfato pH 7,0* e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir a absorvância das soluções resultante em 262 nm, utilizando *Tampão fosfato pH 7,0* para ajuste do zero. Calcular o teor de C₆H₅NO₂ na amostra a partir das leituras obtidas.

Tampão fosfato pH 7,0: dissolver 6,8 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água. Ajustar para pH 7,0 com solução de hidróxido de sódio 50% (p/v).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

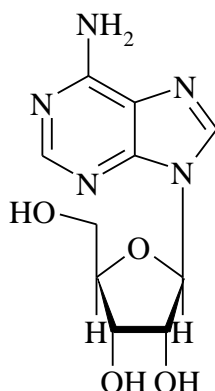
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vitamina.

ADENOSINA

Adenosini



C₁₀H₁₃N₅O₄; 267,24

adenosina; 00419

9-β-D-Ribofuranosil-9H-purina-6-amina

[58-61-7]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{10}H_{13}N_5O_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, solúvel em água aquecida, praticamente insolúvel em álcool etílico. Dissolve-se em ácidos minerais diluídos.

Constantes físico-químicas

Faixa de fusão (5.2.2): 233 °C a 238 °C.

Poder rotatório específico (5.2.8): -45° a -49°, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 2,5% (p/v) em ácido clorídrico *M*. Examinar, no máximo, até 10 minutos após o preparo.

IDENTIFICAÇÃO

O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de adenosina SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez e alcalinidade. Dispersar 2,5 g da amostra em 50 mL de água, aquecer até a ebulição, esperar esfriar e filtrar à vácuo. Diluir para 100 mL com água. A 10 mL do filtrado, adicionar 0,1 mL de púrpura de bromocresol SI e 0,3 mL de ácido clorídrico 0,01 *M* SV. A solução torna-se amarela. Adicionar 0,4 mL de hidróxido de sódio 0,01 *M* SV. A solução torna-se violeta-azulada.

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Tampão sulfato: dissolver 6,8 g de sulfato de potássio monobásico e 3,4 g de sulfato de tetrabutilamônio em 800 mL de água, ajustar a pH 6,5 com hidróxido de potássio 2 *M* e completar o volume para 1000 mL com água. Homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão sulfato* e solução de azida sódica 0,0001% (p/v) (60:40). Filtrar e degaseificar.

Solução (1): pesar, com exatidão, cerca de 20 mg de adenosina SQR e 20 mg de inosina, transferir para balão volumétrico e completar o volume para 100 mL com *Fase móvel*.

Solução (2): preparar solução da amostra na concentração de 1 mg/mL, em fase móvel.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o dobro do tempo de retenção do pico principal. Os tempos de retenção relativos à adenosina, cujo tempo de retenção é de cerca de um minuto, são cerca de 0,29 para uridina, 0,34 para adenina, 0,42 para iosina e 0,42 para guanosina. Determinar a porcentagem de cada uma das impurezas

encontradas na solução (2), onde o conteúdo individual de guanosina, inosina e uridina são, no máximo, 0,1%, em relação à adenosina. O conteúdo de adenina é no máximo 0,2%, em relação à adenosina. A soma das áreas de todos os picos obtidos, exceto o pico principal, é inferior a 0,5%. O teste somente será válido se a resolução entre os picos obtidos com a solução (1) for no mínimo 1,5 e o fator de cauda for no máximo 2,5. O desvio padrão relativo entre as réplicas é no máximo 2%.

Amônia. Suspender 0,5 g da amostra em 10 mL de água, agitar por 30 segundos e filtrar. Diluir o filtrado até 15 mL com água, homogeneizar e utilizar essa solução como amostra. Diluir 1 mL de solução de cloreto de amônia a 0,0314% (p/v) em 100 mL de água. Como solução padrão, utilizar 2 mL da solução anterior e adicionar 13 mL de água. Adicionar 0,3 mL de solução alcalina de tetraiodomercurato (II) de potássio, em ambas as soluções, homogeneizar, deixar em repouso por 5 minutos. A cor amarela produzida na amostra deve ser, no máximo igual à do padrão. No máximo 0,0004% (4 ppm).

Cloretos. Suspender 0,2 g da amostra em 10 mL de água, agitar por 30 segundos e filtrar. Diluir o filtrado para 15 mL com água. A solução satisfaz ao *Ensaio limite para cloretos*. No máximo 0,007% (70 ppm).

Sulfatos. Suspender 0,75 g da amostra em 15 mL de água, agitar por 30 segundos e filtrar. Utilizar o filtrado como solução amostra. Preparar solução padrão com 0,30 mL de ácido sulfúrico 0,005 M em 15 mL de água. Adicionar as soluções amostra e padrão 2 mL de cloreto de bário SR, 1 mL de ácido clorídrico 3 M, 30 mL de água e homogeneizar. A turbidez da amostra não deve ser superior à do padrão. No máximo 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método II*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por duas horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso (5.3.4.5)*. Dissolver 0,1 g da amostra previamente dessecada em 20 mL de ácido acético glacial e adicionar 30 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente. Realizar ensaio em branco e proceder as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 26,724 mg de C₁₀H₁₃N₅O₄.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiarrítmico.

ÁGUA ESTÉRIL PARA IRRIGAÇÃO Sterilis aqua irrigandi

Água estéril para irrigação é preparada com *Água para injetáveis* estéril e adequadamente envasada. Não contém substâncias antimicrobianas ou adição de outras substâncias.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias oxidáveis. Ferver 100 mL da amostra com 10 mL de ácido sulfúrico 2 M. Para água estéril para irrigação, em frascos com volume menor que 50 mL, adicionar 0,4 mL de permanganato de potássio 0,02 M e ferver por cinco minutos; quando o volume contido no frasco for de 50 mL ou mais, adicionar 0,2 mL de permanganato de potássio 0,02 M e ferver por cinco minutos. Se formar precipitado, resfriar em banho de gelo até temperatura ambiente e filtrar em filtro sinterizado. A cor rosa não desaparece completamente.

Condutividade da água (5.2.24). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,25 UE/mL de amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

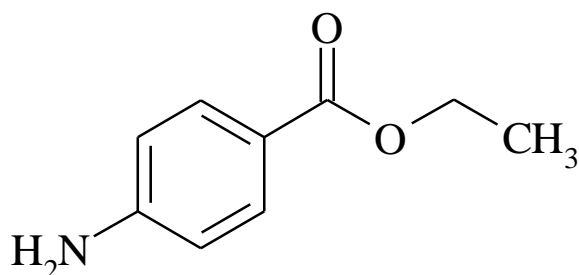
Preservar em recipientes de vidro ou de plástico para dose única. Recipientes de vidro são preferivelmente de vidro tipo I ou tipo II (6.1). Os recipientes devem conter volumes de mais de 1000 mL e devem ser desenhados para permitir esvaziamento rápido.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. O rótulo deve indicar que não houve adição de antimicrobianos ou outras substâncias. As designações “Somente para irrigação” e “Não para injeção” aparecem em destaque no rótulo.

Nota: para recomendações microbiológicas, veja *Água para uso farmacêutico (II)*.

BENZOCAÍNA
Benzocainum



C₉H₁₁NO₂; 165,19
benzocaína; 01159
Éster etílico do ácido 4-aminobenzoico
[94-09-7]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₉H₁₁NO₂, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de ácidos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 88 °C a 92 °C. A faixa entre o início e o fim da fusão é, no máximo, 2 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada em atmosfera de pentóxido de fósforo anidro por três horas, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de benzocaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0005% (p/v) em clorofórmio, exibe máximo de absorção em 278 nm, idêntico ao observado no espectro de solução similar de benzocaína SQR. As absorvidades respectivas, calculadas em relação à base dessecada e no comprimento de onda de absorvância máxima em torno de 278 nm, diferem no máximo 3%.

C. Dissolver 20 mg da amostra com 10 mL de água em presença de algumas gotas de ácido clorídrico 3 M. Acrescentar cinco gotas de solução de nitrito de sódio SR e 2 mL de uma solução preparada dissolvendo 100 mg de 2-naftol em 5 mL de hidróxido de sódio 1 M. Desenvolve-se precipitado vermelho-alaranjado.

D. A solução a 4% (p/v) em etanol não responde às reações do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da solução. A solução etélica a 5% (p/v) é límpida (5.2.25) e incolor (5.2.12).

Acidez ou alcalinidade. Dissolver 0,5 g da amostra em 10 mL de álcool etílico previamente neutralizado com 0,05 mL de fenolftaleína SI. Adicionar 10 mL de água livre de dióxido de carbono. A solução mantém-se incolor. No máximo 0,5 mL de hidróxido de sódio 0,01 M é gasto para promover a viragem do indicador.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica-gel GF₂₅₄, como suporte, e mistura de clorofórmio contendo 0,75% de álcool etílico anidro, como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): transferir 100,0 mg, exatamente pesada, da amostra para balão volumétrico de 10 mL e diluir com álcool etílico anidro.

Solução (2): dissolver quantidade, exatamente pesada, de benzocaína SQR em álcool etílico anidro de modo a obter uma solução a 0,10 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma e deixar a fase móvel percorrer três quartos do comprimento da placa. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, tem intensidade máxima igual àquela obtida com a *Solução (2)* (1,0%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar sob pentóxido de fósforo por três horas. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 285 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo fenila (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Solução aquosa: mistura de 980 mL de água, 20 mL de ácido acético e 1 mL de trietilamina. Ajustar o pH para valores entre 2,95 e 3,00, se necessário. Homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Solução aquosa* e metanol (40:60).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 24 mg da amostra, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de benzocaína SQR em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 0,024 mg/mL.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O fator de cauda para o pico da benzocaína não é maior que 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₉H₁₁NO₂ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

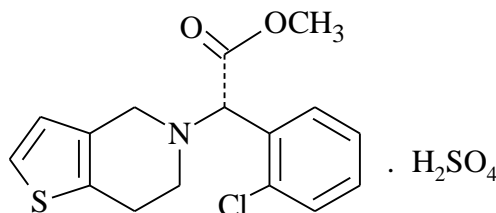
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico.

BISSULFATO DE CLOPIDOGREL

Clopidogreli hydrogenosulfas



C₁₆H₁₆ClNO₂S.H₂SO₄; 419,89

bissulfato de clopidogrel; 02319

Acetato de metil (2*S*)-(2-clorofenil) [6,7-diidrotieno[3,2-*c*]piridina-5(4*H*)-il], sulfato (1:1)

[120202-66-6]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de C₁₆H₁₆ClNO₂S.H₂SO₄, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e metanol.

Constantes físico-químicas.

Poder rotatório específico (5.2.8): + 54,0° a + 58,0°, em relação a substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em metanol.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de bissulfato de clopidogrel SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Responde às reações do íon sulfato (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza enantiomérica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica gel OJ para separação quiral (10 µm), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de heptano e álcool etílico anidro (85:15).

Solução amostra: Dissolver 0,1 g da amostra em 25 mL de álcool etílico anidro e diluir para 50 mL com heptano.

Solução padrão: dissolver 10 mg de *clopidogrel para avaliação do sistema SQR* (contendo as impurezas B e C) em 2,5 mL de etanol anidro e diluir para 5 mL com heptano.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,6 para impureza C e 0,7 para impureza B. A resolução entre os picos das impurezas C e B é, no mínimo 2,0. A relação sinal-ruído não é, no mínimo, 20 para impureza C.

Procedimento: Injetar, separadamente, 10 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas, por no mínimo, 1,25 vezes o tempo de retenção do clopidogrel. Calcular o teor da impureza C. No máximo 0,5%.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm) com base desativada, mantida a 30 °C; fluxo da *Fase móvel* 1,0 mL/minuto.

Diluyente: mistura de acetonitrila e *Eluente A* (60:40).

Eluente A: mistura de pentanosulfonato de sódio monohidratado 0,96 g/L, pH 2,5 previamente ajustado com ácido fosfórico, e metanol (95:5).

Eluente B: mistura de acetonitrila e metanol (95:5).

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 - 3	89,5	10,5	Isocrático
3 - 48	89,5 → 31,5	10,5 → 68,5	Gradiente linear
48 - 68	31,5	68,5	Isocrático

Solução (1): dissolver 65 mg da amostra, exatamente pesada, no *Diluente* e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com auxílio do *Diluente*. Transferir 1 mL desta solução para 10 mL com auxílio do *Diluente*.

Solução (3): dissolver 5 mg de *clopidogrel impureza A SQR* no *Diluente* e diluir para 25 mL com o mesmo solvente.

Solução de resolução: dissolver 32 mg de *clopidogrel para avaliação do sistema SQR* (contendo as impurezas B e C) no *Diluente*, adicionar 0,5 mL da *Solução 3* e diluir para 5 mL com o mesmo solvente.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução*. O tempo de retenção relativo da impureza A, é de aproximadamente, 0,4 e da impureza B, 1,1, em relação ao pico principal do clopidogrel.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Solução (1)* e *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza relatada. No máximo duas vezes a área do pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* para impureza A (0,2%). No máximo três vezes a área do pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* para impureza B (0,3%). No máximo a área do pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* para outras impurezas (0,1%). No máximo cinco vezes a área do pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* para impurezas totais (0,5%). Não considerar picos com área inferior a 0,5 vezes a área do pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por duas horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Dissolver 0,16 g da amostra em uma mistura de 10 mL de acetona, 10 mL de metanol e 30 mL de água. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente. Pode ocorrer a formação de precipitado durante a titulação. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 20,99 mg de C₁₆H₁₆ClNO₂S.H₂SO₄.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo de luz.

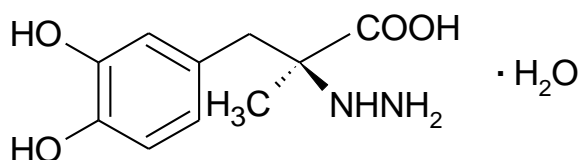
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Inibidor da agregação plaquetária.

CARBIDOPA Carbidopum



$C_{10}H_{14}N_2O_4 \cdot H_2O$; 244,24

$C_{10}H_{14}N_2O_4$; 226,24

carbidopa monoidratada; 11134

carbidopa; 01731

ácido (2S)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-2-hidrazinil-2-metilpropanoico monoidratado
[38821-49-7]

ácido (2S)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-2-hidrazinil-2-metilpropanoico
[28860-95-9]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{10}H_{14}N_2O_4 \cdot H_2O$.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó branco ou branco-amarelado. Ponto de fusão (5.2.2): em torno de 197 °C, com decomposição.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e muito pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais.

Constantes físico-químicas.

Poder rotatório específico (5.2.8): -21° a -23,5°, em relação à amostra monoidratada. Preparar solução da amostra a 10 mg/mL, em 0,7 g/mL de solução de cloreto de alumínio (utilizar a forma hexaidratada do sal de alumínio), que foi filtrado e teve pH ajustado para 1,5 utilizando hidróxido de sódio 0,25 M.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em óleo mineral, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de carbidopa SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 240 nm a 300 nm, de uma solução de carbidopa 40 µg/mL em mistura de ácido clorídrico e metanol (9:100) apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de carbidopa SQR, preparado de maneira idêntica.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Impurezas orgânicas. Limite de metildopa e carbidopa composto relacionado A. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução de impurezas padrão: dissolver quantidade exatamente pesada de metildopa SQR e carbidopa composto relacionado A SQR em *Fase móvel* de modo a obter uma solução com uma concentração conhecida de 2,5 µg/mL de cada uma dessas impurezas.

Os tempos de retenção relativos da metildopa, carbidopa e carbidopa composto relacionado A são cerca de 0,8, 1,0 e 1,8 respectivamente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução de impureza padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de metildopa e de carbidopa composto relacionado A na porção de carbidopa utilizada segundo a expressão:

$$\text{Porcentagem de impureza} = \left(\frac{r_U}{r_S} \right) \times \left(\frac{C_S}{C_U} \right) \times 100$$

em que:

r_U = área sob o pico da metildopa ou carbidopa composto relacionado A da *Solução amostra*.

r_S = área sob o pico da metildopa ou carbidopa composto relacionado A da *Solução de impurezas padrão*.

C_S = concentração de metildopa SQR ou carbidopa composto relacionado A na *Solução de impurezas padrão* (µg/mL).

C_U = concentração da *Solução amostra* (µg/mL).

A amostra deve apresentar máximo 0,5% de metildopa, e no máximo 0,5% de carbidopa composto relacionado A.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa à vácuo a 100 °C, sob pressão reduzida de no máximo 5 mmHg, até peso constante. Esfriar e pesar. Perde de 6,9% a 7,9% do seu peso.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de álcool etílico e fosfato de sódio monobásico (1:19). Ajustar o pH da mistura para 2,7 utilizando ácido fosfórico.

Solução amostra: diluir quantidade da amostra em *Fase móvel* até obter a concentração de 0,5 mg/mL de carbidopa.

Solução padrão: dissolver quantidade exatamente pesada de carbidopa SQR na *Fase móvel* de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Utilizar aquecimento suave e ultrassom, se necessário, para dissolver.

Solução de adequação do sistema: preparar solução a 0,1 mg/mL de carbidopa SQR e 0,1 mg/mL de metildopa SQR utilizando *Fase móvel* como diluente.

Adequabilidade do sistema: injetar replicatas de 20 µL da *Solução de adequação do sistema* e da *Solução padrão*. A resolução entre metildopa e carbidopa deve ser, no mínimo, 0,9 na *Solução de adequação do sistema*. O desvio padrão relativo deve ser no máximo 1,5% na *Solução padrão*.

Nota: o tempo de retenção relativo da metildopa e carbidopa é cerca de 0,8 e 1,0, respectivamente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de C₁₀H₁₄N₂O₄.H₂O na amostra a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agente dopaminérgico.

CARBONATO DE LÍTIO

Lithium carbonas

Li_2CO_3 ; 73,89
carbonato de lítio, 01749
[554-13-2]

Contém, no mínimo, 98,5 % e, no máximo, 100,5 % de Li_2CO_3 .

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco.

Solubilidade. Levemente solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Quando umedecido com ácido clorídrico confere coloração vermelha à chama não luminosa.

B. Dissolver 0,2 g em 1 mL de ácido clorídrico. Evaporar até secura em banho-maria. O resíduo se dissolve em 3 mL de álcool etílico.

C. Responde às reações do íon carbonato (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Suspender 10 g da amostra em 30 mL de água e dissolver pela adição de 22 mL de ácido nítrico. Neutralizar com solução de hidróxido de sódio SR e diluir com água para 100 mL. A preparação é límpida (5.2.25) e incolor (5.2.12).

Cloreto (5.3.2.1). Prosseguir conforme descrito em *Ensaio-limite para cloretos*, utilizando 5,0 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Sulfato (5.3.2.2). Dispersar 1,25 g em 5 mL de água e dissolver pela adição de ácido clorídrico 70% (p/v). Ferver por dois minutos. Esfriar e adicionar solução de hidróxido de sódio SR até neutralização. Diluir para 25 mL com água. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio-limite para sulfatos*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Arsênio (5.3.2.5). A 1,5 g de amostra, adicionar ácido sulfúrico 3,5 M até cessar a efervescência e prosseguir conforme descrito em *Ensaio-limite para arsênio*. No máximo 0,0002% (2 ppm).

Cálcio (5.3.2.7). Utilizar 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio-limite para cálcio*. No máximo 0,02% (200 ppm).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar 10 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito no *Método II*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Utilizar 5 mL da solução obtida em *Aspecto da preparação* e prosseguir conforme descrito em *Ensaio-limite para ferro*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Magnésio (5.3.2.8). Diluir 1 mL da solução obtida em *Aspecto da solução* para 10 mL com água. Utilizar 6,7 mL desta solução e prosseguir conforme descrito em *Ensaio-limite para magnésio*. No máximo 0,015% (150 ppm).

Potássio. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 70% (p/v) e diluir para 50 mL com água. Utilizar como referência, solução de cloreto de potássio contendo 0,5 mg de potássio por mL. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de emissão atômica* (5.2.23). Medir a intensidade de emissão em 766,5 nm. No máximo 0,03% (300 ppm).

Sódio. Dissolver 1 g da amostra em 10 mL de ácido clorídrico 70% (p/v) e diluir para 50 mL com água. Utilizar como referência, solução de cloreto de sódio contendo de sódio por mL. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de emissão atômica* (V.2.23). Medir a intensidade de emissão em 589 nm. No máximo 0,03% (300 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 200 °C por 4 horas. No máximo 1,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Dissolver 0,5 g da amostra em 25 mL de ácido clorídrico *M SV*. Titular com solução de hidróxido de sódio *M SV* utilizando alaranjado de metila *SI* como indicador. Realizar ensaio em branco e proceder as correções necessárias. Cada mL de ácido clorídrico *M SV* equivale a 36,945 mg de Li_2CO_3 .

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

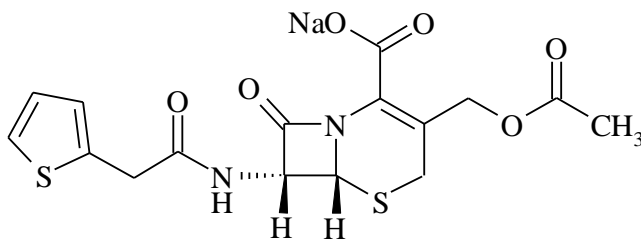
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo.

CEFALOTINA SÓDICA

Cefalotinum natricum



$C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$; 418,42

cefalotina sódica; 01836

Sal sódico do ácido (6*R*,7*R*)-3-[(acetiloxi)-metil]-8-oxo-7-[(2-tienilacetil)amino]-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico
[58-71-9]

Contém, no mínimo, 850 µg de $C_{16}H_{16}N_2O_6S_2$ por miligrama, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco, praticamente inodoro.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, em solução salina e em solução de glicose. Insolúvel na maioria dos solventes orgânicos.

Constante físico-química.

Poder rotatório específico (5.2.8): +124° a +134°, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 50 mg/mL em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daquelas observadas no espectro de cefalotina sódica SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Responde às reações do íon sódio (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,5 a 7,0. Determinar em solução aquosa a 250 mg/mL.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método de *Doseamento*.

Solução (1): transferir 1 mL da *Solução padrão*, descrita em *Doseamento*, para balão volumétrico de 100 mL e diluir com *Fase móvel*.

Solução (2): preparar conforme descrito em *Solução amostra* em *Doseamento*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções (1)* e *(2)*. Para a *Solução (2)*, registrar o cromatograma por, no mínimo, quatro vezes o tempo de retenção do pico principal. A área de qualquer pico obtido com a *Solução (2)*, exceto a sob o pico principal é, no máximo, a área sob o pico principal obtido com a *Solução (1)* (1%). A soma das áreas sob todos os picos obtidos com a *Solução (2)*, exceto a sob o pico principal, é, no máximo três vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (1)* (3%). Qualquer pico obtido para a *Solução (2)* com área menor que um décimo do pico principal no cromatograma obtido para a *Solução (1)* é desconsiderado.

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 100 mg da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C por três horas, sob pressão de, no máximo, 5 mmHg, até peso constante. No máximo 1,5%.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,13 UE/mg de cefalotina.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), sob temperatura constante de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: dissolver 17 g de acetato de sódio em 790 mL de água, adicionar 0,6 mL de ácido acético glacial. Ajustar o pH em (5,9 ± 0,1) com hidróxido de sódio 0,1 M ou ácido acético glacial. Adicionar 150 mL de acetonitrila, 70 mL de álcool etílico e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 25 mg da amostra, exatamente pesada, para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de *Fase móvel*, agitar até dissolver, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de cefalotina sódica SQR em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Solução de resolução: aquecer em banho-maria por 10 minutos à temperatura de 90 °C uma porção de 5 mL da *Solução padrão*. Resfriar a solução e imediatamente injetar no sistema cromatográfico.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução de resolução*. A resolução entre os dois picos principais obtidos para a *Solução de resolução* não pode ser menor que 9,0. O fator de cauda deve ser, no máximo 1,8 e o desvio padrão relativo entre as replicatas das injeções da *Solução padrão* deve ser, no máximo superior a 1,0%.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor em µg de cefalotina (C₁₆H₁₆N₂O₆S₂) por miligrama na amostra a partir do teor do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

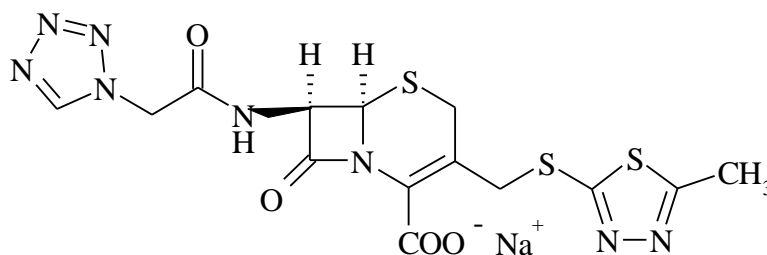
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

CEFAZOLINA SÓDICA Cefazolinum natricum



$C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$; 476,50

cefazolina sódica; 01846

Sal sódico do ácido (6*R*,7*R*)-3-[[5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il]sulfanil]metil]-8-oxo-7-[[1*H*-tetrazol-1-ilacetil]amino]-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico
[27164-46-1]

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 102,0% de cefazolina sódica ($C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$), em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco, muito higroscópico. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito solúvel em água e ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Poder rotatório específico (5.2.8): -10° a -24° , em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 5,5% (p/v) em bicarbonato de sódio 0,1 *M*.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra previamente submetida ao procedimento descrito a seguir, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção

somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daquelas observados no espectro de cefazolina SQR, preparado de maneira idêntica.

Dissolver 0,150 g em 5 mL de água, adicionar 0,5 mL de ácido acético diluído (12% p/v), agitar e deixar em repouso durante 10 minutos em banho de gelo. Filtrar o precipitado e enxaguar com 1 a 2 mL de água. Dissolver em uma mistura de 1 mL de água e 9 mL de acetona. Evaporar o solvente quase à secura, então dessecar em estufa a 60 °C durante 30 minutos.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. A solução da amostra a 5% (p/v) em água responde às reações do íon sódio (**5.3.1.1**).

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 6,0. Determinar em solução aquosa a 10% (p/v).

Água (5.2.20.1). No máximo 6%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,15 UE/mg de cefazolina sódica.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 nm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,8 mL/minuto.

Tampão pH 3,6: transferir 0,9 g de fosfato de sódio dibásico anidro e 1,298 g de ácido cítrico monoidratado para balão volumétrico de 1000 mL, dissolver em água, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar

Tampão pH 7,0: transferir 5,68 g de fosfato de sódio dibásico anidro e 3,63 g de fosfato de potássio monobásico para balão volumétrico de 1000 mL, dissolver em água, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão pH 3,6* e acetonitrila (8:2).

Solução de padrão interno: transferir 0,75 g de ácido salicílico para balão volumétrico de 100 mL, dissolver em 10 mL de metanol, completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de cefazolina SQR para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar. Transferir 5 mL

desta solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 5 mL de *Solução de padrão interno* e completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 26,2 mg da amostra (equivalente a 25 mg de cefazolina) para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 5 mL de *Solução de padrão interno*, completar o volume com *Tampão pH 7,0* e homogeneizar

A eficiência da coluna deve ser, no mínimo, 1500 pratos teóricos. O fator de cauda para o pico da cefazolina deve ser, no máximo, 1,5. O desvio padrão relativo das áreas sob os picos das replicatas registrados deve ser, no máximo, 2,0%. O tempo de retenção relativo é de aproximadamente 1,3 para o ácido salicílico e 1,0 para a cefazolina.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à cefazolina e ao ácido salicílico. Calcular o teor de cefazolina sódica (C₁₄H₁₃N₈NaO₄S₃) na amostra a partir das respostas obtidas com a relação cefazolina/ácido salicílico, nas *Soluções padrão* e *amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, entre 2 °C e 8 °C.

ROTULAGEM

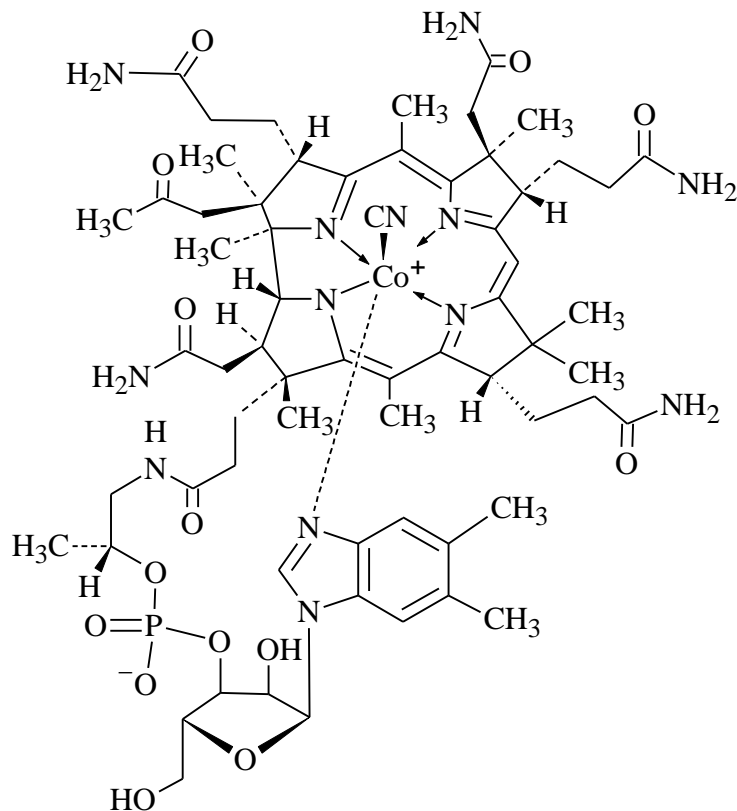
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

CIANOCOBALAMINA

Cyanocobalaminum



$C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$; 1355,37
cianocobalamina; 01984
Cianeto de α -(5,6-Dimetilbenzimidazol-1-il) cobamida
[68-19-9]

Contém, no mínimo, 96,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino ou cristais, vermelho escuro.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água e álcool etílico (96%).

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 260 nm a 610 nm, da solução a 0,0025% (p/v) em água, exibe máximos em 278 nm, 361 nm e de 547 nm a 559 nm, idênticos aos observados no espectro na solução de cianocobalamina SQR, preparada de maneira idêntica.

B. Proceder ao abrigo da luz, conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica gel G como suporte, e mistura de amônia SR, metanol e cloreto de metileno (9:30:45), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 10 μ L de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 2 mg/mL da amostra em mistura de álcool etílico:água (1:1).

Solução (2): solução a 2 mg/mL de cianocobalamina SQR em mistura de álcool etílico:água (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. A mancha principal obtida com a *solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 20,0 mg de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, sob vácuo, por duas horas. No máximo 12,0%.

Substâncias Relacionadas. Proceder ao abrigo da luz, conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 361 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de metanol e solução de fosfato de sódio dibásico a 1% (p/v) ajustada a pH 3,5 com ácido fosfórico (26,5:73,5). Utilizar em até 48 horas.

Solução (1): dissolver 10,0 mg de amostra em fase móvel e diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Utilizar em até uma hora.

Solução (2): transferir 3,0 mL da *solução (1)*, diluir para 100 mL com fase móvel e homogeneizar. Utilizar em até uma hora.

Solução (3): transferir 5,0 mL da *solução (1)*, diluir para 50 mL com fase móvel e homogeneizar. Transferir 1 mL desta solução para 100 mL com fase móvel e homogeneizar. Utilizar em até uma hora.

Solução (4): dissolver 25,0 mg da amostra em 10 mL de água, aquecer levemente se necessário. Esfriar. Adicionar a esta solução 5 mL de cloramina a 0,1% (p/v), 0,5 mL de ácido clorídrico 0,05 M e diluir para 25 mL com água. Agitar a solução e aguardar por cinco minutos. Diluir 1 mL desta solução para 10 mL com fase móvel e injetar imediatamente.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada solução e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o triplo do tempo de retenção do pico principal. A soma de todas as áreas secundárias obtidas com a *solução (1)*, exceto a do pico do solvente, é, no máximo, igual a área do pico principal obtido com a *solução (2)* (3%). Não considerar picos com área inferior àquela apresentada pelo pico principal no cromatograma obtido com a *solução (3)* (0,1%). O teste somente é válido se o cromatograma obtido com a *solução (4)* apresenta resolução, entre os dois picos principais, de no mínimo 2,5 e, no cromatograma obtido com a *solução (3)*, a relação sinal/ruído é superior a 5.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre com o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,4 UE/µg de cianocobalamina.

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

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra, transferir para balão volumétrico de 100 mL e dissolver em água. Completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 5 mL dessa solução para balão de 50 mL e completar com o mesmo solvente. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 361 nm, utilizando água para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

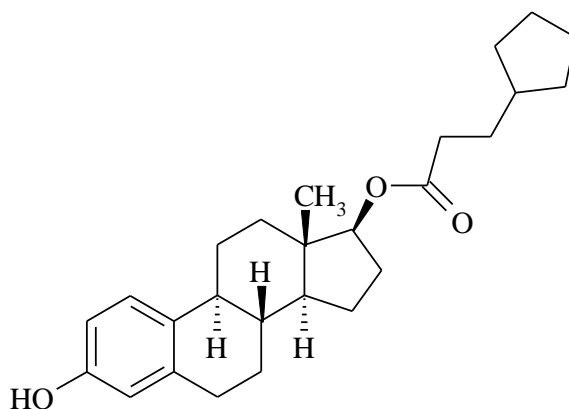
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vitamina.

CIPIONATO DE ESTRADIOL Estradiolum



$C_{26}H_{36}O_3$; 396,57

cipionato de estradiol; 03599

17β-ciclopentanopropionato de estradiol

[313-06-4]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de cipionato de estradiol ($C_{26}H_{36}O_3$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Insolúvel em água, solúvel em álcool etílico e ligeiramente solúvel em óleos vegetais.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 149 °C a 153 °C.

Poder rotatório específico (5.2.8): +39° a +44°. Determinar em solução a 20,0 mg/mL em dioxano.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cipionato de estradiol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,010% (p/v) em álcool etílico exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de cipionato de estradiol SQR. As absorvâncias das soluções em 280 nm, diferem no máximo 3%, quando calculadas em relação à substância dessecada.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por quatro horas. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). No máximo 0,2%.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,84 UE/mg de cipionato de estradiol.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 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; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de solução aquosa de nitrato de amônio 2,7 g/L e acetoneitrila (20:80).

Solução amostra: usar 10 mg da amostra, exatamente pesada, e preparar solução conforme procedimento descrito em *Solução padrão*.

Solução padrão: transferir 10 mg, exatamente pesada, de cipionato de estradiol SQR para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com tetraidrofurano e homogeneizar.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo entre cinco replicatas é, no máximo 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de cipionato de estradiol C₂₆H₃₆O₃ na amostra a partir das respostas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e resistentes a luz.

ROTULAGEM

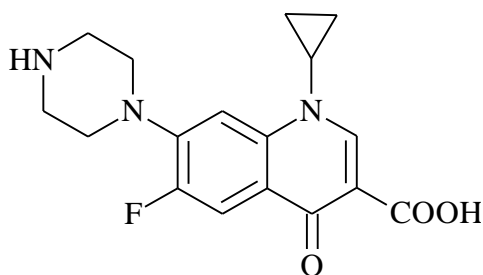
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Estrogênio.

CIPROFLOXACINO

Ciprofloxacinum



C₁₇H₁₈FN₃O₃; 331,34

ciprofloxacino; 02137

Ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-il)-1,4 dihidroquinoleína-3-carboxílico
[85721-33-1]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₁₇H₁₈FN₃O₃, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino quase branco a amarelo claro, ligeiramente higroscópico.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Solúvel em ácido acético diluído, muito pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de ciprofloxacino SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação a 2,5% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 M é límpida a ligeiramente opalescente (5.2.25).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método de *Doseamento*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o percentual de cada impureza de ciprofloxacino presente. No máximo 0,2% para o análogo ciprofloxacino etilenodiamina ou qualquer outra impureza individual. No máximo 0,5% para impurezas totais.

Limite de ácido fluoroquinolônico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica-gel como suporte, e mistura de cloreto de metileno, metanol, acetonitrila e hidróxido de amônio (4:4:1:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): transferir 5 mg de ácido fluoroquinolônico para balão volumétrico de 50 mL contendo 0,05 mL de hidróxido de amônio 6 M, completar o volume com água e homogeneizar

Solução (2): transferir 2 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com água e homogeneizar

Solução (3): obter solução amostra com concentração de 10 mg/mL de ciprofloxacino em ácido acético 0,1 M.

Colocar em uma câmara adequada um recipiente contendo hidróxido de amônio, juntamente com a placa. Após 15 minutos, transferir a placa para a cuba cromatográfica. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha da *Solução (3)* com R_f correspondente a mancha principal obtida com a *Solução (2)* é, no máximo, igual em intensidade e tamanho à mancha principal da *Solução (2)* (0,2%).

Sulfato. Preparar *Solução padrão* a 18,1 µg/mL de sulfato de potássio em álcool a 30% (v/v) (10 µg/mL de sulfato). Preparar *Solução amostra* adicionando 0,5 g de ciprofloxacino em 5,0 mL de ácido acético 2 M e 15 mL de água. Transferir para dois tubos de Nessler 1,5 mL *Solução padrão*, adicionar, sob agitação contínua, 1 mL de solução de cloreto de bário a 25% (p/v) e aguardar por um minuto. Para um dos tubos transferir 15 mL da *Solução padrão* e 0,5 mL de ácido acético 30% (v/v), e agitar. No segundo tubo adicionar 15 mL da *Solução amostra* e 0,5 mL de ácido acético 30% (v/v), e agitar. A turbidez no tubo contendo a *Preparação amostra* é, no máximo, igual a apresentada pela *Solução padrão* (0,04%).

Cloretos (5.3.2.1). Prosseguir conforme descrito em *Ensaio Limite para cloretos*, exceto que a *Preparação padrão* e *Preparação amostra* não devem ser diluídas para 50 mL. No máximo 0,02% (200 ppm).

Preparação amostra: dissolver 0,5 g de amostra em 30 mL de água e filtrar em filtro de papel livre de cloro. Transferir 15 mL do filtrado para um tubo de 50 mL.

Preparação padrão: Preparar solução a 8,2 µg/mL de cloreto de sódio (5 µg/mL de cloreto). Transferir 10 mL para um segundo tubo de 50 mL, adicionar 5,0 mL de água e agitar.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa à vácuo a 120 °C por seis horas. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%, exceto quando indicado para o uso em ciprofloxacino para suspensão oral, no máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração por membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mg de ciprofloxacino.

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 278 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida a 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e ácido fosfórico 0,0125 M com pH previamente ajustado com trietilamina para 2,5 ± 0,1 (13:87).

Solução amostra: obter solução de 0,1 mg/mL de ciprofloxacino em *Fase móvel*.

Solução padrão: obter solução de 0,1 mg/mL de ciprofloxacino SQR em *Fase móvel*.

Solução de resolução: preparar solução contendo análogo de ciprofloxacino etilenodiamina SQR a 250 µg/mL em *Fase móvel*. Transferir 1 mL da solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Solução padrão*.

Injetar 25 µL da *Solução de resolução*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2500 pratos teóricos/metro. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,7 para análogo de ciprofloxacino etilenodiamina e 1,0 para ciprofloxacino. O fator cauda é, no máximo, 2,5. A resolução entre o análogo de ciprofloxacino etilenodiamina e ciprofloxacino é, no máximo, 5,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados não é maior que 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos correspondentes ao ciprofloxacino. Calcular o teor de C₁₇H₁₈FN₃O₃ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

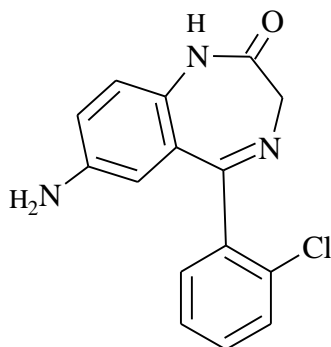
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

CLONAZEPAM Clonazepamum



C₁₅H₁₀ClN₃O₃; 315,71

clonazepam; 02300

5-(2-clorofenil)-1,3-diidro-7-nitro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona
[1622-61-3]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₁₅H₁₀ClN₃O₃, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, levemente amarelado.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico e metanol.

Constantes físico-químicas

Faixa de fusão (5.2.2): 237 °C a 240 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de clonazepam SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Limite de 2-bromo-2`-(2-clorobenzoil) -4`nitroacetanilida. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel como suporte, e mistura de acetona e *n*-heptano (3:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 25 mg/mL da amostra em acetona.

Solução (2): solução a 0,05 mg/mL de 2-bromo-2`-(2-clorobenzoil) -4`nitroacetanilida (*impureza C SQR*) em acetona.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido sulfúrico 2 *M* e secar a placa em estufa a 105 °C durante 15 minutos. Pulverizar a placa, sucessivamente, com solução de nitrato de sódio 0,01 *M*, solução de sulfamato de amônio 0,1 (p/v) e solução de dicloridrato de *N*-(1-naftil)etilenodiamina SR. Deixar a placa secar ao ar. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *Solução (2)* (0,2%).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Solução tampão pH 8,0: dissolver 6,6 g de fosfato de amônio dibásico anidro em 900 mL de água, ajustar o pH em 8,0 ± 0,1 com ácido fosfórico 1 *M* ou hidróxido de sódio 1 *M*, diluir para 1000 mL com água.

Fase móvel: mistura de *Solução tampão pH 8,0*, metanol e tetrahidrofurano (60:52:13). Filtrar e degaseificar.

Diluyente: mistura de água, metanol e tetrahidrofurano (60:52:13).

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de amostra para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com metanol. Realizar diluições sucessivas no *Diluyente*, a fim de obter solução contendo 0,1 mg/mL.

Solução (2): transferir 10 mg de 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A SQR*), 10 mg de 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*) e Clonazepam SQR

para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com metanol. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com *Diluyente*.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas de todos os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza na amostra, utilizando a seguinte expressão:

$$100Pr_i / (r_c + \sum Pr_i)$$

Em que:

$P = 1,84$ (fator de resposta relativo para 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A SQR*)); $0,94$ (fator de resposta relativo para 2-amino-2'-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*)) e 1 para as outras impurezas;

r_i = área do pico de cada impureza obtida a partir da *Solução (1)*;

r_c = área do pico de clonazepam obtido a partir da *Solução (1)*.

A área dos picos individuais de 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A SQR*) e 2-amino-2'-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*), obtidos com a *Solução (1)* não são superiores a 0,2%. A área de nenhuma impureza individual e nem a soma das áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1)* é superior a 0,3%. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Esterilidade.

Esterilidade (5.5.3.2.1). 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

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso (5.3.3.5)*. Dissolver 0,275 g da amostra previamente dessecada em 50 mL de anidrido acético e titular com ácido perclórico 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 31,57 mg de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar o método descrito em *Substâncias relacionadas*, com as seguintes modificações.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de clonazepam SQR para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com metanol. Realizar diluições sucessivas no *Diluyente*, a fim de obter solução contendo 0,1 mg/mL.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg de amostra para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com metanol. Realizar diluições sucessivas no *Diluyente*, a fim de obter solução contendo 0,1 mg/mL.

Solução de resolução: transferir 10 mg de 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A* SQR), 10 mg de 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*) e Clonazepam SQR para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Diluyente* e homogeneizar.

Injetar, separadamente, replicatas de 50 µL da *Solução de resolução e Solução (1)*. Os tempos de retenção relativos são de 2,2, 2,5 e 1 para 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A*), 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*) e Clonazepam SQR, respectivamente. A resolução entre os picos de 3-amino-4(2-clorofenil)-6-nitrocarbostiril (*Clonazepam impureza A*) e 2-amino-2`-cloro-5-nitrobenzofenona (*Clonazepam impureza B*) é, no mínimo, 2,0. O fator de cauda é, no máximo, 1,5 e o desvio padrão relativo das áreas de replicatas sob os picos registrados do cloridrato de clonazepam SQR é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL das *Soluções padrão e amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de clonazepam (C₁₅H₁₀ClN₃O₃) na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão e a Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, protegidos da luz.

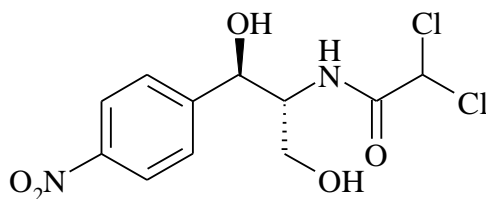
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Benzodiazepínico.

CLORANFENICOL Chloramphenicol



C₁₁H₁₂Cl₂N₂O₅; 323,13

cloranfenicol; 02336

2,2-dicloro-*N*-[(1*R*,2*R*)-2-hidroxi-1-(hidroximetil)-2-(4-nitrofenil)etil]acetamida
[56-75-7]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de (C₁₁H₁₂Cl₂N₂O₅).

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó fino, branco, branco-acinzentado ou branco-amarelado; ou cristais em forma de agulhas ou de placas alongadas. Suas soluções são praticamente neutras em papel de tornassol. Razoavelmente estável em soluções neutras ou moderadamente ácidas. Em soluções etílicas é dextrógiro e em acetato de etila é levógiro.

Solubilidade. Pouco solúvel em água. Facilmente solúvel em álcool etílico e propilenoglicol.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 149 °C a 153 °C.

Poder rotatório específico (5.2.8): +17,0° a +20,0°, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 50,0 mg/mL em álcool etílico anidro.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloranfenicol SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Substâncias relacionadas*, corresponde em posição e tamanho àquela obtida com a *Solução (1)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Transferir 50 mg da amostra para cadinho de porcelana e adicionar 0,5 g de carbonato de sódio anidro. Aquecer em forno e abrir queima por 10 minutos. Resfriar. Dissolver o resíduo com 5 mL de ácido nítrico e filtrar. Em 1 mL do filtrado, adicionar 1 mL de água. Responde à reação de cloretos (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19) 4,5 a 7,5. Determinar em suspensão aquosa a 25 mg/mL.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel GF₂₅₄, como suporte, e mistura de água, metanol e clorofórmio (1:10:90), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 1 µL e 20 µL da *Solução amostra*, 1 µL da *Solução (1)* e 20 µL da *Solução (2)*, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução amostra: solução a 10,0 mg/mL da amostra em acetona.

Solução (1): dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloranfenicol SQR em acetona de modo a obter solução de 10,0 mg/mL.

Solução (2): diluir quantidade ideal da *Solução (1)* com acetona em balão volumétrico de modo a obter solução de 500,0 µg/mL.

Desenvolver o cromatograma por 15 cm. Remover a placa e deixar secar ao ar e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com 20 µL da *Solução amostra*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que a mancha obtida com a *Solução (2)*.

Cristalinidade. Suspender algumas partículas da amostra em óleo mineral, transferir para uma lâmina de vidro e examinar por meio de microscópio dotado de luz polarizada. As partículas exibem birrefringência, que se extingue ao movimentar a amostra por meio de ajuste micrométrico.

Cloretos (5.3.2.1). Adicionar a 1,00 g da amostra 20 mL de água e 10 mL de ácido nítrico. Agitar por cinco minutos. Filtrar, em filtro previamente lavado com 5 mL água, até que nenhuma opalescência seja produzida em 5 mL do filtrado com adição de 0,1 mL de ácido nítrico e 0,1 mL de nitrato de prata SR. Um volume de 15 mL do filtrado satisfaz ao *Ensaio limite para cloretos*. No máximo 0,01% (100 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,00 g da amostra. Dessecar a 105°C. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 2,00 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Pirogênios ou de Endotoxinas bacterianas, e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre o teste de Pirogênios ou de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração por membrana*. Usar 1 g da amostra.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar 2,5 mL/kg, empregando solução de cloranfenicol a 2 mg/mL em água para injetáveis.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,2 UE por mg de cloranfenicol.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; coluna de 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: preparar mistura de água, metanol e ácido acético glacial (55:45:0,1). Fazer ajustes se necessário.

Solução amostra: transferir, aproximadamente, 20 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, adicionar *Fase móvel* até completar o volume e homogeneizar. Transferir 4,0 mL desta preparação para balão volumétrico de 100 mL, diluir com *Fase móvel*. Filtrar uma porção desta preparação em filtro de porosidade 0,5 µm ou mais fina, e usar o filtrado como *Solução amostra*.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloranfenicol SQR em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 80 µg/mL. Filtrar uma porção desta preparação em filtro de porosidade 0,5 µm ou mais fina e usar o filtrado como *Solução padrão*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna determinada com o pico principal é, no mínimo menor que 1800 pratos teóricos, o fator cauda é, no máximo, maior que 2,0 e o desvio padrão relativo entre as replicatas deve ser menor que 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra* registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de cloranfenicol $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados. Se estéril, armazenar em recipientes estéreis, hermeticamente fechados e lacrados.

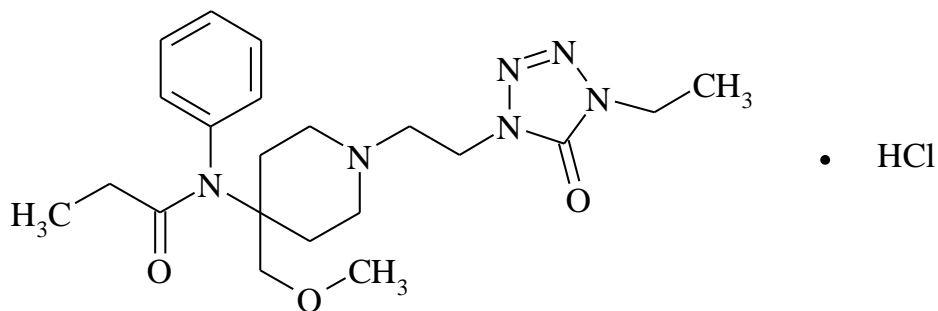
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. Quando destinado para uso parenteral ou outras formas farmacêuticas estéreis, o rótulo deve apresentar que é estéril ou deve ser submetido a processamento adicional durante a preparação das formas farmacêuticas.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

CLORIDRATO DE ALFENTANILA
Alfentanili hydrochloridum



$C_{21}H_{33}ClN_6O_3$; 452,98

$C_{21}H_{33}ClN_6O_3 \cdot H_2O$; 470,99

cloridrato de alfentanila; 00535

cloridrato de alfentanila monohidratada; 09638

Cloridrato de *N*-[1-[2-(4-etil-4,5-diidro-5-oxo-1*H*-tetrazol-1-il)etil]-4-(metóximetil)piperidina-4-il]-*N*-fenilpropanamida.

[69049-06-5]

[70879-28-6]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{21}H_{33}ClN_6O_3$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Solúvel em água, facilmente solúvel em metanol e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 136 °C a 146 °C, com decomposição. A forma hidratada apresenta faixa de fusão de 116 °C a 126 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14), da amostra dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de alfentanila SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 50 mg da amostra em uma mistura de 0,4 mL de amônia e 2 mL de água. Agitar, deixar decantar por cinco minutos e filtrar. Acidificar o filtrado com ácido nítrico SR. Responde a reação 1 dos cloretos (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 235 nm; coluna de 250 mm de

comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de sulfato de tetrabutílamônio 0,01 M e acetonitrila (86:14).

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloridrato de alfentanila SQR em *Fase móvel* de modo a obter concentração final de 0,54 mg/mL.

Solução amostra: transferir cerca de 54 mg de cloridrato de alfentanila, precisamente medida, para um balão volumétrico de 100 mL, dissolver e completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar o cromatograma e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza da amostra segundo a expressão:

$$\text{Porcentagem de impurezas} = 100 \times (r_i/r_s)$$

na qual r_i é o fator de resposta para cada impureza e r_s é a soma das respostas de todos os picos. Não mais que 0,5% de nenhuma impureza é encontrada. E a soma de todas as impurezas não é maior que 1,0%.

Água (5.2.20.1). Utilizar *Método direto*. Determinar em 500 mg da amostra. No máximo 4,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%

TESTE DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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.

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 18,38 UE/mg de cloridrato de alfentanila.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 350 mg de cloridrato de alfentanila, dissolver em 50 mL de uma mistura de álcool etílico e água (1:4) e adicionar 5 mL de ácido clorídrico 0,01 M. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente. Ler o volume adicionado entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 45,30 mg de C₂₁H₃₃ClN₆O₃. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

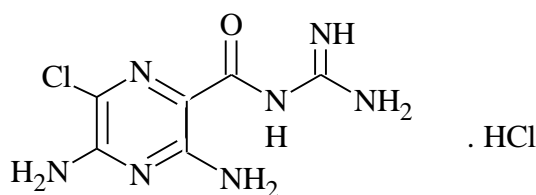
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico opióide.

CLORIDRATO DE AMILORIDA Amiloridi hydrochloridum



$C_6H_8ClN_7O \cdot HCl$; 266,09

$C_6H_8ClN_7O \cdot HCl \cdot 2H_2O$; 302,12

cloridrato de amilorida; 00672

cloridrato de amilorida di-hidratado; 10890

Cloridrato de 3,5-Diamino-N-carbamimidoil-6-cloropirazina-2-carboxamida

[2016-88-8]

Cloridrato de 3,5-Diamino-N-carbamimidoil-6-cloropirazina-2-carboxamida di-hidratado

[17440-83-4]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_8ClN_7O \cdot HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó de coloração amarelo claro ou amarelo esverdeado.

Solubilidade. Facilmente solúvel em dimetilsulfóxido. Pouco solúvel em água, isopropanol e álcool etílico absoluto.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se forem realizados os testes A. e C. O teste de identificação A. pode ser omitido se forem realizados os testes B. e C.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra previamente dessecada apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de amilorida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel R, como suporte, e mistura de amônia SR, água e dioxano (6:6:88) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 40 mg da amostra em metanol e diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): dissolver 40 mg de cloridrato de amilorida SQR em metanol e diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). A mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. Responde às reações do íon cloreto (**5.3.1.1**).

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Dissolver 1,0 g da amostra em 100 mL de uma mistura de metanol e de água (1:1), titular com hidróxido de sódio 0,1 M, determinando o ponto final potenciométricamente. Não mais que 0,3 mL de hidróxido de sódio 0,1 M deve ser gasto.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada ao grupamento octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de hidróxido de tetrametilamônio, acetonitrila e água (5:250:745), ajustar o pH para 7,0 com auxílio de ácido fosfórico.

Solução (1): dissolver, com exatidão, cerca de 20 mg da amostra em 10 mL de uma mistura de acetonitrila e água (1:3 v/v).

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL e diluir com o mesmo solvente.

Solução (3): transferir 1 mL da *Solução (2)* para 10 mL e diluir com o mesmo solvente.

Solução (4): dissolver, com exatidão, cerca de 5 mg de amilorida impureza A SQR em 5 mL de uma mistura de acetonitrila e água (1:3 v/v). Transferir 1 mL desta solução para 100 mL e diluir com o mesmo solvente.

Se necessário ajustar a proporção de acetonitrila na *Fase móvel* para que o tempo de retenção da impureza A esteja entre cinco e seis minutos. Se necessário ajustar a proporção de hidróxido de tetrametilamônio, mantendo o pH em 7,0 para que o tempo de retenção da amilorida esteja entre nove e 12 minutos.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções (1)*, *(3)* e *(4)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, cinco vezes o tempo de retenção da amilorida.

Sensibilidade do sistema: Sinal ruído, mínimo 5,0 para o pico da amilorida obtido com a *Solução (3)*.

Impurezas inespecíficas: Para cada pico de impureza obtido na *Solução (1)*, a área é, no máximo 0,2 vez a área do pico da impureza A obtido com a *Solução (4)* (0,1%).

Impurezas totais: O somatório das áreas dos picos de impureza obtidos na *Solução (1)*, é, no máximo igual a área do pico da impureza A obtido com a *Solução (4)* (0,5%).

Desconsiderar: picos de impurezas com áreas inferiores a 0,1 vezes a área do pico da impureza A obtido com a *Solução (4)* (0,05%).

Água (5.2.20.1). 11,0% a 13,0% para a forma di-hidratada.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Dissolver, quantitativamente cerca de 0,2 g da amostra em 50 mL de álcool etílico. Adicionar 5 mL de ácido clorídrico 0,01 M e titular com hidróxido de sódio 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 26,61 mg de $C_6H_8ClN_7O \cdot HCl$

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo de luz.

ROTULAGEM

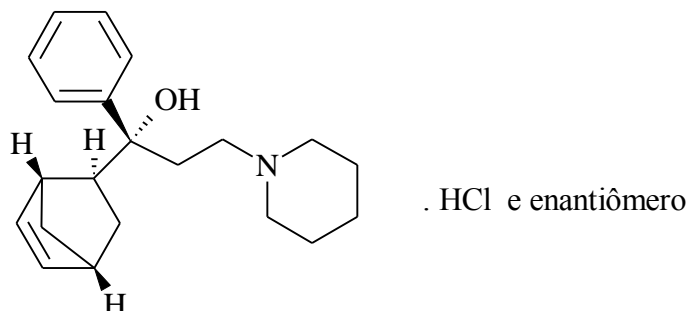
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Diurético.

CLORIDRATO DE BIPERIDENO

Biperideni hydrochloridum



$C_{21}H_{29}NO.HCl$; 347,92

cloridrato de biperideno; 01283

Cloridrato de (1RS)-1-[(1RS,2SR,4RS)-biciclo-[2.2.1]hept-5-en-2-il]-1-fenil-3-(piperidin-1-il)propan-1-ol.

[1235-82-1]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{21}H_{29}NO.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e álcool.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação A. pode ser omitido se forem realizados os testes B., C. e D. Os testes de identificação B. e C. podem ser omitidos se forem realizados os testes A. e D.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de biperideno SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra a 0,1% (p/v) em metanol, exibe máximo em 257 nm.

C. Dissolver 0,2 g de amostra em 5 mL de ácido fosfórico. Desenvolve-se coloração verde.

D. Responde às reações do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica gel, como suporte, e mistura de metanol e hidróxido de amônio (100:1,5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 μ L de cada uma das soluções descritas a seguir.

Solução (1): Solução da amostra a 10 mg/mL, em metanol.

Solução (2): solução de cloridrato de biperideno SQR a 0,2 mg/mL em metanol.

Solução (3): solução de cloridrato de biperideno SQR a 0,1 mg/mL em metanol.

Solução (4): solução de cloridrato de biperideno SQR a 0,05 mg/mL em metanol.

Solução (5): solução de cloridrato de biperideno SQR a 0,01 mg/mL em metanol.

Procedimento: desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob exposição a vapores de iodo por 10 minutos. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução (1)*, diferente da mancha principal, tem intensidade máxima igual à obtida com a *Solução (2)*. A soma das impurezas observadas não excede de 2,0%.

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por três horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso (5.3.4.5)*. Dissolver 0,5 g da amostra em 80 mL de ácido acético glacial, aquecendo um pouco, se necessário, para solubilização. Esfriar. Adicionar uma gota de cloreto de metilrosanilínio SI e 10 mL de acetato de mercúrio. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV, até mudança de cor para verde esmeralda. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 34,79 mg de C₂₁H₂₉NO.HCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

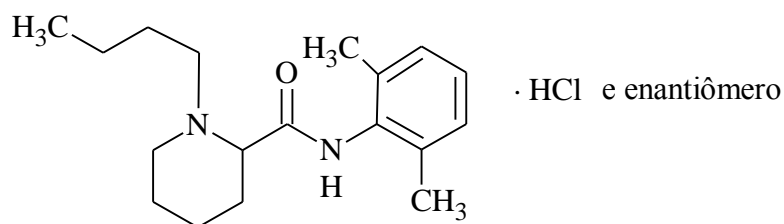
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticolinérgico.

CLORIDRATO DE BUPIVACAÍNA

Bupivacaini hydrochloridum



$C_{18}H_{28}N_2O.HCl$; 324.90

$C_{18}H_{28}N_2O.HCl, H_2O$; 342.90

cloridrato de bupivacaína; 01552

Cloridrato de (*RS*)-1-butil-2',6'-dimetilpiperidina-2-carboxanilida

[18010-40-7]

Cloridrato de (*RS*)-1-butil-2',6'-dimetilpiperidina-2-carboxanilida hidratado (1:1)

[14252-80-3]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,5% de $C_{18}H_{28}N_2O.HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Solúvel em água, facilmente solúvel em álcool.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão (5.5.2): 254 °C, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de bupivacaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra a 0,05% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 M, exibe máximo de absorção em 271 nm.

C. Transferir para um funil de separação, quantitativamente, cerca de 50 mg de amostra e adicionar 10 mL de água, alcalinizar com hidróxido de amônio 6 M, e extrair com 10 mL de éter. A fase aquosa satisfaz os requisitos da reação do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). Entre 4,5 e 6,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Limite de solvente residual. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas; coluna de 2 m de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, com fase estacionária contendo copolímero de etilvinilbenzeno e divinilbenzeno, e um diâmetro médio dos poros de 0,0075 µm. Como gás de arraste utilizar nitrogênio, em um fluxo de 40 mL/minuto. Manter a temperatura da coluna em 175 °C e do injetor e detector em 200 °C e 280 °C, respectivamente.

Solução padrão de álcool etílico: pipetar 2 mL de álcool etílico di-hidratado para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Solução contém 0,08% de álcool etílico.

Solução padrão de álcool isopropílico: pipetar 2 mL de álcool isopropílico para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Solução contém 0,004% de álcool isopropílico.

Solução teste: transferir 1,0 g de cloridrato de bupivacaína, exatamente pesado, para balão volumétrico de 25 mL, e completar o volume com água e homogeneizar.

Injetar 5 µL da *Solução teste*, da *Solução padrão de álcool etílico* e da *Solução padrão de álcool isopropílico* sucessivamente no cromatógrafo gasoso. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos da *Solução padrão de álcool etílico* e da *Solução padrão de álcool isopropílico*. Determinar o teor de álcool etílico e álcool isopropílico na *Solução teste* a partir das respostas obtidas com as soluções padrões. O somatório do teor de álcool etílico e álcool isopropílico é, no máximo, 2%.

Água (5.2.20.1). Entre 4,0% e 6,0%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *método III*. Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,001% (10 ppm).

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

Pureza cromatográfica

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel, como suporte, e mistura de clorofórmio e isopropilamina (99:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções descritas a seguir:

Solução (1): dissolver quantidade, exatamente pesada, da amostra em diluente de modo a obter solução a 20 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloridrato de bupivacaína SQR em diluente, para obter solução a 20 mg/mL.

Solução (3): diluir a *solução (2)* em diluente de modo a obter solução a 0,1 mg/mL.

Diluente: mistura de clorofórmio e isopropilamina (99:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Expor a placa a vapores de iodo por cinco minutos, remover e nebulizar com ácido sulfúrico 3,5 M, até o aparecimento das manchas.

A mancha principal da *Solução (1)* tem o mesmo Rf que a mancha principal da *Solução (2)*. O tamanho e a intensidade de qualquer outra mancha obtida a partir da *solução (1)* são no máximo iguais à mancha principal obtida a partir da *solução (3)* (0,5%) e o tamanho e intensidade total estimado de todas as outras manchas obtidas a partir da *solução (1)* são, no máximo quatro vezes a mancha principal obtida a partir da *solução (3)* (2,0%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Dissolver 0,5 g da amostra em 80 mL de ácido acético glacial, aquecendo um pouco, se necessário, para solubilização. Esfriar. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV, determinando o ponto final utilizando uma gota de cloreto de metilrosanilínio SI (cristal violeta) e 10 mL de acetato de mercúrio SI até mudança de cor para verde esmeralda. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 32,49 mg de C₂₁H₂₉NO.HCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo de luz, umidade e luz natural direta.

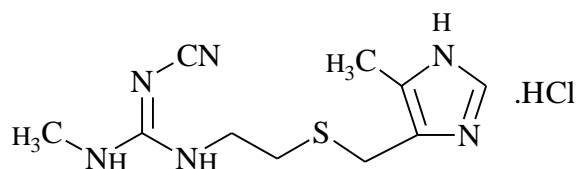
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico.

CLORIDRATO DE CIMETIDINA Cimetidini hydrochloridum



C₁₀H₁₆N₆S.HCl; 288,81

cloridrato de cimetidina; 02074

Cloridrato de *N*-Ciano-*N*'-metil-*N*''-[2-[[[5-metil-1*H*-imidazol-4-il)metil]tio]etil]guanidina
[70059-30-2]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₁₀H₁₆N₆S.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, levemente amarelado.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de cimetidina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 220 nm a 400 nm, de solução a 0,0014% (p/v) em ácido sulfúrico 0,2 M, exibe máximo em 218 nm. A absorvância em 218 nm está entre 0,650 e 0,705.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 220 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), fluxo da *Fase móvel* de 2,0 mL/minuto.

Fase móvel: transferir 940 mg de 1-hexanosulfonato de sódio para balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 240 mL de metanol, 0,3 mL de ácido fosfórico e completar o volume com água. Filtrar e desgaseificar. Fazer ajustes se necessário.

Solução (1): transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de amostra para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (2): diluir 0,5 mL da *solução (1)* para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com *Fase móvel*.

Solução de resolução: transferir 50 mg de cloridrato de cimetidina em 10 mL de ácido clorídrico 0,1 M, aquecer em banho-maria a 50 °C, por dois minutos e deixar esfriar. Diluir com *Fase móvel* até obter solução na concentração de 2 µg/mL. Se necessário, o tempo de aquecimento pode ser alterado para obter resposta satisfatória do pico de análogos da amida.

Injetar, separadamente, réplicas de 50 µL da *Solução de resolução* e *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A resolução entre os picos de cimetidina e análogos da amida, obtidos no cromatograma com a *Solução de resolução*, é, no mínimo 4. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2000 pratos teóricos por metro; o fator de retenção é, no mínimo, 4,0 e o desvio padrão relativo das áreas de réplicas dos picos registrados é, no máximo, 7,0%, em relação ao cromatograma obtido com a *Solução (2)*.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µL da *Solução (1)* e *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. A soma das áreas sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1)*, é no máximo 1,0% da área sob o pico obtido com a *Solução (2)*. A área individual sob os picos secundários obtidos com a *Solução (1)*, é, no máximo, 0,2% da área sob o pico obtido com a *Solução (2)*. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mg de cloridrato de cimetidina.

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

Dissolver 0,20 g da amostra previamente dessecada em 5 mL de ácido clorídrico 0,01 M e adicionar 50 mL de álcool etílico. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente, entre os dois pontos de inflexão. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 28,88 mg de $C_{10}H_{16}N_6S.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

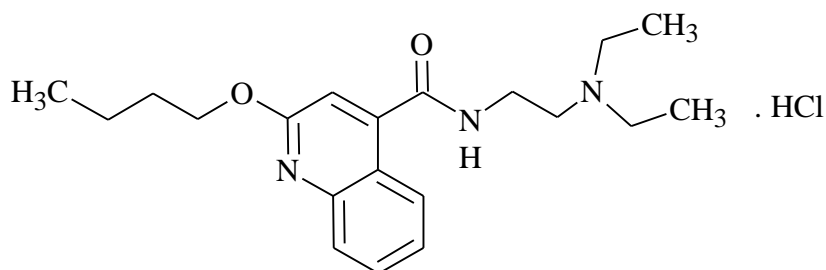
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-histamínico H₂.

CLORIDRATO DE CINCHOCAÍNA

Cinchocaini hydrochloridum



$C_{20}H_{29}N_3O_2.HCl$; 379,92

cloridrato de cinchocaína; 02092

Cloridrato de 2-butoxi-N-(2-dietilaminoetil)quinoleína-4-carboxamida
[61-12-1]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 100,5% de $C_{20}H_{29}N_3O_2.HCl$, em relação à base dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco, ou cristais incolores, higroscópicos. Aglomera muito facilmente.

Solubilidade. Muito solúvel na água e facilmente solúvel em álcool.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de cinchocaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Responde às reações do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o Método I. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 80 °C por cinco horas. No máximo 2,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica gel como suporte, e mistura de tolueno, acetona, metanol e hidróxido de amônio (50:30:5:1), como fase móvel. Aplicar separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver quantidade exatamente pesada da amostra em clorofórmio, para obter solução a 40 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade exatamente pesada de cloridrato de cinchocaína SQR em clorofórmio para obter solução a 40 mg/mL.

Solução (3): diluir, quantitativamente, porção da *Solução (2)* em clorofórmio, para obter solução a 0,04 mg/mL (0,1%).

Solução (4): diluir, quantitativamente, porção da *Solução (2)* em clorofórmio, para obter solução a 0,12 mg/mL (0,3%).

Solução (5): diluir, quantitativamente, porção da *Solução (2)* em clorofórmio, para obter solução a 0,20 mg/mL (0,5%).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de dicromato de potássio a 0,5% (p/v) em ácido sulfúrico diluído (1:5). Aquecer a 140 °C durante 10 minutos ou até o aparecimento de manchas e deixar arrefecer. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade, à mancha obtida com a *Solução (2)*. O somatório das intensidades de qualquer mancha secundária, se presente no cromatograma da *Solução (1)*, corresponde, no máximo, 1,0% da mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (1)*. Qualquer mancha secundária, se presente no cromatograma da *Solução (1)* é, no máximo, 0,5% da mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (1)*, com base de comparação as manchas obtidas a partir dos cromatogramas da *Solução (3)*, *Solução (4)* e *Solução (5)*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre o teste de Endotoxinas bacterianas e com o teste de Esterilidade. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre com o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 35,7 UE/mg de cloridrato de cinchocaína.

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 327 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão acetato de sódio pH 5,5: dissolver 0,2 g de acetato de sódio em 250 mL de água, adicionar 2 mL de trietilamina, ajustar o pH em $5,5 \pm 0,1$ com ácido acético e completar o volume para 300 mL com água.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e *Tampão acetato de sódio pH 5,5* (70:30).

Solução amostra: transferir 25,0 mg de amostra, exatamente pesada, para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 15 mL de *Fase móvel*, deixar em ultrassom por 15 minutos e completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloridrato de cinchocaína SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 1,0 mg/mL e homogeneizar.

A eficiência da coluna para o pico do cloridrato de cinchocaína é, no máximo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₂₀H₂₉N₃O₂.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

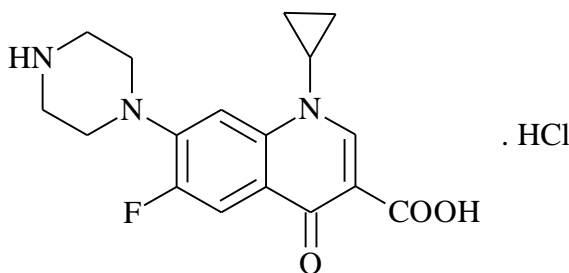
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico local.

CLORIDRATO DE CIPROFLOXACINO Ciprofloxacini hydrochloridum



C₁₇H₁₈FN₃O₃.HCl; 367,80

cloridrato de ciprofloxacino; 02138

Cloridrato do ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-il)-1,4 dihidroquinolina-3-carboxílico

[93107-08-5]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₁₇H₁₈FN₃O₃.HCl, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, com coloração amarelo-claro, pouco higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água, pouco solúvel em metanol e muito pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de ciprofloxacino SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

C. Responde às reações do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,0 a 4,5. Determinar em solução aquosa 25 mg/mL.

Substâncias Relacionadas. Proceder conforme descrito no método de *Doseamento*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o percentual de cada impureza de cloridrato de ciprofloxacino. No máximo 0,2% para o análogo ciprofloxacino etilenodiamina ou qualquer outra impureza individual.

Ácido fluoroquinolônico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel GF₂₅₄, como suporte, e mistura de cloreto de metileno, metanol, acetonitrila e hidróxido de amônio (4:4:1:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): dissolver 5,0 mg de ácido fluoroquinolônico SQR em 0,05 mL de hidróxido de sódio 6 M, completar o volume para 50 mL com água e homogeneizar. Diluir 2,0 mL dessa solução resultante para 10,0 mL com acetonitrila e homogeneizar

Solução (2): obter solução amostra com concentração de 10 mg/mL de cloridrato de ciprofloxacino em uma solução acetonitrila:água (80:20).

Colocar em uma câmara adequada um recipiente contendo hidróxido de amônio, juntamente com a placa. Após 15 minutos, transferir a placa para a cuba cromatográfica. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha da *Solução (2)* com R_f correspondente a mancha principal obtida com a *Solução (1)* é, no máximo, igual em intensidade e tamanho à mancha principal da *Solução (1)*.

Água (5.2.20.1). 4,7% a 6,7%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 278 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de acetonitrila e ácido fosfórico 0,0125 M com pH previamente ajustado com trietilamina para $2,5 \pm 0,1$ (13:87).

Solução amostra: obter solução de 0,1 mg/mL de cloridrato de ciprofloxacino em *Fase móvel*.

Solução padrão: obter solução de 0,1 mg/mL de cloridrato de ciprofloxacino SQR em *Fase móvel*.

Solução de resolução: preparar solução contendo ciprofloxacino etilenodiamina SQR a 250 µg/mL em *Fase móvel*. Transferir 1,0 mL da solução para balão volumétrico de 10,0 mL, completar o volume com a *Solução padrão* e homogeneizar

Injetar 25 µL da *Solução de resolução*. A eficiência da coluna é, no mínimo, 2500 pratos teóricos/metro. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,7 para ciprofloxacino etilenodiamina e 1,0 para ciprofloxacino. O fator cauda é, no máximo 2,5. A resolução entre o ciprofloxacino etilenodiamina e ciprofloxacino é, no mínimo 5,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos correspondentes ao cloridrato de ciprofloxacino. Calcular o teor de $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados, protegidos da luz.

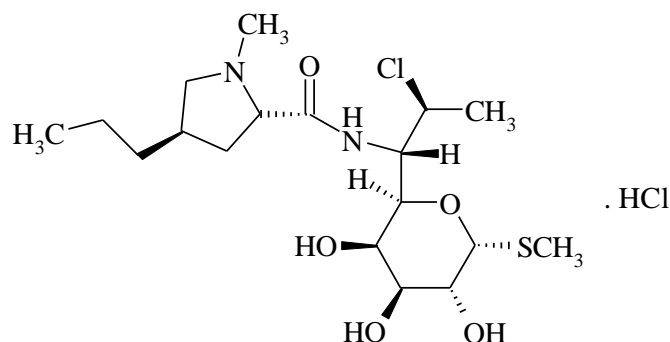
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimicrobiano.

CLORIDRATO DE CLINDAMICINA
Clindamycini hydrochloridum



$C_{18}H_{33}ClN_2O_5S.HCl$; 461,443

cloridrato de clindamicina; 02230

Cloridrato de metil-7-cloro-6,7,8-trideoxi-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propil-2-pirrolidinil]carbonil]-amino]-1-tio-L-treo-α-D-galacto-octopiranosídeo
[21462-39-5]

Contém, no mínimo, 91,0% e, no máximo, 102,0% de ($C_{18}H_{33}ClN_2O_5S.HCl$), em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco. Estável em presença de ar e luz

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e metanol, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Poder rotatório específico (5.2.8): +135° a +150°, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 0,04 g/mL em água.

IDENTIFICAÇÃO

Os ensaios B e C podem ser omitidos se forem realizados os ensaios A e D. O ensaio A pode ser omitido se forem realizados os ensaios B, C e D.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da matéria prima dispersa em óleo mineral, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de clindamicina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)* utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de isopropanol, acetato de amônio SR e acetato de etila (19:38:43), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 1 mg/mL da amostra em mistura de metanol.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de cloridrato de clindamicina SQR em metanol.

Solução (3): solução de cloridrato de clindamicina SQR e de cloridrato de lincomicina SQR a 1 mg/mL, cada, em metanol.

Desenvolver o cromatograma em 15 cm da placa, deixar secar ao ar. Borrifar uma solução de permanganato de potássio a 0,1% (p/v). Examinar sob luz visível. A mancha principal obtida com a Solução (1) corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a Solução (2). O teste somente é válido se o cromatograma obtido com a Solução (3) apresentar duas manchas principais nitidamente separadas.

C. Dissolver 10 mg da amostra em 2 mL de ácido clorídrico SR e aquecer em banho maria por três minutos. Adicionar 3 mL de solução de carbonato de sódio SR em 1 mL de uma solução de nitroprusseto de sódio 20 g/L . Desenvolve-se coloração violeta avermelhado.

D. Satisfaz às reações para o íon cloreto (**5.3.1.1**). Transferir 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 10 mL e diluir com água

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.9) 3,0 a 5,5. Determinar em solução a 100 mg/mL, em água livre de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução teste* conforme descrito a seguir:

Solução teste: utilizar a *Solução amostra* empregada no *Doseamento*.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL de cada uma das soluções e registrar os cromatogramas por, no mínimo, duas vezes o tempo de retenção do pico principal. O tempo de retenção relativo é cerca de 0,4 para a impureza A, 0,65 para a impureza B e 0,8 para a impureza C, tendo como base o tempo de retenção de 10 minutos para o cloridrato de clindamicina. Para o cromatograma obtido com a *Solução teste*, os limites das impurezas em relação à área do pico principal são: no máximo 4,0% de impureza C e 2,0% de impureza B. No máximo 1,0% para qualquer outro composto. O total de todos os compostos é, no máximo, maior que 6,0%.

Água (5.2.20.1) Entre 3,0% e 6,0%.

Cinzas Sulfatadas: Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,5%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 7,5: dissolver 6,8 g de fosfato monobásico de potássio em 1 L de água, ajustar o pH para 7,5 com solução de hidróxido de potássio 250 g/L.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato pH 7,5* e acetonitrila (55:45)

Solução amostra: dissolver quantidade, exatamente pesada, de amostra em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloridrato de clindamicina SQR em *Fase móvel* e diluir adequadamente de modo a obter solução a 1 mg/mL.

Injetar seis replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas replicatas é, no máximo, 0,85%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e mediar as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₁₈H₃₃ClN₂O₅S.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

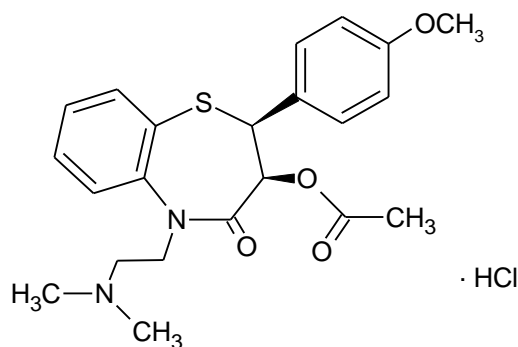
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Antibiótico.

CLORIDRATO DE DILTIAZEM

Diltiazemi hydrochloridum



C₂₂H₂₆N₂O₄S.HCl; 450,98

Cloridrato de diltiazem; 03038

Cloridrato de (2S,3S)-3-acetiloxi-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-di-hidro-2-(4-metoxifenil)-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona
[33286-22-5]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de C₂₂H₂₆N₂O₄S.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e em metanol, pouco solúvel em álcool etílico anidro.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão (5.2.2): entre 207,5 °C e 212,0 °C, com decomposição.

Poder rotatório específico (5.2.8): +115 a +120, em relação à substância dessecada. Diluir 5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação* para 25 mL com água.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de diltiazem SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Responde às reações do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1 g da amostra em 20 mL de água isenta de dióxido de carbono. A preparação é límpida (5.2.25) e incolor (5.2.12).

pH (5.2.19). Dissolver 1 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e proceder conforme descrito em *Determinação do pH*. Entre 4,3 e 5,3.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por duas horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso (5.3.3.5)*. Dissolver 0,400 g da amostra em uma mistura contendo 2 mL de ácido fórmico anidro e 60 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 45,1 mg de C₂₂H₂₆N₂O₄S.HCl.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-hipertensivo, antianginoso, antiarrítmico.

CLORIDRATO DE DILTIAZEM COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Proceder conforme descrito em *Doseamento*, utilizando a solução a seguir como solução amostra. Triturar cada comprimido individualmente e transferir, quantitativamente, o pó para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL metanol e deixar em ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 0,03 mg/mL, utilizando uma mistura de metanol e água (50:50) como solvente. Preparar solução padrão nas mesmas condições. Injetar, separadamente, 20 µL da solução padrão e da solução amostra, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a solução padrão e a solução amostra.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Meio de dissolução: água, 900 mL

Aparelhagem: pás, 75 rpm

Tempos: 30 minutos e três horas

Procedimento: nos tempos de coleta, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com água, até concentração adequada. Medir as absorvâncias em 237 nm (**5.2.14**), utilizando *Meio de dissolução* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de diltiazem SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: no máximo 60% (Q) da quantidade declarada de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ se dissolvem em 30 minutos e no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ se dissolvem em três horas.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μ m), mantida a 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto. Preparar as soluções imediatamente antes do uso.

Solução de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em água: transferir 0,5 mL de ácido trifluoroacético para balão volumétrico de 1000 mL contendo água, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em metanol: transferir 0,5 mL de ácido trifluoroacético para balão volumétrico de 1000 mL contendo metanol, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Fase móvel: mistura da *Solução de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em metanol* e da *Solução de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em água* (56:44).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 30 mg de cloridrato de diltiazem para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de metanol e deixar em ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Diluir, quantitativamente, para obter uma solução com concentração de 0,03 mg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloridrato de diltiazem SQR em uma solução de metanol e água (50:50) e diluir adequadamente de modo a obter solução a 0,03 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μ L da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

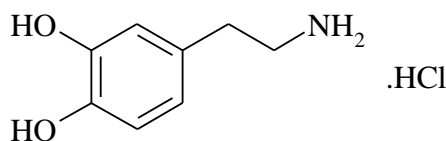
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLORIDRATO DE DOPAMINA

Dopamini hydrochloridum



C₈H₁₁NO₂.HCl; 189,64
cloridrato de dopamina; 03187
Cloridrato de 4-(2-aminoetil)-1,2-benzenodiol
[62-31-7]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₈H₁₁NO₂.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco, ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e solúvel em álcool etílico, metanol e em soluções de hidróxidos alcalinos.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de dopamina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Satisfaz às reações do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 0,1 g da amostra em 5 mL de ácido sulfúrico. A preparação obtida não é mais corada que a *Solução padrão de cor SC A* (5.2.12).

pH (5.2.19). 3,0 a 5,5. Determinar em solução aquosa a 4% (p/v).

Acidez ou alcalinidade. Dissolver 0,5 g da amostra em 10 mL de água e adicionar 0,1 mL de vermelho de metila SI e 0,75 mL de hidróxido de sódio 0,01 M SV. Desenvolve-se coloração amarela. Adicionar 1,5 mL de ácido clorídrico 0,01 M SV. Desenvolve-se coloração vermelha.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia à líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da fase móvel de 1 mL/minuto. Proteger as soluções da luz direta.

Tampão: dissolver 21 g de ácido cítrico em 200 mL de hidróxido de sódio *M*, diluir para 1000 mL com água e homogeneizar. Transferir 600 mL dessa solução para balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com ácido clorídrico 0,1 *M* e homogeneizar

Eluente A: dissolver 1,08 g de 1-octanossulfonato de sódio em 880 mL do tampão, adicionar 50 mL de metanol e 70 mL de acetonitrila. Homogeneizar, filtrar e desgaseificar.

Eluente B: dissolver 1,08 g de 1-octanossulfonato de sódio em 700 mL do tampão, adicionar 100 mL de metanol e 200 mL de acetonitrila. Filtrar e desgaseificar.

Solução amostra: preparar solução da amostra na concentração de 2 mg/mL com o eluente A.

Solução padrão: diluir 1 mL da *solução amostra* para 100 mL, com o eluente A. Homogeneizar. Transferir 1 mL da solução anterior para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com o mesmo diluente e homogeneizar.

Solução de resolução: dissolver 10 mg de cloridrato de 3-*o*-metil-dopamina e 10 mg de cloridrato de 4-*o*-metil-dopamina para 100 mL com auxílio do eluente A. Homogeneizar. Transferir 6 mL da solução anterior para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

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

<i>Tempo (min)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 – 5	90	10	isocrática
5 – 20	90 → 40	10 → 60	gradiente linear
20 – 25	40	60	isocrática

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL de cada solução e registrar os cromatogramas. A resolução entre os picos de cloridrato de 3-*o*-metil-dopamina e cloridrato de 4-*o*-metil-dopamina é de, no mínimo, 5,0. A soma das áreas sob os picos obtidos com a *Solução amostra* é, no máximo duas vezes a área do pico principal obtido com a *Solução padrão* (0,2%). A área de qualquer pico individual é, no máximo, igual a área do pico principal obtido com a *Solução padrão* (0,1%). Qualquer outra impureza registrada no cromatograma da *Solução amostra* possui área, no máximo 0,5 vez a área obtida com o pico principal da *Solução padrão* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Métodos de reação com tioacetamida, Método I*. Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,002% (20 ppm).

Sulfatos (5.3.2.2). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra, a 105 °C, por duas horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso (5.3.4.5)*. Dissolver 75 mg da amostra em 5 mL de ácido fórmico anidro e adicionar 25 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciométricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 18,964 mg de C₈H₁₁NO₂.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, protegidos da luz, a temperatura ambiente.

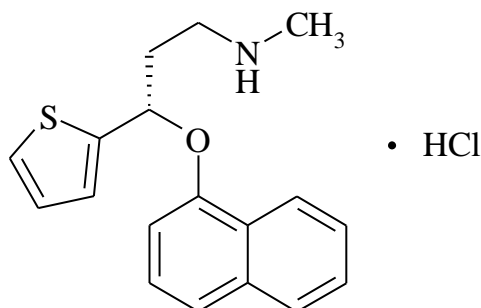
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Simpatomimético.

CLORIDRATO DE DULOXETINA Duloxetini hydrochloridum



$C_{18}H_{19}NOS.HCl$; 333,88

cloridrato de duloxetina; 03263

Cloridrato de (3*S*)-*N*-Metil-3-(naftalen-1-iloxi)-3 (tiofen-2-il) propan-1-amina

[136434-34-9]

Contém, no mínimo, 97,5% e, no máximo, 102,0% de $C_{18}H_{19}NOS.HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó branco ou quase branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em metanol.

Constantes físico-químicas.

Poder rotatório específico (5.2.8): +119° a +127°, em relação à substância dessecada. Determinar em solução a 1% (p/v) em metanol.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste C.

O teste de identificação C. pode ser omitido se for realizado o teste B.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e

com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de duloxetine SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 220 nm a 400 nm, de solução a 0,0024% (p/v) em acetonitrila, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de cloridrato de duloxetine SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Satisfaz às reações do íon cloreto (5.3.1.1). Determinar em solução a 0,5% (p/v) em metanol.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza enantiomérica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica gel OD para separação quiral (5 µm), mantida a temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* 1 mL/minuto.

Fase móvel: diluir 2 mL de dietilamina para 1000 mL com mistura de 2-propanol e hexano (17:83) e homogeneizar.

Solução (1): dissolver 5 mg da amostra em 50 mL de *Fase móvel*, diluir para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução (3): dissolver 5 mg de impureza A de duloxetine ((3R)-N-Metil-3-(naftalen-1-iloxi)-3 (tiofen-2-il) propan-1-amina) e 5 mg da amostra em 100 mL de *Fase móvel* e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (2)*. A relação sinal-ruído é, no mínimo, 10 para a duloxetine.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução (3)*. O tempo de retenção relativo entre duloxetine (tempo de retenção cerca de sete minutos) e impureza A é cerca de 1,3. A resolução entre os picos da duloxetine e impurezas A é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução (1)* e da *Solução (2)* registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A área sob o pico relativo à impureza A, obtido com a *Solução (1)* é, no máximo igual a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: dissolver, quantitativamente, cerca de 12 mg de amostra em balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de pequena quantidade de acetonitrila. Deixar em ultrassom durante 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir, em *Fase móvel*, para obter concentração de 0,0012-%(p/v).

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente, é,

no máximo, 0,4% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,2% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,05 vez a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 2,5 g da amostra em metanol. Preparar a solução de referência, utilizando 2,5 mL de solução padrão de chumbo (10 ppm de Pb) em metanol. Utilizar o *Método II*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por três horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,12 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar. Deixar em ultrassom durante 15 minutos, se necessário. Diluir, com o mesmo solvente, para obter concentração de 0,0024% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm, utilizando acetonitrila para ajuste do zero. Calcular o teor de C₁₈H₁₉NOS.HCl na amostra, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de tampão fosfato monobásico 50 mM pH 6,0, contendo 0,3% (v/v) de trietilamina, e acetonitrila (60:40).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 48 mg de amostra para balão volumétrico de 200 mL, com auxílio de pequena quantidade de acetonitrila. Deixar em ultrassom durante 15 minutos. Dissolver, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir sucessivamente, em *Fase móvel*, até concentração de 0,0012% (p/v).

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 12 mg de cloridrato de duloxetina SQR para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de pequena quantidade de acetonitrila. Dissolver, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir, em *Fase móvel*, até concentração de 0,0012% (p/v).

A eficiência da coluna para o pico do cloridrato de duloxetina é, no mínimo 5000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é no máximo 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser no máximo 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₁₈H₁₉NOS.HCl na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antidepressivo.

CLORIDRATO DE DULOXETINA CÁPSULAS

Contém cloridrato de duloxetina equivalente a, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de duloxetina (C₁₈H₁₉NOS).

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste C.

O teste de identificação C. pode ser omitido se for realizado o teste B.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel 60 F₂₅₄, como suporte, e mistura de acetato de etila, metanol e hidróxido de amônio (85:10:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar o conteúdo de 10 cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de duloxetina para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 40 mL de acetonitrila. Deixar em ultrassom durante 15 minutos em temperatura ambiente. Completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução a 1,12 mg/mL de cloridrato de duloxetina SQR, equivalente a 1 mg/mL de duloxetina, em acetonitrila.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Pesar e pulverizar o conteúdo de 10 cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 25 mg de duloxetine para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com metanol. Homogeneizar e filtrar. A solução resultante responde às reações do íon cloreto (**5.3.1.1**).

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste para cápsulas com revestimento gastrorresistente.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Estágio ácido:

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 M, 1000 mL

Aparelhagem: cestas, 100 rpm

Tempo: 120 minutos

Solução padrão: transferir, exatamente, 11,2 mg de cloridrato de duloxetine SQR, equivalente a 10 mg de duloxetine para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de tampão fosfato pH 6,8, completar o volume com tampão fosfato pH 6,8 e homogeneizar. Deixar em ultrassom, se necessário. Diluir, em *Fase móvel*, para obter concentração de 3 µg/mL de duloxetine.

Solução amostra: após realização do teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em *Fase móvel*, de modo a obter concentração teórica de 3 µg/mL de duloxetine.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar a *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de C₁₈H₂₉NOS dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Estágio tampão pH 6,8:

Meio de dissolução: tampão fosfato pH 6,8, 1000 mL

Aparelhagem: cestas, 100 rpm

Tempo: 60 minutos (quando o valor declarado for de 60 mg, utilizar o tempo de 90 minutos)

Solução padrão: transferir, exatamente, 11,2 mg de cloridrato de duloxetine SQR, equivalente a 10 mg de duloxetine para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de tampão fosfato pH 6,8, completar o volume com tampão fosfato pH 6,8 e homogeneizar. Deixar em ultrassom, se necessário. Diluir, em *Fase móvel*, para obter concentração de 10 µg/mL de duloxetine.

Solução amostra: após realização do teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em *Fase móvel*, de modo a obter concentração teórica de 10 µg/mL de duloxetine.

Procedimento: após o teste do *Estágio ácido*, transferir as cestas contendo as amostras para cubas contendo 1000 mL de tampão fosfato pH 6,8 e realizar o teste do *Estágio tampão pH 6,8*. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar a *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de

C₁₈H₂₉NOS dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância:

Estágio ácido: no máximo 10% da quantidade declarada de C₁₈H₁₉NOS se dissolvem em 120 minutos

Estágio tampão pH 6,8: no mínimo 75% (Q) da quantidade declarada de C₁₈H₁₉NOS se dissolvem no tempo especificado.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar o conteúdo de 20 cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de duloxetina para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de pequena quantidade de acetonitrila, e deixar em ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em *Fase móvel*, até obter concentração de 10 µg/mL de duloxetina.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente, é no máximo 0,4% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,2% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,05 vez a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar e pulverizar o conteúdo de 20 cápsulas. Transferir, para um balão volumétrico de 100 mL, quantidade de pó equivalente a 10 mg de duloxetina e adicionar 40 mL de acetonitrila. Deixar em ultrassom por 15 minutos. Completar o volume para 100 mL com acetonitrila. Diluir, com o mesmo solvente, para obter concentração de 20 µg/mL de duloxetina. Preparar *solução padrão* na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm, utilizando acetonitrila para ajuste do zero. Calcular a quantidade de duloxetina (C₁₈H₁₉NOS) nas cápsulas a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 230 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de tampão fosfato monobásico 50 mM pH 6,0, contendo 0,3% (v/v) de trietilamina, e acetonitrila (60:40).

Solução amostra: pesar e pulverizar o conteúdo de 20 cápsulas. Transferir quantidade de pó equivalente a 10 mg de duloxetina para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de pequena quantidade de acetonitrila e deixar em ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em *Fase móvel*, até obter concentração de 10 µg/mL de duloxetina.

Solução padrão: transferir, exatamente, 11,2 mg de cloridrato de duloxetina SQR, equivalente a 10 mg de duloxetina, para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de tampão fosfato pH 6,8, completar o volume com tampão fosfato pH 6,8, solubilizar e homogeneizar. Deixar em ultrassom se necessário. Diluir, em *Fase móvel*, para obter concentração de 10 µg/mL de duloxetina.

A eficiência da coluna para o pico da duloxetina é, no mínimo, 5000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas das replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de duloxetina (C₁₈H₁₉NOS) nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

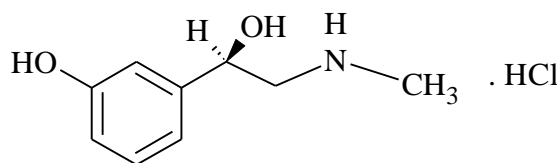
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLORIDRATO DE FENILEFRINA Phenylephrini hydrochloridum



C₉H₁₃NO₂.HCl; 203,65

cloridrato de fenilefrina; 03926

Cloridrato de (1R)-2-metilamino-1-(3-hidroxifenil)etanol

[61-76-7]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de C₉H₁₃NO₂.HCl, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): Entre 140 °C e 145 °C.

Poder rotatório específico (5.2.8): -43° a -47,0°, em relação à substância dessecada. Determinar em solução aquosa a 2% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de fenilefrina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 10 mg da amostra em 1 mL de água e adicionar 50 µL de uma solução de sulfato de cobre a 125 g/L e 1 mL de uma solução de hidróxido de sódio a 200 g/L. Desenvolve-se coloração violeta. Adicionar 1 mL de éter e agitar, a camada superior permanece incolor.

C. Satisfaz as reações do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 2% (p/v) é límpida (5.2.24) e incolor (5.2.12).

Acidez e alcalinidade. Adicionar em 10 mL de uma solução aquosa a 2% (p/v), 0,1 mL de uma solução de vermelho de metila SI e 0,2 mL de hidróxido sódio 0,01 M. A solução desenvolve coloração amarela. No máximo 0,4 mL de ácido clorídrico 0,01 M deve ser gasto para a solução desenvolver coloração vermelha.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 215 nm; coluna de 55 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada ao grupamento octadecilsilano (3 µm), mantida a 45 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Solução tampão pH 2,8: dissolver 3,25 g de octanosulfonato de sódio em 1000 mL de água, e ajustar o pH em 2,8 ± 0,1 com ácido fosfórico SR.

Diluyente: mistura do *Eluente A* e *Eluente B* (80:20).

Eluente A: mistura de acetonitrila e solução tampão pH 2,8 (10:90).

Eluente B: mistura de solução tampão pH 2,8 e acetonitrila (10:90).

Fase móvel: utilizar misturas variáveis dos *Eluentes A* e *B*, conforme indicado a seguir.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 - 3	93	7	Isocrático
3 - 13	93→70	7→30	Gradiente linear
13 - 14	70→93	30→7	Gradiente linear

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 50 mg de cloridrato de fenilefrina para balão volumétrico de 50 mL, dissolver com 30 mL de *Diluyente*, completar o volume com o mesmo diluente e homogeneizar.

Solução padrão: transferir 5 mL da solução amostra para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluyente* e homogeneizar. Transferir 2 mL desta solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com *Diluyente*.

Solução de identificação de pico: dissolver o conteúdo de um frasco de *cloridrato de fenilefrina para identificação de pico* (contendo as impurezas C e E) em 2 mL do *Diluyente*.

Sulfatos (5.3.2.2). Transferir 15 mL de uma solução aquosa a 2% (p/v) para tubo de Nessler. Prosseguir conforme descrito em *Ensaio limite para sulfatos (5.3.2.2)*. No máximo 0,05% (500 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por quatro horas. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Dissolver 0,15 g da amostra em uma mistura de 0,5 mL de ácido clorídrico 0,1 M e 80 mL de álcool etílico a 96%. Titular com hidróxido de sódio etílico 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciometricamente entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 20,37 mg de $C_9H_{13}NO_2.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

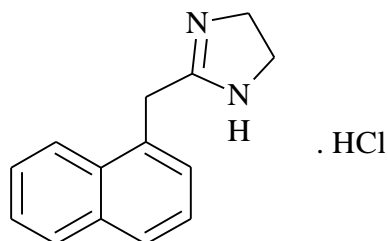
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticolinérgico.

CLORIDRATO DE NAFAZOLINA
Naphazolini hydrochloridum



$C_{14}H_{14}N_2.HCl$; 246,74

cloridrato de nafazolina; 06177

Cloridrato de 2-(naftaleno-1-ilmetil)-4,5-dihidro-1H-imidazol
[550-99-2]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{14}H_{14}N_2.HCl$, em relação à base anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água e solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas

Faixa de fusão (5.2.2). 255 °C a 260 °C, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de nafazolina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 20 µg/mL em metanol, exibe máximo de absorção em 280 nm idêntico ao observado no espectro de solução similar de cloridrato de nafazolina SQR.

C. Satisfaz às reações do íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 6,6. Determinar em solução aquosa a 1,0 % (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica-gel GF₂₅₄, como suporte, e mistura de metanol, ácido acético glacial e água (8:1:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,1 g da amostra em metanol, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): dissolver 5,0 mg de SQR em metanol, completar o volume para 25 mL com o mesmo solvente.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com iodo metálico. Qualquer mancha secundária no cromatograma da *Solução (1)* não é mais intensa que aquela obtida com o cromatograma da *Solução (2)* (2,0%).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por duas horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso (5.3.4.5)*. Dissolver 0,4 g da amostra, previamente dessecada, em 50 mL de mistura de anidrido acético e ácido acético glacial (7:3). Titular com ácido perclórico 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente entre os dois pontos de inflexão. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 24,67 mg de $C_{14}H_{14}N_2.HCl$.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano, mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Solução tampão: em balão volumétrico de 1000 mL dissolver 3,0 g de fosfato de potássio monobásico em 800 mL e água, adicionar 3,0 mL de trietilamina, ajustar pH com ácido fosfórico para 3,0 e completar o volume com água.

Fase móvel: mistura de *Solução tampão* e acetonitrila (80:20).

Solução amostra: transferir 0,2 g de amostra para balão volumétrico de 200,0 mL, dissolver e completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 5,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 100,0 mL, diluir e completar o volume com água e homogeneizar, para obter uma solução de 50 µg/mL de cloridrato de nafazolina.

Solução padrão: obter uma solução de 50 µg/mL de cloridrato de nafazolina SQR em água.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular o teor de $C_{14}H_{14}N_2.HCl$ na amostra a partir das respostas obtidas para a *Soluções padrão* e *Solução amostra*. Injetar replicatas da *Solução padrão*.

O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é no máximo 2,0%. O fator de capacidade, k' , é no mínimo 2,0. Os pratos teóricos do pico não são menores que 1500. O fator de cauda é no máximo 2,0.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

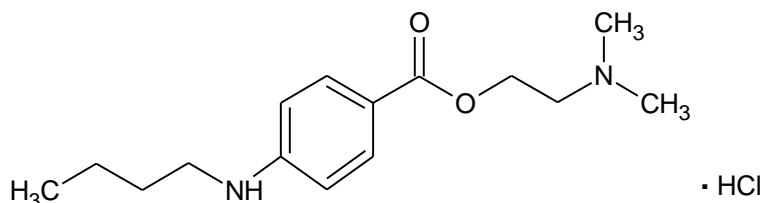
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vasoconstritor.

CLORIDRATO DE TETRACAÍNA Tetracaini hydrochloridum



$C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$; 300,82
cloridrato de tetracaína; 08463
cloridrato de 4-butilaminobenzoato de 2-dimetilaminoetila
[136-47-0]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino branco ou quase branco. Higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em álcool etílico a 96% (v/v).

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): funde em torno de 148 °C. Pode ocorrer o aparecimento de outras duas formas cristalinas, com ponto de fusão 134 °C e 139 °C. A mistura dessas formas funde entre 134 °C e 147 °C.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se foram realizados os testes A., C. e D. O teste de identificação A. pode ser omitido se forem realizados os testes B., C. e D.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no infravermelho (5.2.14)*. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra dispersa em brometo de potássio apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de tetracaína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar, com exatidão, cerca de 50 mg de cloridrato de tetracaína e dissolver em água. Completar o volume para 250 mL com o mesmo solvente. Transferir 5,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 100,0 mL, adicionar 2 mL de *Tampão fosfato pH 6,0*, completar o volume com água e homogeneizar. Realizar o mesmo procedimento para o preparo da *Solução padrão*. As absorvâncias a 310 nm, calculadas nas amostras dessecadas, não diferem entre si em mais de 2,0%.

C. Dissolver 1,0 g de cloridrato de tetracaína em 10 mL de água e adicionar 1 mL de *tiocianato de amônio SR*. Um precipitado cristalino branco é formado. Recrystalizar o precipitado e secar a 80 °C por duas horas. O sólido obtido funde em torno de 131 °C.

D. A solução de 100 mg de cloridrato de tetracaína em 5 mL de água responde às reações de íon cloreto (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação de cloridrato de tetracaína a 10% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono é límpida (5.2.25) e incolor (5.2.12).

pH (5.2.19). 4,5 a 6,5. Determinar em solução a 1% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel GF como suporte, e mistura de clorofórmio, metanol e isopropilamina (98:7:2), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução teste: solução aquosa de cloridrato de tetracaína a 50 mg/mL.

Solução padrão: solução metanólica de ácido 4-(butilamino)benzóico a 0,2 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma por três quartos da altura da placa. Secar a placa sob corrente de ar quente e examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *Solução teste*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que a mancha principal obtida com a *Solução padrão* (0,4%) e a soma das intensidades de todas as manchas secundárias presentes é, no máximo, 0,8%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar solução de cloridrato de tetracaína a 10% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para metais pesados – Método I* utilizando *Solução padrão de chumbo (1 ppm Pb)*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C até peso constante. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Dissolver 250 mg de cloridrato de tetracaína em 50 mL de álcool etílico a 96% (v/v) e adicionar 5,0 mL de ácido clorídrico 0,01 M. Colocar em ultrassom por cerca de dois minutos. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M. Determinar o ponto final potenciométricamente entre os dois pontos de inflexão. Fazer prova em branco e correções, se necessário. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M equivale a 30,08 mg de cloridrato de tetracaína.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados protegidos da luz.

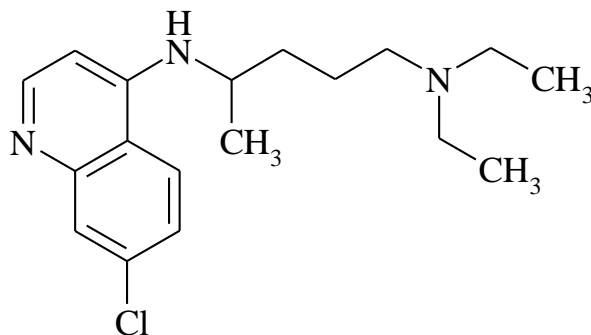
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anestésico local.

CLOROQUINA Chloroquine



C₁₈H₂₆ClN₃; 319,87

cloroquina; 02487

N4-(7-cloroquinolin-4-il)-N1,N1-dietilpentano-1,4-diamina.

[54-05-7]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₁₈H₂₆ClN₃, calculado a partir da base seca.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou branco amarelado.

Solubilidade. Solúvel em ácidos diluídos e muito pouco solúvel em água.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 87 °C a 92 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. Dissolver 25 mg da amostra em 10 mL de água, adicionar 2 mL de hidróxido de sódio 8,5% (p/v) e agitar duas vezes com 20 mL de diclorometano. Coletar as fases orgânicas e lavar com 10 mL água. Secar com sulfato de sódio anidro, evaporar à secura e dissolver o resíduo em 0,5 mL de diclorometano. Para o preparo do padrão, dissolver 40 mg de fosfato de cloroquina SQR em 10 mL de água e seguir o procedimento descrito para o preparo da amostra. O *espectro de absorção no infravermelho (5.2.14)* da solução amostra apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fosfato de cloroquina SQR.

B. O *espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14)*, na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 10 µL/mL em ácido clorídrico 0,001% (v/v), exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de cloroquina SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 343 nm e 329 nm está compreendida entre 1,00 e 1,15.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra em estufa 105 °C, por duas horas. No máximo 2%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso (5.3.3.5)*. Dissolver 250 mg da amostra em 50 mL de ácido acético glacial e adicionar cloreto de metilrosanilínio SI 10 mg/mL em ácido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV. O ponto final também pode ser determinado potenciométricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 15,99 mg de C₁₈H₂₆ClN₃. Fazer prova em branco e correções, se necessário.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

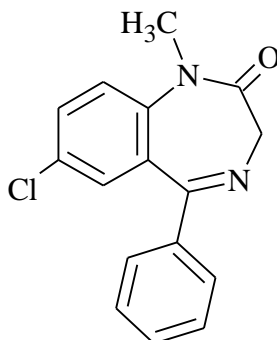
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antimalárico.

DIAZEPAM

Diazepamum



$C_{16}H_{13}ClN_2O$; 284,74

diazepam; 02904

7-cloro-1-metil-5-fenil-1,3-diidro-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona.

[439-14-5]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{16}H_{13}ClN_2O$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água, solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 131 °C a 135 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de diazepam SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de acetato de etila e hexano (1:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver quantidade, exatamente pesada, de amostra em álcool etílico, de modo a obter solução de concentração 1 mg/mL.

Solução (2): dissolver quantidade, exatamente pesada, de diazepam SQR em álcool etílico, de modo a obter solução de concentração 1 mg/mL.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder ao abrigo da luz, conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm) capeada, mantida à 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico 0,025 M (pH 5,0, ajustado com hidróxido de sódio SR), metanol e acetonitrila (44:34:22).

Solução (1): dissolver, quantitativamente, cerca de 25 mg de amostra em 0,5 mL de acetonitrila e diluir para 50 mL com *Fase móvel*.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)*, diluir para 100 mL com *Fase móvel* e homogeneizar. Diluir 1 mL dessa solução para 10 mL com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução de resolução: dissolver o conteúdo de um frasco de *diazepam para adequabilidade do sistema* (contendo as impurezas A (7-cloro-5-fenil-1,3-diidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona (nordazepam)), B (2-cloro-N-(4-cloro-2-benzoilfenil)-N-metilacetamida) e E (6-cloro-1-metil-4-fenilquinazolin-2-(1H)-ona)) para 1 mL com *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. Considerando o pico referente ao diazepam com tempo de retenção de cerca de nove minutos, os tempos de retenção relativos são cerca de 0,7 para impureza E, 0,8 para impureza A e 1,3 para impureza B. O teste somente é válido se o cromatograma apresenta resolução entre os picos das impurezas E e A de, no mínimo, 2,5 e entre os picos da impureza A e diazepam de, no mínimo, 6,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Solução (1)* e *Solução (2)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o quádruplo do tempo de retenção do pico principal e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza relatada. Utilizar 1,3 como fator de correção para o cálculo das impurezas B e E. As áreas correspondentes as impurezas A, B, E obtidas com a *Solução (1)*, são, no máximo, iguais a área do pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). A área de nenhum pico secundário obtido com a *Solução (1)*, exceto a do pico do solvente, é maior que a área do pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). A soma de todas as áreas dos picos secundários obtidos com a *Solução (1)*, exceto a do pico do solvente, não é maior que duas vezes a área do pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%). Não considerar picos com áreas obtidas com a *Solução (1)* menores que 0,5 vez a área do pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob vácuo, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso (5.3.3.5)*. Dissolver 0,2 g da amostra em 50 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 28,47 mg de C₁₆H₁₃ClN₂O.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar ao abrigo de luz.

ROTULAGEM

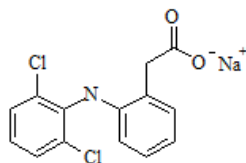
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Benzodiazepínico.

DICLOFENACO SÓDICO

Diclofenacum natriicum



C₁₄H₁₀Cl₂NNaO₂; 318,13

diclofenaco sódico; 02930

2-[2-(2,6-dicloroanilino)fenil]acetato de sódio

[15307-79-6]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de C₁₄H₁₀Cl₂NNaO₂, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco. Higroscópico.

Solubilidade. Facilmente solúvel em metanol, solúvel em álcool etílico e ligeiramente solúvel em água.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de diclofenaco sódico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver 10 mg da amostra em 10 mL de etanol R. A 1 mL da solução obtida adicionar 0,2 mL de uma solução previamente preparada contendo quantidades iguais de ferricianeto de potássio 0,6% e cloreto férrico 0,9%. Manter em repouso e protegido da luz por cinco minutos. Adicionar 3 mL de uma solução de ácido clorídrico 1,0% e manter em repouso e protegido da luz por mais 15 minutos. Surge cor azul e formação de precipitado.

C. A solução obtida em *Aspecto da solução* a 5% (p/v) responde às reações de íon sódio (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Realizar preparação a 5% (p/v) em metanol R. A preparação obtida é límpida (5.2.25) e a absorvidade (5.2.14) em 440 nm é, no máximo, 0,05.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm); mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 2,5: misturar volumes iguais de ácido fosfórico 0,01 M e fosfato de sódio monobásico 0,01 M. Se necessário ajustar o pH para $2,5 \pm 0,2$ com componente apropriado.

Fase móvel: mistura de metanol e tampão fosfato pH 2,5 (70:30), filtrada e desgaseificada.

Solução diluente: mistura de metanol e água (70:30).

Solução padrão: preparar solução a 0,75 mg/mL de diclofenaco impureza A SQR em metanol. Diluir quantidade adequada dessa solução em *Solução diluente* de modo a obter solução a 1,5 µg/mL.

Solução resolução: preparar uma solução em *Solução diluente* contendo 20 µg de dietiltalato, 7,5 µg diclofenaco impureza A SQR e 0,75 mg de diclofenaco SQR por mL.

Solução amostra: preparar solução a 0,75 mg/mL de diclofenaco sódico em *Solução diluente*.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*. Registrar todos os cromatogramas por um período correspondente a 2,5 vezes o tempo de retenção de diclofenaco SQR. Calcular a porcentagem de diclofenaco impureza A SQR em relação à diclofenaco sódico, por meio da seguinte fórmula:

$$10(C/W)(r_u/r_s)$$

em que *C* é a concentração em µg/mL de diclofenaco impureza A SQR na *Solução padrão*; *W* é a quantidade em mg de diclofenaco sódico na *Solução amostra*; e *r_u* e *r_s* são as respostas obtidas para os picos de diclofenaco impureza A SQR na *Solução amostra* e na *Solução padrão*, respectivamente. A porcentagem encontrada é, no máximo, 0,2%. Calcular a porcentagem para qualquer outra impureza presente por meio da seguinte fórmula:

$$10^{(C/W)(r_i/r_s)}$$

Em que r_i é a resposta obtida para a impureza na *Solução amostra* e os demais termos são os mesmos descritos anteriormente. A porcentagem encontrada é, no máximo, 0,2%. O somatório de todas as porcentagens obtidas é, no máximo, 0,5%.

pH (5.2.19) 7,0 a 8,5. Determinar em solução a 1% (p/v).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar a 105°C por três horas. No máximo 0,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Pesar, com exatidão, cerca de 250 mg da amostra dessecada e dissolver em 50 mL de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 M e determinar o ponto final potenciometricamente. Fazer prova em branco e correções, se necessário. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M equivale a 31,81 mg de diclofenaco sódico.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

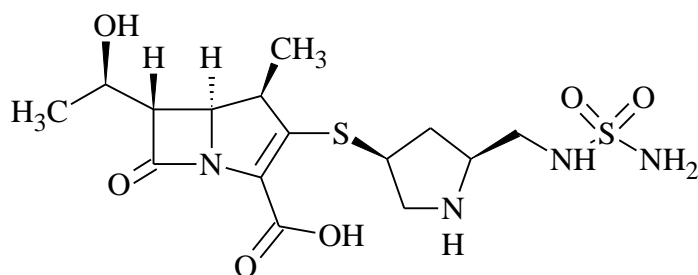
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

DORIPENEM Doripenemum



C₁₅H₂₄N₄O₆S₂; 420,51
doripenem; 03197

Ácido (+)-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-1-hidroxietil]-4-metil-7-oxo-3-[[3*S*,5*S*]-5-[(sulfamoilamino)metil]-3-pirrolidil-tio]-1-azabicyclo[3.2.0]hepta-2-eno-2-carboxílico
[148016-81-3]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% C₁₅H₂₄N₄O₆S₂, em relação a substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a ligeiramente amarelado.

Solubilidade. Pouco solúvel em água e metanol, praticamente insolúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste C. O teste de identificação C. pode ser omitido se for realizado o teste B.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada a 110 °C por quatro horas, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de doripenem SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 220 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em água, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de doripenem SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 100 mg de amostra para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente é, no máximo, 1,0% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,5% da área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar a 110 °C por quatro horas. Entre 3,0% a 5,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração por membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,125 UE/mg de doripenem.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar (5.5.3.3.1)*, utilizando cilindros.

Micro-organismo: Staphylococcus epidermidis ATCC 12228.

Meios de cultura: meio de cultura número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo; meio de cultura número 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de água. Deixar em ultrassom por 10 minutos, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir para obter concentrações de 1,0 µg/mL, 2,0 µg/mL e 4,0 µg/mL, utilizando água estéril, como diluente.

Solução padrão: pesar, exatamente, o equivalente a 10 mg de doripenem SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de água. Deixar em ultrassom por 10 minutos, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir para obter concentrações de 1,0 µg/mL, 2,0 µg/mL e 4,0 µg/mL, utilizando água, estéril, como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 2% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar (5.5.3.3.1)*, utilizando cilindros, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de doripenem por miligrama, a partir da potência do padrão e das soluções obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 298 nm, coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida a 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico 10M, pH 7,0, previamente ajustado com ácido fosfórico 10% (v/v) ou hidróxido de sódio M e acetonitrila. (96:4)

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 100 mg de amostra para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de doripenem SQR em água e diluir adequadamente de modo a obter solução a 20 µg/mL.

A eficiência da coluna para o pico do doripenem é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de C₁₅H₂₄N₄O₆S₂ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução Amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

DORIPENEM PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de C₁₅H₂₄N₄O₆S₂.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste C.

O teste de identificação C. pode ser omitido se for realizado o teste B.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada a 110 °C por quatro horas, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de doripenem SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 220 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em água, exhibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de doripenem SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste. Determinar no frasco do diluente.

pH (5.2.19). 4,5 a 5,5. Determinar após reconstituição da amostra com o diluente.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 100 mg de amostra para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente é, no máximo, 1,0% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,5% da área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar a 110 °C por quatro horas. Entre 3,0% a 5,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração por membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,125 UE/mg de doripenem.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar (5.5.3.3.1)*, utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Meios de cultura: meio de cultura número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo; meio de cultura número 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: misturar os conteúdos de 10 unidades. Transferir quantidade do pó equivalente a 25 mg da doripenem para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de água. Deixar em ultrassom por 10 minutos, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, até concentrações de 4,0 µg/mL, 2,0 µg/mL e 1,0 µg/mL, utilizando água, *estéril*, como diluente.

Solução padrão: pesar, exatamente, o equivalente a 10 mg de doripenem SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de 70 mL de água. Deixar em ultrassom por 10 minutos, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, até concentrações de 4,0 µg/mL, 2,0 µg/mL e 1,0 µg/mL, utilizando água estéril, como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 2% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar (5.5.3.3.1)*, utilizando cilindros, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de doripenem por miligrama, a partir da potência do padrão e das soluções obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 298 nm, coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida a 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico 10 mM pH 7,0, previamente ajustado com ácido fosfórico 10% (v/v) ou hidróxido de sódio *M*, e acetonitrila. (96:4)

Solução amostra: misturar os conteúdos de 10 unidades. Transferir quantidade do pó equivalente a 100 mg da doripenem para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de doripenem SQR em água e diluir adequadamente de modo a obter solução a 20 µg/mL.

A eficiência da coluna para o pico do doripenem é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de C₁₅H₂₄N₄O₆S₂ no pó para solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução Amostra*.

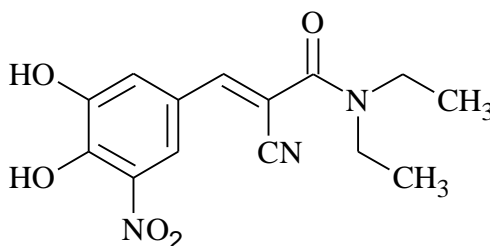
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

ENTACAPONA Entacaponum



C₁₄H₁₅N₃O₅; 305,29
entacaponam; 03415

(2E) -2-ciano-3-(3,4-di-hidroxi-5-nitrofenil)-N, N-dietilprop-2-enamida
[130929-57-6]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₁₄H₁₅N₃O₅, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó amarelo-esverdeado ou amarelo. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em metanol, pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste C. O teste de identificação C. pode ser omitido se for realizado o teste B.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de entacapona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 220 nm a 400 nm, da *Solução amostra* obtida no método A. de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da *Solução padrão*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método B. de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método B. de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 50 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com metanol de modo a obter concentração de 20 µg/mL de entacapona.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente é, no máximo, 0,2% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,15% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,05 vez a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Dissolver 1g da amostra em mistura de dimetilformamida e metanol (25:75 v/v). Preparar a solução de referência, utilizando 1 mL de solução padrão de chumbo (10 ppm de Pb) em mistura de dimetilformamida e metanol (25:75 v/v). Após a filtração, lavar o filtro com pelo menos 20 mL de metanol. Proceder conforme descrito em *Método II*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar, com exatidão, cerca de 100 mg da amostra e dissolver em acetonitrila. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar *Solução padrão* na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 305 nm, utilizando acetonitrila para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ na amostra, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 305 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água pH 3,0, previamente ajustado com ácido fosfórico 10% (v/v), e acetonitrila (65:35).

Solução amostra: dissolver quantidade, exatamente pesada, de amostra em metanol de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar, obtendo solução a 20 µg/mL

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de entacapona SQR em metanol de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com metanol e homogeneizar, obtendo solução a 20 µg/mL

Injetar replicatas de 20 µL da *solução padrão*. A eficiência da coluna para o pico da entacapona não é menor que 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Inibidor da catecol-*o*-metiltransferase (COMT).

ENTACAPONA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de C₁₄H₁₅N₃O₅. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação A. pode ser omitido se for realizado o teste B.

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste A.

A. O espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 220 nm a 400 nm, da *Solução amostra* obtida no método **A.** de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da *Solução padrão*.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (**5.2.17.1**), utilizando sílica-gel GF254, como suporte, e mistura de isobutanol, metanol, água e ácido fórmico anidro (667:95:95:143), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Sonicar, por 15 minutos, quantidade do pó equivalente a 10 mg de entacapona com 10 mL de metanol. Filtrar a solução.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de entacapona SQR em metanol, sonicada por 15 minutos.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Meio de dissolução: Tampão acetato pH 5,3, 900 mL

Aparelhagem: pás, 50 rpm

Tempo: 30 minutos

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 11 mg de entacapona SQR para balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 5 mL de metanol, deixar em ultrassom por 30 minutos e completar o volume com solução tampão acetato pH 5,3. Diluir com metanol de modo a obter concentração em torno de 44 µg/mL de entacapona.

Solução amostra: após realização do teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em metanol, de modo a obter concentração de 44 µg/mL de entacapona, supondo 100% de dissolução para o fármaco.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de C₁₄H₁₅N₃O₅ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de C₁₄H₁₅N₃O₅ se dissolvem em 30 minutos.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de entacapona para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 60 mL de metanol. Deixar em ultrassom, à temperatura ambiente, por 15 minutos, agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com metanol e homogeneizar. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar de modo a obter concentração de 20 µg/mL de entacapona.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos, à exceção dos provenientes de componentes do placebo e do solvente. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente e dos componentes do placebo, são, no máximo, 0,2% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,1% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,03 vezes a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente, bem como os picos relativos aos excipientes, os quais podem ser monitorados pelo preparo de uma solução amostra do placebo, com o mesmo procedimento da solução amostra do produto.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 100 mg de entacapona para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 60 mL de acetonitrila. Deixar em ultrassom, à temperatura ambiente, por 15 minutos, agitar mecanicamente por 15 minutos, completar o volume com

acetonitrila, homogeneizar e filtrar. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,001% (p/v). Preparar *Solução padrão* na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 305 nm, utilizando acetonitrila para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 305 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 μ m), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água pH 3,0, previamente ajustado com ácido fosfórico 10% (v/v), e acetonitrila (65:35).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de entacopona para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 60 mL de metanol. Deixar em ultrassom, à temperatura ambiente, por 15 minutos, agitar mecanicamente por 15 minutos e completar o volume com metanol. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com metanol de modo a obter concentração de 20 μ g/mL de entacopona.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de entacopona SQR em metanol de modo a obter solução a 0,5 mg/mL. Transferir 2 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com metanol, obtendo solução a 20 μ g/mL.

A eficiência da coluna para o pico da entacopona é, no mínimo, 10000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μ L da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{14}H_{15}N_3O_5$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

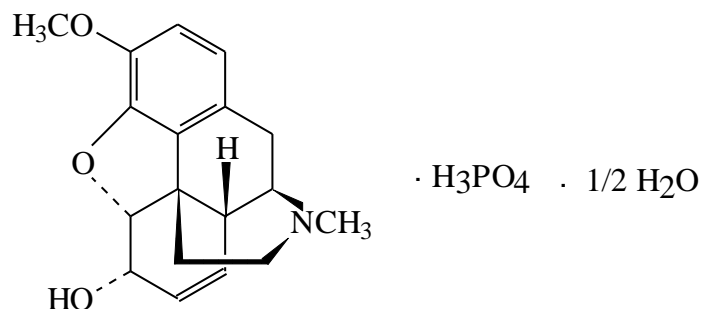
14.4 TAMPÕES

Tampão acetato 0,05 M pH 5,3

Preparação – Transferir 5,61 g de acetato de sódio triidratado e 4,4 mL de ácido acético 2 M para balão volumétrico de 1000 mL. Dissolver em água e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Ajustar o pH em 5,3, se necessário, com ácido acético 0,1 M ou hidróxido de sódio 0,1 M.

FOSFATO DE CODEÍNA

Codeini phosphas



$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$; 406,37

fosfato de codeína hemi-hidratado; 10802

Fosfato de (5 α ,6 α)-7,8-didehidro-4,5-epoxi-3-metoxi-17-metilmorfinan-6-ol.

[41444-62-6]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,5% de $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{H}_3\text{PO}_4$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel na água e pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas

Poder rotatório específico (5.2.8): -98° a -102°, em relação à substância dessecada. Determinar em solução aquosa a 2% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação A. poderá ser omitido se forem realizados os testes B., C. e D. Os testes de identificação B. e D. podem ser omitidos se forem realizados os testes A. e C.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de fosfato de codeína SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Diluir 25 mL de uma solução da amostra a 0,04% (p/v) em água, para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 10 mL de hidróxido de sódio *M* e completar o volume com água. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 250 nm a 350 nm, exibe máximo em 284 nm. A absorvância em 284 nm é de, aproximadamente, 0,38.

C. Responde às reações de fosfato (5.3.1.1).

D. Responde às reações de alcaloides (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 5,0. Determinar em solução aquosa a 4% (p/v).

Acidez. Dissolver 0,1 g da amostra em 20 mL de água e titular com hidróxido de sódio 0,01 M SV até pH 5,4, determinado com auxílio do potenciômetro. No máximo, 1 mL de hidróxido de sódio 0,01 M SV é requerido para promover a mudança do pH.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de etanol absoluto, cicloexano e hidróxido de amônio (72:30:6), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 40 mg/mL da amostra em álcool etílico absoluto.

Solução (2): diluir 2 mL da *Solução (1)*, para 100 mL com álcool etílico absoluto.

Solução (3): diluir 1 mL da *Solução (1)*, para 100 mL com álcool etílico absoluto.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar na câmara de revelação. Pulverizar a placa com uma solução de 3 mL de ácido cloroplátinico a 10% (v/v), 97 mL de água e 100 mL de iodeto de potássio a 6% (p/v). Examinar a placa. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *solução (2)* (2%) e nenhuma outra mancha tem Rf superior ao da *Solução (3)* (1%).

Limite de morfina. Dissolver 0,05 g de ferrocianeto de potássio em 10 mL de água e adicionar 1 gota de cloreto férrico SR e 1 mL da solução amostra a 1% (p/v) em água. Não produz coloração azul imediatamente.

Cloretos. Acidificar 10 mL da solução amostra a 1% (p/v), em água, com ácido nítrico e adicionar algumas gotas de nitrato de prata 0,1 M. Nenhuma opalescência é produzida de imediato.

Sulfatos. A 10 mL da solução amostra a 1% (p/v) em água, adicionar algumas gotas de cloreto de bário a 12% (p/v). Nenhuma turbidez é produzida imediatamente.

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,5 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C até peso constante. No mínimo, 1,5% e no máximo 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso (5.3.4.5)*. Dissolver 0,35 g da amostra previamente dessecada em 10 mL de anidrido acético e 20 mL de dioxano. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV, utilizando 0,05 mL de cloreto de metilrosanilínio SI como indicador. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 39,737 mg de C₁₈H₂₁NO₃.H₃PO₄.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

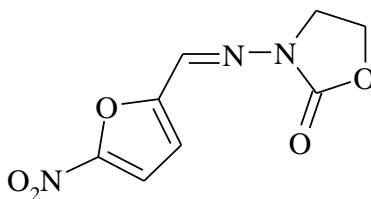
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agonista dos receptores opióides; analgésico.

FURAZOLIDONA Furazolidonum



C₈H₇N₃O₅; 225,16

furazolidona; 04343

3-[[[(5-nitro-2-furanyl)-metileno]amino]-2-oxazolidona
[67-45-8]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de C₈H₇N₃O₅, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino amarelo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de furazolidona SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em água, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de furazolidona SQR.

C. Adicionar, aproximadamente, 50 mg da amostra em 10 mL de uma mistura recém preparada de dimetilformamida e hidróxido de potássio etílico 0,5 M (90:10). A solução desenvolve coloração púrpura, passando para coloração azul intensa imediatamente. Após 10 minutos desenvolve coloração púrpura novamente.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa a 100 °C por uma hora. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,25%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Transferir, com exatidão, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 250 mL, dissolver em dimetilformamida e completar o volume com o mesmo solvente. Transferir 5 mL para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 367 nm, utilizando mistura de dimetilformamida e água (1:50) para ajuste do zero. Calcular o teor de C₈H₇N₃O₅ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

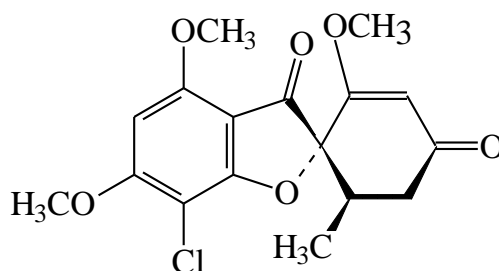
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiprotozoário e antibacteriano.

GRISEOFULVINA Griseofulvinum



C₁₇H₁₇ClO₆; 352,77
griseofulvina; 04536

Spiro[benzofuran-[2](3*H*), 1'-2ciclohexeno]-3,4'-diona, 7-cloro-2,4,6-trimetoxi-6'-metil-, (1'*S-trans*)-7-cloro-2',4,6-trimetoxi-6β'-metilspiro(benzofuran-2(3*H*), 1'-[2]ciclohexeno)-3,4'diona [126-07-8]

Apresenta potência de, no mínimo, 900 µg de C₁₇H₁₇ClO₆ por miligrama.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas

Faixa de fusão (5.2.2): 217 °C a 224 °C.

Poder rotatório específico (5.2.8): +348° a +364°. Determinar em solução a 1,0% (p/v) em dimetilformamida.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de griseofulvina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método A de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 0,1 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C. No máximo 1,0%.

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Métodos de reação com tioacetamida, Método III*. No máximo 0,0025% (25 ppm).

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6

mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), fluxo da *Fase móvel* de 1,6 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (60:40).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg da amostra para balão volumétrico de 25 mL, dissolver utilizando 15 mL de metanol, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir, dessa solução, 2 mL para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar, de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade exatamente pesada de griseofulvina SQR em *Fase móvel* de modo a obter solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área sob os picos. Calcular a quantidade de C₁₇H₁₇ClO₆ na amostra a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Transferir, quantitativamente, cerca de 0,08 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL, dissolver, completar o volume com álcool etílico e homogeneizar. Diluir, com o mesmo solvente, para obter concentração de 0,008% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 290 nm, utilizando álcool etílico para ajuste do zero. Calcular o teor de C₁₇H₁₇ClO₆ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antifúngico.

HIDRÓXIDO DE SÓDIO Natrii hydroxidum

NaOH; 40,00
hidróxido de sódio; 04699
Hidróxido de sódio
[1310-73-2]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 100,5% de NaOH.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Massa cristalina branca a quase branca, fornecida como esferas, escamas ou outras formas, deliquescente, absorve dióxido de carbono prontamente.

Solubilidade. Muito solúvel em água, facilmente solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

A solução da amostra a 5% (p/v) responde às reações do íon sódio (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Transferir 5 g da amostra, exatamente pesada, para um balão volumétrico de 50 mL. Diluir com água, completar o volume e homogeneizar. A preparação aquosa a 10% (p/v) é límpida (5.2.25) e incolor (5.2.12).

pH (5.2.19). Mínimo de 11,0. Determinar em solução aquosa a 0,01% (p/v).

Carbonatos. Determinar conforme descrito em *Doseamento*. No máximo 2% considerando o cálculo para Na₂CO₃.

Potássio. Acidificar 5 mL de uma solução a 5% (p/v) com ácido acético 6 M e adicionar cinco gotas de cobaltinitrito de sódio SR. Nenhum precipitado é formado.

Metais pesados (5.3.2.3). Pesar 1 g da amostra, solubilizar em 20 mL de água e acrescentar 8 mL de ácido clorídrico 3 M. Utilizar o *Método I*. No máximo 0,002% (20 ppm).

DOSEAMENTO

Dissolver 2 g da amostra, exatamente pesada, em 80 mL de água isenta de dióxido de carbono. Adicionar 0,3 mL de fenolftaleína SI e titular com ácido clorídrico M SV. Adicionar 0,3 mL de solução de alaranjado de metila SI e continuar a titulação com ácido clorídrico M SV. Cada mL de ácido clorídrico M SV utilizado na segunda parte da titulação é equivalente a 0,1060 g de Na₂CO₃, e cada mL do ácido clorídrico M SV utilizado na titulação total é equivalente a 40,00 mg do total de álcali, calculado como NaOH.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes não metálicos e bem fechados.

ROTULAGEM

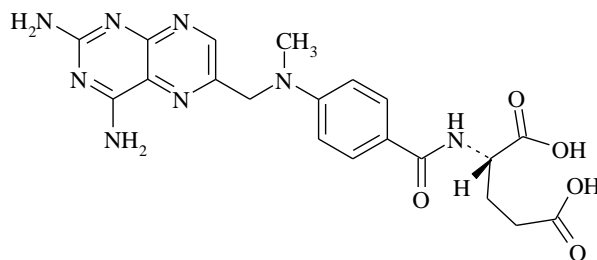
Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Agente alcalinizante.

METOTREXATO

Methotrexatum



$C_{20}H_{22}N_8O_5$; 454,44

metotrexato; 05884

Ácido *N*-[4-[[2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-*L*-glutâmico
[59-05-2]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{20}H_{22}N_8O_5$, em relação à base anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino alaranjado ou amarelo, higroscópico.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e álcool etílico. Facilmente solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos e carbonatos, pouco solúvel em solução de ácido clorídrico 6 *M*.

Constantes físico-químicas.

Poder rotatório específico (5.2.8): +19,0° a +24,0°, em relação à substância anidra. Determinar em solução a 10 mg/mL em carbonato de sódio 0,05 *M* usando tubo de 2,0 dm.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de metotrexato SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução da amostra a 0,001% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 *M* exibe máximos e mínimos de absorção idênticos aos observados no espectro de metotrexato SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). Determinar segundo *Método direto* em 0,1 g de amostra. No máximo 12%.

Metais pesados (5.3.2.3). Determinar em 1,0 g da amostra. Proceder conforme descrito a seguir.

Preparação amostra: transferir amostra para cadinho de sílica e misturar com 4 mL de solução de sulfato de magnésio a 25% (p/v) em ácido sulfúrico a 5,5% (v/v). Aquecer cuidadosamente. Se a mistura é líquida, evaporar até *secura* em banho-maria. Aquecer progressivamente para incinerar em temperatura de, no máximo, 800 °C até obter resíduo branco ou cinzento. Resfriar e umedecer o

resíduo com algumas gotas de ácido sulfúrico diluído 5,5% (v/v). Evaporar, incinerar e resfriar. O período total de incineração deve ser, no máximo, de duas horas. Dissolver o resíduo obtido com duas vezes 5 mL de ácido clorídrico 0,2 M, acrescentar 0,1 mL de fenolftaleína SI. Adicionar solução concentrada de amônia até que se desenvolva cor rósea. Deixar esfriar e descorar a solução com ácido acético glacial. Acrescentar 0,5 mL do ácido em excesso, filtrar, se necessário, e diluir a solução com água para volume de 20 mL.

Preparação padrão: preparar conforme descrito para a *Preparação amostra*, utilizando 5 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm de Pb)* ao invés da amostra. A 10 mL de solução obtida, adicione 2 mL de *Preparação amostra*.

Preparação de monitoramento: preparar conforme descrito para a *Preparação amostra*, adicionando à substância a ser examinada 5 mL de *Solução padrão de chumbo (10 ppm de Pb)*. A 10 mL da preparação obtida, adicione 2 mL de *Preparação amostra*.

Solução branco: mistura de 10 mL de água e 2 mL de *Preparação amostra*.

Procedimento: transferir 12 mL de cada solução obtida para tubo de Nessler, adicionar 2 mL de *Tampão acetato pH 3,5* e homogeneizar imediatamente. Em cada um dos tubos adicionar 1,2 mL de *Reagente de tioacetamida* e homogeneizar. A cor marrom na *Preparação amostra* não deve ser mais intensa do que na *Preparação padrão*. Na *Preparação padrão* deve existir coloração marrom claro quando comparada à *Solução branco*. A *Preparação de monitoramento* apresenta coloração no mínimo tão intensa quanto a *Preparação padrão*. No máximo 0,005% (50 ppm).

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%.

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Doseamento*. Preparar a *Solução padrão* e *Solução teste* como descrito a seguir:

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de metotrexato SQR em *Fase móvel* de modo a obter uma solução a 5,0 µg/mL.

Solução teste: transferir 0,1 g, exatamente pesada, da amostra para balão volumétrico de 100 mL e diluir com *Fase móvel* até completar o volume e homogeneizar.

Procedimento: Injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução teste* e desenvolver a cromatografia para a *Solução teste* durante no máximo três vezes o tempo de retenção de metotrexato. Registrar os cromatogramas e medir as respostas dos picos. A soma das respostas dos picos, exceto a do metotrexato obtido na *Solução teste*, é inferior a quatro vezes a resposta do pico principal da *Solução padrão* (2,0%) e nenhum pico é maior que o pico obtido com a *Solução padrão* (0,5%).

Pureza enantiomérica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 302 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada a albumina bovina (espessura de 7 µm e diâmetro dos poros de 30 nm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da fase móvel de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: misturar 500 mL de solução de fosfato de sódio dibásico anidro, a 0,71% (p/v) e 600 mL de solução de fosfato de sódio monobásico a 0,69% (p/v). Ajustar o pH para 6,9 com hidróxido de sódio 2 M. Misturar 920 mL dessa solução com 80 mL de álcool isopropílico.

Solução (1): dissolver, quantitativamente, cerca de 20 mg da amostra em *Fase móvel* e completar a 100 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com a *Fase móvel*.

Solução de resolução: dissolver, quantitativamente, cerca de 4 mg de (RS)-metotrexato em *Fase móvel* e completar a 100 mL com o mesmo solvente.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução de resolução*. A resolução entre o pico do (S)-metotrexato e do (R)-metotrexato é, no mínimo, 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Solução (1)* e *Solução (2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O teor de (R)-metotrexato na *Solução (1)* em comparação com metotrexato contido na *Solução (2)* não é maior que 3,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 302 nm, coluna cromatográfica de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Tampão fosfato pH 6,0: preparar solução de fosfato de sódio dibásico 0,2 M e ácido cítrico anidro 0,1 M (63:37). Ajustar para pH 6,0, se necessário, com ácido cítrico anidro 0,1 M ou fosfato dibásico de sódio 0,2 M.

Fase móvel: preparar mistura de *Tampão fosfato pH 6,0* com acetonitrila (90:10). Desgaseificar e filtrar. Fazer ajustes se necessário.

Solução padrão: diluir quantidade exatamente pesada de metotrexato SQR em *Fase móvel* para obter uma solução de concentração conhecida de 0,1 mg/mL.

Solução amostra: transferir 25 mg da amostra, exatamente pesada, para um balão volumétrico de 250 mL. Diluir com *Fase móvel* até completar o volume e homogeneizar.

Solução de resolução: preparar uma solução de 0,1 mg/mL de metotrexato SQR e 0,1 mg/mL de ácido fólico em *Fase móvel*.

Injetar replicatas de 10 µL da *Solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são 0,35 para ácido fólico e 1,0 para metotrexato. A resolução entre os picos de ácido fólico e metotrexato é, no máximo, 8,0. Injetar replicatas de 10 µL da *Solução padrão*. O desvio padrão relativo não deve ser superior a 2,5% para metotrexato.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a o teor de C₂₀H₂₂N₈O₅ na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

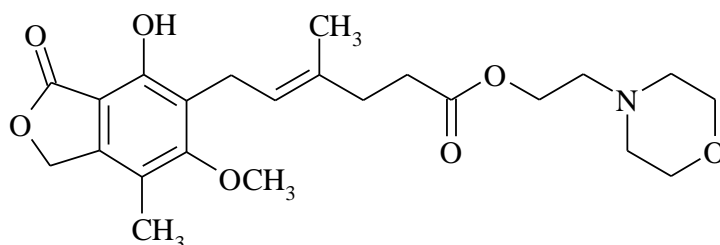
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antineoplásico.

MICOFENOLATO DE MOFETILA Mycophenolas mofetil



$C_{23}H_{31}NO_7$; 433,49

micofenolato de mofetila; 00290

2-(morfolin-4-il)etil (4E)-6-(4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato.

[128794-94-5]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de ($C_{23}H_{31}NO_7$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e ligeiramente solúvel em álcool etílico anidro.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão (5.2.2): entre 93 °C e 94 °C.

IDENTIFICAÇÃO

O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de micofenolato de mofetila SQR, preparado de maneira idêntica.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 0,10 g da amostra em álcool etílico e diluir para 10 mL utilizando o mesmo solvente. A preparação é límpida (5.2.25) e incolor (5.2.12).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 250 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida a 45 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto. Preparar as soluções imediatamente antes do uso ou conservar entre 4 °C e 8 °C. Proteger as soluções da luz. Manter o amostrador do cromatógrafo à temperatura de 10 °C e conservar as soluções para injeção a essa temperatura durante 15 minutos antes de injetar.

Solução de trietilamina: transferir 3 mL de trietilamina para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Ajustar o pH para 5,3 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura da *Solução de trietilamina* e acetonitrila (65:35).

Solução (1): dissolver 20 mg da amostra em acetonitrila, diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 100 mL com acetonitrila. Diluir 1 mL da solução resultante para 10 mL com acetonitrila e homogeneizar. *Solução (3):* dissolver 5 mg de micofenolato de mofetila para identificação dos picos SQR contendo as impurezas A (2-(morfolin-4-il)etil(4E)-6-(4,6-diidroxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato), B (2-(morfolin-4-il)etil(4E)-6-[(1RS)-4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-1-[2-(morfolin-4-il)etoxi]-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il]-4-metilhex-4-enoato), D (2-(morfolin-4-il)etil(4E)-6-(4,6-dimetoxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato), E (metil(4E)-6-(4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato), F (ácido(4E)-6-(4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoico ou ácido micofenólico), G (2-(morfolin-4-il)etil(4E)-6-(4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-1,3-diidroisobenzofuran-5-il)-4-metilhex-4-enoato N-óxido) e H (7-hidroxi-5-metoxi-4-metil-6-[2-[(2RS)-2-metil-5-oxotetrahidrofuran-2-il]etil]isobenzofuran-1(3H)-ona) em acetonitrila e diluir para 2,5 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções (1), (2) e (3)* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, três vezes o tempo de retenção do pico principal. Os tempos de retenção relativos ao pico do micofenolato de mofetila (pico principal) são cerca de 0,3 para impureza F, 0,4 para impureza A, 0,5 para impureza H, 0,6 para impureza G, 0,8 para impureza B, 1,2 para impureza D e 1,6 para impureza E. O teste somente será válido se o cromatograma obtido com a *Solução (3)* apresentar resolução de, no mínimo, 2,0 entre os picos da impureza A e da impureza H. Para o cálculo do teor da impureza B, multiplicar a área sob o pico por 2,1. A área sob o pico da impureza F obtido com a *Solução (1)* é, no máximo, cinco vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,5%); a área sob o pico da impureza B obtido com a *Solução (1)* é, no máximo, duas vezes a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,2%) e as áreas sob os picos das impurezas A, D, E, G e H obtidos com a *Solução (1)* são, no máximo, iguais a área sob o pico principal obtido com a *Solução (2)* (0,1%). Para qualquer outra impureza, a área sob o pico da impureza obtido com a *Solução (1)* é, no máximo, igual à área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,1%). O total de impurezas é, no máximo, sete vezes a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,7%). O limite de exclusão é de 0,5 vez a área sob o pico principal do cromatograma obtido com a *Solução (2)* (0,05%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Dissolver 0,400 g da amostra em 50 mL de ácido acético anidro e titular com ácido perclórico 0,1 M SV, determinar o ponto final potenciométricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 43,350 mg de C₂₃H₃₁NO₇.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Imunossupressor.

MICOFENOLATO DE SÓDIO COMPRIMIDOS

Os comprimidos com revestimento entérico devem conter, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de ácido micofenólico (C₁₇H₂₀O₆).

IDENTIFICAÇÃO

A. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

B. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 100 mg de micofenolato de sódio com 10 mL de água. Filtrar. Responde ao teste 1 do íon sódio (5.3.1.1).

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Estágio 1

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1M e hidróxido de sódio 0,1M

Aparelhagem: pás, 50 rpm

Tempo: 120 minutos

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Medir as absorvâncias em 250 nm (5.2.14), utilizando ácido clorídrico 0,1 M para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de C₁₇H₂₀O₆ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da *Solução de ácido micofenólico padrão (1)*, preparada conforme descrito a seguir.

Solução de ácido micofenólico padrão (1): pesar, com exatidão, cerca de 11,25 mg de ácido micofenólico SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver e completar o volume com metanol. Diluir, com ácido clorídrico 0,1 M até concentração de 0,0018% (p/v).

Tolerância: no máximo, 2% da quantidade declarada de C₁₇H₂₀O₆ se dissolvem em 120 minutos.

Estágio 2

Após a retirada da alíquota da *Etapa 1*, adicionar 250 mL de *Tampão fosfato de sódio tribásico 0,2 M*, preparado conforme descrito a seguir, e ajustar o pH em cada cuba para 6,8 utilizando hidróxido de sódio 0,1 M ou ácido clorídrico 0,1 M. Prosseguir com a dissolução por 45 minutos.

Tampão fosfato de sódio tribásico 0,2 M: dissolver 76,02 g de fosfato de sódio tribásico dodecaidratado em 1000 mL de água.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução e filtrar. Medir as absorvâncias em 250 nm (5.2.14), utilizando mistura de ácido clorídrico 0,1 M e *Tampão fosfato de sódio tribásico 0,2 M* (3:1) para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de C₁₇H₂₀O₆ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da *Solução de ácido micofenólico padrão (2)*, preparada conforme descrito a seguir.

Solução de ácido micofenólico padrão (2): pesar, com exatidão, cerca de 11,25 mg de ácido micofenólico SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver e completar o volume com metanol. Diluir, sucessivamente, com a mistura de ácido clorídrico 0,1 M e *Tampão fosfato de sódio tribásico 0,2 M* (3:1) até concentração de 0,0018% (p/v).

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de C₁₇H₂₀O₆ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (4.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 250 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octilsilano (5 µm), mantida a 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de metanol e ácido fosfórico 0,05% (v/v) (55:45).

Diluyente: mistura de metanol e água (55:45).

Solução amostra: transferir cinco comprimidos para balão volumétrico de 500 mL, adicionar 275 mL de metanol e deixar em ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com água e filtrar. Realizar diluições sucessivas com *Diluyente* até obter concentração de 0,036 mg/mL de ácido micofenólico.

Solução padrão: pesar, com exatidão, cerca de 11,25 mg de ácido micofenólico SQR, transferir para balão volumétrico de 50 mL. Dissolver e completar o volume com metanol. Diluir, sucessivamente, com *Diluyente* até a concentração de 0,036 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de (C₁₇H₂₀O₆) nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

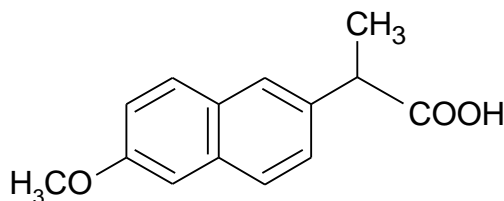
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

NAPROXENO Naproxenum



C₁₄H₁₄O₃; 230,26

naproxeno; 06233

Ácido (αS)-6-metoxi-α-metil-2-naftalenoacético
[22204-53-1]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de C₁₄H₁₄O₃, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 154 °C a 158 °C.

Poder rotatório específico (5.2.8): +59,0° a +62,0°. Determinar em solução 2% (p/v) em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação B. e C. podem ser omitidos se for realizado o teste A.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14), da amostra dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de naproxeno SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de uma solução de naproxeno 25 µg/mL em metanol, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de naproxeno SQR, preparado de maneira idêntica. A absorvidade em 271 nm, calculada a partir do espectro obtido com a amostra dessecada não varia mais que 3% em relação ao espectro obtido com a amostra de naproxeno SQR.

C. Dissolver cerca de 10 mg de naproxeno em 5 mL de metanol, adicionar 5 mL de água, 2 mL de iodeto de potássio SR, 5 mL de uma solução de iodato de potássio (1:100) e homogeneizar. Uma coloração amarelo-amarronzada se desenvolve. Adicionar 5 mL de clorofórmio e homogeneizar. Uma leve coloração vermelha ou púrpura se desenvolve na camada de clorofórmio.

ENSAIOS DE PUREZA

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por três horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel GF₂₅₄, com espessura de 250 µm, como suporte, e mistura de hexano, diclorometano, tetrahydrofurano e ácido acético (50:30:17:3), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): dissolver cerca de 100 mg de naproxeno, pesado com exatidão, em 10 mL de uma mistura de clorofórmio e álcool etílico (1:1).

Solução (2): transferir 2 mL da *Solução (1)* para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com mistura de clorofórmio e álcool etílico (1:1) e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para um balão de 50 mL, completar com o mesmo solvente e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma até que a frente da fase móvel ascenda 12 cm acima da linha de aplicação. Remover a placa, deixar secar ao ar. Observar sob luz ultravioleta. A mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (1)* corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*. E nenhuma outra mancha obtida com a *Solução (1)* excede em intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

Pureza enantiomérica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 263 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica gel π -aceptor/ π -doador (1-(3,5-dinitrobenzamido)-1,2,3,4-tetraidrofenantreno) para separação quiral (*S,S*) (5 μ m), mantida a temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* 2 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido acético glacial, acetonitrila, 2-propanol e hexano (0,5:5:10:84,5).

Solução amostra: dissolver 25 mg da amostra em tetraidrofurano, diluir para 50 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 2 mL da solução para balão volumétrico de 20 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão: transferir 2,5 mL da *Solução amostra* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução de resolução: dissolver 5 mg de *naproxeno racêmico* SQR (ácido (2R)-2-(6-metoxinaftalen-2-il)propanoico - enantiômero *R*) em 10 mL de tetraidrofurano e diluir para 100 mL com *Fase móvel*.

Injetar, separadamente, replicatas de 20 μ L das *Soluções padrão* e *de resolução* e registrar os cromatogramas. A resolução entre os picos do naproxeno e ácido (2R)-2-(6-metoxinaftalen-2-il)propanoico (impureza G) é, no mínimo 3,0.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μ L das *Soluções amostra* e *padrão*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, uma e meia vez o tempo de retenção do naproxeno (tempo de retenção em torno de cinco minutos) e medir as áreas sob os picos obtidos. A área sob o pico relativo ao ácido (2R)-2-(6-metoxinaftalen-2-il)propanoico (impureza G), obtido com a *Solução amostra* é, no máximo, igual a da área sob o pico principal obtido com a *Solução padrão* (2,5%).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Pesar, com exatidão, cerca de 200 mg de naproxeno e dissolver em uma mistura de 75 mL de metanol e 25 mL de água. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M SV, utilizando fenolftaleína SI até formação de coloração violeta. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 23,03 mg de C₁₄H₁₄O₃. Realizar ensaio em branco e realizar as correções necessárias.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

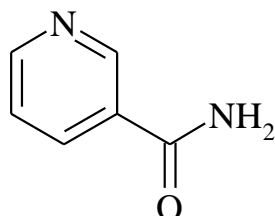
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Analgésico e anti-inflamatório.

NICOTINAMIDA Nicotinamidum



$C_6H_6N_2O$; 122,13
nicotinamida; 06346
Piridinacarboxiamida
[98-92-0]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de $C_6H_6N_2O$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou cristais incolores.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, solúvel em glicerol, facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas

Faixa de fusão (5.2.2): 128 °C a 131 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra dessecada e dispersa em brometo de potássio apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nicotinamida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A razão entre os valores de absorvância medidos em 245 nm e 262 nm de uma solução da amostra a 0,0002% (p/v) em água está compreendida entre 0,63 e 0,67.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,0 a 8,0. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel GF₂₅₄, como suporte, e mistura de água, álcool etílico e clorofórmio (4:45:48), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 80 mg/mL da amostra em mistura de álcool etílico e água (50:50).

Solução (2): diluir 0,5 mL da *Solução (1)*, para 200 mL em mistura de álcool etílico e água (50:50).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). Examinar a placa. Qualquer mancha secundária obtida no cromatograma com a *solução (1)*, diferente da mancha principal, não é mais intensa que aquela obtida com a *solução (2)* (0,25%).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra, em dessecador sob pressão reduzida, por quatro horas. No máximo 0,5%.

Metais pesados (5.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Métodos de reação com tioacetamida, Método I*. No máximo 0,003% (30 ppm).

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso (5.3.4.5)*. Dissolver 0,25 g da amostra previamente dessecada em 20 mL de ácido acético glacial, aquecer se necessário, adicionar 5 mL de anidrido acético, titular com ácido perclórico 0,1 M SV, utilizando cloreto de metilrosanilínio SI como indicador, até coloração azul-esverdeada. Realizar ensaio em branco e proceder com as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 12,213 mg de C₆H₆N₂O.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes herméticos, protegidos da luz.

ROTULAGEM

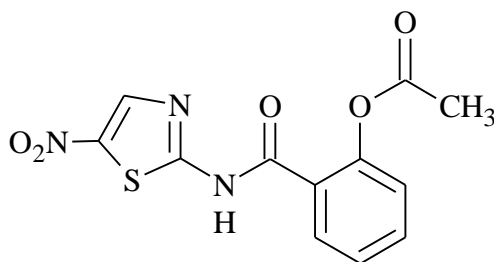
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Componente da vitamina B.

NITAZOXANIDA

Nitazoxanidum



C₁₂H₉N₃O₅S; 307,28
nitazoxanida; 06413
2-Acetiloxi-*N*-(5-nitro-2-tiazolil)benzamida
[55981-09-4]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₁₂H₉N₃O₅S, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a levemente amarelo.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água. Solúvel em acetonitrila, muito pouco solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas.

Ponto de fusão (5.2.2): 202 °C.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste C.
O teste de identificação C. pode ser omitido se for realizado o teste B.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nitazoxanida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método A. de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método B. de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica

quimicamente ligada ao grupo octilsilano (5 μm), mantida a 30 °C; fluxo da *Fase móvel* 1,0 mL/minuto.

Diluyente: mistura de *Eluente A* e *Eluente B* (70:30).

Eluente A: acetonitrila.

Eluente B: água pH 2,5, previamente ajustado com ácido fosfórico.

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir.

<i>Tempo(minutos)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>
0	30	70
25,0	70	30
30,0	70	30
30,1	30	70
40,0	30	70

Solução amostra: dissolver quantidade, exatamente pesada, da amostra no *Diluyente* de modo a obter solução a 2,5 $\mu\text{g/mL}$ de nitazoxanida.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de nitazoxanida SQR, de substância relacionada A de nitazoxanida e ácido acetilsalicílico no *Diluyente* de modo a obter solução a 2,5 $\mu\text{g/mL}$ de nitazoxanida, 2,5 $\mu\text{g/mL}$ de substância relacionada A de nitazoxanida e 2,5 $\mu\text{g/mL}$ de ácido acetilsalicílico.

Injetar replicatas de 35 μL da *Solução padrão*. A resolução entre os picos da substância relacionada A de nitazoxanida e ácido acetilsalicílico é de, no mínimo, 2,0. O fator de cauda é, no máximo, 2,0 para o pico da nitazoxanida. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados para nitazoxanida deve ser, no máximo, 10,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 35 μL das *Solução amostra* e *Solução padrão*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a porcentagem de cada impureza presente na amostra segundo a equação:

$$100 (1/F) (A_i/A_p) (C_p/C_a)$$

Em que

F = fator de resposta relativo para cada impureza;

A_i = área sob o pico correspondente a qualquer impureza individual obtida na *Solução amostra*;

A_p = área sob o pico correspondente ao nitazoxanida obtido na *Solução padrão*;

C_p = concentração, em mg/mL, de nitazoxanida na *Solução padrão*;

C_a = concentração, em mg/mL, de nitazoxanida na *Solução amostra*.

Os limites das impurezas são apresentados a seguir:

<i>Impureza</i>	<i>Tempo de Retenção Relativo</i>	<i>Fator de Resposta Relativo</i>	<i>Limite (%)</i>
Substância relacionada A de nitazoxanida (2-Amino-5-nitroiazol)	0,35	0,46	0,1
Ácido acetilsalicílico (ácido 2-(acetiloxi)benzoico)	0,48	0,91	0,1
Ácido salicílico (ácido 2-hidroxibenzoico)	0,61	3,7	0,1
Nitazoxanida	1,0	-	-
Outras impurezas individuais	-	1,0	0,1

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g de amostra. Dessecar em estufa a 60 °C, por três horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar, com exatidão, cerca de 120 mg da amostra e adicionar 50 mL de acetonitrila. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, com água pH 4,5, previamente ajustado com ácido fosfórico 10% (v/v), até concentração de 0,0012% (p/v). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 345 nm, utilizando água pH 4,5 para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{12}H_9N_3O_5S$ na amostra a partir das leituras obtidas.

B. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (4 µm a 5 µm), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,1% (v/v), pH 5,3 previamente ajustado com trietilamina, e acetonitrila (45:55).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 100 mg de amostra para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar. Transferir 3 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar, obtendo solução a 30 µg/mL.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de nitazoxanida SQR para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar. Transferir 3 mL dessa

solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar, obtendo solução a 30 µg/mL.

A eficiência da coluna para o pico da nitazoxanida é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₁₂H₉N₃O₅S na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antiparasitário.

NITAZOXANIDA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de C₁₂H₉N₃O₅S. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste C.

O teste de identificação C. pode ser omitido se for realizado o teste B.

A. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel 60 F₂₅₄, como suporte, e mistura de hexano e álcool etílico (60:40), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar 10 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 40 mL de acetonitrila. Sonicar, à temperatura ambiente, por 10 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de nitazoxanida SQR em acetonitrila.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Meio de dissolução: Tampão fosfato pH 7,5 contendo 6% de brometo de cetrimônio, 900 mL

Temperatura: 25 °C

Aparelhagem: pás, 75 rpm

Tempo: 45 minutos

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 13,88 mg de nitazoxamida SQR para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 5 mL de acetonitrila, sonicar por 30 minutos e completar o volume com Tampão fosfato pH 7,5 contendo 6% de brometo de cetrimônio. Diluir, sucessivamente, com acetonitrila de modo a obter concentração de 27,77 µg/mL de nitazoxamida.

Solução amostra: após realização do teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em acetonitrila, de modo a obter concentração de 27,77 µg/mL de nitazoxanida.

Procedimento: proceder ao abrigo da luz direta. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de C₁₂H₉N₃O₅S dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de C₁₂H₉N₃O₅S se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 15 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 50 mL de acetonitrila. Sonicar, à temperatura ambiente, por 10 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar. Transferir 2 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água pH 4,5, previamente ajustado com ácido fosfórico 10% (v/v), obtendo solução a 12 µg/mL. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 345 nm, utilizando água pH 4,5 para ajuste do zero. Calcular o teor de C₁₂H₉N₃O₅S nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

B. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm; pré-coluna (opcional) de 4,0 mm de comprimento e 3,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (4 µm); coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (4 µm a 5 µm), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,1% (v/v), pH 5,3 previamente ajustado com trietilamina, e acetonitrila (45:55).

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 150 mL de acetonitrila e sonicar por 10 minutos. Completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar. Transferir 3 mL do filtrado para balão volumétrico de 20 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 30 µg/mL.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de nitazoxanida SQR para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar. Transferir 3 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 30 µg/mL.

A eficiência da coluna para o pico da nitazoxanida é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₁₂H₉N₃O₅S nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

NITAZOXANIDA PÓ PARA SUSPENSÃO ORAL

O pó para suspensão oral é uma mistura de nitazoxanida com um ou mais agentes corantes, aromatizantes, tampões, adoçantes e conservantes. Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{12}H_9N_3O_5S$.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste C.

O teste de identificação C. pode ser omitido se for realizado o teste B.

A. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel 60 F₂₅₄, como suporte, e mistura de hexano e álcool etílico (60:40), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): Reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Transferir quantidade de suspensão oral equivalente a 50 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 40 mL de acetonitrila. Sonicar, à temperatura ambiente, por 10 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de nitazoxanida SQR em acetonitrila.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método **A.** de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método **B.** de *Doseamento*, corresponde àquela do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste. Determinar no pó antes de reconstituir.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Meio de dissolução: Tampão fosfato pH 7,5 contendo 6% de brometo de cetrimônio, 900 mL

Temperatura: 25 °C

Aparelhagem: pás, 100 rpm

Tempo: 45 minutos

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 13,88 mg de nitazoxamida SQR para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 5 mL de acetonitrila, sonicar por 30 minutos e completar o volume com Tampão fosfato pH 7,5 contendo 6% de brometo de cetrimônio. Diluir sucessivamente com acetonitrila de modo a obter concentração de 27,77 µg/mL de nitazoxamida.

Solução amostra: após realização do teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em acetonitrila, de modo a obter concentração de 27,77 µg/mL de nitazoxanida.

Procedimento: proceder ao abrigo da luz direta. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de C₁₂H₉N₃O₅S dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo, 80% (Q) da quantidade declarada de C₁₂H₉N₃O₅S se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 2,0%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 15 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 100 mL e adicionar 50 mL de acetonitrila. Sonicar, à temperatura ambiente, por 10 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar. Transferir 2 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água pH 4,5, previamente ajustado com ácido fosfórico 10% (v/v), obtendo solução a 12 µg/mL. Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando os mesmos solventes. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 345 nm, utilizando água pH 4,5 para ajuste do zero. Calcular o teor de C₁₂H₉N₃O₅S na suspensão oral a partir das leituras obtidas.

B. Proceder ao abrigo da luz direta, conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm; pré-coluna (opcional) de 4,0 mm de comprimento e 3,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (4 µm); coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (4 µm a 5 µm), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de ácido fosfórico 0,1% (v/v), pH 5,3 previamente ajustado com trietilamina, e acetonitrila (45:55).

Solução amostra: reconstituir o conteúdo de três frascos conforme indicado no rótulo e homogeneizar. Transferir volume da suspensão oral equivalente a 50 mg de nitazoxanida para balão volumétrico de 250 mL, adicionar 150 mL de acetonitrila e sonicar por 10 minutos. Completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar. Transferir 3 mL do filtrado para balão volumétrico de 20 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 30 µg/mL.

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de nitazoxanida SQR para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar. Transferir 3 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 30 µg/mL

A eficiência da coluna para o pico da nitazoxanida é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₁₂H₉N₃O₅S na suspensão oral a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

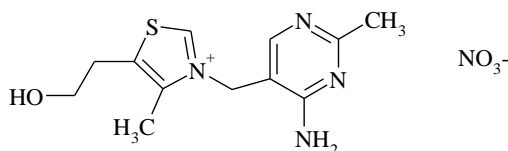
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

NITRATO DE TIAMINA Thiamini nitras



C₁₂H₁₇N₅O₄S; 327,36

nitrate de tiamina; 08514

nitrate de 3[(4-amino-2-metil-5-pirimidinil)metil]-5-(2-hidroxietyl)4-metiltiazólio
[532-43-4]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de C₁₂H₁₇N₅O₄S, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físico-químicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Ligeiramente solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação C., D. e E. podem ser omitidos se forem realizados os testes A. e B. O teste de identificação A. pode ser omitido se forem realizados os testes B., C., D. e E.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no infravermelho (5.2.14)*. O espectro de absorção da amostra dispersa em brometo de potássio apresenta máximos de absorção somente nos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de nitrato de tiamina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Preparar solução da amostra a 20 mg/mL. A 2 mL dessa solução adicionar 2 mL de ácido sulfúrico. Resfriar e adicionar 2 mL de sulfato ferroso SR. Um anel marrom aparece na junção dos dois líquidos.

C. Dissolver 5 mg da amostra em mistura de 1 mL de acetato de chumbo SR e 1 mL de hidróxido de sódio 2,5 M. Aquecer em banho-maria por alguns minutos. Após a dissolução da amostra, uma cor amarela é produzida. Aquecer a solução, a cor altera para marrom e após repouso, um precipitado aparece.

D. Uma solução da amostra a 20 mg/mL produz um precipitado branco ao ser adicionado uma solução contendo 6,5 g de cloreto de mercúrio em 100 mL de água; e precipitado marrom avermelhado ao adicionar iodo 0,1 M SV. Também há produção de um precipitado ao adicionar trinitrofenol SR.

E. Preparar solução da amostra dissolvendo 5 mg em 5 mL de hidróxido de sódio 0,5 M. A essa solução adicionar 0,5 mL de ferrocianeto de potássio SR e 5 mL de álcool isobutílico. Agitar vigorosamente por dois minutos e possibilitar que as camadas líquidas se separem. Ao ser iluminada de cima por um feixe de luz vertical ultravioleta e ao ser visualizada em um ângulo reto, o menisco ar-líquido mostra uma fluorescência azul vívido, que desaparece quando é novamente alcalinizada.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 6,0 a 7,5. Determinar em solução da amostra a 2,0% (p/v).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna cromatográfica de 150 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,75 mL/min.

Solução A: 1-octanosulfonato de sódio 0,005 M em ácido acético glacial diluído (1:100).

Solução B: metanol e acetonitrila (3:2).

Fase móvel: *Solução A* e *Solução B* (60:40).

Solução amostra: 1 mg/mL da amostra em *Fase móvel*.

Procedimento: injetar 10 µL da *Solução amostra* e registrar os cromatogramas por, no mínimo, o triplo do tempo de retenção do pico principal. Calcular a porcentagem total de picos secundários na porção de nitrato de tiamina utilizado de acordo com a seguinte expressão:

$$\text{Porcentagem de impurezas} = \left(\frac{r_U}{r_T} \right) \times 100$$

Em que:

r_U = soma da área de todos os picos, com exceção do pico referente ao nitrato de tiamina.

r_T = soma da área de todos os picos.

A porcentagem de impurezas deve ser de no máximo 1,0%.

Cloretos (5.3.2.1). No máximo 0,06% (600 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 0,5 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). No máximo 0,2%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 140 mg de nitrato de tiamina, dissolver em 5 mL de ácido fórmico e adicionar 50 mL de anidrido acético. Titular imediatamente com ácido perclórico 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 16,37 mg de C₁₂H₁₇N₅O₄S. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados e ao abrigo da luz.

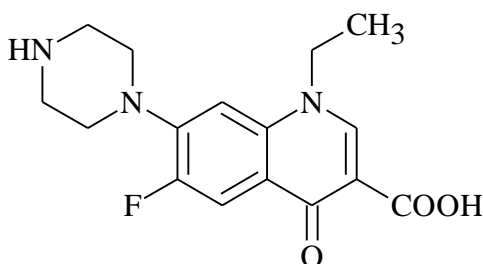
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Vitamínico.

NORFLOXACINO Norfloxacinum



C₁₆H₁₈FN₃O₃; 319,33

norfloxacino; 06497

Ácido 1-etil-6-fluor-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperaziril)-3-quinolinicarboxílico

[70458-96-7]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de (C₁₆H₁₈FN₃O₃), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a amarelo pálido. Sensível à luz e umidade.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em ácido acético, pouco solúvel em álcool etílico e muito pouco solúvel em metanol.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (**5.2.14**) da amostra, previamente dessecada, dispersa em óleo mineral, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de norfloxacino SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0005% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1 M, exibe máximo em 273 nm. A absorvância é, no máximo, 3,0%, se comparada com solução similar de norfloxacino SQR. Utilizar vidraria âmbar.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (**5.2.17.1**), utilizando sílica-gel previamente lavada com metanol e seca ao ar, como suporte, e mistura de clorofórmio, metanol, tolueno, dietilamina e água (40:40:20:14:8), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 5 µL da *Solução (1)* e 5 µL da *Solução (2)*, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 8,0 mg/mL da amostra em mistura de metanol e cloreto de metileno (1:1).

Solução (2): pesar, com exatidão, cerca de 4,0 mg de norfloxacino SQR e dissolver com 1 mL de ácido acético glacial, adicionar 4 mL de metanol e misturar. Diluir 1 mL dessa solução em 19 mL de mistura de metanol e cloreto de metileno (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 e 365 nm). A mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (2)* é equivalente a 0,5% de impureza. Comparar as intensidades de quaisquer manchas secundárias obtidas no cromatograma da *Solução (1)* com a mancha principal obtida no cromatograma da *Solução (2)*. A soma das intensidades de todas as manchas secundárias obtidas no cromatograma da *Solução (1)* é, no máximo, igual àquela principal obtida com a *Solução (2)* (0,5%).

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,0015% (15 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,00 g da amostra. Dessecar a 105 °C, sob vácuo, por duas horas. No máximo 1,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,00 g da amostra. No máximo 0,1%.

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 240 mg da amostra e dissolver em 80 mL de ácido acético glacial. Titular imediatamente com ácido perclórico 0,1 M SV e determinar o ponto final potenciométricamente. Cada mL do ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 31,933 mg de $C_{16}H_{18}FN_3O_3$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente bem fechado e protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

PANTOPRAZOL SÓDICO GRÂNULOS GASTRORRESISTENTES

Contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a vácuo a 60 °C, por quatro horas. No máximo 6,0%.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Meio de dissolução: mistura de 475 mL de ácido clorídrico 0,1 M e 425 mL de tampão fosfato pH 11,0, com pH ajustado para 6,80 com ácido fosfórico 20% (v/v) ou hidróxido de sódio 40% (p/v)

Aparelhagem: cesta, 100 rpm. *Nota:* deve-se garantir que a cesta possui abertura de malha inferior a tamanho dos grânulos

Tempo: 60 minutos

Procedimento: realizar o teste com massa de grânulos equivalente a 40 mg de pantoprazol em cada cesta. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com mistura de acetonitrila e água (50:50), até concentração próxima de 8,8 µg/mL. Preparar solução padrão conforme descrito em *Doseamento*, de modo a obter concentração de 8,0 µg/mL de pantoprazol. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ dissolvida no meio, a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

Tolerância: no mínimo 80% (Q) da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ se dissolvem em 60 minutos.

GASTRORRESISTÊNCIA

Utilizar aparelho para *Teste de dissolução* (5.1.5).

Meio: ácido clorídrico 0,1 M, 500 mL

Aparelhagem: cesta, 100 rpm. *Nota:* deve-se garantir que a cesta possui abertura de malha inferior a tamanho dos grânulos

Tempo: duas horas

Procedimento: realizar teste com massa de grânulos equivalente a 20 mg de pantoprazol em cada cesta. Decorrido o tempo de duas horas, elevar a plataforma. Remover as cestas, transferir os grânulos de cada cesta para balões volumétricos de 25 mL, quantitativamente, por solubilização com 13 mL de hidróxido de sódio 0,1 M. Submeter ao ultrassom por cinco minutos e agitação mecânica por 15 minutos. Completar o volume com hidróxido de sódio 0,1 M. Filtrar em papel de filtro adequado. Diluir o filtrado em tampão fosfato pH 6,80 até concentração de 80 µg/mL. Diluir a solução obtida em mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 8,0 µg/mL. Preparar solução padrão conforme descrito em *Doseamento*, de modo a obter concentração 8,0 µg/mL de pantoprazol. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ dissolvida em hidróxido de sódio 0,1 M a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

Tolerância: após resistirem por duas horas em ácido clorídrico 0,1 M, os valores individuais das quantidades dissolvidas em hidróxido de sódio 0,1 M, são, no mínimo, 80% e o valor médio é, no mínimo, 85% da quantidade declarada de $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento* da monografia de *Pantoprazol sódico*. Preparar a *Solução amostra* e a *Solução padrão* conforme descrito a seguir.

Solução amostra: pulverizar quantidade suficiente da amostra. Transferir, quantitativamente, quantidade do pó equivalente a 25 mg de pantoprazol para balão volumétrico de 25 mL. Adicionar cerca de 13 mL de hidróxido de sódio 0,1 M, submeter ao ultrassom por cinco minutos e agitação mecânica por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar em papel de filtro adequado. Diluir o filtrado com o tampão fosfato pH 6,80 até concentração de 0,1 mg/mL. Em seguida, diluir com mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 10 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de pantoprazol sódico SQR e, hidróxido de sódio 0,1 M, de modo a obter solução a 1,0 mg/mL de pantoprazol. Diluir com o tampão fosfato pH 6,80 até concentração de 0,1 mg/mL. Em seguida, diluir com mistura de acetonitrila e água (50:50) até concentração de 10 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de C₁₆H₁₅F₂N₃O₄S nos grânulos gastrorresistentes a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

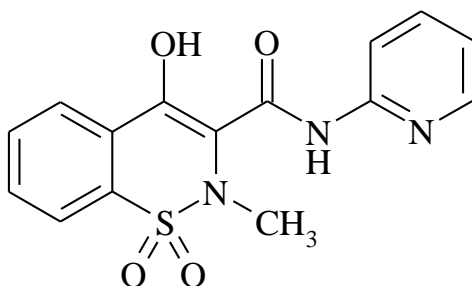
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

PIROXICAM Piroxicamum



C₁₅H₁₃N₃O₄S; 331,35

piroxicam; 07211

1,1-dióxido 4-hidroxi-2-metil-N-2-piridinil-2H-1,2-benzotiazino-3-carboxamida

[36322-90-4]

Contém, no mínimo, 97,0% e, no máximo, 103,0% de C₁₅H₁₃N₃O₄S.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó ou sólido cristalino, branco ou ligeiramente amarelado. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Muito pouco solúvel em água e pouco solúvel em álcool etílico. Pouco solúvel em soluções aquosas alcalinas e muito pouco solúvel em soluções de ácidos diluídos.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra não dessecada dispersa em óleo mineral, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de piroxicam SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (**5.2.14**), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,001% (p/v) em ácido clorídrico metanólico 0,01 M, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de piroxicam SQR.

C. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (**5.2.17.1**), utilizando sílica-gel G, como suporte, e mistura de tolueno e ácido acético glacial (95:5), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 20 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução a 1 mg/mL da amostra em mistura de clorofórmio e metanol (1:1).

Solução (2): solução a 1 mg/mL de piroxicam SQR em mistura de clorofórmio e metanol (1:1).

Desenvolver o cromatograma a três quartos da placa. Remover a placa, marcar a frente do solvente e secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Água (5.2.20.1). No máximo 0,5%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,005% (50 ppm).

Cinzas sulfatadas (5.2.10). No máximo 0,3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (**5.2.17.4**). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo de *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Tampão fosfato: dissolver cerca de 7,72 g de ácido cítrico anidro em 400 mL de água, e separadamente, dissolver cerca de 5,35 g de fosfato de sódio dibásico anidro em 100 mL de água. Adicionar a solução de fosfato à solução de ácido cítrico, diluir com água para volume de 1000 mL e homogeneizar.

Fase móvel: mistura de *Tampão fosfato* e metanol (55:45).

Diluyente: mistura de ácido clorídrico metanólico 0,01 M e água (4:1).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 25 mg da amostra para balão volumétrico de 50 mL, adicionar 25 mL de ácido clorídrico metanólico 0,01 M e levar a banho de ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com ácido clorídrico metanólico 0,01 M e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa preparação para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com *Diluyente* e homogeneizar, obtendo solução a 50 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de piroxicam SQR em ácido clorídrico metanólico 0,01 M para obter solução a 0,25 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com *Diluyente* e homogeneizar, obtendo solução à 50 µg/mL.

Injetar replicatas de 25 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna determinada com o pico principal é, no mínimo, 500 pratos teóricos, o fator cauda é, no máximo, 1,5. Desvio padrão relativo das áreas de replicatas é, no máximo 2,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 25 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₁₅H₁₃N₃O₄S na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

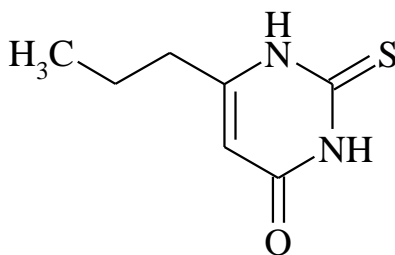
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

PROPILTIOURACIL Propylthiouracilum



C₇H₁₀N₂OS; 170,23
propiltiouracil; 07462
3-diidro-6-propil-2-tioxopirimidina-4(1H)-ona
[51-52-5]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 100,5% de C₇H₁₀N₂OS, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico, solúvel em soluções alcalinas.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 217 °C a 221 °C.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação B. e C. podem ser omitidos se for realizado o teste A. O teste de identificação A. pode ser omitido se forem realizados os testes B. e C.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de propiltiouracil SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Dissolver cerca de 20 mg da amostra em 8 mL de água de bromo SR e agitar por alguns minutos. Aquecer até que a mistura perca a coloração, resfriar e filtrar. Adicionar ao filtrado 2 mL de cloreto de bário 61 g/L. Um precipitado branco é formado cuja coloração não se torna violeta após a adição de 5 mL de hidróxido de sódio 8,5% p/v.

C. Examinar os cromatogramas obtidos no teste de *Substâncias relacionadas* sob luz ultravioleta em 254 nm antes de expor a placa ao vapor de iodo. A principal mancha obtida com a *Solução (2)* é similar em posição e tamanho à principal mancha obtida no cromatograma da *Solução (3)*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel GF₂₅₄, com espessura de 250 µm, como suporte, e mistura de clorofórmio, 2-propanol e ácido acético glacial (50:6:0,1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): dissolver cerca de 100 mg de propiltiouracil, precisamente medido, em metanol, e completar para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para um balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com metanol.

Solução (3): dissolver 10 mg de propiltiouracil SQR em metanol e completar para 10 mL com o mesmo solvente

Solução (4): dissolver 50 mg de tiourea em metanol e diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Transferir 1 mL para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com metanol.

Solução (5): transferir 1 mL da *Solução (1)* para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com metanol.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Observar sob luz ultravioleta em 254 nm. Expor a placa a vapor de iodo por 10 minutos. A mancha obtida no cromatograma da *Solução (1)* que corresponde em posição à principal mancha obtida no cromatograma da *Solução (4)* não deve

ser superior em intensidade. Qualquer outra mancha obtida no cromatograma da *Solução (1)* além da descrita anteriormente e da principal, não deve possuir intensidade maior que a mancha obtida no cromatograma da *Solução (5)*.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar método III. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar a 105°C por duas horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Pesar, com exatidão, cerca de 300 mg de propiltiouracil e dissolver em uma mistura de 30 mL hidróxido de sódio 0,1 M e 30 mL de água, aquecer até ebulição e agitar a mistura até completa dissolução. Adicionar 50 mL de nitrato de prata 0,1 M com agitação e aquecer suavemente durante cinco minutos. Deixar esfriar. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M SV e determinar o ponto final potenciometricamente. O volume de hidróxido de sódio 0,1 M utilizado é igual a soma do volume inicialmente adicionado e o volume utilizado na titulação final. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 8,511 mg de C₇H₁₀N₂OS.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados e protegidos da luz.

ROTULAGEM

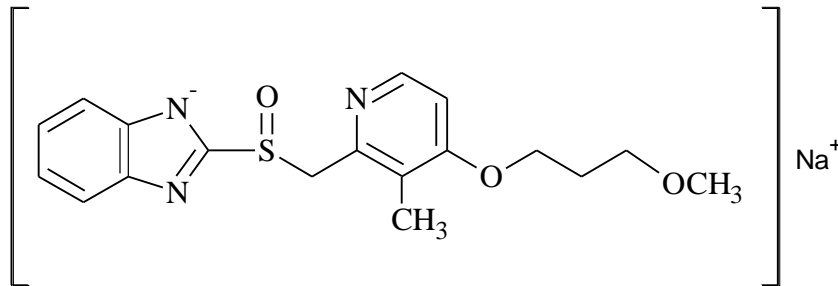
Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Agente antitireoidiano.

RABEPRAZOL SÓDICO

Rabeprazoli natriicum



$C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$; 381,42

rabeprazol sódico; 07595

Sal sódico de 2-[[4-(3-metoxipropoxi)-3-metilpiridina-2-il]metilsulfinil]-1H-benzimidazol
[117976-90-6]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a levemente amarelo higroscópico.

Solubilidade. Muito solúvel em água e metanol, facilmente solúvel em álcool etílico.

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação B. pode ser omitido se for realizado o teste C. O teste de identificação C. pode ser omitido se for realizado o teste B.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada a 120 °C, sob pressão reduzida, por três horas, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de rabeprazol sódico SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 220 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método A. de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda observados no espectro da solução padrão.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método B. de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Solubilizar 20 mg da amostra em 2 mL de água. A solução responde às reações do íon sódio (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método B. de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir, exatamente, cerca de 40 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com acetonitrila. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de

50 mL, completar o volume com metanol de modo a obter concentração de 40 µg/mL de rabeprazol sódico.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente, é, no máximo, 1,5% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,5% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,05 veza área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método I*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). Determinar em 0,3 g de amostra. No máximo 7,0%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar, com exatidão, cerca de 100 mg da amostra e dissolver em água pH 10,0, previamente ajustado com hidróxido de amônio SR. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,0012% (p/v). Preparar concomitantemente *solução padrão* na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 291 nm, utilizando água pH 10,0 para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$ na amostra, a partir das leituras obtidas.

B. 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 ao grupo octilsilano (5 µm) com base desativada, mantida à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (65:35).

Solução amostra: dissolver quantidade, exatamente pesada, de amostra em acetonitrila de modo a obter solução a 0,4 mg/mL. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de rabeprazol sódico SQR em acetonitrila de modo a obter solução a 40 mg/mL. Transferir 5 mL desta solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 40 µg/mL.

A eficiência da coluna para o pico do rabeprazol sódico não é menor que 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda não é maior que 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados não deve ser maior que 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de C₁₈H₂₀N₃NaO₃S na amostra a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antissecretor.

RABEPRAZOL SÓDICO COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de C₁₈H₂₀N₃NaO₃S. Os comprimidos devem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel 60 F₂₅₄, como suporte, e mistura de metanol e acetato de etila (10:90), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar 10 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 50 mg de rabeprazol sódico para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 40 mL de metanol. Sonicar, à temperatura ambiente, por 20 minutos, completar o volume com metanol, homogeneizar e filtrar.

Solução (2): solução a 1 mg/mL de rabeprazol sódico SQR em metanol.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta (254 nm). A mancha principal obtida com a *Solução (1)* corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *Solução (2)*. Expor a vapores de iodo até aparecimento das manchas. As manchas apresentam coloração castanho-amarelado.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste para comprimidos com revestimento gastrorresistente.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Estágio ácido:

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 M, 900 mL

Aparelhagem: pá, 75 rpm

Tempo: 120 minutos

Estágio tampão pH 9,0:

Meio de dissolução: tampão borato pH 9,0, 900 mL

Aparelhagem: pá, 75 rpm

Tempo: 30 minutos

Solução padrão: transferir, quantitativamente, cerca de 27,5 mg de rabeprazol sódico SQR para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com mistura de acetonitrila e tampão borato pH 9,0 (50:50) e homogeneizar. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com mistura de acetonitrila e tampão borato pH 9,0 (50:50), homogeneizar obtendo solução a 11 µg/mL de rabeprazol sódico.

Solução amostra: após realização do teste, utilizar alíquotas do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em acetonitrila, de modo a obter concentração teórica de 11 µg/mL de rabeprazol sódico.

Procedimento: após o teste do *Estágio ácido*, transferir os comprimidos para cubas contendo 900 mL de tampão borato pH 9,0 e realizar o teste do *Estágio tampão pH 9,0*. Após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, preparar *Solução amostra* e proceder conforme descrito no método de *Doseamento*. Injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$ dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

Tolerância: no mínimo 85% (Q) da quantidade declarada de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$ se dissolvem em 30 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir 10 comprimidos para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 20 mL de água pH 10,0, previamente ajustado com hidróxido de amônio, e sonicar, à temperatura ambiente, por 20 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar em papel. Transferir 2 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar, obtendo solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente é, no máximo 3,0% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 1,0% da área sob o pico principal. Desconsiderar quaisquer picos com área menor que 0,05 vez a área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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 ao grupo octilsilano (5 µm) com base desativada, mantida à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Fase móvel: mistura de água e acetonitrila (65:35).

Solução amostra: transferir 10 comprimidos para balão volumétrico de 200 mL, adicionar 20 mL de água pH 10,0, previamente ajustado com hidróxido de amônio, e sonicar, à temperatura ambiente, por 20 minutos, completar o volume com acetonitrila, homogeneizar e filtrar em papel. Diluir alíquota da solução límpida resultante, com acetonitrila, até obter concentração de rabeprazol sódico de 40 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de rabeprazol sódico SQR em acetonitrila de modo a obter solução a 0,4 mg/mL. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com acetonitrila, obtendo solução a 40 µg/mL.

A eficiência da coluna para o pico do rabeprazol sódico é, no mínimo, 2000 pratos teóricos/metro. O fator de cauda é, no máximo, 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados deve ser, no máximo, 1,5%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de $C_{18}H_{20}N_3NaO_3S$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

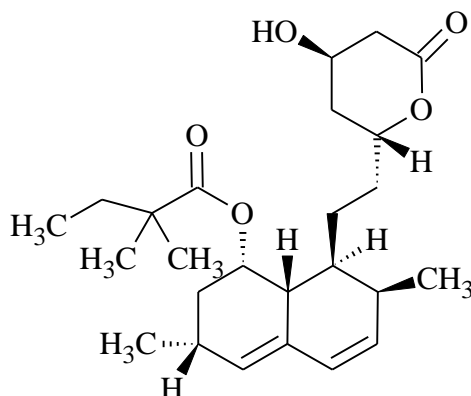
Em recipientes bem fechados, protegidos da luz e em temperatura ambiente.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

SINVASTATINA

Simvastatinum



$C_{25}H_{38}O_5$; 418,57
sinvastatina; 08016

2,2-Dimetilbutanoato de (1S,3R,7S,8S,8aR)-8-[2-[(2R,4R)-4-hidroxi-6-oxotetra-hidro-2H-pirano-2-il]etil-3,7-dimetil-1,2,3,7,8,8a-hexa-hidronaftaleno-1-ilo
[79902-63-9]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{25}H_{38}O_5$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e facilmente solúvel em álcool etílico.

Constantes físico-químicas

Poder rotatório específico (5.2.8): entre +285° a +298°. Determinar em solução a 0,5% (p/v) em acetonitrila.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra não dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro da sinvastatina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Doseamento*.

Solução teste: transferir, quantitativamente, cerca de 75 mg de sinvastatina para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em cerca de 30 mL de diluente e completar o volume com o mesmo diluente.

Procedimento: Injetar, separadamente, 5 µL da *solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos obtidos. Identificar as impurezas especificadas na tabela a seguir. Medir a área de todos os picos e calcular o percentual de cada impureza e do total de impurezas de sinvastatina. Desconsiderar os picos inferiores a 0,05%.

<i>Composto relacionado</i>	<i>Tempo de retenção relativo</i>	<i>Limite (%)</i>
hidroxiácido de sinvastatina	0,45	0,4
epilovastatina e lovastatina	0,60	1,0
metilenosinvastatina	0,80	0,4
sinvastatina	1,00	NA
acetilsinvastatina	2,38	0,4
anidrosinvastatina	2,42	0,4
dímero de Sinvastatina	3,80	0,4
outras impurezas individuais	-	0,1
impurezas totais exceto lovastatina e epilovastatina	-	1,0

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g de amostra, e estufa a 60 °C, sob pressão reduzida, por três horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 238 nm; coluna de 33 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 3 mL/minuto.

As soluções de sinvastatina são estáveis por três dias quando armazenadas em até 4 °C. Sem refrigeração, elas devem ser injetadas imediatamente após a preparação.

Solução tampão: dissolver 1,4 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água, e ajustar o pH em 4,0 ± 0,1 com ácido fosfórico R.

Diluyente: mistura de acetonitrila e *Solução tampão* (3:2).

Ácido fosfórico diluído: transferir 1 mL de ácido fosfórico R para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Eluente A: mistura de acetonitrila e *ácido fosfórico diluído* (50:50).

Eluente B: transferir 1 mL de ácido fosfórico concentrado para balão volumétrico de 1000 mL, completar o volume com acetonitrila e homogeneizar.

Fase móvel: utilizar misturas variáveis dos *Eluentes A* e *B*, conforme indicado a seguir.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0-4,5	100	0	isocrática
4,5-4,6	100→95	0→5	gradiente linear
4,6-8,0	95→25	5→75	gradiente linear
8,0-11,5	25	75	gradiente linear
11,5-11,6	25→100	75→0	isocrática
11,6-13,0	100	0	isocrática

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 75 mg de sinvastatina para balão volumétrico de 50 mL, dissolver em cerca de 30 mL de *Diluyente*, completar o volume com o mesmo diluente e homogeneizar.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de sinvastatina SQR em *Diluyente* e diluir de modo a obter solução a 1,5 mg/mL.

Solução de adequabilidade do sistema: obter uma solução de 1,5 mg/mL de sinvastatina SQR e lovastatina SQR de 0,015 mg/mL em *Diluyente*.

Injetar a *Solução de adequabilidade do sistema*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,6 para lovastatina e 1,0 para sinvastatina. A resolução entre os picos de sinvastatina e lovastatina é superior a 2. Injetar replicatas da *solução padrão*. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados é, no máximo, 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 5 µL da *Solução padrão* e *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de C₂₅H₃₈O₅ nas amostras a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes opacos, bem fechados, sob atmosfera de nitrogênio ou sob refrigeração, e ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Hipolipemiante.

SINVASTATINA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{25}H_{38}O_5$.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção dos picos principais do cromatograma da *Solução amostra*, obtido em *Doseamento*, corresponde àquele da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Pesar individualmente cada cápsula, transferir o conteúdo para balão volumétrico de 50 mL e pesar novamente. Adicionar 25 mL de metanol. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*, a partir de “Deixar em ultrassom por 10 minutos...”.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Meio de dissolução: laurilsulfato de sódio a 0,5% (p/v) em solução aquosa de fosfato de sódio monobásico 0,01 M, 900 mL, pH 7.

Aparelhagem: pás, 75 rpm.

Tempo: 45 minutos.

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, em meio de dissolução até concentração adequada e proceder conforme descrito em *Doseamento*. Calcular a quantidade de $C_{25}H_{38}O_5$ dissolvida no meio, comparando as áreas obtidas com a da solução de sinvastatina SQR a 22,2 $\mu\text{g/mL}$, preparada com mesmo diluente.

Tolerância: no mínimo, 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{25}H_{38}O_5$ se dissolvem em 45 minutos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 238 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octilsilano (5 μm), mantida a 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: metanol e ácido fosfórico 0,1% (v/v) (80:20).

Solução amostra: pesar 20 cápsulas e remover seu conteúdo. Transferir quantidade, exatamente pesada, do pó do conteúdo das cápsulas para balão volumétrico de capacidade adequada, adicionar metanol, cerca de 70% da capacidade total do balão volumétrico, e deixar em ultrassom por 15 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente, homogeneizar e centrifugar por quatro minutos a 4000 rpm. Diluir volume adequado do sobrenadante com acetonitrila de modo a obter solução de $C_{25}H_{38}O_5$ a 40 $\mu\text{g/mL}$.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de sinvastatina SQR em metanol para obter solução a 0,4 mg/mL. Diluir com o mesmo solvente de modo a obter solução a 40 $\mu\text{g/mL}$.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{25}H_{38}O_5$ nas cápsulas a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SOLUÇÕES PARA CONSERVAÇÃO DE ÓRGÃOS **Soluciones ad conservationem partium corporis**

As soluções para conservação de órgãos são preparações aquosas e estéreis utilizadas para a conservação, proteção e/ou perfusão de órgãos de mamíferos destinados aos transplantes.

Contêm eletrólitos, habitualmente numa concentração próxima da composição eletrolítica intracelular.

Podem conter carboidratos (como glicose ou manitol); aminoácidos; agentes complexantes do cálcio (como citratos ou fosfatos); hidrocoloides (como o amido ou derivados da gelatina); bem como outras substâncias auxiliares destinadas, por exemplo, a tornar a preparação isotônica com o soro sanguíneo; a ajustar ou estabilizar o pH, ou a impedir a degradação dos componentes; essas substâncias auxiliares não prejudicam a ação desejada para a preparação e, nas concentrações escolhidas, não têm efeito tóxico nem provocam irritação local anormal. As soluções para conservação de órgãos podem, igualmente, conter princípios ativos ou podem ser-lhes adicionados princípios ativos imediatamente antes do emprego.

Examinadas em condições apropriadas de visibilidade, as soluções para conservação de órgãos são praticamente isentas de partículas.

As soluções para conservação de órgãos podem igualmente apresentar-se na forma de soluções concentradas a diluir, imediatamente, antes do emprego, com um líquido apropriado até um volume prescrito. Uma vez diluídas, essas soluções satisfazem às exigências estabelecidas para as soluções para a conservação de órgãos.

São preparadas a partir de produtos e por métodos que asseguram a esterilidade; impedem a introdução de contaminantes e o crescimento de micro-organismos; recomendações a esse respeito são fornecidas no texto *Preparação de produtos estéreis* (7).

Salvo exceção justificada e autorizada, são preparadas com *Água para injetáveis* e não contêm conservantes antimicrobianos.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). 5,0 a 8,0. Efetuar o ensaio à temperatura ambiente.

Osmolalidade (5.2.28). Entre 250 e 380 mosmol/kg.

ENSAIOS DE PUREZA

Hidroximetilfurfural. Se a amostra contiver glicose, satisfaz ao ensaio do hidroximetilfurfural. Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção no ultravioleta* (5.2.14). Transferir volume da solução contendo equivalente a 25 mg de glicose para recipiente adequado. Adicionar 5,0 mL de solução reagente de *p*-toluidina a 100 g/L em 2-propanol contendo 10% v/v de ácido acético glacial e, em seguida, 1,0 mL de solução reagente de ácido barbitúrico a 5 g/L. Deixar a mistura em repouso durante dois a três minutos. A absorbância em 550 nm não é superior a de um padrão, preparado simultaneamente e nas mesmas condições, substituindo a amostra pelo mesmo volume de uma solução reagente contendo 10 µg de hidroximetilfurfural.

Contaminação por partículas. Efetuar o ensaio das partículas sub-visíveis (5.1.7.1) em 50 mL da amostra. A solução contém, no máximo, por mililitro, 50 partículas de diâmetro superior a 10 µm e cinco partículas de diâmetro superior a 25 µm. Os produtos com menção no rótulo que são utilizados com um filtro terminal estão isentos desses requisitos.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mL de amostra.

Nota: as soluções às quais não foi possível aplicar qualquer método validado de detecção de endotoxinas bacterianas, a amostra cumpre com o teste adicional a seguir.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Salvo exceção justificada e autorizada, injetar 10 mL/kg de massa do coelho.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

As soluções para conservação de órgãos são acondicionadas em *Recipientes para medicamentos e correlatos* (6). A vedação desses recipientes é assegurada por meios apropriados. As tampas asseguram a vedação; impedem a penetração de micro-organismos e de qualquer outro agente de contaminação e possibilitam, habitualmente, sem serem deslocadas, o recolhimento da totalidade ou de parte do conteúdo da embalagem. Na matéria plástica ou elastômero que constitui esse fecho há

uma resistência e uma elasticidade adaptadas à penetração de uma agulha, não liberando, tanto quanto possível, fragmentos.

As soluções para conservação de órgãos devem ser resfriadas antes do emprego a uma temperatura inferior à temperatura ambiente (normalmente entre 2 °C e 6 °C) de modo a baixar a temperatura do órgão e reduzir o seu metabolismo.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. No rótulo deve constar que a solução não deve ser utilizada por via injetável; a fórmula da solução para conservação de órgãos, deve ser expressa em gramas por litro e em milimoles por litro; o volume nominal da solução para conservação de órgãos contido no recipiente; a osmolalidade, expressa em miliosmoles por quilograma; que as quantidades não utilizadas da solução pronta para usar, da solução concentrada ou da solução diluída devem ser desprezadas; as condições de conservação e, nos casos apropriados, que a solução deve ser utilizada com um filtro terminal. No caso de uma solução concentrada, indicar no rótulo que a solução deve ser diluída imediatamente antes do emprego, utilizando um líquido apropriado.

14.2 REAGENTES E SOLUÇÕES REAGENTES

Ácido barbitúrico

CAS – [67-52-7]

Sinonímia - 1H,3H,5H-Pirimidino-2,4,6-triona

Fórmula e massa molecular – C₄H₄N₂O₃ – 128,1

Descrição – Pó branco ou quase branco

Solubilidade – Pouco solúvel na água, facilmente solúvel na água à ebulição e nos ácidos diluídos.

Característica física – Temperatura de fusão: em torno de 253 °C

Hidroximetilfurfural

CAS – [67-47-0]

Sinonímia – 5-Hidroximetilfurfural

Fórmula e massa molecular – C₆H₆O₃ – 126,1

Descrição – Cristais aciculares

Solubilidade – Facilmente solúvel na água, na acetona e no álcool, solúvel no éter

Característica física – Temperatura de fusão: em torno de 32 °C

SOLUÇÕES PARA DIÁLISE PERITONEAL

Soluciones ad peritonealem dialysim

As soluções para diálise peritoneal são preparações contendo eletrólitos com concentração próxima da composição eletrolítica do plasma. Elas contêm glicose em concentrações variadas ou outros agentes osmóticos adequados.

Devem ser fornecidas em recipientes de material plástico, rígido ou semirrígido; recipientes de plástico flexível equipado com dispositivo de conexão especial (contendo um volume inferior à sua capacidade nominal e em sistema fechado) ou recipientes de vidro.

Os recipientes fabricados de material plástico e suas tampas satisfazem às exigências para *Recipientes Plásticos (6.2)* e *Tampas de Elastômero (6.2.2)*.

Várias formulações podem ser usadas. As concentrações dos componentes por litro de solução situam-se geralmente nos limites relacionados na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Concentração dos componentes por litro de solução.

<i>Componentes da solução</i>	<i>Concentração em mmol/L</i>	<i>Concentração em mEq/L</i>
Sódio	125-150	125-150
Potássio	0-4,5	0-4,5
Cálcio	0-2,5	0-5,0
Magnésio	0,25-1,5	0,50-3,0
Acetato, lactato ou bicarbonato	30-60	30-60
Cloreto	90-120	90-120
Glicose	25-250	

Quando o bicarbonato está presente, a solução de bicarbonato de sódio é fornecida num compartimento ou recipiente separado e é adicionada à solução de eletrólito imediatamente antes da utilização.

A menos que justificado e autorizado, antioxidantes como sais de metabissulfito não são adicionados às soluções.

IDENTIFICAÇÃO

Segundo a sua composição, a amostra satisfaz às seguintes reações de identificação:

A. Potássio: reação 2 (5.3.1.1).

B. Cálcio: a 0,2 mL da solução prescrita, adicionar 0,5 mL de uma solução 2 g/L de glicoxal-hidroxilân timer em etanol a 96% SR, 0,2 mL de hidróxido de sódio diluído SR e 0,2 mL de solução de carbonato de sódio SR. Agitar com 1 a 2 mL de clorofórmio e adicionar 1 a 2 mL de água. A fase de clorofórmio torna-se avermelhada.

C. Sódio: utilizar 0,5 mL da solução. Adicionar 1,5 mL de reagente metoxifenilacético e resfriar em água gelada por 30 minutos. Um precipitado cristalino branco volumoso é formado. Colocar em água a 20 °C e agitar por cinco minutos. O precipitado não desaparece. Adicionar 1 mL de amônia SR 6 M. O precipitado dissolve-se completamente. Adicionar 1 mL de solução de carbonato de amônio SR. Não se forma nenhum precipitado.

D. Cloreto: reação 1 (5.3.1.1).

E. Acetato: em um tubo de ensaio com rolha e um tubo curvo, colocar 5 mL da amostra e 1 mL de ácido clorídrico; aquecer e recolher alguns mililitros do destilado. A 3 mL do destilado, adicionar, sucessivamente, 0,25 mL de solução de nitrato de lantân timer; 0,1 mL de iodo 0,05 M e 0,05 mL de amônia SR. Aquecer, cuidadosamente, à ebulição. Em poucos minutos aparece um precipitado azul ou uma coloração azul escura.

F. Lactato e bicarbonato: a identificação é realizada em conjunto com o *Doseamento*.

G. Magnésio: a 0,1 mL de amarelo de titânio SR adicionar 10 mL de água, 2 mL da amostra e 1 mL de hidróxido de sódio *M*. Desenvolve-se coloração rósea.

H. Glicose: a 5 mL da amostra, adicionar 2 mL de solução diluída de hidróxido de sódio e 0,05 mL de solução de sulfato de cobre. A preparação fica azul e límpida. Aquecer à ebulição; forma-se um abundante precipitado vermelho.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto da preparação. A amostra é límpida (5.2.25) e não mais corada que a solução de referência A₄, preparada como descrito a seguir.

Solução de referência A₄: preparar *solução padrão A* (amarela) conforme indicado na **Tabela 2** a partir das soluções base de cloreto de cobalto (vermelha) e de cloreto férrico (amarela) (5.2.12). A partir da *solução padrão A*, preparar a *solução de referência A₄* de acordo com a **Tabela 3**.

Procedimento: em tubos de ensaio, idênticos, de vidro neutro, incolor e transparente, com diâmetro externo de 12 mm, comparar 2,0 mL da amostra com 2,0 mL da *solução de referência A₄*. Observar as tonalidades à luz natural difusa, observar horizontalmente sobre fundo branco.

Tabela 2 – Volumes em mililitros das soluções.

<i>Solução padrão</i>	<i>Solução amarela</i>	<i>Solução vermelha</i>	<i>Ácido clorídrico a 10 g/L de HCl</i>
A (amarela)	2,4	0,6	7,0

Tabela 3 – Volume em mililitros das soluções de referência A.

<i>Solução de referência</i>	<i>Solução padrão A</i>	<i>Ácido clorídrico a 10 g/L de HCl</i>
A ₁	100,0	0,0
A ₂	75,0	25,0
A ₃	50,0	50,0
A ₄	25,0	75,0
A ₅	12,5	87,5
A ₆	5,0	95,0
A ₇	2,5	97,5

pH (5.2.19). 5,0 a 6,5. Se a solução contiver bicarbonato, o pH está compreendido entre 6,5 e 8,0.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Alumínio. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para alumínio (5.3.2.10)*. Utilizar o *Método I*. Máximo 10 µg/L. Medir 200 mL da amostra, ajustar para pH 6,0 usando solução 0,1 molar de ácido clorídrico ou solução 0,1 molar de hidróxido de sódio e adicionar 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0. A solução satisfaz ao ensaio limite do alumínio (10 µg/L). Utilizar como padrão uma

mistura de 1 mL de solução a 2 ppm de alumínio (Al), 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0 e 9 mL de água e como branco uma mistura de 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0 e 10 mL de água.

Hidroximetilfurfural. Medir um volume da amostra equivalente a 25 mg de glicose, adicionar 5,0 mL de solução de *p*-toluidina a 100 g/L em 2-propanol contendo 10% v/v de ácido acético glacial e em seguida, 1,0 mL de solução de ácido barbitúrico a 5 g/L. A absorvância (5.2.14) da solução, determinada em 550 nm após um repouso de dois a três minutos, não é superior à absorvância de um padrão preparado, simultaneamente e nas mesmas condições, com uma solução contendo 10 µg de hidroximetilfurfural no mesmo volume que o da solução problema. Se a solução contiver bicarbonato, utilizar como padrão uma solução contendo 20 µg de hidroximetilfurfural.

Contaminação por partículas (5.1.7.1). Utilizar o *Método I*. Realizar o ensaio das partículas não visíveis em 50 mL da amostra.

Tabela 4 - Número limite de partículas por mililitro.

<i>Partículas superiores a 10 µm</i>	<i>Partículas superiores a 25 µm</i>
25	3

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,05 UE/mL de amostra.

Nota: as soluções às quais não foi possível aplicar qualquer método validado de detecção de endotoxinas bacterianas, a amostra cumpre com o seguinte teste adicional.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 10 mL da amostra.

DOSEAMENTO

Sódio

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica (5.2.13.2)*. Utilizar o *Método II*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 200 ppm de sódio (Na).

Determinar a absorvância em 589,0 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de sódio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno. A amostra contém, no mínimo, 97,5% e, no máximo, 102,5% do teor de sódio (Na) indicado no rótulo.

Potássio

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica (5.2.13.1)*. Utilizar o *Método I*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado. A 100 mL da solução adicionar 10 mL de solução de cloreto de sódio a 22 g/L.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 100 ppm de potássio (K). A 100 mL de cada solução padrão adicionar 10 mL de solução de cloreto de sódio a 22 g/L.

Determinar a absorvância em 766,5 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de sódio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de potássio (K) indicado no rótulo.

Cálcio

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica (5.2.13.1)*. Utilizar o *Método I*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 400 ppm de cálcio (Ca).

Determinar a absorvância em 422,7 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de cálcio como fonte de radiação e uma chama de gás ar-propano ou ar-acetileno. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de cálcio (Ca) indicado no rótulo.

Magnésio

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica (5.2.13.1)*. Utilizar o *Método I*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 100 ppm de magnésio (Mg).

Determinar a absorvância em 285,2 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de magnésio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de magnésio (Mg) indicado no rótulo.

Cloreto total

Usar um volume exatamente medido da amostra correspondente a cerca de 60 mg de cloreto e completar para 50 mL com água. Adicionar 5 mL de ácido nítrico diluído, 25 mL de nitrato de prata 0,1 M e 2 mL de ftalato de dibutila e agitar. Titular com tiocianato de amônia 0,1 M em presença de 2 mL de solução de sulfato férrico amoniacal SR, até coloração amarela avermelhada. 1 mL de nitrato de prata 0,1 M corresponde a 3,545 mg de Cl. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de cloreto (Cl⁻) indicado no rótulo.

Acetato

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,7 mmol de acetato e adicionar 10,0 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M e construir a curva potenciométrica. Determinar o volume de hidróxido de sódio 0,1 M utilizado entre os dois pontos de inflexão. O volume de 1 mL de hidróxido de sódio 0,1 M corresponde a 0,1 mmol de acetato. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de acetato indicado no rótulo.

Lactato

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,7 mmol de lactato e adicionar 10,0 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Adicionar 50 mL de acetonitrila. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M e construir a curva potenciométrica. Determinar o volume de hidróxido de sódio 0,1 M utilizado entre os dois pontos de inflexão. O volume de 1 mL de hidróxido de sódio 0,1 M corresponde a 0,1 mmol de lactato. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de lactato indicado no rótulo.

Bicarbonato de sódio

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,1 g de bicarbonato de sódio. Titular com ácido clorídrico 0,1 M. Determinar o ponto de equivalência por potenciometria. O volume de 1 mL de ácido clorídrico 0,1 M corresponde a 8,40 mg de NaHCO₃. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de bicarbonato de sódio indicado no rótulo.

Lactato e bicarbonato

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector refratômetro diferencial; coluna de 0,30 m de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com resina trocadora de cátions (9 µm); mantida a 60 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto .

Fase móvel: ácido sulfúrico 0,005 M previamente desgaseificado com hélio;

Solução amostra: utilizar a amostra.

Solução padrão: dissolver, em água, quantidades exatamente pesadas de lactato e de bicarbonato e completar o volume para 100 mL de modo a obter concentrações próximas de 90%, 100% e 110% dos teores indicados no rótulo. A cromatografia pode ser realizada como descrito a seguir.

Procedimento: injetar em duplicata 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL de cada *Solução padrão*. Quando os cromatogramas são registrados nas condições prescritas, os picos são eluídos na ordem seguinte: lactato e depois bicarbonato. Determinar o teor da amostra em lactato e bicarbonato por interpolação da área sob o pico, para o lactato e da altura do pico, para o bicarbonato, a partir da reta de regressão linear obtida com as *Soluções padrão*. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de lactato ou de bicarbonato indicado no rótulo.

Açúcares redutores (expressos em glicose anidra).

Transferir para um erlenmeyer de 250 mL de boca esmerilhada um volume da amostra correspondente a 25 mg de glicose. Adicionar 25 mL de solução cupro-cítrica e alguns pedaços de pedra pomes. Adaptar um destilador de refluxo e levar à ebulição durante, exatamente, 10 minutos. Resfriar e adicionar 3 g de iodeto de potássio dissolvidos em 3 mL de água. Adicionar, com precaução e em pequenas porções de cada vez, 25 mL de solução de ácido sulfúrico a 25% p/p. Titular com tiosulfato

de sódio 0,1 M em presença de solução de amido SI adicionada perto do final da titulação. Fazer um ensaio em branco nas mesmas condições, utilizando 25,0 mL de água. Calcular o teor em açúcares redutores expresso em glicose anidra (C₆H₁₂O₆) utilizando os valores registrados na **Tabela 5**. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de glicose indicado no rótulo.

Tabela 5 – Correspondência entre volumes de tiosulfato de sódio 0,1 M e glicose anidra.

<i>Volume de tiosulfato de sódio 0,1 M (mL)</i>	<i>Glicose anidra (mg)</i>
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

ARMAZENAMENTO

Não armazenar em temperatura inferior a 4 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

O rótulo deve indicar: a fórmula da preparação, expressa em gramas por litro e em milimoles por litro; a osmolalidade calculada, expressa em miliosmoles por litro; o volume nominal da solução no recipiente; que a solução está isenta de endotoxinas bacterianas e apirogênica; as condições de conservação e que as quantidades não utilizadas são desprezadas.

14.2 REAGENTES E SOLUÇÕES REAGENTES

Ácido metoxifenilacético

CAS – [7021-09-2]

Fórmula e massa molecular – C₉H₁₀O₃ – 166,2

Sinonímia – (RS)-2-Metoxi-2-ácido fenilacético.

Descrição – Pó branco e cristalino ou cristais brancos ou quase brancos.

Característica física – ponto de fusão: aproximadamente 70 °C.

Solubilidade – Pouco solúvel em água, muito solúvel em etanol (96%).

Amarelo de titânio

Schultz n. 280. Colour Index n. 19.540.

Sinonímia – Amarelo de tiazol. 2,2'-[(1-Triazeno-1,3-diil)di-4,1-fenileno] bis[6-metilbenzotiazol-7-sulfonato] dissódico.

Fórmula e massa molecular – C₂₈H₁₉N₅Na₂O₆S₄ – 696,0

Descrição – Pó castanho-amarelado.

Solubilidade – Facilmente solúvel em água e em álcool.

Conservação – Em recipiente fechados.

Amarelo de titânio SI

Especificação – Solução de amarelo de titânio a 0,5 g/L.

Ensaio de sensibilidade – A 0,1 mL da amostra adicionar 10 mL de água, 0,2 mL de solução a 10 ppm de magnésio (Mg) e 1,0 mL de hidróxido de sódio *M*. A solução é nitidamente rósea, comparada com uma solução padrão sem magnésio, preparada simultaneamente e nas mesmas condições.

Amarelo de titânio, papel

Preparação – Mergulhar tiras de papel de filtro na solução de amarelo de titânio, deixar em contato durante alguns minutos e, depois, deixar secar em temperatura ambiente.

Glioxal-hidroxianil

CAS – [1149-16-2]

Sinonímia – Glioxal di(2-hidroxianil).

Fórmula e massa molecular – $C_{14}H_{12}N_2O_2$ – 240,3

Descrição – Cristais brancos ou quase brancos.

Característica física – Temperatura de fusão: aproximadamente 200 °C.

Solubilidade – Solúvel em etanol a 96% quente.

Nitrato de lantânio

CAS – [10277-43-7]

Sinonímia – Trinitrato de lantânio hexa-hidratado.

Fórmula e massa molecular – $La(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ – 433,0

Descrição – Cristais incolores, deliquescentes.

Solubilidade – Facilmente solúvel em água.

Conservação – Em recipiente fechados.

Nitrato de lantânio SR

Especificação – Solução de nitrato de lantânio a 50 g/L.

Reagente metoxifenilacético

Preparação – Dissolver 2,7 g de ácido metoxifenilacético em 6 mL de solução de hidróxido tetrametilamônio e adicionar 20 mL de etanol absoluto.

Armazenamento – Em recipiente de polietileno.

Solução de hidróxido tetrametilamônio

Especificação – Contém no mínimo 10% p/p de hidróxido de tetrametilamônio.

Descrição – Líquido claro, incolor ou amarelo claro.

Miscibilidade – Miscível em água e em etanol (96%).

Preparação – A 1,000 g adicionar 50 mL de água e titular com ácido sulfúrico 0,05 *M*, utilizando 0,1 mL de solução de vermelho de metila como indicador. 1 mL de ácido sulfúrico 0,05 *M* é equivalente a 9,12 mg de $C_4H_{13}NO$.

Solução reagente cupro-cítrico

Preparação – Dissolver 25 g de sulfato de cobre; 50 g de ácido cítrico e 144 g de carbonato de sódio anidro em água e diluir para 1000 mL com água.

SOLUÇÕES PARA HEMOFILTRAÇÃO E HEMODIAFILTRAÇÃO Soluciones ad haemocolaturam haemodiacolaturamque

As soluções para hemofiltração e para hemodiafiltração são preparações estéreis e apirogênicas para uso parentérico contendo eletrólitos em concentrações próximas a do plasma humano. A glicose pode fazer parte da formulação.

Devem ser fornecidas em recipientes de material plástico, rígido ou semirrígido; recipientes de material plástico flexível, contidos em invólucros protetores fechados, ou recipientes de vidro.

Os recipientes fabricados de material plástico e suas tampas satisfazem às exigências para *Recipientes plásticos (6.2)* e *Tampas de elastômero (6.2.2)*.

Para hemofiltração e hemodiafiltração são utilizadas as formulações registradas na **Tabela 1**, com os respectivos limites de concentrações por litro de solução.

Tabela 1 - Concentração dos componentes por litro de solução.

<i>Componentes da solução</i>	<i>Concentração em mmol/L</i>	<i>Concentração em mEq/L</i>
<i>Sódio</i>	125-150	125-150
<i>Potássio</i>	0-4,5	0-4,5
<i>Cálcio</i>	1,0-2,5	2,0-5,0
<i>Magnésio</i>	0,25-1,5	0,50-3,0
<i>Acetato, lactato ou bicarbonato</i>	30-60	30-60
<i>Cloreto</i>	90-120	90-120
<i>Glicose</i>	0-25	

Quando a fórmula inclui o bicarbonato, a solução de bicarbonato de sódio está contida em um recipiente ou compartimento separado e é misturada com a solução eletrolítica imediatamente antes da utilização.

Em hemofiltração e hemodiafiltração podem igualmente utilizar-se as formulações registradas na **Tabela 2**, com os respectivos limites de concentrações por litro de solução.

Tabela 2 - Concentração dos componentes por litro de solução.

<i>Componentes da solução</i>	<i>Concentração em mmol/L</i>	<i>Concentração em mEq/L</i>
<i>Sódio</i>	130-167	130-167
<i>Potássio</i>	0-4,0	0-4,0
<i>Bicarbonato</i>	20-167	20-167
<i>Cloreto</i>	0-147	0-147

Às soluções não são adicionadas nenhum antioxidante como, por exemplo, sais de metabissulfito.

IDENTIFICAÇÃO

Segundo a sua composição, a amostra responde às reações de identificação relacionadas a seguir.

A. Potássio: reação 2 (5.3.1.1).

B. Cálcio: a 0,2 mL da solução prescrita adicionar 0,5 mL de uma solução 2 g/L de glioxal-hidroxilân timer em etanol a 96% SR, 0,2 mL de hidróxido de sódio diluído SR e 0,2 mL de solução de carbonato de sódio SR. Agitar com 1 mL a 2 mL de clorofórmio e adicionar 1 mL a 2 mL de água. A fase de clorofórmio torna-se avermelhada.

C. Sódio: utilizar 0,5 mL da solução. Adicionar 1,5 mL de reagente metoxifenilacético e resfriar em água gelada por 30 minutos. Um precipitado cristalino branco volumoso é formado. Colocar em água a 20 °C e agitar por cinco minutos. O precipitado não desaparece. Adicionar 1 mL de amônia SR 6 M. O precipitado dissolve-se completamente. Adicionar 1 mL de solução de carbonato de amônio SR. Não se forma nenhum precipitado.

D. Cloreto: reação 1 (5.3.1.1).

E. Se a solução não contiver glicose, responde à seguinte reação do acetato: utilizar 3 mL da solução prescrita. Adicionar, sucessivamente, 0,25 mL de solução de nitrato de lantân timer, 0,1 mL de iodo 0,05 M e 0,05 mL de amônia SR. Aquecer, cuidadosamente, à ebulição. Em poucos minutos aparece um precipitado azul ou uma coloração azul escura. Se a solução contiver glicose, responde à seguinte reação: em um tubo de ensaio com rolha e um tubo curvo, adicionar 5 mL da amostra e 1 mL de ácido clorídrico; aquecer e recolher alguns mililitros do destilado. Nesse, realizar a reação descrita anteriormente para a solução que não contenha glicose.

F. Lactato (5.3.1.1).

G. Carbonato e bicarbonato (5.3.1.1).

H. Magnésio: a 0,1 mL de amarelo de titân timer SR adicionar 10 mL de água, 2 mL da amostra e 1 mL de hidróxido de sódio M. Desenvolve-se coloração rósea.

I. Glicose: a 5 mL da amostra adicionar 2 mL de solução diluída de hidróxido de sódio e 0,05 mL de solução de sulfato de cobre. A solução fica azul. Aqueça à ebulição; forma-se um abundante precipitado vermelho.

CARACTERÍSTICAS

Aspecto da solução. A amostra é límpida (5.2.25). Se não contiver glicose, é incolor (5.2.12); se contiver glicose não é mais corada que a solução de referência A₇, preparada como descrito a seguir.

Solução de referência A₇: preparar solução padrão A (amarela) conforme indicado na **Tabela 3** a partir das soluções base de cloreto de cobalto (vermelha) e de cloreto férrico (amarela) (5.2.12). A partir da solução padrão A, preparar a solução de referência A₇ de acordo com a **Tabela 4**.

Procedimento: em tubos de ensaio, idênticos, de vidro neutro, incolor e transparente, com diâmetro externo de 12 mm, comparar 2,0 mL da amostra com 2,0 mL da solução de referência A₇. Observar as tonalidades à luz natural difusa, observar horizontalmente sobre fundo branco.

Tabela 3 – Volumes em mililitros das soluções.

<i>Solução padrão</i>	<i>Solução amarela</i>	<i>Solução vermelha</i>	<i>Ácido clorídrico a 10 g/L de HCl</i>
A (amarela)	2,4	0,6	7,0

Tabela 4 – Volume em mililitros das soluções de referência A.

<i>Solução de referência</i>	<i>Solução padrão A</i>	<i>Ácido clorídrico a 10 g/L de HCl</i>
A ₁	100,0	0,0
A ₂	75,0	25,0
A ₃	50,0	50,0
A ₄	25,0	75,0
A ₅	12,5	87,5
A ₆	5,0	95,0
A ₇	2,5	97,5

pH (5.2.19). Se a amostra contiver glicose, o pH está compreendido entre 4,5 e 6,5. Se a amostra contiver bicarbonato, o pH está compreendido entre 7,0 e 8,5. Se a amostra contiver glicose e bicarbonato, o pH está compreendido entre 5,0 a 7,5.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Alumínio. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para alumínio (5.3.2.10)*. Utilizar o *Método I*. Máximo 10 µg/L. Usar 200 mL da amostra, ajustar para pH 6,0 usando solução 0,1 M de ácido clorídrico ou solução 0,1 M de hidróxido de sódio e adicionar 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0. A solução satisfaz ao ensaio limite do alumínio (10 µg/L). Utilizar como padrão uma mistura de 1 mL de solução a 2 ppm de alumínio (Al); 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0 e 9 mL de água e como branco uma mistura de 10 mL de solução tampão de acetato de pH 6,0 e 10 mL de água.

Hidroximetilfurfural. Usar um volume da amostra equivalente a 25 mg de glicose, adicionar 5,0 mL de solução de *p*-toluidina a 100 g/L em 2-propanol contendo 10% v/v de ácido acético glacial e, em seguida, 1,0 mL de solução de ácido barbitúrico a 5 g/L. A absorvância (5.2.14) da solução, determinada em 550 nm após um repouso de dois a três minutos, não é superior à absorvância de um padrão preparado, simultaneamente e nas mesmas condições, com uma solução contendo 10 µg de hidroximetilfurfural no mesmo volume que o da solução problema. Se a solução contiver bicarbonato, utilizar como padrão uma solução contendo 20 µg de hidroximetilfurfural.

Contaminação por partículas (5.1.7.1). Utilizar o *Método I*. Realizar o ensaio das partículas não visíveis em 50 mL da amostra.

Tabela 5 – Número limite de partículas por mililitro.

<i>Partículas superiores a 10 µm</i>	<i>Partículas superiores a 25 µm</i>
25	3

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,05 UE/mL de amostra.

Nota: as soluções às quais não foi possível aplicar qualquer método validado de detecção de endotoxinas bacterianas, a amostra cumpre com o seguinte teste adicional.

Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 10 mL da amostra.

DOSEAMENTO

Sódio

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de emissão atômica (5.2.13.2)*. Utilizar o *Método II*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 200 ppm de sódio (Na).

Determinar a absorvância em 589,0 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de sódio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno. A amostra contém, no mínimo, 97,5% e, no máximo, 102,5% do teor de sódio (Na) indicado no rótulo.

Potássio

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica (5.2.13.1)*. Utilizar o *Método I*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado. A 100 mL da solução adicionar 10 mL de solução de cloreto de sódio a 22 g/L.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 100 ppm de potássio (K). A 100 mL de cada solução padrão adicionar 10 mL de solução de cloreto de sódio a 22 g/L.

Determinar a absorvância em 766,5 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de sódio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de potássio (K) indicado no rótulo.

Cálcio

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica (5.2.13.1)*. Utilizar o *Método I*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 400 ppm de cálcio (Ca).

Determinar a absorvância em 422,7 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de cálcio como fonte de radiação e uma chama de gás ar-propano ou ar-acetileno. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de cálcio (Ca) indicado no rótulo.

Magnésio

Proceder conforme descrito em *Espectrometria de absorção atômica (5.2.13.1)*. Utilizar o *Método I*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: se necessário, diluir a amostra com água de modo a obter uma diluição apropriada para o aparelho utilizado.

Soluções padrão: preparar as soluções padrão a partir da solução a 100 ppm de magnésio (Mg).

Determinar a absorvância em 285,2 nm, utilizando uma lâmpada de cátodo oco de magnésio como fonte de radiação e uma chama de ar-propano ou ar-acetileno. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de magnésio (Mg) indicado no rótulo.

Cloreto total

Usar um volume, exatamente medido, da amostra correspondente a cerca de 60 mg de cloreto e completar para 50 mL com água. Adicionar 5 mL de ácido nítrico diluído, 25 mL de nitrato de prata 0,1 M e 2 mL de ftalato de dibutila e agitar. Titular com tiocianato de amônia 0,1 M em presença de 2 mL de sulfato férrico amoniacal SR até coloração amarela avermelhada. 1 mL de nitrato de prata 0,1 M corresponde a 3,545 mg de Cl⁻. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de cloreto (Cl⁻) indicado no rótulo.

Acetato

Tomar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,7 mmol de acetato e adicionar 10,0 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M e construir a curva potenciométrica. Determinar o volume de hidróxido de sódio 0,1 M utilizado entre os dois pontos de inflexão. 1 mL de hidróxido de sódio 0,1 M corresponde a 0,1 mmol de acetato. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de acetato indicado no rótulo.

Lactato

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,7 mmol de lactato e adicionar 10,0 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Adicionar 50 mL de acetonitrila. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M e construir a curva potenciométrica. Determinar o volume de hidróxido de sódio 0,1 M utilizado entre os dois pontos de inflexão. 1 mL de hidróxido de sódio 0,1 M corresponde a 0,1 mmol de lactato. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de lactato indicado no rótulo.

Bicarbonato de sódio

Usar um volume da amostra correspondente a cerca de 0,1 g de bicarbonato de sódio. Titular com ácido clorídrico 0,1 M. Determinar o ponto de equivalência por potenciometria. 1 mL de ácido clorídrico 0,1 M corresponde a 8,40 mg de NaHCO₃. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de bicarbonato de sódio indicado no rótulo.

Lactato e bicarbonato

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector refratômetro diferencial; coluna de 0,30 m de comprimento e 7,8 mm de diâmetro interno, empacotada com resina trocadora de cátions (9 µm); mantida a 60 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto .

Fase móvel: ácido sulfúrico 0,005 M previamente degaseificado com hélio;

Solução amostra: utilizar a amostra.

Solução padrão: em 100 mL de água, dissolver quantidades exatamente pesadas de lactato e de bicarbonato de modo a obter concentrações próximas de 90%, 100% e 110% dos teores indicados no rótulo. A cromatografia pode ser realizada de acordo com o *Procedimento* a seguir.

Procedimento: injetar em duplicata 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL de cada *Solução padrão*. Quando os cromatogramas são registrados nas condições prescritas, os picos são eluídos na ordem seguinte: lactato e depois bicarbonato. Determinar o teor da amostra em lactato e bicarbonato por interpolação da área sob o pico, para o lactato e da altura do pico, para o bicarbonato, a partir da reta de regressão linear obtida com as *Soluções padrão*. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de lactato ou de bicarbonato indicado no rótulo.

Açúcares redutores (expressos em glicose anidra)

Para um erlenmeyer de 250 mL de boca esmerilhada transferir um volume da amostra correspondente a 25 mg de glicose. Adicionar 25 mL de solução cupro-cítrica e alguns pedaços de pedra pomes. Adaptar um destilador de refluxo e levar à ebulição durante exatamente 10 minutos. Resfriar e adicionar 3 g de iodeto de potássio dissolvidos em 3 mL de água. Adicionar, com precaução e em pequenas porções de cada vez, 25 mL de solução de ácido sulfúrico a 25% p/p. Titular com tiossulfato de sódio 0,1 M em presença de solução de amido SI adicionada perto do final da titulação. Fazer um ensaio em branco nas mesmas condições, utilizando 25,0 mL de água. Calcular o teor em açúcares redutores expresso em glicose anidra (C₆H₁₂O₆) utilizando a **Tabela 6**. A amostra contém, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% do teor de glicose indicado no rótulo.

Tabela 6 – Correspondência entre tiossulfato de sódio 0,1 M e glicose anidra.

<i>Volume de tiossulfato de sódio 0,1 M (mL)</i>	<i>Glicose anidra (mg)</i>
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

ARMAZENAMENTO

Não armazenar em temperatura inferior a 4 °C.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente. No rótulo deve constar a fórmula da preparação, expressa em gramas por litro e em milimoles por litro; a osmolalidade calculada, expressa em miliosmoles por litro; o volume nominal da solução no recipiente; que a solução está isenta de endotoxinas bacterianas e apirogênica; as condições de conservação e que as quantidades não utilizadas são desprezadas.

14.2 REAGENTES E SOLUÇÕES REAGENTES

Ácido metoxifenilacético

CAS – [7021-09-2]

Fórmula e massa molecular – $C_9H_{10}O_3$ – 166,2

Sinonímia – (RS)-2-Methoxi-2-ácido fenilacético.

Descrição – Pó branco e cristalino ou cristais brancos ou quase brancos.

Característica física – ponto de fusão: aproximadamente 70 °C.

Solubilidade – Pouco solúvel em água, muito solúvel em etanol (96%).

Amarelo de titânio

Schultz n. 280. Colour Index n. 19 540.

Sinonímia – Amarelo de tiazol. 2,2'-[(1-Triazeno-1,3-diil)di-4,1-fenileno] bis[6-metilbenzotiazol-7-sulfonato] dissódico.

Fórmula e massa molecular – $C_{28}H_{19}N_5Na_2O_6S_4$ – 696,0

Descrição – Pó castanho-amarelado.

Solubilidade – Facilmente solúvel em água e em álcool.

Conservação – Em recipiente fechados.

Amarelo de titânio SI

Especificação – Solução de amarelo de titânio a 0,5 g/L.

Ensaio de sensibilidade – A 0,1 mL da amostra, adicionar 10 mL de água, 0,2 mL de solução a 10 ppm de magnésio (Mg) e 1,0 mL de hidróxido de sódio *M*. A solução é nitidamente rósea, comparada com uma solução padrão sem magnésio, preparada simultaneamente e nas mesmas condições.

Amarelo de titânio, papel

Preparação – Mergulhar tiras de papel de filtro na solução de amarelo de titânio, deixar em contato durante alguns minutos e, depois, deixar secar em temperatura ambiente.

Glioxalhidroxianil

CAS – [1149-16-2]

Sinonímia – Glioxal di(2-hidroxianil).

Fórmula e massa molecular – $C_{14}H_{12}N_2O_2$ – 240,3

Descrição – Cristais brancos ou quase brancos.

Característica física – Temperatura de fusão: aproximadamente 200 °C.

Solubilidade – Solúvel em etanol a 96% quente.

Nitrato de lantânio

CAS – [10277-43-7]

Sinonímia – Trinitrato de lantânio hexa-hidratado.

Fórmula e massa molecular – $La(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ – 433,0

Descrição – Cristais incolores, deliquescentes.

Solubilidade – Facilmente solúvel na água.

Conservação – Em recipiente fechados.

Nitrato de lantânio SR

Especificação – Solução de nitrato de lantânio a 50 g/L.

Reagente metoxifenilacético

Preparação – Dissolver 2,7 g de ácido metoxifenilacético em 6 mL de solução de hidróxido tetrametilamônio e adicionar 20 mL de etanol absoluto.

Armazenamento – Em um recipiente de polietileno.

Solução de hidróxido tetrametilamônio

Especificação – Contém no mínimo 10% m/m de hidróxido de tetrametilamônio.

Descrição – Líquido claro, incolor ou amarelo claro.

Miscibilidade – Miscível em água e em etanol (96%).

Preparação – A 1,000 g adicionar 50 mL de água e titular com ácido sulfúrico 0,05 M, utilizando 0,1 mL de solução de vermelho de metila como indicador. 1 mL de ácido sulfúrico 0,05 M é equivalente a 9,12 mg de C₄H₁₃NO.

Solução reagente cupro-cítrico

Preparação – Dissolver 25 g de sulfato de cobre, 50 g de ácido cítrico e 144 g de carbonato de sódio anidro em água e diluir para 1000 mL com água.

SOLUÇÕES PARA IRRIGAÇÃO **Soluciones ad irrigationem**

As soluções para irrigação são soluções aquosas de grande volume, estéreis, para serem usadas para a irrigação de cavidades corporais, feridas e superfícies, por exemplo, durante intervenções cirúrgicas.

As soluções para irrigação podem ser soluções preparadas dissolvendo um ou mais princípios ativos, eletrólitos ou substâncias osmoticamente ativas em água que satisfaça os requisitos da monografia *Água para injetáveis*, ou podem ser compostas dessa água somente. Nesse último caso, a solução pode ser etiquetada como *Água para irrigação*. As soluções para irrigação são geralmente ajustadas para que sejam isotônicas com o sangue.

Quando examinadas sob condições visuais adequadas, as soluções para irrigação são praticamente isentas de partículas.

As soluções para irrigação são apresentadas em recipiente para dose única. Os recipientes e suas tampas devem satisfazer as exigências da monografia *Envases para preparações de uso parenteral* em conformidade com as farmacopeias reconhecidas.

O orifício de administração do recipiente é incompatível com os equipamentos de administração intravenosa e impedem que as soluções para irrigação possam ser administradas utilizando esses equipamentos.

PRODUÇÃO

As soluções para irrigação são fabricadas empregando produtos e métodos que garantam a esterilidade e evitem a introdução de contaminantes e o crescimento de microrganismos; podem ser encontradas recomendações sobre isso no texto *Métodos de preparação de produtos estéreis (7)*. Durante o desenvolvimento deve ser demonstrado que o conteúdo nominal pode ser retirado do recipiente.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,5 UE/mL de amostra.

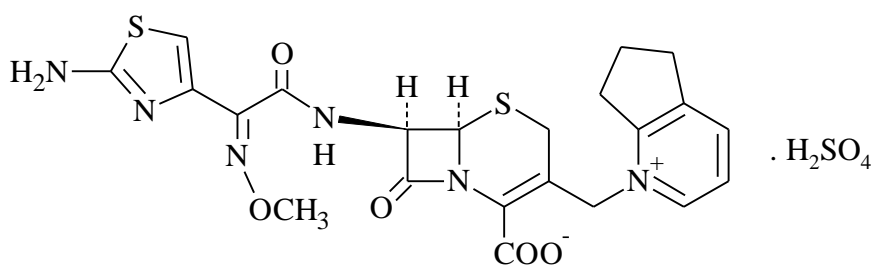
Pirogênios (5.5.2.1). Cumpre o teste. Injetar em cada coelho, por quilograma de massa corporal, 10 mL da amostra.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente. No rótulo deve constar que a preparação não deve ser utilizada para uso parenteral, que a preparação deve ser utilizada uma só vez e que qualquer fração não utilizada deve ser descartada.

SULFATO DE CEFPIROMA

Cefpiromum sulfas



$C_{22}H_{22}N_6O_5S_2 \cdot H_2SO_4$; 612,66

sulfato de cefpiroma; 01887

Sulfato de [6R-[6 α ,7 β (Z)]]-1-[[7-[(2-amino-4-tiazolil)(metóxi-imino)acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4,2,0]octo-2-en-3-il]metil]-6,7-diidro-5H-ciclopenta[b]piridinium.

[98753-19-6]

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,0% de $C_{22}H_{22}N_6O_5S_2 \cdot H_2SO_4$, em relação à base anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou amarelo pálido.

Solubilidade. Solúvel em água, álcool etílico e em metanol.

Constantes físico-químicas.

Poder rotatório específico (5.2.8): -27° a -32° , em relação à substância anidra. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação A. pode ser omitido se forem realizados os testes B. e C.

Os testes de identificação B. e C. podem ser omitidos se for realizado o teste A.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada a 60°C , a vácuo, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativos daqueles observados no espectro de sulfato de cefpiroma SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0015% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 M, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de sulfato de cefpiroma SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método B de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Responde às reações do íon sulfato (5.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 1,6 a 2,6. Determinar em solução aquosa a 1% (p/V).

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **B.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 30 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 4,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: injetar 20 μL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente, é, no máximo, 1,0% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,3% da área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Água (5.2.20.1). No máximo 2%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,2 %.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Quando for indicado no rótulo que a substância é estéril, a amostra cumpre com os testes de Esterilidade e Endotoxinas bacterianas. Quando for indicado que a substância deve ser esterilizada durante a produção de preparações estéreis, a amostra cumpre com o teste de Endotoxinas bacterianas.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração por membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,1 UE/mg de sulfato de cefpiroma.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar, com exatidão, cerca de 30 mg da amostra e dissolver em ácido clorídrico 0,1 M. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 M, até concentração de 0,0015% (p/v). Preparar *solução padrão* na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 271 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 M para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{22}H_{22}N_6O_5S_2 \cdot H_2SO_4$ na amostra, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 265 nm; coluna de 250 mm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 25 °C, fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: água: metanol (70:30).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 30 mg da amostra para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir 4,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: preparar uma solução a 12 µg/mL de sulfato de cefpiroma SQR em água.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Soluções padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular o teor de $C_{22}H_{22}N_6O_5S_2 \cdot H_2SO_4$ na amostra a partir das respostas obtidas com as *Soluções padrão* e *Soluções amostra*.

C. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar (5.5.3.3.1)*, utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio de cultura número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo; meio de cultura número 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 24 mg da amostra e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir,

sucessivamente, até concentrações de 0,36 µg/mL, 0,72 µg/mL e 1,44 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de sódio 0,1 M, estéril, pH 8,0* como diluente.

Solução padrão: pesar, exatamente, o equivalente a 24 mg de sulfato de cefpiroma SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir para obter concentrações de 0,36 µg/mL, 0,72 µg/mL e 1,44 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de sódio 0,1 M, estéril, pH 8,0* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 2% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar (5.5.3.3.1)*, utilizando cilindros, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de sulfato de cefpiroma por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, protegidos da luz e em temperatura entre 2 °C e 8 °C.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antibiótico.

SULFATO DE CEFPIROMA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL

Contém sulfato de cefpiroma equivalente a, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de cefpiroma (C₂₂H₂₂N₆O₅S₂).

IDENTIFICAÇÃO

O teste de identificação A. pode ser omitido se forem realizados os testes B. e C. Os testes de identificação B. e C. podem ser omitidos se for realizado o teste A.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada a 60 °C, a vácuo, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulfato de cefpiroma SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de solução a 0,0012% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 M, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de sulfato de cefpiroma SQR.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida no método B de *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

D. Responde às reações do íon sulfato (5.3.1.1).

CARACTERÍSTICAS

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste. Determinar no frasco do diluente.

pH (5.2.19). 5,5 a 7,5. Determinar após reconstituição da amostra com o diluente.

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito no método **C.** de *Doseamento*. Preparar a *Solução amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir, exatamente, o equivalente a 25 mg de cefpiroma para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir 4,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: injetar 20 µL da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob todos os picos obtidos. A soma das áreas sob os picos secundários, exceto a do pico do solvente é, no máximo, 1,5% da área sob o pico principal. Nenhuma área é maior que 0,5% da área sob o pico principal. Não incluir nos cálculos os picos relativos ao solvente.

Água (5.2.20.1). No máximo 2,5%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste. Proceder conforme descrito em *Método de filtração por membrana*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 0,1 UE/mg de cefpiroma.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Pesar, exatamente, o equivalente a 24 mg de cefpiroma e dissolver em ácido clorídrico 0,1 M. Completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico 0,1 M, até concentração de 0,0012% (p/v). Preparar *solução padrão* na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 271 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 M para ajuste do zero. Calcular o teor de C₂₂H₂₂N₆O₅S₂ no pó para solução injetável, a partir das leituras obtidas.

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 265 nm; coluna de 250 mm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 25 °C, fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel: água: metanol (70:30).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de quantidade de amostra equivalente a 25 mg de cefpiroma para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água e homogeneizar. Transferir 4,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução padrão: preparar uma solução a 10 µg/mL de cefpiroma SQR em água.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular o teor de cefpiroma (C₂₂H₂₂N₆O₅S₂) no pó para solução injetável a partir das respostas obtidas com a *Solução padrão* e *Solução amostra*.

C. Proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar (5.5.3.3.1)*, utilizando cilindros.

Micro-organismo: *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

Meios de cultura: meio de cultura número 1, para manutenção do micro-organismo; solução salina estéril, para padronização do inóculo; meio de cultura número 11, para a camada base e preparação do inóculo.

Solução amostra: misturar os conteúdos de 10 unidades. Transferir quantidade do pó equivalente a 20 mg de cefpiroma para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, para obter concentrações de 0,3 µg/mL, 0,6 µg/mL e 1,2 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de sódio 0,1 M, estéril, pH 8,0* como diluente.

Solução padrão: pesar, exatamente, o equivalente a 20 mg de cefpiroma SQR e transferir para balão volumétrico de 100 mL com auxílio de água. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Diluir, para obter concentrações de 0,3 µg/mL, 0,6 µg/mL e 1,2 µg/mL, utilizando *Tampão fosfato de sódio 0,1 M, estéril, pH 8,0* como diluente.

Procedimento: adicionar 20 mL de meio número 11 em cada placa, esperar solidificar, adicionar 5 mL de inóculo a 2% e proceder conforme descrito em *Ensaio microbiológico de antibióticos por difusão em ágar (5.5.3.3.1)*, utilizando cilindros, adicionando aos cilindros, 0,2 mL das soluções recentemente preparadas. Calcular a potência da amostra, em µg de cefpiroma por miligrama, a partir da potência do padrão e das respostas obtidas com a *Solução padrão* e com a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, protegidos da luz e em temperatura inferior a 25 °C.

ROTULAGEM

Observar legislação vigente.

SULFATO DE ZINCO

Zinc sulphate

ZnSO₄; 159,44
ZnSO₄.H₂O; 177,45
ZnSO₄.7H₂O; 285,54
sulfato de zinco; 08174
Sulfato de zinco
[7733-02-0]
sulfato de zinco monoidratado; 08175
Sulfato de zinco monoidratado
[7446-19-7]
sulfato de zinco heptaidratado; 09533
Sulfato de zinco heptaidratado
[7446-20-0]

Sulfato de zinco contém uma, seis ou sete moléculas de água de hidratação. A monoidratada contém, no mínimo, 89,0% e, no máximo, 90,4% de ZnSO₄, correspondendo a, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de ZnSO₄.H₂O. A heptaidratada contém, no mínimo, 55,6% e, no máximo, 61,0% de ZnSO₄, correspondendo a, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 108,7% de ZnSO₄.7H₂O.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco a quase branco ou pó cristalino transparente, eflorescente.

Solubilidade. Muito solúvel em água, praticamente insolúvel em álcool etílico

IDENTIFICAÇÃO

A. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* a 5% (p/v) satisfaz às reações de sulfato (**5.3.1.1**).

B. A preparação obtida em *Aspecto da preparação* a 5% (p/v) satisfaz às reações do íon zinco (**5.3.1.1**).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. A preparação aquosa a 5% (p/v) é límpida (**5.2.25**) e incolor (**5.2.12**).

pH (5.2.9). 4,4 a 5,6. Determinar em solução aquosa a 5% (p/v).

Acidez. Uma solução contendo o equivalente a 28 mg de ZnSO₄ por mL não desenvolve coloração rósea em presença de alaranjado de metila SI.

Arsênio (5.3.2.5). Utilizar o *Método espectrofotométrico, Método I*. Dissolver quantidade equivalente da amostra a 215 mg de ZnSO₄ em 35 mL de água. No máximo 0,0014% (14 ppm).

Cloretos (5.3.2.1). Determinar em 5,5 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*, diluídos em balão de 25 mL. No máximo 0,03% (300 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Determinar em 2,0 mL da preparação obtida em *Aspecto da preparação*. No máximo 0,01% (100 ppm).

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em *Titulações complexométricas (5.3.3.4)* para zinco. Determinar em 200 mg da amostra. Fazer prova em branco e correções, se necessário.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes não metálicos, hermeticamente fechados.

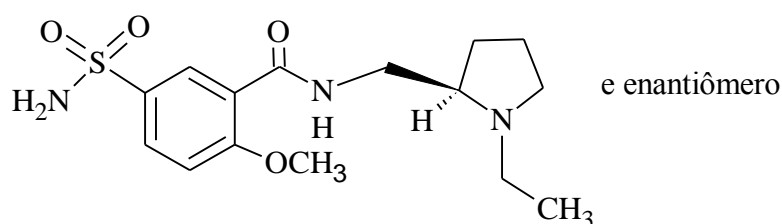
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CATEGORIA

Matéria-prima para preparações adstringentes, suplemento de zinco e para aplicações em ensaios analíticos.

SULPIRIDA Sulpiridum



$C_{15}H_{23}N_3O_4S$; 341,43

sulpirida; 08210

(RS)-5-(Aminossulfonil)-N-[(1-etil-2-pirrolidini)metil]-2-metoxibenzamida
[15676-16-1]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino de coloração branca ou quase branca.

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, fracamente solúvel em metanol, pouco solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções de ácidos minerais e soluções de hidróxidos alcalinos.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 177 °C a 181 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de sulpirida SQR, preparado de maneira idêntica.

B. A mancha principal do cromatograma da *Solução (2)*, obtida em *Substâncias relacionadas*, quando observada sob lâmpada UV a 254 nm, corresponde em posição e intensidade àquela mancha principal obtida com a *Solução (3)*.

C. Dissolver 1 mg da amostra em 0,5 mL de ácido sulfúrico e 0,05 mL de formaldeído. Apresenta intensa fluorescência azul, quando observada sob luz ultravioleta em 365 nm.

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da preparação. Dissolver 1,0 g da amostra em 10 mL de ácido acético glacial. A preparação é límpida (5.2.25) e sua coloração tem intensidade máxima igual a *Solução Padrão de cor F (5.2.12)*.

Substâncias relacionadas.

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando placa de sílica gel F₂₅₄ como suporte e mistura de amônia, dioxano, metanol e cloreto de metileno (2:10:14:90) como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): dissolver 0,2 g da amostra em metanol e diluir para 10 mL com o mesmo solvente. Deixar em ultrassom até completa dissolução e homogeneizar.

Solução (2): diluir 1 mL da *Solução (1)* para 10 mL com metanol e homogeneizar.

Solução (3): dissolver 20 mg de sulpirida SQR em metanol, diluir para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (4): dissolver 5 mg de sulpirida impureza A em metanol, diluir para 25 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução (5): diluir 1 mL da *Solução (4)* para 10 mL com metanol e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma em 10 cm de placa. Secar a placa a temperatura ambiente. Observar sob lâmpada UV a 254 nm para *Identificação B*. Nebulizar com solução de ninidrina SR, aquecer a 100 °C até 105 °C por 15 minutos e examinar. No cromatograma obtido com a *Solução (1)*, qualquer mancha correspondente à impureza A não é mais intensa que a mancha obtida com a *solução (5)* (0,1%).

B. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica-gel quimicamente ligada ao grupamento octilsilano (5 µm), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Tampão fosfato de potássio monobásico pH 3,3: Pesar, com exatidão, cerca de 6,8 g de fosfato de potássio monobásico e 1 g de octanosulfonato de sódio, diluir em 1000 mL de água e ajustar o pH em 3,3 com auxílio de ácido fosfórico R.

Fase móvel: mistura de fosfato de potássio monobásico pH 3,3, acetonitrila e metanol (80:10:10).

Solução amostra: transferir, quantitativamente, cerca de 0,1 g da amostra para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão (1): transferir 3 mL da *Solução amostra* para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução padrão (2): transferir, quantitativamente, cerca de 10 mg de sulpirida SQR e 10 mg de sulpirida impureza B para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

A resolução entre os picos da impureza B e da sulpirida, na *Solução padrão (2)*, deve ser maior que 2,5.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução amostra* e *Solução padrão (1)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. O somatório dos picos referentes às impurezas obtidas no cromatograma da *Solução amostra* é no máximo igual o pico principal obtido com a *Solução padrão (1)* (0,3%).

Cloretos (5.3.2.1). Dissolver 1,0 g da amostra em 20 mL de água. Filtrar em filtro de vidro com porosidade entre 16 – 40 µm. Pipetar 10 mL do filtrado e diluir para 15 mL com água. A solução satisfaz ao *Ensaio limite para cloretos*. No máximo, 0,01% (100 ppm).

Ferro (5.3.2.4). Incinerar 1,0 g da amostra. Adicionar 1 mL de ácido clorídrico *M*, 3 mL de água e 0,1 mL de ácido nítrico. Aquecer em banho-maria por alguns minutos. Transferir a solução para um tubo de ensaio. Lavar o recipiente com 4 mL de água e transferir para o tubo de ensaio, diluir para 10 mL com água. Proceder conforme descrito em *Ensaio limite para ferro, Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm)

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g de amostra. Dessecar em estufa a 105 °C. No máximo 0,5%.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método III*. No máximo 0,001% (10 ppm).

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g de amostra. No máximo 0,1%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

Proceder conforme descrito em Titulações em meio não aquoso (5.3.3.5). Dissolver 0,25 g da amostra em 80 mL de ácido acético glacial e titular com ácido perclórico 0,1 M SV determinando o ponto final potenciometricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 34,14 mg de C₁₅H₂₃N₃O₄S.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

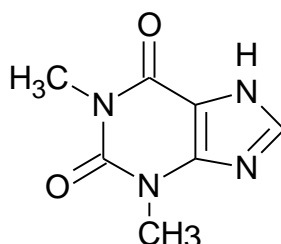
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Antagonista do receptor da dopamina; neuroléptico.

TEOFILINA Theophyllinum



C₇H₈N₄O₂; 180,17

teofilina; 08397

1,3-dimetil-3,7-diidro-1*H*-purina-2,6-diona

[58-55-9]

Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de C₇H₈N₄O₂, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, ligeiramente solúvel em álcool etílico. Solúvel em soluções de hidróxidos de metais alcalinos, em amônia e em ácidos minerais.

Constantes físico-químicas.

Faixa de fusão (5.2.2): 270 °C a 274 °C com a amostra previamente dessecada.

IDENTIFICAÇÃO

Os testes de identificação B., C., D. e E. podem ser omitidos se for realizado o teste A. O teste de identificação A. pode ser omitido se forem realizados os testes B., C., D. e E.

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14), da amostra dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de teofilina SQR, preparado de maneira idêntica.

B. O espectro de absorção no ultravioleta (5.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, de uma solução de teofilina 5 µg/mL em ácido clorídrico 0,1 M apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de teofilina SQR, preparado de maneira idêntica.

C. Aquecer em banho maria cerca de 10 mg de teofilina, dissolvidos em 1 mL de hidróxido de potássio 360 g/L, por três minutos. Adicionar 1 mL de ácido sulfanílico diazotado SR. Uma coloração avermelhada se forma lentamente.

D. Responde à reação de xantinas (5.3.1.1).

E. Dissolver cerca de 10 mg da amostra em 10 mL de água e adicionar 0,5 mL de acetato de mercúrio (II) a 5% (p/v). Após alguns minutos produz-se precipitado branco cristalino.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez. Dissolver cerca de 0,5 g, pesado com exatidão, de teofilina em 75 mL de água. Adicionar 2 mL de hidróxido de sódio 0,01 M e uma gota de vermelho de metila SI, uma coloração amarelada se forma.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica-gel GF₂₅₄, com espessura de 250 µm, como suporte, e mistura de acetona, clorofórmio, metanol, 1-butanol e amônia (3:3:2:2:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir:

Solução (1): dissolver cerca de 100 mg de teofilina, pesado com exatidão, em 3 mL de *N,N*-dimetilformamida e adicionar 10 mL de metanol.

Solução (2): transferir 1 mL da *Solução (1)* para um balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Observar sob luz ultravioleta em 254 nm. A mancha principal obtida no cromatograma com a *Solução (1)* corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*. E nenhuma outra mancha obtida com a *Solução (2)* excede em intensidade àquela obtida com a *Solução (1)*.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar método III. No máximo 0,002% (20 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1,0 g da amostra. Dessecar em estufa, a 105 °C, por três horas. No máximo 0,5%.

Cinzas sulfatadas (5.2.10). Determinar em 1,0 g da amostra. No máximo 0,1%

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

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

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

DOSEAMENTO

Pesar, com exatidão, cerca de 150 mg de teofilina e dissolver em 100 mL de água, adicionar 20 mL de nitrato de prata SR. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M SV, utilizando azul de bromotimol SI até viragem de coloração. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 18,02 mg de $C_7H_8N_4O_2$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Broncodilatador.

REVISÃO

ÁGUA PARA INJETÁVEIS *Aqua ad injectabilia*

H₂O; 18,02

água para injetáveis; 09320

Água

[7732-18-5]

Água para injetáveis é o insumo utilizado na preparação de medicamentos para administração parenteral, como veículo, na dissolução ou na diluição de substâncias ou de preparações. Outros exemplos de aplicações farmacêuticas são: a fabricação de princípios ativos de uso parenteral, para lavagem final de equipamentos, tubulação e recipientes usados em preparações parenterais e na limpeza de certos equipamentos.

Água para injetáveis é obtida por destilação da água adequadamente tratada, em equipamento cujas partes em contato com a água são de vidro neutro, quartzo ou outro material apropriado. Pode ser obtida também por processo equivalente ou superior à destilação, na remoção de contaminantes químicos, micro-organismos e endotoxinas bacterianas. O processo de obtenção deve ser validado.

Para assegurar que a água atende aos requisitos de qualidade requeridos, sua produção deve ser monitorada, por meio de procedimentos validados, quanto aos parâmetros de condutividade elétrica, carbono orgânico total, endotoxinas e contagem microbiana.

Água esterilizada para injeção. Água esterilizada para injeção é a *água para injetáveis* que, após esterilização, foi armazenada em recipientes inertes, como o aço inox 316L polido, mantidos fechados, em temperatura de 80 – 85 °C e sob recirculação, por um período máximo de 24 horas, em condições tais, que assegurem o atendimento ao teste de endotoxinas bacterianas. A água esterilizada é livre da adição de qualquer substância.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido límpido, incolor, insípido e inodoro.

ENSAIOS DE PUREZA

Cumprir com os testes descritos na monografia de *Água purificada*.

A água esterilizada para injeção cumpre com os testes descritos na monografia de *Água purificada* e com o teste adicional apresentado abaixo.

Contaminação por partículas: partículas sub-visíveis (5.1.7.1). Cumpre o teste A ou B, conforme o volume dos recipientes.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de bactérias heterotróficas (5.5.3.7.1). Cumpre o teste. No máximo 10 UFC/100 mL.

Pesquisa de coliformes totais e fecais (5.5.3.7.2). Cumpre o teste.

Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* (5.5.3.7.3). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Menos que 0,25 UE/mL.

A água esterilizada para injeção cumpre adicionalmente com o *Teste de esterilidade (5.5.3.2.1)*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Armazenada e distribuída em condições adequadas para assegurar a manutenção das propriedades físico-químicas e microbiológicas exigidas.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁGUA PURIFICADA

Aqua purificata

H₂O; 18,02

água purificada; 09879

Água

[7732-18-5]

Água purificada é a água potável que passou por algum tipo de tratamento para retirar os possíveis contaminantes e atender aos requisitos de pureza estabelecidos nessa monografia. É preparada por destilação, troca iônica, osmose reversa ou por outro processo adequado. Deve estar livre da adição de quaisquer substâncias dissolvidas. Geralmente é utilizada na preparação de medicamentos que não requirem água estéril nem apirogênica, destinados ao uso não parenteral.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido límpido, incolor, insípido e inodoro.

ENSAIOS DE PUREZA

Acidez ou alcalinidade. Em 20 mL de amostra adicionar 0,05 mL de vermelho de fenol SI. Se a solução é amarela, torna-se vermelha, com a adição de 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,01 M; sendo vermelha torna-se amarela, com a adição de 0,15 mL de ácido clorídrico 0,01 M.

Carbono orgânico total (5.2.30). Alternativamente, substitui o teste para substâncias oxidáveis. No máximo 0,50 mg/L.

Substâncias oxidáveis. Ferver 100 mL da amostra com 10 mL ácido sulfúrico *M*. Adicionar 0,2 mL de permanganato de potássio 0,02 *M* SV e deixar em ebulição durante 5 minutos. A solução remanescente é fracamente rosada.

Condutividade da água (5.2.24). No máximo 1,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25,0 °C. O usuário deve definir o limite máximo adequado para a aplicação específica, conforme descrito em *Água para uso farmacêutico (capítulo 11, volume 1)*. Alternativamente substitui os testes para *Amônio, Cálcio e Magnésio, Cloretos, Nitratos e Sulfatos*.

Amônio. Adicionar 1 mL de iodeto de potássio mercúrico alcalino SR1 em 20 mL da amostra. Após 5 minutos, examinar a solução no eixo vertical do tubo. A solução não é mais intensamente colorida do que o padrão pela adição de 1 mL de iodeto de potássio mercúrico alcalino SR1 a uma mistura de 4 mL de solução padrão de amônio (1 ppm NH_4) e 16 mL de água isenta de amônia. No máximo 0,00002% (0,2 ppm).

Cálcio e magnésio. Adicionar 2 mL de tampão de cloreto de amônio pH 10,0, 0,5 mL negro de eriocromo T e 5 μL de edetato de sódio 0,05 *M* em 100 mL da amostra. Uma coloração azul límpida é produzida. No máximo 1 ppm.

Cloretos. Adicionar 1 mL de ácido nítrico SR e 0,2 mL de nitrato de prata 0,1 *M* em 10 mL da amostra. A solução não apresenta alterações na aparência por, pelo menos, 15 minutos.

Nitratos. Transferir 5 mL de amostra para tubo de ensaio imerso em água gelada, adicionar 0,4 mL de solução de cloreto de potássio a 10% (p/v) e 0,1 mL de difenilamina 0,1% (p/v). Gotejar, sob agitação, 5 mL de ácido sulfúrico livre de nitrogênio. Transferir o tubo para banho-maria a 50 °C. Após 15 minutos, qualquer coloração azul desenvolvida na solução não é mais intensa do que a do padrão, preparada concomitantemente e da mesma maneira, utilizando uma mistura de 4,5 mL de água livre de nitrato e 1 mL de solução padrão de nitrato 2 ppm em NO_3 , recém preparada. No máximo 0,00002% (0,2 ppm).

Sulfatos. Adicionar 0,1 mL de ácido clorídrico 2 *M* e 0,1 mL de solução aquosa de cloreto de bário 6,1% (p/v) em 10 mL da amostra. A solução não apresenta alterações na aparência, por pelo menos 1 hora.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de bactérias heterotróficas (5.5.3.7.1). Cumpre o teste. No máximo 100 UFC/mL.

Pesquisa de coliformes totais e fecais (5.5.3.7.2). Cumpre o teste.

Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* (5.5.3.7.3). Cumpre o teste

A modalidade de água purificada estéril, utilizada na preparação de colírios e demais processos, que não podem passar por esterilização final por calor ou filtração, deve atender, adicionalmente, ao teste de esterilidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes inertes, tais como vidro ou aço inox 316L polido, adequadamente identificados, que assegurem as propriedades físico-químicas e microbiológicas exigidas. Caso seja necessário estocar, a água purificada deve ser armazenada e distribuída em condições adequadas para prevenir o crescimento microbiano e evitar qualquer outra contaminação.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ÁGUA ULTRAPURIFICADA

Aqua ultra purificata

H₂O; 18,02
água ultrapurificada; 09880
Água
[7732-18-5]

Água ultrapurificada é a água purificada que passou por tratamento adicional para retirar os possíveis contaminantes e atender aos requisitos de pureza estabelecidos nessa monografia. É preparada pela complementação de um conjunto de processos, como destilação, troca iônica, osmose reversa, dentre outros. Não possui substância dissolvida. Geralmente é utilizada na preparação de medicamentos destinados ao uso não parenteral, mas que requeiram água de alta pureza ou na maioria de procedimentos laboratoriais de ensaio, que requeiram leituras em baixas concentrações ou que a pureza da água possa afetar a sensibilidade, a reprodutibilidade ou a robustez do método analítico.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Líquido límpido, incolor, insípido e inodoro.

ENSAIOS DE PUREZA

Condutividade da água (5.2.24). No máximo 0,1 µS/cm a 25,0 °C.

Carbono orgânico total (5.2.30). No máximo 0,50 mg/L. *Nota: Este ensaio é opcional. Deve ser empregado caso a aplicação específica requeira esse controle.*

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Contagem do número total de bactérias heterotróficas (5.5.3.7.1). Cumpre o teste. No máximo 10 UFC/100 mL.

Pesquisa de coliformes totais e fecais (5.5.3.7.2). Cumpre o teste.

Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* (5.5.3.7.3). Cumpre o teste.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes poliméricos ou de vidro, conforme a aplicação, que assegurem as propriedades físico-químicas e microbiológicas exigidas. Caso seja necessário estocar, a água ultrapurificada pode ser armazenada por no máximo 24 horas, e em condições adequadas para prevenir o crescimento microbiano e evitar qualquer outra contaminação.

ROTULAGEM

Identificar corretamente o recipiente destinado a esse tipo de água.

MONOGRAFIAS

PLANTAS MEDICINAIS

INCLUSÃO

ACÔNITO, raiz	317
ACÔNITO, tintura.....	321
ALCACHOFRA, folha.....	323
ALCACHOFRA, extrato fluido	328
ALCAÇUZ, raiz	331
ALCAÇUZ, extrato fluido.....	336
ALGODÃO, óleo refinado	338
ALHO, bulbo	339
AMEIXA, fruto	345
AMEIXA, extrato fluido	348
ANGICO, casca.....	350
ANGICO, extrato fluido.....	356
ANGICO, tintura	359
ANIS-DOCE, óleo.....	362
ANIS-ESTRELADO, tintura.....	366
AROEIRA, casca.....	369
AROEIRA, extrato fluido.....	375
AROEIRA, tintura	379
BÁLSAMO-DE-TOLU, tintura	383
BAUNILHA, tintura.....	385
BENJOIM, tintura	387
BOLDO, extrato fluido.....	389
CALÊNDULA, extrato fluido	392
CALÊNDULA, tintura	395
CAMOMILA, flor	397
CAMOMILA, óleo	403
CAMOMILA, tintura	405
CANELA-DA-CHINA, óleo.....	408
CANELA-DO-CÉILÃO, extrato fluido	411

CANELA-DO-CEILÃO, óleo	414
CANELA-DO-CEILÃO, tintura	417
CAPIM-LIMÃO, óleo	420
CÁSCARA-SAGRADA, casca	422
CÁSCARA-SAGRADA, extrato fluido	429
CÁSCARA-SAGRADA, tintura	432
CASTANHA-DA-ÍNDIA, extrato fluido	435
CASTANHA-DA-ÍNDIA, tintura	438
CERA DE CARNAÚBA	441
COENTRO, fruto	443
COENTRO, óleo	447
CRATEGO, extrato fluido	450
CRAVO-DA-ÍNDIA, botão floral	453
CRAVO-DA-ÍNDIA, óleo	459
CÚRCUMA, tintura	462
EUCALIPTO, folha	464
EUCALIPTO, óleo	468
EUCALIPTO-LIMÃO, óleo	471
FUNCHO, óleo	473
FUNCHO-AMARGO, fruto	476
FUNCHO-DOCE, fruto	481
GARRA-DO-DIABO, raiz	486
GENCIANA, extrato fluido	490
GENCIANA, tintura	493
GIRASSOL, óleo refinado	495
GOIABEIRA, folha	498
GUACO-CHEIROSO, folha	504
GUARANÁ, extrato fluido	510
GUARANÁ, tintura	513
HAMAMELIS, folha	516
HAMAMELIS, extrato fluido	521
HORTELÃ-DO-BRASIL, parte aérea	523
HORTELÃ-DO-BRASIL, óleo	529
JALAPA, raiz	532
JUCÁ, casca	537
JUCÁ, fruto	543
LARANJA-AMARGA, extrato fluido	549
LARANJA-AMARGA, óleo	551
LARANJA-AMARGA, tintura	554

LARANJA-DOCE, óleo	557
LIMÃO, óleo	560
MACELA, inflorescência	564
MALVA, flor	572
MANTEIGA DE CACAU	576
MELALEUCA, óleo	577
NOZ-DE-COLA, extrato fluido	580
NOZ-MOSCADA, óleo	583
NOZ-VÔMICA, semente	586
NOZ-VÔMICA, extrato fluido	591
NOZ-VÔMICA, tintura	593
OLIVA, óleo virgem	596
PALMA-ROSA, óleo	598
PLANTAGO, testa	601
RATÂNIA, extrato fluido	603
SENE, fruto	606
TOMILHO, óleo	612
UVA-URSI, folha	615
VALERIANA, rizoma e raiz	621
VALERIANA, extrato fluido	627
VALERIANA, tintura	629

REVISÃO

ABACATEIRO, folha	633
ALECRIM, óleo	638
ALOE, exsudato seco	642
ALTEIA, raiz	644
ANIS-DOCE, fruto	652
ANIS-ESTRELADO, fruto	658
ARNICA, flor	665
BABOSA, folha	672
BÁLSAMO-DE-TOLU	676
BÁLSAMO-DO-PERU	678
BARBATIMÃO, casca	680
BAUNILHA, fruto	688
BELADONA, folha	692
BENJOIM	697
BOLDO, folha	700

BOLDO, tintura.....	708
CALÊNDULA, flor.....	711
CANELA-DA-CHINA, casca.....	716
CANELA-DO-CEILÃO, casca.....	720
CAPIM-LIMÃO, folha.....	724
CARDAMOMO, semente.....	730
CARQUEJA, caule alado.....	735
CASTANHA-DA-ÍNDIA, semente.....	740
CENTELA, folha.....	745
CHAPÉU-DE-COURO, folha.....	751
CRATEGO, folha e flor.....	758
CÚRCUMA, rizoma.....	765
ENDRO, fruto.....	774
ESPINHEIRA-SANTA, folha.....	779
ESTÉVIA, folha.....	787
ESTRAMÔNIO, folha.....	794
GENCIANA, rizoma e raiz.....	799
GUARANÁ, semente.....	804
HAMAMELIS, tintura.....	812
HIDRASTE, rizoma e raiz.....	814
HORTELÃ-PIMENTA, folha.....	819
HORTELÃ-PIMENTA, óleo.....	825
JABORANDI, tintura.....	828
LARANJA-AMARGA, exocarpo.....	830
MARACUJÁ-AZEDO, folha.....	835
MARACUJÁ-DOCE, folha.....	842
MEIMENDRO, folha.....	849
MELISSA, folha.....	854
NOZ-DE-COLA, semente.....	863
PITANGUEIRA, folha.....	868
POLÍGALA, raiz.....	876
QUEBRA-PEDRA, parte aérea.....	882
QUEBRA-PEDRA, parte aérea.....	890
QUILAIA, casca.....	899
QUINA-AMARELA, casca.....	903
RATÂNIA, raiz.....	910
RATÂNIA, tintura.....	915
RAUVOLFIA, raiz.....	918
RUIBARBO, rizoma e raiz.....	924

SABUGUEIRO, flor.....	929
SABUGUEIRO-DO-BRASIL, flor	939
SALGUEIRO-BRANCO, casca.....	948
SENE, folha.....	954

INCLUSÃO

ACÔNITO, raiz *Aconiti radix*

A droga vegetal consiste de raízes tuberosas de *Aconitum napellus* L., contendo, no mínimo, 0,5% de alcaloides totais expressos em aconitina ($C_{34}H_{47}NO_{11}$, 645,74), calculados em relação ao material dessecado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Raiz tuberosa, cônica, de coloração cinza-escuro ou amarronzada na superfície, com 3 a 12 cm de comprimento e 1 a 3 cm de largura na porção superior, onde se observam restos da base do caule; podem ocorrer raízes laterais tuberosas, também cônicas, ou suas cicatrizes junto à porção superior da raiz principal, ligadas entre si por um pedículo delgado, e numerosas raízes laterais não tuberosas, ou suas cicatrizes, distribuídas ao longo das raízes tuberosas. Internamente, as raízes tuberosas são de coloração parda ou castanho-claro.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, a raiz apresenta quatro ou mais camadas de células alongadas transversalmente, de paredes suberificadas, relativamente espessas e de coloração alaranjada, correspondentes à periderme, seguidas de células corticais parenquimáticas com alguns grãos de amido; segue endoderme constituída por células alongadas no sentido transversal, de paredes suberizadas que mostram coloração vermelho-alaranjado quando coradas com Sudan III; o periciclo é formado por mais de 20 camadas de células parenquimáticas preenchidas com grãos de amido. O câmbio vascular tem formato de estrela e o floema secundário não é facilmente distinguível entre as células parenquimáticas do periciclo. O xilema secundário forma feixes intercalados por parênquima amilífero. Os elementos de vaso do xilema secundário são relativamente estreitos, apresentam placas de perfuração simples e paredes reticuladas ou pontoadas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-clara; abundância de grãos de amido arredondados com a região central menos densa e, portanto, com coloração mais clara, isolados ou agrupados; fragmentos de súber em vista frontal com células de paredes poligonais e coloração amarronzada; fragmentos de células parenquimáticas com grãos de amido; fragmentos de elementos de vaso com placas de perfuração simples e parede reticulada ou pontoada.

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

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

Fase móvel: tolueno, acetato de etila e dietilamina (35:10:5).

Solução amostra: pesar 3 g da droga pulverizada e transferir para balão de fundo chato de 50 mL, adicionar uma mistura de 2 mL de ácido clorídrico 2 M e 40 mL de água. Aquecer a mistura em banho-maria, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar e adicionar a solução de hidróxido de amônio 6 M até obtenção de pH 9,0. Transferir o filtrado para um funil de separação e extrair duas vezes com 20 mL de éter etílico. Combinar os extratos etéreos e secar em cápsula de porcelana, em banho-maria a 50 °C. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de aconitina em metanol, para obter a concentração de 200 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR e após secagem da placa nebulizar com nitrito de sódio SR. Deixar a placa secar ao ar por 30 minutos e examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração laranja
Aconitina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
	Zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Água em drogas vegetais (5.4.1.4). Método gravimétrico. No máximo 11,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 0,7%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Alcaloides totais expressos em aconitina

Solução amostra: pesar 2 g da droga vegetal, transferir para um erlenmeyer e adicionar 1,6 mL de hidróxido de amônia 40% (v/v) e 20 mL de éter etílico. Deixar em agitador magnético por 30 minutos. Tampar o frasco com papel alumínio. Após o processo de extração, separar a fase etérea, e adicionar ao resíduo, 0,8 mL de hidróxido de amônia 40% (v/v) e 20 mL de éter etílico. Separar a fase etérea. Repetir o mesmo procedimento por mais três vezes. Combinar os extratos etéreos e secar em cápsula de porcelana, em banho-maria a 50 °C. Retomar o resíduo em 5 mL de etanol absoluto e adicionar 30 mL de água recém-fervida, utilizar em temperatura ambiente.

Solução indicadora: pesar, separadamente, 0,1 g de vermelho de metila e 0,1 g de azul de metileno, juntar em um recipiente e adicionar 50 mL de etanol absoluto. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com etanol absoluto.

Procedimento: titular com ácido clorídrico 0,01 M até a cor da solução mudar de verde-claro para cinza-azul. Utilizar três gotas da *Solução indicadora*.

Cada mL de ácido clorídrico 0,01 M equivale a 6,037 mg de alcaloides totais expressos em aconitina. Calcular o teor de alcaloides totais, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{V \times 6,037 \times 0,1}{m}$$

em que,

TA = teor de alcaloides totais expressos em aconitina % (p/p);

V= volume de ácido clorídrico 0,01 M, em mililitros, consumido na titulação; e

m = massa utilizada, em gramas, considerando a determinação de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

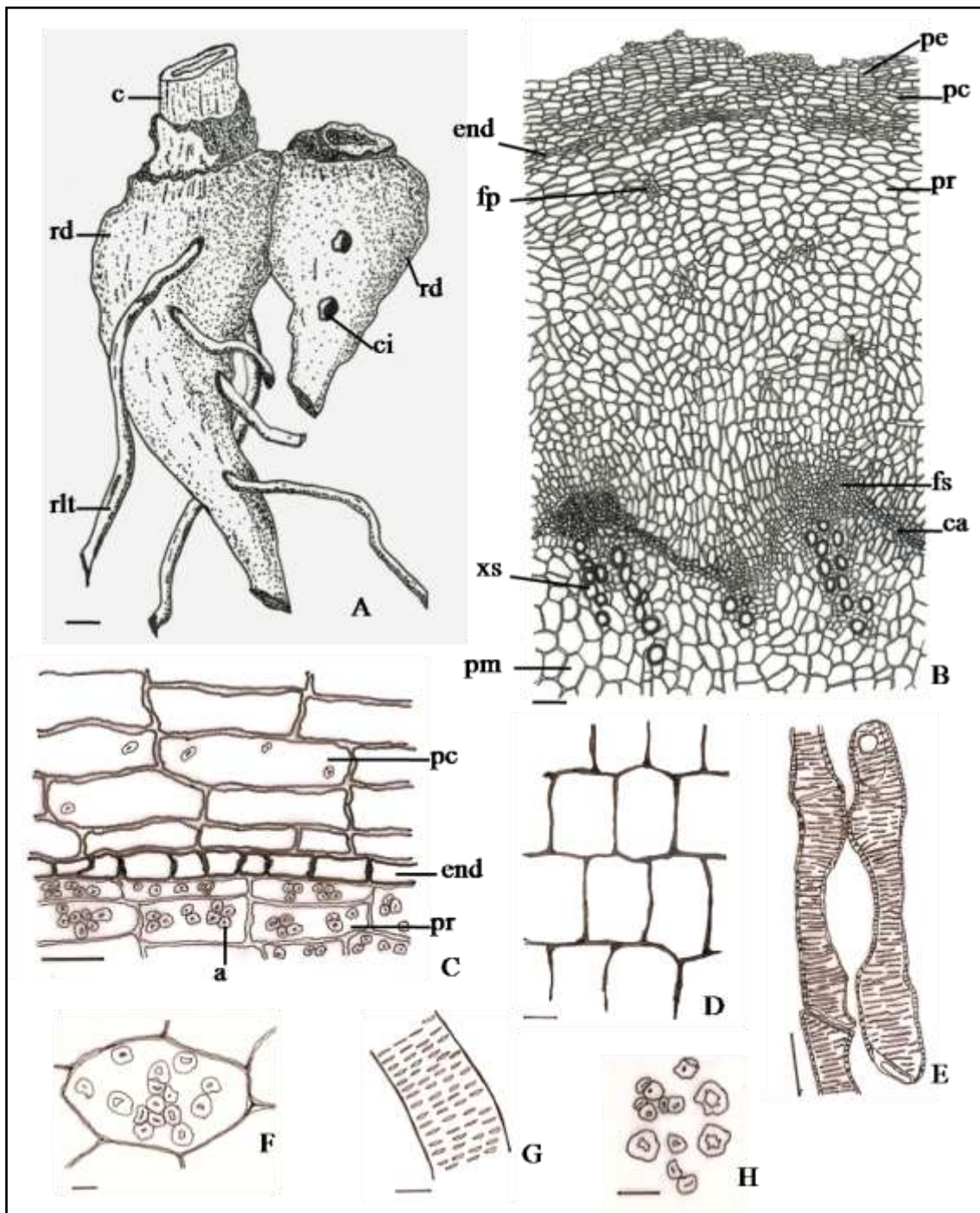


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Aconitum napellus* L

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B** a 100 μm ; em **C-E** a 50 μm ; em **F-H** a 20 μm .

A – raízes adventícias tuberosas (rd) oriundas da base do caule (c) mostrando raízes laterais (rtl) e cicatrizes (ci). **B** – representação da raiz tuberosa em secção transversal: periderme (pe); parênquima cortical (pc); endoderme (end); parênquima do periciclo (pr); floema primário (fp) e secundário (fs); câmbio vascular (ca); xilema secundário (xs) e parênquima amilífero (pm). **C** - detalhe da endoderme com paredes espessadas (end) e das células de parênquima com amido (a) no córtex (pc) e no periciclo (pr). **D** - fragmento da periderme (súber) com células de formato poligonal em vista frontal. **E** - elementos de vaso com placa de perfuração simples e paredes reticuladas. **F** - célula parenquimática com grãos de amido. **G** - elemento de vaso pontoado. **H** - grãos de amido agrupados e isolados.

ACÔNITO, tintura

Aconiti tinctura

A tintura é obtida a partir de raízes tuberosas de *Aconitum napellus* L., contendo, no mínimo, 0,05% de alcaloides totais expressos em aconitina (C₃₄H₄₇NO₁₁, 645,74).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração alaranjado claro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: tolueno, acetato de etila e dietilamina (35:10:5).

Solução amostra: medir 20 mL da tintura e adicionar solução hidróxido de amônio 6 M até pH 9,0. Transferir para um funil de separação e extrair duas vezes com 20 mL de éter etílico. Combinar os extratos etéreos e secar em cápsula de porcelana, à 50 °C em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de aconitina em metanol, para obter a concentração de 200 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR (Reagente de Dragendorff) e após secagem da placa nebulizar com nitrito de sódio SR. Deixar a placa secar ao ar por 30 minutos e examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Aconitina: zona de coloração laranja	Zonas de coloração laranja
<i>Soluções referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,896 a 0,903

Etanol (5.3.3.8.1). Método II. 65 % (v/v) a 68 % (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 1,60 % (p/p).

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

Alcaloides totais expressos em aconitina

Solução amostra: medir 20,0 mL da tintura e secar em cápsula de porcelana até resíduo. Adicionar 20 mL de água, solubilizar o resíduo e transferir para um erlenmeyer. Adicionar 1,6 mL de hidróxido de amônia a 40% (v/v) e 20 mL de éter etílico. Deixar em agitador magnético durante 30 minutos. Tampar o frasco com papel alumínio. Após o processo de extração, separar a fase etérea, e adicionar na fase aquosa, 0,8 mL de hidróxido de amônia a 40% (v/v) e 20 mL de éter etílico. Separar a fase etérea. Repetir o mesmo procedimento por mais três vezes. Combinar os extratos etéreos e secar em cápsula de porcelana, em banho-maria à 50 °C. Retomar o resíduo em 5 mL de etanol absoluto e adicionar 30 mL de água recém-fervida e utilizar em temperatura ambiente.

Solução indicadora: pesar, separadamente, 0,1 g de vermelho de metila e 0,1 g de azul de metileno, juntar em um recipiente e adicionar 50 mL de etanol absoluto. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com etanol absoluto.

Procedimento: titular com ácido clorídrico 0,01 M até a cor da solução mudar de verde-claro para cinza-azul. Utilizar 3 gotas da *Solução indicadora*.

Cada mL de ácido clorídrico 0,01 M equivale a 6,037 mg de alcaloides totais expressos em aconitina. Calcular o teor de alcaloides totais, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{V \times 6,037 \times 0,1}{m}$$

em que,

TA = teor de alcaloides totais expressos em aconitina %;

V = volume de ácido clorídrico 0,01 M, em mililitros, consumido na titulação; e

m = massa utilizada, em gramas, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ALCACHOFRRA, folha *Cynarae folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas, inteiras ou fragmentadas de *Cynara scolymus* L., contendo, no mínimo, 0,7% de ácido clorogênico (C₁₆H₁₈O₉, 354,31).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, as jovens sésseis e as adultas com pecíolo curto. Folhas totalmente desenvolvidas com 70,0 a 120,0 cm de comprimento e 30,0 a 55,0 cm de largura. A lâmina é pinatissecta (ou partida), com margem dentada. A folha é pilosa, sendo o indumento adpresso e pubescente na face adaxial e adpresso e velutino na face abaxial. A face adaxial é verde e a face abaxial é acinzentada ou esbranquiçada. As nervuras, de maneira geral, são proeminentes e sinuosas na face abaxial, em secção transversal, em função do desenvolvimento dos feixes vasculares.

B. Descrição microscópica

A folha é anfiestomática e de simetria dorsiventral. Em secção transversal, a epiderme apresenta uma única camada de células, sendo as células da face adaxial maiores do que as da face abaxial. Em ambas as faces, as células epidérmicas apresentam cutícula e paredes delgadas. As células-guarda apresentam cristas estomatíferas, e estão localizadas, geralmente, acima do nível das demais células epidérmicas, em especial na região da nervura principal e na face abaxial das alas. Os tricomas tectores unisseriados e pluricelulares são abundantes, principalmente na face abaxial. Podem apresentar uma das células colapsadas e geralmente aparecem dobrados ou enrolados. Os tricomas glandulares ocorrem em ambas as faces da epiderme, porém são menos abundantes que os tricomas tectores. O mesofilo apresenta duas a três camadas de parênquima paliçádico e cinco a oito camadas de parênquima esponjoso, com espaços intercelulares evidentes. Os feixes vasculares são colaterais e envoltos por endoderme. O tecido vascular forma feixes colaterais circundados por tecido

esclerenquimático. A nervura principal apresenta formato lobado na face abaxial. Na região dos lóbulos, logo abaixo da epiderme, há duas ou mais camadas de células parenquimáticas seguidas de colênquima angular. Estes feixes se distribuem ao redor do parênquima medular que, frequentemente se apresenta fistuloso. Em vista frontal, os estômatos são anomocíticos e as paredes das células epidérmicas comuns são retas; os tricomas glandulares são do tipo capitado e apresentam cabeça secretora unicelular com pedicelo unicelular ou bicelular.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração cinza-esverdeada; fragmentos da face adaxial e abaxial da epiderme em vista frontal com células poligonais de paredes retas e presença de estômatos. Fragmentos de elementos de vaso com paredes anelares e reticuladas. Fragmentos de tricomas tectores dobrados e enrolados. Tricomas glandulares. Fragmentos grandes de coloração esverdeada e fragmentos de elementos de vaso e de parênquima clorofiliano.

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄.

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

Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 20 mL de etanol a 70% e aquecer, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar, secar o extrato sob pressão reduzida, até resíduo, em temperatura inferior a 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL de etanol a 70%.

Solução referência (1): dissolver o ácido clorogênico em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver a luteolina-7-*O*-glicosídeo em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida, com solução de macrogol 400 (PEG) a 5% (p/v) em etanol. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C durante 5 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa		
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul	Luteolina-7- <i>O</i> - glicosídeo: zona de fluorescência amarelada	Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência amarelada Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência amarelada
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 12%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 20%.

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

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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Derivados de ácido clorogênico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 330 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): água, acetonitrila e ácido fosfórico (92,6:7:0,4).

Fase móvel (2): acetonitrila e ácido fosfórico (99,6:0,4).

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) %	Fase móvel (2) %	Sistema de eluição
0 – 17	100	0	isocrático
17 – 50	100 → 80	0 → 20	gradiente linear
50 – 51	80 → 0	20 → 100	gradiente linear
51 – 61	0	100	isocrático
61 – 62	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
62 – 72	100	0	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,50 g da droga vegetal moída e transferir para um balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 50,0 mL de metanol. Aquecer a solução, sob refluxo, a 70 °C por 60 minutos. Deixar a amostra esfriar e filtrar a solução com algodão. Transferir o resíduo e o algodão para o balão de fundo redondo e adicionar 50,0 mL de metanol. Aquecer novamente, sob refluxo, a 70 °C por 60 minutos. Filtrar a solução, reunir os filtrados e transferir para um balão volumétrico de 200 mL. Completar o volume com água. Filtrar em unidade filtrante de 0,45µm.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 5,0 mg de ácido clorogênico, transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com metanol.

Solução referência: transferir 5,0 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 20 mL, adicionar 5 mL de metanol e completar o volume com água. Filtrar em unidade filtrante de 0,45µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob o pico do ácido clorogênico. Calcular o teor de ácido clorogênico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_a \times m_2 \times P}{A_r \times m_1 \times 100}$$

em que:

TA = teor de ácido clorogênico % (p/p).

A_a = área sob o pico correspondente ao ácido clorogênico na *Solução amostra*.

A_r = área sob o pico correspondente ao ácido clorogênico na *Solução referência*.

m_2 = massa em gramas do ácido clorogênico;

m_1 = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação;

P= pureza percentual declarada da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

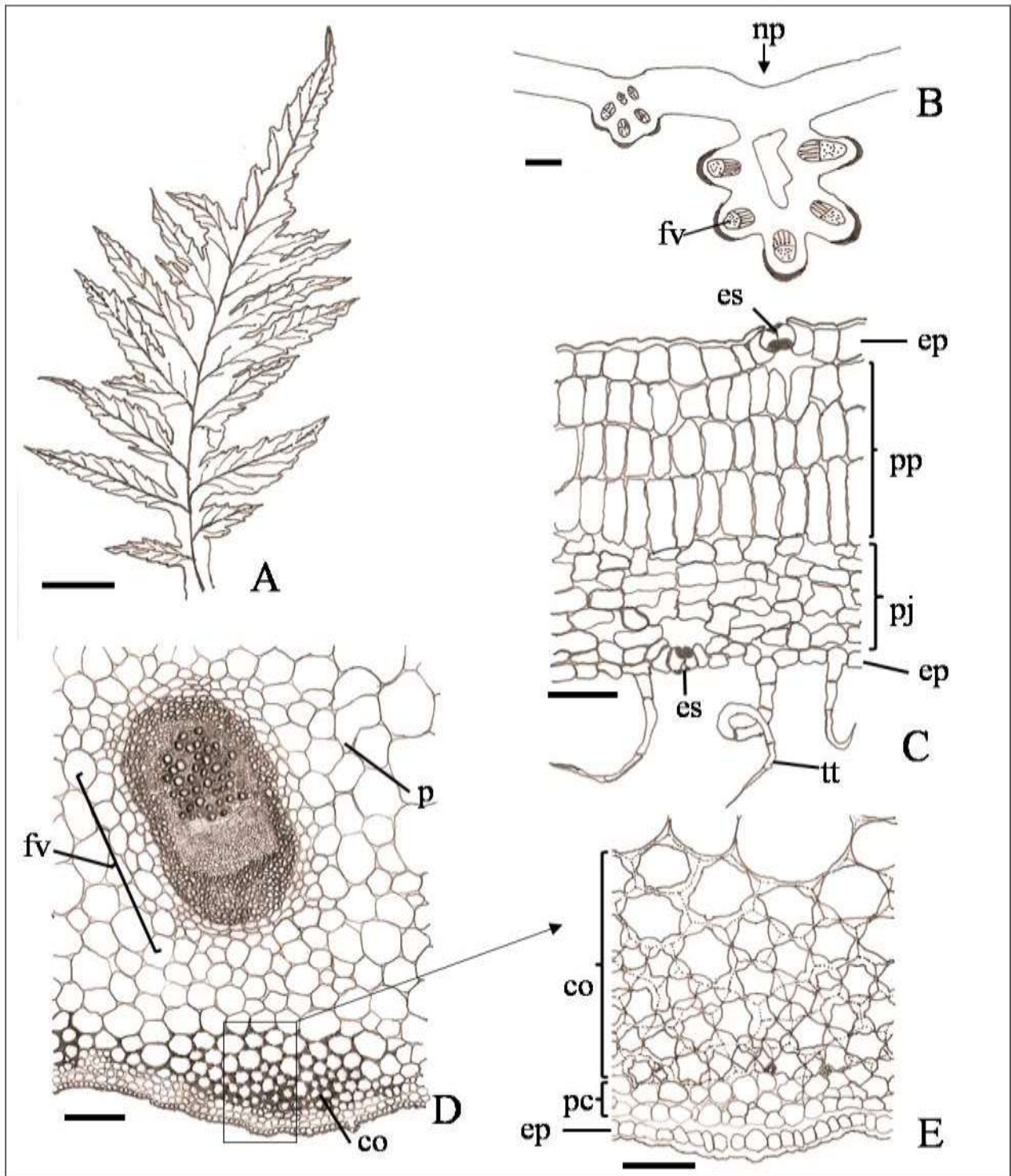


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Cynara scolymus* L.

As escalas correspondem em A a 10 cm; B a 200 μ m; C-D a 100 μ m; E a 50 μ m.

A - aspecto geral da folha em vista frontal. **B** - representação esquemática da lâmina foliar em secção transversal: feixe vascular (fv); nervura principal (np). **C** - detalhe do mesofilo em secção transversal: epiderme (ep); estômato (es); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliádico (pp); tricoma tector (tt). **D** - detalhe da nervura secundária: colênquima angular (co); feixe vascular (fv); parênquima (p). **E** - detalhe do colênquima angular (co), parênquima cortical (pc) e epiderme (ep).

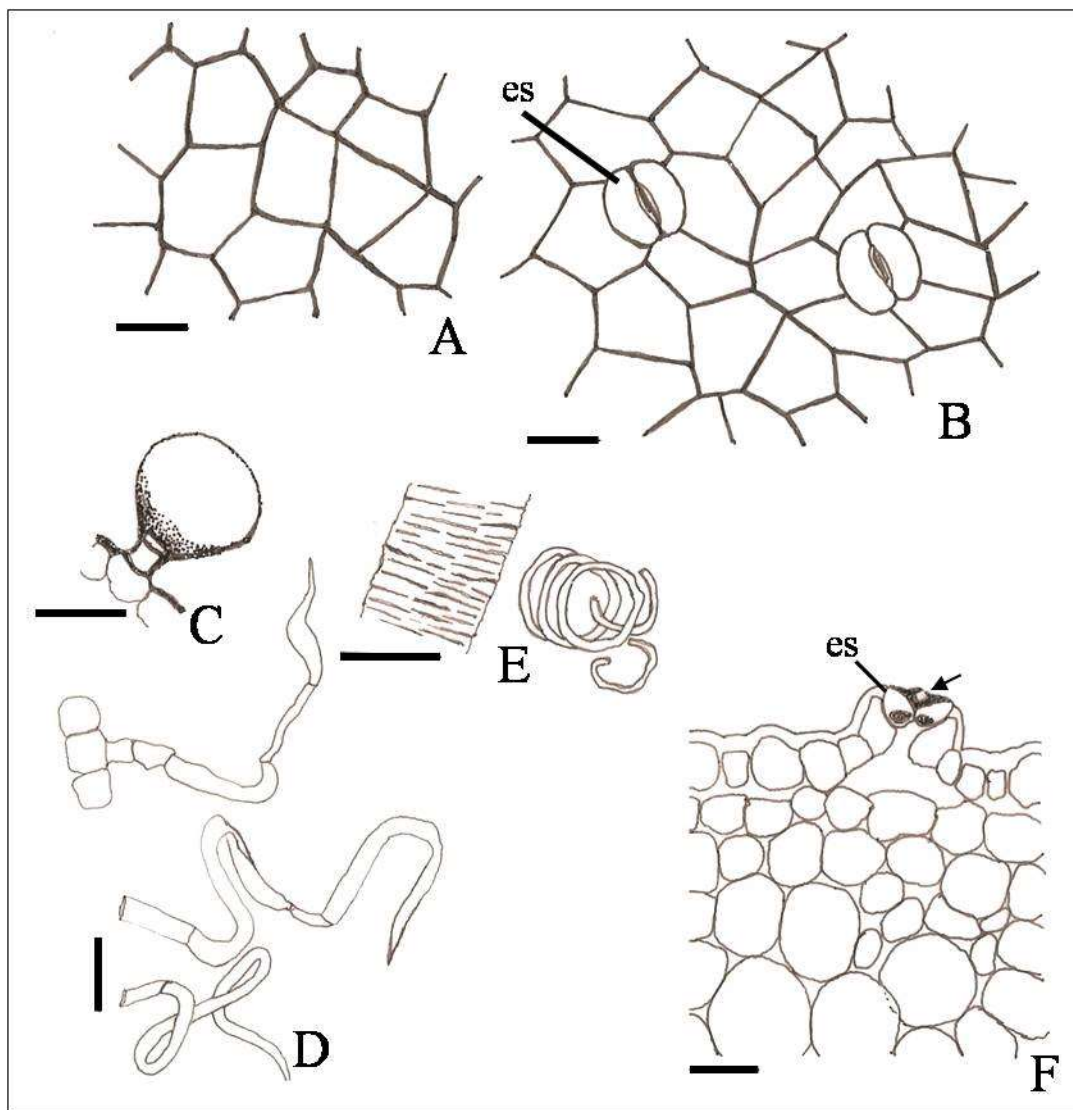


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Cynara scolymus* L.

As escalas correspondem a 50 µm.

A - fragmento da face adaxial da epiderme, em vista frontal. **B** - fragmento da face abaxial da epiderme, em vista frontal; estômato anomocítico (es). **C** – tricoma glandular. **D** – tricoma tector e fragmentos de tricomas tectores. **E** – fragmentos de elementos de vaso, com espessamento reticulado e anelado, respectivamente. **F** – fragmento da região da nervura de maior calibre, com destaque para o estômato (es), com uma crista estomatífera (seta).

ALCACHOFRA, extrato fluido *Cynarae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de folhas secas de *Cynara scolymus* L., contendo, no mínimo, 0,7% de ácido clorogênico (C₁₆H₁₈O₉, 354,31).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação, utilizando etanol a 70% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração verde escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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 acético e ácido fórmico (100:26:11:11).

Solução amostra: secar 1 mL do extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura não superior a de 60°C. Suspender o resíduo em 5 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver o ácido clorogênico em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver a luteolina-7-*O*-glicosídeo em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, a seguir com solução de macrogol 400 (PEG) a 5% (p/v) em etanol. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa		
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul	Luteolina-7- <i>O</i> -glicosídeo: zona de fluorescência amarelada	Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência amarelada (luteolina-7- <i>O</i> -glicosídeo) Zona de fluorescência azul (ácido clorogênico) Zona de fluorescência amarelada
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,2052 a 1,2316.

Etanol (5.3.3.8.1). Método II. 56% (v/v) a 60% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 16% (p/p).

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

Ácido clorogênico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 330 nm, pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): mistura de água, acetonitrila e ácido fosfórico (92,6:7:0,4).

Fase móvel (2): mistura de acetonitrila e ácido fosfórico (99,6:0,4).

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) %	Fase móvel (2) %	Sistema de eluição
0 – 17	100	0	Isocrático
17 – 50	100 → 80	0 → 20	gradiente linear
50 – 51	80 → 0	20 → 100	gradiente linear
51 – 61	0	100	Isocrático
61 – 62	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
62 – 72	100	0	Isocrático

Solução amostra: homogeneizar a amostra em banho de ultrassom por 10 minutos, pipetar 0,5 mL do extrato fluido e transferir quantitativamente para balão volumétrico de 200 mL. Adicionar 100 mL de metanol e levar novamente ao ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 5,0 mg de ácido clorogênico. Transferir para balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com metanol.

Solução referência: transferir 5,0 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 20 mL, adicionar 5 mL de metanol e completar o volume com água. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos do ácido clorogênico, do ácido cafeico e

da cinarina. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para o ácido clorogênico, 1,21 para ácido cafeico, 4,14 para cinarina, identificados na *Solução amostra*. Calcular o teor de ácido clorogênico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_a \times m_2 \times P}{A_r \times m_1}$$

em que,

TA = teor de ácido clorogênico % (p/p);

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

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

m_2 = massa em gramas do ácido clorogênico;

m_1 = massa em gramas do extrato fluido, determinada a partir da densidade;

P = pureza percentual declarada da substância referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ALCAÇUZ, raiz *Liquiritiae radix*

A droga vegetal consiste de raízes e estolões secos de *Glycyrrhiza glabra* L., inteiros ou fragmentados, contendo, no mínimo, 2,5% de ácido glicirrizínico ($C_{42}H_{62}O_{16}$, 822,94), calculado em relação ao material dessecado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Fragmentos de raízes e estolões possuem de 5 a 25 mm de diâmetro e comprimentos variados, alcançando até 20 cm. A casca é de coloração castanho-escuro, rugosa, marcada por estrias longitudinais e lenticelas transversais. A fratura da raiz e estolões é fibrosa.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, a periderme das raízes e estolões apresenta várias camadas de súber, com células retangulares. As células da feloderme são maiores que as do súber e podem conter grãos de amido. Internamente à periderme, o córtex é formado por parênquima amilífero com feixes de fibras esclerenquimáticas remanescentes do floema primário e floema secundário inativo, cujas células foram obliteradas. O floema secundário apresenta-se em fileiras compostas por elementos de tubo crivado e células companheiras, parênquima do floema e feixes de fibras, intercaladas por parênquima radial amilífero em uma ou até cinco fileiras. Os grãos de amido são arredondados ou ovais. O câmbio vascular é bem visível e formado por células retangulares. O xilema secundário também se apresenta em fileiras compostas por células traqueais, parênquima não lignificado e feixes de fibras, intercaladas por parênquima radial contínuo com o do floema secundário, porém, com número menor

de fileiras. Uma pequena região medular parenquimática é encontrada nos estolões, mas está ausente nas raízes. Em secção longitudinal, os feixes de fibras do floema e do xilema estão envolvidos por uma camada de idioblastos contendo cristais prismáticos, a qual é circundada por uma bainha de células parenquimáticas sem grãos de amido.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração amarelo-acinzentada ou parda; abundância de grãos de amido de formato oval a arredondado, isolados ou agrupados e cristais prismáticos geralmente trapezoidais; fragmentos de células parenquimáticas ou células inteiras contendo grãos de amido; fragmentos de súber com células poligonais em vista frontal e de coloração castanho-alaranjada; fragmentos de fibras septadas de paredes levemente espessas, isoladas ou em feixes circundados por idioblastos contendo cristais; fragmentos de elementos de vaso com paredes areoladas.

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄

Fase móvel: butanol, água e ácido acético glacial (7:2:1).

Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 20 mL de metanol 70% e levar ao banho-maria durante 15 minutos. Filtrar, secar o extrato em banho-maria até resíduo, em temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL de metanol e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de ácido glicirrizínico em metanol 70%, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. 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 5 minutos. Examinar a placa sob a luz visível.

Resultado: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração avermelhada
	Zonas de coloração amarelada
	Zonas de coloração amarelada
Ácido glicirrizínico: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta (ácido glicirrizínico)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 12%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 7%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2%.

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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Ácido glicirrizínico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido acético (91,4:8,6).

Fase móvel (2): acetonitrila (100%).

Adotar sistema de eluição isocrático com proporção constante de 70% da *Fase móvel (1)* e 30% da *Fase móvel (2)*.

Diluyente: transferir 28,57 mL de hidróxido de amônia a 28% para balão volumétrico de 1000 mL. Completar o volume com água destilada e homogeneizar.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,13 g de glicirrizato de amônio, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o *Diluyente*.

Solução referência: transferir 7 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o *Diluyente*.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga vegetal moída e transferir para um erlenmeyer de 150 mL. Adicionar 100 mL do *Diluyente*. Levar a solução ao ultrassom por 30 minutos, agitando o erlenmeyer a cada 10 minutos. Retirar 10 mL da solução e centrifugar por 10 minutos. Em seguida pipetar 1 mL do sobrenadante, transferir para um balão volumétrico de 5 mL e completar o

volume com o *Diluyente* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para vial.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de ácido glicirrizínico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_1 \times C_r \times 100 \times 5 \times P \times 822,94}{A_2 \times m \times 839,97}$$

em que,

TA = teor de ácido glicirrizínico % (p/p);

A_1 = área sob o pico correspondente ao ácido glicirrizínico na *Solução amostra*;

A_2 = área sob o pico correspondente ao ácido glicirrizínico na *Solução referência*;

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

P = pureza percentual declarada da substância de referência;

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

822,94 = massa molecular do ácido glicirrizínico;

839,97 = massa molecular do glicirrizinato de amônio.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

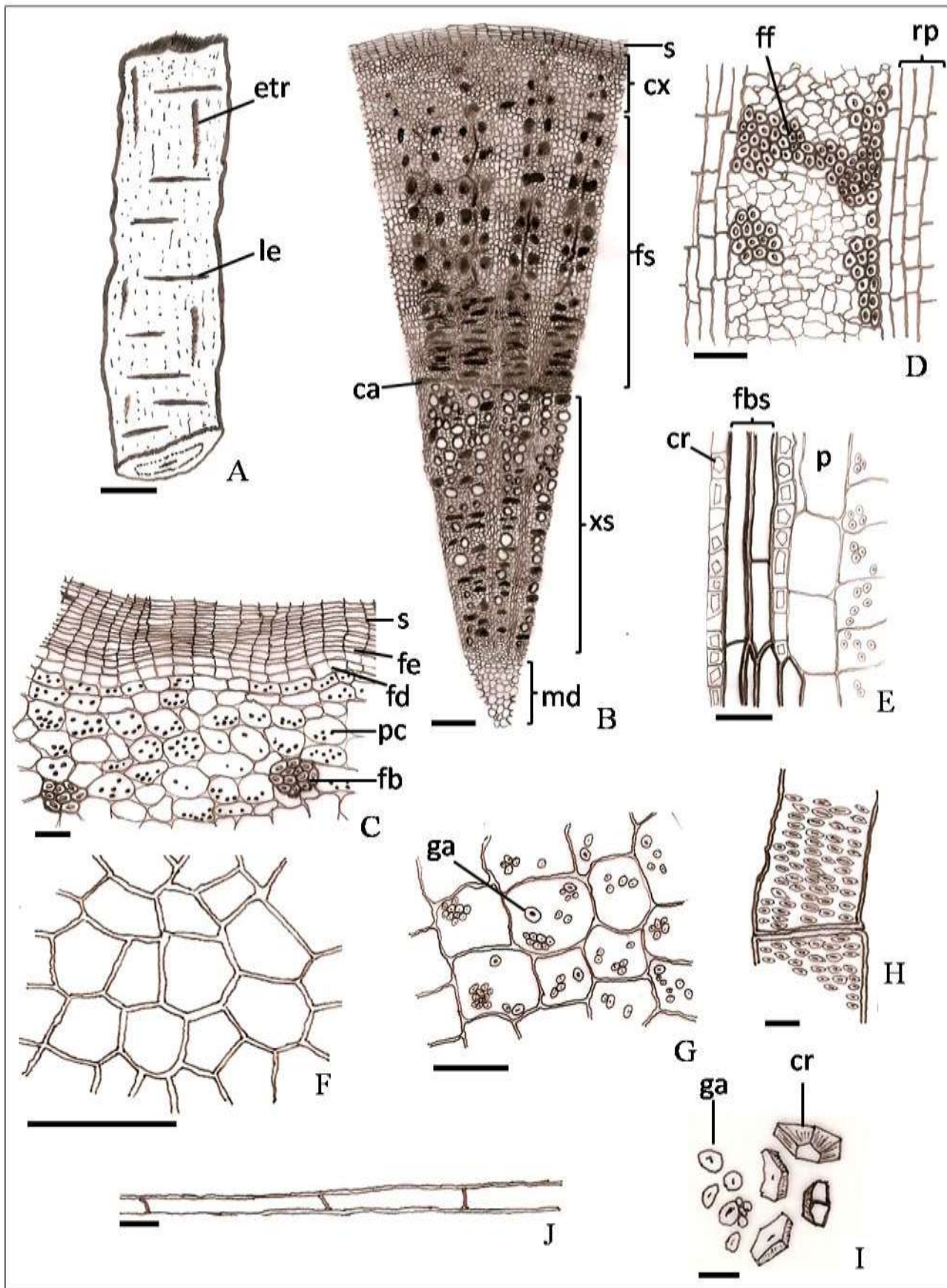


Figura 1—Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Glycyrrhiza glabra* L.

As barras correspondem em **A** a 1 cm; **B** a 250 μ m; **F** a 100 μ m; **C-E**, **G** a 50 μ m; **H-J** a 20 μ m.

A- parte da raiz com detalhe para as estrias longitudinais (etr) e lenticelas (le). **B**- secção transversal do estolão: córtex (cx); câmbio vascular (ca); floema secundário (fs); medula (md); súber (s) e xilema secundário (xs). **C**- detalhe da periderme e córtex: feloderme (fd); felogênio (fe); feixe de fibras esclerenquimáticas (fb); parênquima cortical com grãos de amido (pc)

e súber (s). **D**- detalhe do floema secundário: feixe de fibras do floema (ff) e raio parenquimático (rp). **E**- secção longitudinal mostrando feixe de fibras septadas (fbs), idioblastos com cristais prismáticos (cr) e bainha parenquimática (p). **F**- fragmento da periderme com células de paredes retas e levemente espessadas. **G**- fragmento do parênquima cortical com grãos de amido (ga). **H**- fragmento de elemento de vaso com pontoações areoladas. **I**- grãos de amido (ga) agrupados e isolados e cristais prismáticos (cr). **J**- fragmento de fibra septada.

ALCAÇUZ, extrato fluido *Liquiritiae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de raízes e estolões secos de *Glycyrrhiza glabra* L., contendo, no mínimo, 2,5% (p/p) de ácido glicirrizínico (C₄₂H₆₂O₁₆, 822,94).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v) empregando uma mistura de água e etanol a 90% suficiente para obter um extrato com concentração final de aproximadamente 20% de etanol.

CARACTERÍSTICAS

Líquido marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄.

Fase móvel: *n*-butanol, água e ácido acético glacial (7:2:1).

Solução amostra: secar 0,5 mL do extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura não superior a 60 °C. Adicionar 5 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido glicirrizínico em metanol a 70%, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Revelador: anisaldeído SR.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa anisaldeído SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração avermelhada
	Zonas de coloração amarelada
	Zonas de coloração amarelada
Ácido glicirrizínico: zona de coloração violeta	Ácido glicirrizínico: zona de coloração violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,125 a 1,140.

Etanol (5.3.3.8.1). Método I. 20,0 (v/v) a 20,8(v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e no máximo 0,05% de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 40% (p/v).

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

Ácido glicirrizínico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido acético (91,4:8,6).

Fase móvel (2): acetonitrila (100%).

Adotar sistema de eluição isocrático com proporção constante de 70% da *Fase móvel (1)* e 30% da *Fase móvel (2)*.

Diluyente: transferir 28,57 mL de hidróxido de amônio a 28% para balão volumétrico de 1000 mL. Completar o volume com água destilada.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,13 g de glicirrizato de amônio, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com o *Diluyente*.

Solução referência: transferir 7 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com o *Diluyente*.

Solução amostra: transferir 1 mL de extrato fluido para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL do *Diluyente*. Levar ao ultrassom por 10 minutos e completar o volume do balão com o *Diluyente*. Transferir 1 mL, com auxílio de uma pipeta, para um balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com o *Diluyente*. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para um vial.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de ácido glicirrizínico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_1 \times C_r \times 100 \times 5 \times P \times 822,94}{A_2 \times m \times 839,97}$$

em que,

TA = teor de ácido glicirrizínico % (p/p);

A_1 = área sob o pico correspondente ao ácido glicirrizínico na *Solução amostra*;

A_2 = área sob o pico correspondente ao ácido glicirrizínico na *Solução referência*;

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

P = pureza percentual declarada da substância referência;

m = massa, em gramas, determinada a partir da densidade;

822,94 = massa molecular do ácido glicirrizínico;

839,97 = massa molecular do glicirrizinato de amônio.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ALGODÃO, óleo refinado *Gossypii oleum raffinatum*

Óleo obtido a partir de sementes de *Gossypium hirsutum* L., submetido a processo de refino.

CARACTERÍSTICAS

Líquido oleoso amarelo pálido.

TESTES

Água (5.2.20.1). *Método coulombimétrico.* No máximo, 0,1%. Determinar em 1 g.

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo, 0,2.

Índice de peróxidos (5.2.29.11). No máximo, 10.

Substâncias insaponificáveis (5.2.29.14). *Método II.* No máximo, 1,5%. Determinar em 5 g.

Impurezas alcalinas (5.2.29.15.2). Volume inferior a 0,1 mL de ácido clorídrico 0,01 M.

Óleos estranhos em óleos fixos por cromatografia a gás (5.2.29.15.4). Misturas comerciais de ésteres metílicos também podem ser utilizadas como padrão. A fração do óleo de algodão composta por ácidos graxos apresenta a seguinte composição:

Ácidos graxos com cadeia inferior a 14 carbonos, com até uma ligação dupla: no máximo, 0,2%;

Ácido mirístico: 0,3% a 1,0%;

Ácido palmítico: 18,0% a 26,4%;

Ácido palmitoleico: no máximo, 1,2%;

Ácido esteárico: 2,1% a 3,3%;

Ácido oleico: 14,0% a 21,7%;

Ácido linoleico: 46,7% a 58,3%;

Ácido linolênico e γ -linolênico: no máximo, 1,0%;

Ácido araquídico: no máximo, 1,0%;

Ácido eicosenoico: no máximo, 0,5%;

Ácido behênico: no máximo, 0,6%;

Ácido erúcico: no máximo, 0,5%;

Ácido lignocérico: no máximo, 0,5%.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CATEGORIA

Excipiente farmacotécnico.

ALHO, bulbo *Allii sativi bulbus*

A droga vegetal consiste de bulbo ou bulbilhos de *Allium sativum* L., maduros liofilizados ou secos à temperatura inferior a 65 °C, desprovidos de raízes, caule, folhas normais, folhas protetoras escamosas e prófilos escariosos, contendo, no mínimo, 0,45% de alicina (C₆H₁₀OS₂, 162,26).

CARACTERÍSTICAS

Os bulbos ou bulbilhos têm odor aliáceo forte.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O bulbo subgloboso é composto por seis a 20 bulbilhos (dentes-de-alho), de diferentes tamanhos, envoltos por várias folhas protetoras escamosas, esbranquiçadas ou rosadas, inteiras e membranáceas, que se destacam facilmente. Os bulbilhos estão inseridos em um caule discoide e achatado, prolongado por um escapo, com numerosas raízes adventícias fibrosas, amarelo-esbranquiçadas na face inferior. O bulbilho tem coloração esbranquiçada, rósea ou violácea, é ovoide, comprimido lateralmente, ligeiramente arqueado, assimétrico, com três a quatro lados, com a face externa convexa, as faces laterais planas e a face interna plano-côncava; a porção inferior mostra a cicatriz de sua inserção no caule. Cada bulbilho é envolvido por um prófalo escarioso, que circunda um catáfilo de reserva (raro dois), carnoso e suculento. O prófalo escarioso é liso, cartilaginoso, brilhante, e mais ou menos resistente. O catáfilo carnoso corresponde à droga; quando seccionado transversalmente apresenta uma região externa esbranquiçada mais ampla e uma região mais interna, estreita, amarelada a amarelo-esverdeada, correspondente aos primórdios foliares.

B. Descrição microscópica

O catáfilo de reserva, em vista frontal, mostra células retangulares ou quadrangulares, de paredes levemente onduladas. Em secção transversal, exibe uma cutícula fina e lisa e epiderme externa uniestratificada, formada por células retangulares a quadrangulares de paredes finas, exceto a periclinal externa que é mais espessa. O parênquima fundamental é mucilaginoso e constituído por grandes células incolores, arredondadas, de paredes finas, com núcleos visíveis, muitas delas com conteúdo granuloso. Neste tecido ocorrem numerosos feixes vasculares colaterais, dispostos irregularmente, frequentemente anastomosados e apresentando uma ou duas bainhas parenquimáticas de células com conteúdo amarelo-claro, quando observadas sem a utilização de corante. Laticíferos não facilmente identificáveis acompanham os feixes vasculares ou ocorrem isoladamente. A epiderme interna do catáfilo também é uniestratificada e consiste de células quadrangulares muito menores do que as da epiderme externa, com cutícula fina, delimitando a região dos primórdios foliares. Em vista longitudinal, os elementos de vaso têm espessamento de parede helicoidal ou anelado. Os laticíferos são formados por células elípticas curtas, dispostas em série, com conteúdo granuloso pardo a castanho-escuro, quando submetidos a corante. Não ocorrem grãos de amido.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração esbranquiçada, amarelo-esbranquiçada a rosado-esbranquiçada; porções da epiderme do catáfilo de reserva; numerosos fragmentos com grandes células de parênquima de paredes finas e conteúdo granuloso; laticíferos; elementos de vaso lignificados, com espessamento de parede helicoidal ou anelado; elementos de vaso acompanhados de células de paredes finas; como impurezas, porções da epiderme dos prófalos escariosos em vista frontal, porções da epiderme dos prófalos em secção transversal e cristais prismáticos de diferentes formas.

D. Descrição microscópica das impurezas

O prófalo escarioso, se presente como impureza, em vista frontal, apresenta células alongadas e de paredes retas. Em secção transversal, na face externa ou abaxial, ocorre uma cutícula fina e lisa, seguida de epiderme uniestratificada, formada por células esclerificadas, retangulares a

quadrangulares, de paredes muito espessas, com pontoações conspícuas e comumente com cristais prismáticos de oxalato de cálcio de diferentes formas. Abaixo desta ocorre uma ou duas camadas de células hialinas, achatadas tangencialmente, de paredes espessas e não esclerificadas, com grande quantidade de cristais e um parênquima desprovido de cloroplastídios, formado por células elípticas no sentido tangencial, intercalado por feixes vasculares pequenos, do tipo colateral. A epiderme voltada para a face interna ou adaxial apresenta as mesmas características que a da face abaxial.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: etanol anidro, ácido acético glacial, propanol e água (4:2:2:2:).

Solução amostra: adicionar 5 mL de metanol a 1 g da droga pulverizada (355) (5.2.11) e agitar durante 1 minuto. Filtrar, recolher 1 mL e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: diluir 2,5 mg de alanina em 5 mL de água e completar o volume com metanol para 10 mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com ninidrina SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Alanina: zona de coloração azul violácea	Zona de coloração azul violácea Zonas de coloração avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Amido (5.4.1.2). Reações histoquímicas. Não deve haver desenvolvimento de coloração azul.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Perda por dessecação (5.4.2.2.3). Método gravimétrico. No máximo 7%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 5%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Alicina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 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 µm), mantida à temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto. Sistema isocrático, o tempo de análise deve ser de 20 minutos.

Fase móvel: metanol e ácido fórmico anidro a 1% (75:25).

Solução de padrão interno: transferir, quantitativamente, cerca de 20 mg, pesados com exatidão, de *p*-hidroxibenzoato de butila, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com mistura de metanol e água (50:50) e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,8 g do bulbo do alho liofilizado ou seco em pó (355) (5.2.11) a temperatura inferior a 65 °C, transferir para balão volumétrico de 50 mL e adicionar 20 mL de água. Deixar em banho de ultrassom a 4 °C mantidos por gelo, por 5 minutos. Deixar a solução em temperatura ambiente por 30 minutos. Centrifugar por 30 minutos. Transferir 10 mL do sobrenadante para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com mistura de metanol e ácido fórmico anidro a 1% (60:40) e homogeneizar, obtendo a *Solução estoque*. Agitar e centrifugar durante 5 minutos.

Solução amostra: Transferir 0,5 mL da *Solução de padrão interno* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com a *Solução estoque* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 1 µL da *Solução de padrão interno* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de *p*-hidroxibenzoato de butila na amostra a partir das respostas obtidas para a *Solução amostra* em relação à *Solução de padrão interno*. Calcular o teor de alicina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{F_1 \times m_2 \times 22,75}{F_2 \times m_1}$$

em que,

TA = teor de alicina % (p/p);

F₁ = área sob o pico correspondente à alicina na *Solução amostra*;

F₂ = área sob o pico correspondente ao *p*-hidroxibenzoato de butila na *Solução amostra*;

m₁ = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação;

m_2 = massa em gramas de *p*-hidroxibenzoato de butila em 100 mL de *Solução de padrão interno*.

1 mg de *p*-hidroxibenzoato de butila corresponde a 8,65 mg de alicina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

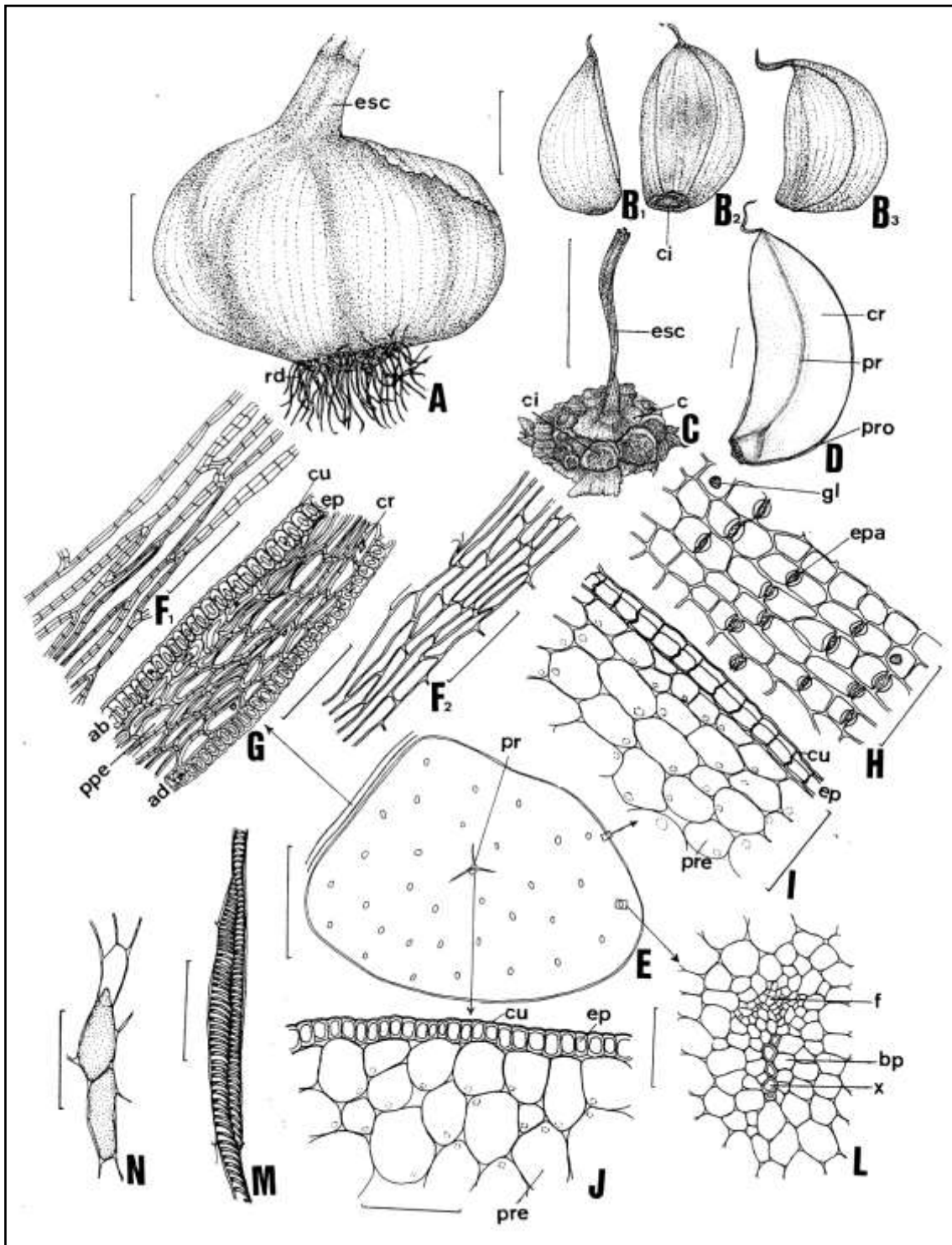


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Allium sativum* L.

As escalas correspondem: em A e C (2 cm), em B (1,5 cm), em D e E (0,5 cm), em F até N (100 μ m).

A - aspecto geral do bulbo composto; raízes adventícias (rd); escapo (esc). **B₁**, **B₂** e **B₃** – aspecto dos bulbilhos em vista dorsal, ventral e lateral, respectivamente; cicatriz da inserção do bulbilho (ci). **C** - aspecto da porção caulinar do bulbo, após a retirada dos bulbilhos; caule discoide (c); escapo (esc). **D** - secção longitudinal de um bulbilho; catáfilo de reserva (cr); primórdio foliar (pr); prófalo escamoso (pro). **E** - secção transversal de um bulbilho; primórdio foliar (pr). **F₁** e **F₂** - detalhes de porção da epiderme do prófalo escarioso em vista frontal abaxial e adaxial, respectivamente. **G** - detalhe da secção transversal do prófalo escarioso; face abaxial (ab); face adaxial (ad); cristais (cr); cutícula (cu); epiderme esclerificada (ep); parênquima com células de paredes espessadas (ppe). **H** - detalhe da porção externa do catáfilo de reserva em vista frontal; gota lipídica (gl); espessamento de parede (epa). **I** - detalhe da porção externa do catáfilo de reserva em secção transversal; cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima de reserva (pre). **J**. detalhe da porção interna do catáfilo em secção transversal, como assinalado em E; cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima de reserva (pre). **L** - feixe

vascular em secção transversal; bainha parenquimática (bp); floema (f); xilema (x). **M** - elementos de vaso com espessamento de parede helicoidal e anelado em vista longitudinal. **N** - detalhe de células do parênquima de reserva.

AMEIXA, fruto *Prunum fructus*

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Prunus domestica* L., contendo, no mínimo, 0,70% de ácido clorogênico (C₁₆H₁₈O₉, 354,31), calculado em relação ao material dessecado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Fruto do tipo drupa, oblongo a elipsóide, com 3 a 4 cm de comprimento, de coloração pardo-arroxeadas, muito enrugado pelo dessecamento. A casca ou exocarpo é brilhante e irregularmente rugosa, podendo apresentar porções lisas, e a polpa ou mesocarpo é adocicada e mole.

B. 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, água, ácido acético e ácido fórmico (100: 26:11:11).

Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 20 mL de etanol 70% e agitar mecanicamente durante 15 minutos. Filtrar e secar o extrato em evaporador rotativo até resíduo, em temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL de metanol e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido clorogênico em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida com solução de macrogol 400 (PEG) a 5% (p/v) em etanol. Aquecer a placa entre 100 °C e 105°C durante 5 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido clorogênico: zona de coloração azul	Zona de coloração azul
<i>Soluções de referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 54%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

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

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Ácido clorogênico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 330 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 µm), mantida à temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fosfórico (99,5:0,5).

Fase móvel (2): acetonitrila e ácido fosfórico (99,6:0,4).

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 – 1	92	8	isocrático
1 – 20	92 → 75	8 → 25	gradiente linear
20 – 33	75	25	isocrático
33 – 35	75 → 0	25 → 100	gradiente linear
35 – 36	75 → 92	100 → 8	gradiente linear
36 – 40	92	8	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1,00 g da droga vegetal e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 25 mL de metanol e aquecer sob refluxo por 30 minutos. Após resfriamento, filtrar em algodão para balão de fundo redondo de 100 mL. Extrair mais duas vezes o resíduo da droga no balão de fundo redondo e no algodão com 20 mL de metanol e aquecer, sob refluxo, por mais 15 minutos. Filtrar, reunir todos os filtrados no balão de fundo redondo e secar até resíduo em evaporador rotativo, com a temperatura máxima de 60 °C. Dissolver o resíduo em 3 mL de metanol e levar ao ultrassom por 5 minutos. Transferir a solução para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com metanol.

Solução estoque: pesar 12,0 mg de ácido clorogênico. Transferir para balão volumétrico de 100,0 mL e completar o volume com metanol.

Solução referência: transferir 1,2 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com metanol. Filtrar em unidade filtrante 0,45 µm diretamente para vial.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de ácido clorogênico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_a \times m_2 \times P}{A_r \times m_1}$$

em que,

TA = teor de ácido clorogênico % (p/p);

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

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

m_1 = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação;

m_2 = massa em gramas do ácido clorogênico;

P = pureza percentual declarada da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

AMEIXA, extrato fluido

Prunus extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de frutos secos de *Prunus domestica* L., contendo, no mínimo, 0,70% de ácido clorogênico (ácido 5-*O*-cafeoilquínico) (C₁₆H₁₈O₉, 354,31).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄(0,25 mm).

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

Solução amostra: secar 1,0 mL do extrato fluido até resíduo em banho-maria, em temperatura não superior a 60°C. Suspender o resíduo em 5 mL metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 micras.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido clorogênico, em metanol para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar com solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em metanol, e a seguir com solução de macrogol 400 (PEG) a 5% (p/v) em etanol. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos e deixar a placa secar ao ar por 5 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes na solução amostra.

Parte superior da placa	
Ácido clorogênico: zona de coloração azul	Zona de coloração azul Zona de coloração azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0966 a 1,1222.

Etanol (5.3.3.8.1). Método II. 36% (v/v) a 40% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e no máximo 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 22,0% (p/p).

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

Doseamento de ácido clorogênico:

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 330 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 µm), mantida à temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fosfórico (99,5:0,5).

Fase móvel (2): acetonitrila e ácido fosfórico (99,6:0,4).

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 – 1	92	8	isocrático
1 – 20	92 → 75	8 → 25	gradiente linear
20 – 33	75	25	isocrático
33 – 35	75 → 0	25 → 100	gradiente linear
35 – 36	75 → 92	100 → 8	gradiente linear
36 – 40	92	8	isocrático

Solução amostra: homogeneizar a amostra em banho de ultrassom por 5 minutos, pipetar 1,0 mL do extrato fluido e transferir para balão volumétrico de 5 mL. Lavar a ponteira do micropipetador pelo menos duas vezes com metanol. Completar o volume com metanol e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para um vial.

Solução referência: pesar, com exatidão, cerca de 12,0 mg de ácido clorogênico. Transferir para balão volumétrico de 100,0 mL e diluir com metanol. Transferir 1,2 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com metanol. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para um vial.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes ao ácido clorogênico. Calcular o teor de ácido clorogênico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TAC} = \frac{A_a \times m_2 \times P}{A_r \times m_1}$$

em que,

TAC = teor de ácido clorogênico % (p/p);

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

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

m_1 = massa em gramas da amostra, determinada a partir da densidade;

m_2 = massa em gramas de ácido clorogênico;

P = pureza percentual declarada da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ANGICO, casca *Anadenantherae cortex*

A droga vegetal consiste de cascas secas do caule de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, contendo, no mínimo, 6% de taninos totais e, no mínimo, 0,19% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As cascas caulinares secas apresentam-se em fragmentos levemente curvos e muito rígidos, resinosos, com 6,0 a 8,0 cm de comprimento, 0,5 a 2,5 cm de largura e 0,5 a 1,5 cm de espessura. A superfície externa é rugosa, de coloração pardacenta e é geralmente recoberta de placas esbranquiçadas a acinzentadas, com esparsas manchas pretas. A superfície interna é de coloração pardo-avermelhada, apresentando estrias longitudinais devido à presença de grossas fibras estreitas e opostas entre si.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal da casca há periderme bem desenvolvida, com 15 a 30 camadas de células tabulares, enfileiradas radialmente. No córtex, em secção transversal, há de 10 a 22 camadas ou mais de células de parênquima cortical achatadas radialmente, alternadas a faixas de fibras esclerenquimáticas; após as faixas de parênquima ocorrem faixas de feloderme, caracterizadas por células achatadas dispostas radialmente em fileiras sobrepostas. Raios e cordões parenquimáticos são evidentes. Algumas células parenquimáticas do parênquima cortical contêm cristais prismáticos, além de grãos de amido. Na secção longitudinal há camadas de fibras alternadas aos raios parenquimáticos.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração castanho-clara; porções de células do parênquima; fragmentos de fibras esclerenquimáticas libríformes; células parenquimáticas com cristais prismáticos e com células pétreas.

D. 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, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: pesar 1 g da droga moída e colocar em balão de fundo redondo adicionando 10 mL de metanol. Aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar em algodão.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada (catequina)
	Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 10%.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 1%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 6%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,750 g da droga pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água e aquecer em banho-maria durante 30 minutos, à temperatura entre 85 °C e 90 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo transferindo as

águas de lavagem com todo conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água destilada. Deixar decantar e filtrar em papel de filtro o líquido sobrenadante. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: diluir 5 mL da *Solução estoque* em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir volumetricamente 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar mecanicamente em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir volumetricamente 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio anidro 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol e transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos totais expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação;

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

Catequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μ m), mantida à temperatura de 23 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fosfórico a 85% (99:1).

Fase móvel (2): metanol e ácido fosfórico a 85% (99:1)

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 15	70 → 50	30 → 50	gradiente linear
15 - 16	50 → 25	50 → 75	gradiente linear
16 - 17	25 → 70	75 → 30	gradiente linear
17 - 18	70	30	isocrático

Solução amostra: pesar 0,750 g da droga pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria durante 30 minutos, a temperatura de 85 °C a 90 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo transferindo as águas de lavagem com todo conteúdo de droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de catequina em água, para obter solução a 4,05 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção da catequina na amostra é de aproximadamente 6,1 minutos. Calcular o teor de catequina, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TC = teor de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

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

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

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

FD = fator de diluição (250).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

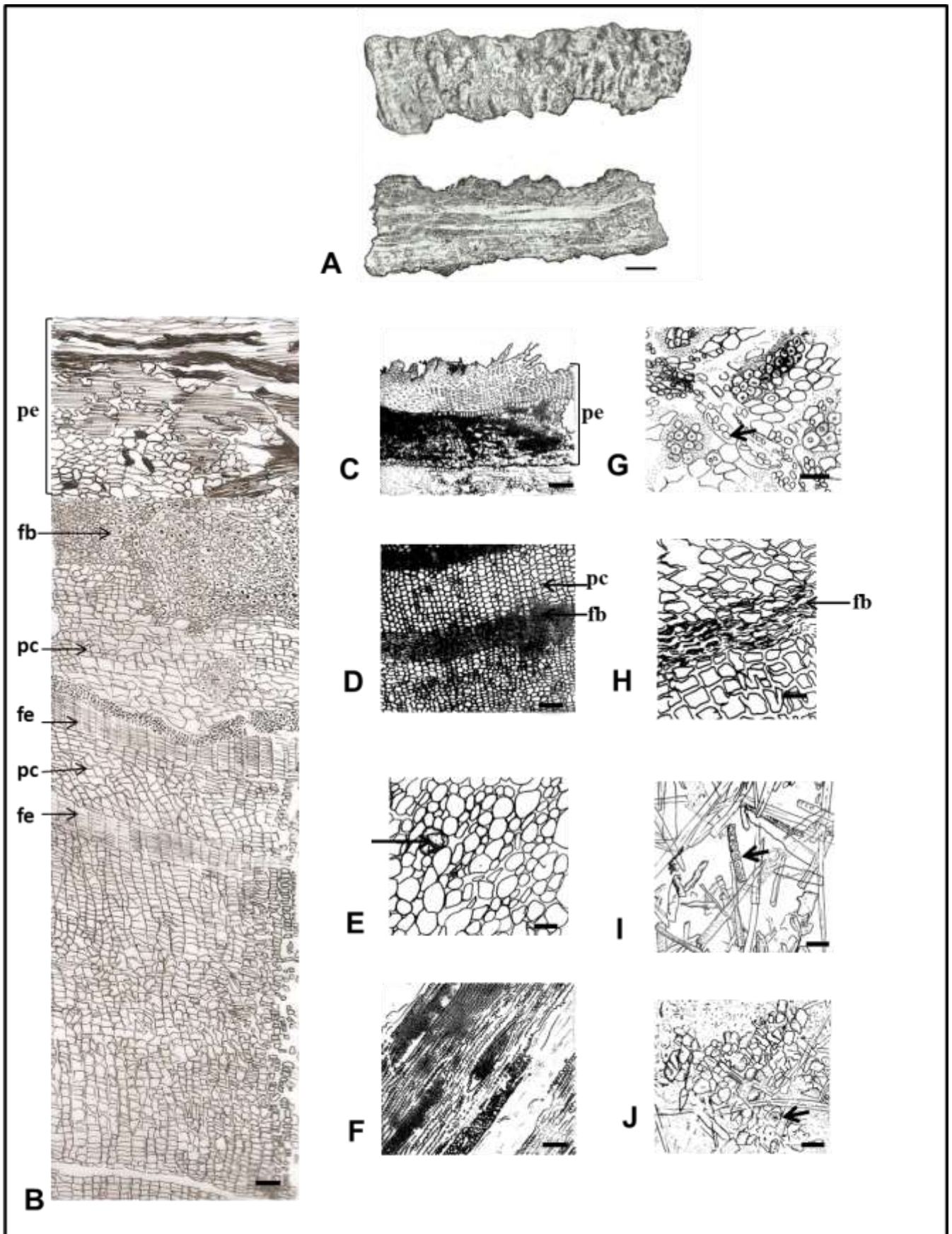


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan

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

A - aspecto geral da casca do caule, em vista frontal e interna, respectivamente. B - detalhe da distribuição dos tecidos do caule, em secção transversal: feloderme (fe), fibras (fb), parênquima cortical (pc), periderme (pe). C - detalhe da secção

transversal da casca: periderme (pe). **D** - detalhe da secção transversal da casca: parênquima cortical (pc) e faixas de fibras (fb). **E** - detalhe da secção transversal da casca: cristal prismático nas células de parênquima cortical (seta). **F** - detalhe da secção longitudinal da casca mostrando um cordão parenquimático e um raio. **G** - detalhe da secção transversal na região dos raios parenquimáticos da casca: grãos de amido nas células de parênquima cortical (seta). **H** - detalhe da secção longitudinal da casca: fibras (fb). **I e J** - detalhes observados no pó. **I** - fibras libríformes e células parenquimáticas com cristais prismáticos (seta). **J** - células pétreas (seta).

ANGICO, extrato fluido *Anadenantherae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de cascas secas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, contendo, no mínimo, 5% de taninos totais e, no mínimo, 0,13% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação, ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho-escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: diluir 0,2 mL do extrato fluido para 10 mL de metanol.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0353 a 1,0704.

Etanol (5.3.3.8.1). 66% (v/v) a 70% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 18% (p/p).

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

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 1,0 g do extrato fluido, em balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Filtrar em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Diluir, em água, 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio anidro 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos totais expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra;

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

Catequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μ m), mantida à temperatura de 23 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fosfórico a 85% (99:1).

Fase móvel (2): metanol e ácido fosfórico a 85% (99:1).

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 - 15	70 \rightarrow 50	30 \rightarrow 50	gradiente linear
15 - 16	50 \rightarrow 25	50 \rightarrow 75	gradiente linear
16 - 17	25 \rightarrow 70	75 \rightarrow 30	gradiente linear
17 - 18	70	30	isocrático

Solução amostra: pipetar 50 μ L do extrato fluido, transferir para um balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com água. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 μ m.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de catequina em água, para obter solução a 7,56 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção da catequina na amostra é de aproximadamente 6,1 minutos. Calcular o teor de catequina, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TC = teor de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

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

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

m = massa em gramas da amostra;

FD = fator de diluição (10).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ANGICO, tintura *Anadenantherae tinctura*

A tintura é obtida a partir de cascas secas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, contendo, no mínimo, 1% de taninos totais e, no mínimo, 0,020% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 1:10 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: diluir cerca de 1 mL da tintura com 5 mL de metanol.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar em capela de exaustão. Nebulizar a placa vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada (catequina)
	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de coloração rósea-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9272 a 0,9971.

Etanol (5.3.3.8.1). 65% (v/v) a 69% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 2% (p/p).

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

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 3,0 g da tintura, em balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Filtrar em papel de filtro. Descartar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol em balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos totais expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra;

m_2 = massa em gramas de pirogalol;

Catequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μ m), mantida à temperatura ambiente de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fosfórico a 85% (99:1).

Fase móvel (2): metanol e ácido fosfórico a 85% (99:1).

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0-15	70 → 50	30 → 50	gradiente linear
15-16	50 → 25	50 → 75	gradiente linear
16-17	25 → 70	75 → 30	gradiente linear
17-18	70	30	isocrático

Solução amostra: pipetar 50 µL do extrato fluido e transferir para um balão volumétrico de 10 mL, completando o volume com água. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de catequina em água, para obter solução a 7,56 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção da catequina na amostra é de aproximadamente 6,1 minutos. Calcular o teor de catequina, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TC = teor de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

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

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

m = massa em gramas da amostra;

FD = fator de diluição (10).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ANIS-DOCE, óleo

Anisi aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de frutos maduros e secos de *Pimpinella anisum* L.

CARACTERÍSTICAS

Líquido fluído, límpido, incolor ou amarelo claro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica gel F₂₅₄ (250 µm)

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

Solução amostra: diluir 1,0 g do óleo volátil em tolueno e completar o volume para 10,0 mL com o mesmo solvente.

Solução referência: diluir 10 µL de linalol, 30 µL de anisaldeído e 200 µL de anetol em tolueno e completar o volume para 15,0 mL com o mesmo solvente. Transferir 1,0 mL dessa solução e completar o volume para 5,0 mL com tolueno.

Revelador (1): dissolver 0.25 g de 4-acetilbenzoato de metila em uma mistura de 5 mL de ácido sulfúrico e 85 mL de metanol resfriado.

Revelador (2): anisaldeído (0,5% em ácido acético/ácido sulfúrico).

Procedimento: aplicar em duas cromatoplasmas, separadamente, em forma de banda, 5 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplasmas e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a primeira placa com *Revelador (1)* e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos. Examinar as cromatoplasmas sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a segunda placa com o *Revelador (2)*, aquecer entre 100 °C e 105 °C, durante 5 a 10 minutos. Examinar sob a luz visível nos primeiros 10 minutos.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, para a primeira, após exame sob a luz ultravioleta em 254 nm, e a segunda cromatoplasmas, respectivamente. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<i>trans</i> Anetol: zona de atenuação de fluorescência	Zona muito intensa de atenuação de fluorescência
	Zona de atenuação de fluorescência
Aldeído anísico: zona de atenuação de fluorescências	Zona de atenuação de fluorescência
Solução referência	Solução amostra

Parte superior da placa	
<i>trans</i> Anetol: zona de atenuação de fluorescência	Zona muito intensa de atenuação de fluorescência
	Zona de atenuação de fluorescência
Aldeído anísico: zona de atenuação de fluorescências	Zona de atenuação de fluorescência
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Temperatura de congelamento (5.2.4). 15 °C a 19 °C.

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,980 a 0,999.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,552 a 1,561.

Óleos fixos e óleos voláteis resinificados. Colocar uma gota da amostra num fragmento de papel de filtro. A gota deve evaporar completamente em 24 horas sem deixar mancha translúcida ou gordurosa.

Fenchona. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*, utilizando as condições indicadas no ensaio *Perfil cromatográfico* com as alterações a seguir:

Solução amostra: diluir 400 µL da amostra em 2,0 mL de hexano.

Solução referência (1): diluir 10 µL de fenchona em hexano e completar o volume com o mesmo solvente até obter 1,2 g.

Solução referência (2): transferir 100 µL da *Solução referência (1)* para um balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com hexano e homogeneizar.

Adequabilidade do sistema

Relação sinal/ruído: *Solução referência (2)*, no mínimo 10 para o pico principal.

Limites: fenchona, no máximo 0,01%.

Perfil Cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detetor por ionização em chama, utilizando mistura de nitrogênio,

hidrogênio e ar sintético na razão (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 polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar hélio purificado como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 5	60
	5 – 80	60 → 210
	80 – 95	210
Injetor		220
Detector		220

Solução amostra: diluir 200 µL da amostra em 1,0 mL de hexano.

Solução referência: diluir 20 µL de linalol, 20 µL de estragol, 20 µL de α -terpineol, 60 µL de anetol e 30 µL de anisaldeído em 1,0 mL de hexano.

Procedimento: injetar volume de 0,2 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência*.

Ordem de eluição: ordem de preparação da *Solução referência*. Registre os tempos de retenção das substâncias.

Adequabilidade do sistema Resolução entre picos: *Solução referência*, no mínimo 1,5 entre os picos devidos do estragol e α -terpineol.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra* verificar a presença dos componentes conforme segue: linalol, inferior a 1,5%; estragol, 0,5 a 5,0%; α -terpineol, inferior a 1,2%; *cis*-anetol, 0,1 a 0,4%; *trans*-anetol, 87 a 94%; anisaldeído, 0,1 a 1,4%; 2-metilbutirato de pseudo-isoeugenilo, 0,3 a 2,0%.

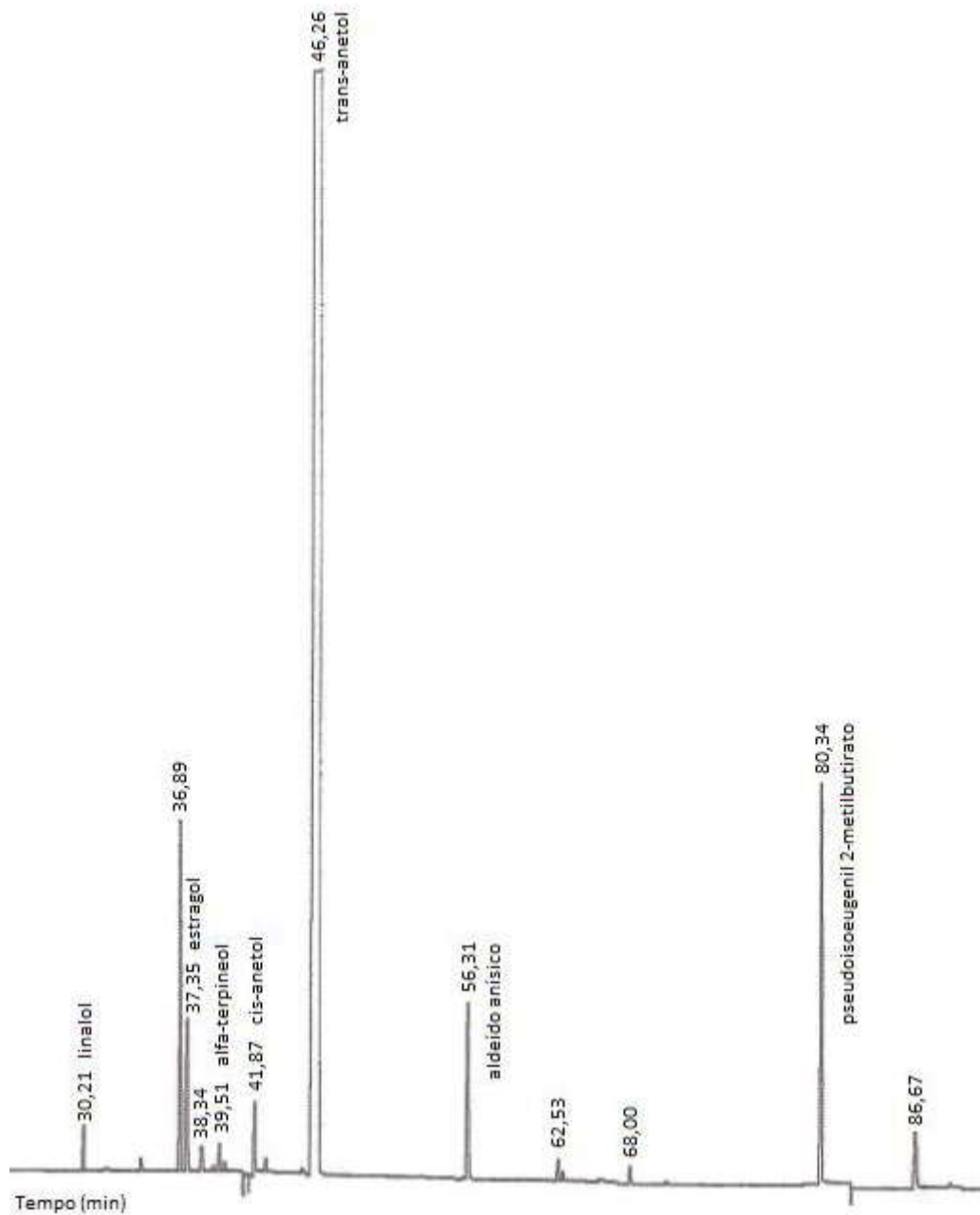


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Pimpinella anisum* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ANIS-ESTRELADO, tintura *Anisi stellati fructus tinctura*

A tintura é obtida a partir de frutos secos de *Illicium verum* Hook f., contendo, no mínimo, 0,6% de anetol (C₁₀H₁₂O, 148,20).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70% (como líquido extrator).

CARACTERÍSTICAS

Líquido de cor castanho-amarelado ou castanho-avermelhado, com odor característico de anetol.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: mistura de hexano e tolueno (90:13).

Solução amostra: adicionar 5 mL da tintura em balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com etanol.

Solução referência: adicionar 30 µL de anetol em balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com tolueno.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 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 vanilina sulfúrica SR, aquecer a 105 °C durante 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Anetol: zona de coloração azul violácea	Zona de coloração azul violácea
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,8900 a 0,9200.

Etanol (5.3.3.8.1). 70% (v/v) a 74% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 2,0% (p/p).

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

Anetol

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 258 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 22 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: mistura de metanol, água e ácido trifluoroacético (95:5:0,06).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente medida de anetol em metanol, para obter solução a 0,02 µL/mL.

Solução amostra: diluir 130 µL de tintura em 50 mL de metanol.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção do anetol na amostra é de aproximadamente 6 minutos. Calcular o teor de anetol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{C_r \times A_a \times 50 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TA = teor de anetol % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente ao anetol na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico corresponde ao anetol na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da tintura, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados ao abrigo da luz e do calor.

AROEIRA, casca
Schinus terebinthifolii cortex

A droga vegetal consiste de cascas secas do caule de *Schinus terebinthifolia* Raddi, contendo, no mínimo, 8% de taninos totais, no mínimo, 0,20% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12), e, no mínimo, 0,65% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As cascas caulinares secas apresentam-se em fragmentos ligeiramente curvos, rígidos e pouco quebradiços, de 10,0 a 15,0 cm de comprimento, 2,0 a 2,5 cm de largura e 0,2 a 0,5 cm de espessura. Externamente a casca apresenta ritidoma rugoso, marcado por fendas irregulares, de coloração pardo-acinzentada e com manchas esbranquiçadas, devido à presença de líquens. Internamente os fragmentos apresentam coloração pardo-avermelhada, de aparência resinosa e com estrias longitudinais.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o córtex apresenta súber composto por aproximadamente 15 camadas de células achatadas radialmente, com lenticelas visíveis, seguido pela periderme de felogênio indistinto e feloderme, em cujas células parenquimáticas corticais são visíveis várias calotas de fibras esclerenquimáticas e canais secretores. É possível observar os raios parenquimáticos atravessando toda a espessura do córtex. Ao redor dos canais secretores ocorrem células contendo grãos de amido. Em secção longitudinal radial é visível o súber com células achatadas radialmente e as células do parênquima cortical com formatos irregulares e fibras esclerenquimáticas presentes. Faixas de células parenquimáticas se alternam com faixas floemáticas, estas com fibras abundantes, que dificultam a visualização das células do floema. Os raios são heterocelulares, constituídos por células parenquimáticas procumbentes, que são alongadas no sentido radial, e células eretas, estas localizadas nas margens superior e inferior do raio. As células das faixas parenquimáticas mostram-se em sua maioria alongadas longitudinalmente e algumas são arredondadas. No floema é possível observar células parenquimáticas contendo cristais prismáticos. Em secção longitudinal tangencial os raios são bisseriados e os canais secretores são ramificados.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; presença de células pétreas; presença de fragmentos de súber; cristais prismáticos e fragmentos de parênquima.

D. 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, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: pesar 1 g da droga moída e colocar em balão de fundo redondo adicionando 10 mL de metanol. Aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar em algodão.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de metanol.

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (1)*. Em outra cromatoplaça, aplicar, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplaças e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa contendo a *Solução referência (1)* com cloreto férrico a 1% (p/v); e, a placa contendo a *Solução referência (2)*, com vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada	Zona de coloração azul-acinzentada (ácido gálico)
	Zona de coloração azul-acinzentada
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Catequina: Zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada (catequina)
	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de coloração rósea-avermelhada
<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). Método gravimétrico. No máximo 11%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 1%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 9%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 8%.

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

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

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,750 g da droga pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água destilada e aquecer em banho-maria durante 30 minutos, à temperatura entre 85 °C e 90 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo transferindo as águas de lavagem com todo conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água destilada. Deixar decantar e filtrar em papel de filtro o líquido sobrenadante. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar mecanicamente em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir, volumetricamente, 5 mL desse filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio anidro 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação;

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

Ácido gálico e catequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μ m), mantida à temperatura de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0-10	90 → 75	10 → 25	gradiente linear
10-20	75 → 60	25 → 40	gradiente linear
20-25	60 → 25	40 → 75	gradiente linear
25-28	25 → 90	75 → 10	gradiente linear
28-30	90	10	gradiente linear

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,750 g da droga pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria durante 30 minutos, à temperatura de 85 °C a 90 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado. Filtrar em unidade filtrante 0,45 μ m.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 6,48 μ g/mL.

Solução referência (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de catequina em água, para obter solução a 18 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção do ácido gálico e catequina na amostra é de aproximadamente 9,9 e 17,7 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de catequina, em porcentagem, separadamente, segundo a expressão:

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

em que,

TC = teor de ácido gálico ou de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência (1)* ou (2) em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução referência (1)* ou (2), respectivamente;

A_a = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução amostra*;

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

FD = fator de diluição (250).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

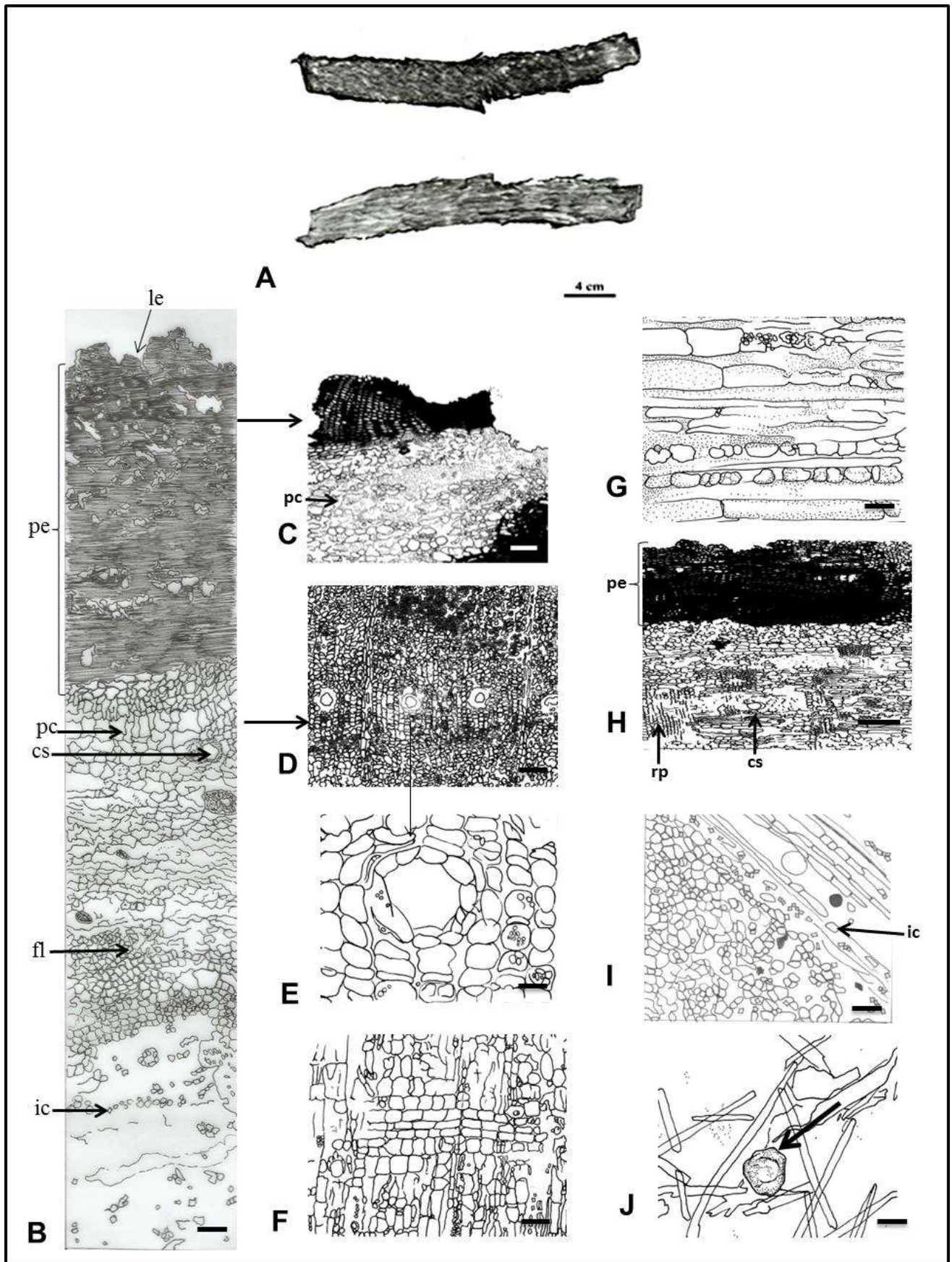


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Schinus terebinthifolia* Raddi

As escalas correspondem em A a 4 cm; B a 25 μm ; C e J a 100 μm ; D, F, G e I a 200 μm ; e E e H a 50 μm .

A - aspecto geral da casca do caule, em vista frontal e interna, respectivamente. B - detalhe da distribuição dos tecidos da casca do caule, em secção transversal: lenticela (le); periderme (pe); célula do parênquima cortical (pc); canal secretor (cs); floema (fl); idioblasto cristalífero (ic). C - detalhe de secção transversal da casca, mostrando periderme; parênquima

cortical (pc). **D** - detalhe de secção transversal da casca, mostrando floema, faixa de parênquima cortical, raios parenquimáticos e canal secretor. **E** - detalhe de secção transversal da casca, mostrando um canal secretor na região cortical. **F** - detalhe de secção longitudinal da casca, com faixas de parênquima cortical e de floema com fibras abundantes. **G** - detalhe de secção longitudinal da casca, com faixas parenquimáticas mostrando células alongadas e algumas arredondadas. **H** - detalhe de secção longitudinal radial da casca mostrando a periderme (pe), canal secretor (cs) e as células parenquimáticas dos raios (rp). **I** - detalhe de secção longitudinal radial da casca com cristais prismáticos em células do floema; idioblasto cristalífero (ic). **J** - célula pétreia (seta).

AROEIRA, extrato fluido *Schinus terebinthifoliae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de cascas secas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, contendo, no mínimo, 7% de taninos totais, no mínimo, 0,08% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12) e 0,49% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: diluir 0,2 mL do extrato fluido para 10 mL em metanol.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de metanol.

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (1)*. Em outra cromatoplaça, aplicar, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplaças e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa contendo a *Solução referência (1)* com cloreto férrico a 1% (p/v); e, a placa contendo a *Solução referência (2)* com vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<p>Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada</p> <hr/>	<p>Zona de coloração azul-acinzentada (ácido gálico)</p> <hr/> <p>Zona de coloração azul-acinzentada</p>
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
<p>Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada</p> <hr/>	<p>Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada</p> <hr/> <p>Zona de coloração rósea-avermelhada</p> <p>Zona de coloração rósea-avermelhada</p>
<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9305 a 1,0160.

Etanol (5.3.3.8.1). 68% (v/v) a 71% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 7% (p/p).

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

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g do extrato fluido em balão volumétrico de 250 mL, adicionar água até completar o volume e homogeneizar. Filtrar em papel de filtro e descartar os primeiros 50 mL.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL da solução estoque para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar mecanicamente em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL desta solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra;

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

Ácido gálico e catequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0-10	95 → 80,7	10 → 25	gradiente linear
10-13,5	80,7 → 75	25 → 40	gradiente linear
13,5-23	75 → 62	40 → 75	gradiente linear
23-25	62 → 25	75 → 10	gradiente linear
25-28	25 → 95	75 → 10	gradiente linear
28-32	95	5	isocrático

Solução amostra: transferir, com auxílio de uma pipeta, 0,080 mL da tintura para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 7,2 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de catequina em água, para obter solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência (1)* 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção do ácido gálico e catequina na amostra é de aproximadamente 12 e 21 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de catequina, em porcentagem, separadamente, segundo a expressão:

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

em que,

TC = teor de ácido gálico ou de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência (1)* ou (2) em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução referência (1)* ou (2), respectivamente;

A_a = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra;

FD = fator de diluição (10).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

AROEIRA, tintura *Schinus terebinthifoliae tinctura*

A tintura é obtida a partir de cascas secas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, contendo, no mínimo, 1% de taninos totais e, no mínimo, 0,01% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12) e 0,05% de catequina (C₁₅H₁₄O₆, 290,27).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por maceração ou percolação utilizando etanol 70% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho amarelado ou castanho-avermelhado.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1),

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm)

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: diluir 0,2 mL da tintura para 10 mL de metanol.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de metanol.

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)*. Em outra cromatoplaca, aplicar, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplas e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa contendo *Solução referência (1)* com cloreto férrico a 1% (p/v); e a placa contendo *Solução referência (2)* com vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada _____	Zona de coloração marrom Zona de coloração azul-acinzentada (ácido gálico) _____
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada _____	Zona de coloração rósea-avermelhada (catequina) _____ Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada
<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,9098 a 0,9147.

Etanol (5.3.3.8.1). 66% (v/v) a 70% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 2% (p/p).

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

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 3 g de tintura de aroeira, transferir para um balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Filtrar a solução em papel de filtro e descartar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL da solução estoque para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL desta solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar mecanicamente em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir volumetricamente 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar para obter a solução estoque do padrão. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra;

m_2 = massa em gramas de pirogalol;

Ácido gálico e Catequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0-10	90 → 75	10 → 25	gradiente linear
10-20	75 → 60	25 → 40	gradiente linear
20-25	60 → 25	40 → 75	gradiente linear
25-28	25 → 90	75 → 10	gradiente linear
28-30	90	10	gradiente linear

Solução amostra: transferir, com auxílio de uma pipeta, 0,500 mL da tintura para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 6,4 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de catequina em água, para obter solução a 26 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção do ácido gálico e catequina na amostra é de aproximadamente 12,0 e 21,0 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de catequina, em porcentagem, separadamente, segundo a expressão:

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

em que,

TC = teor de ácido gálico ou de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência (1)* ou (2) em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução referência (1)* ou (2), respectivamente;

A_a = área sob o pico correspondente ao ácido gálico ou à catequina na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra;

FD = fator de diluição (10).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BÁLSAMO-DE-TOLU, tintura *Balsamum toltanum tinctura*

A tintura é obtida a partir do oleoresina de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms var. *balsamum*, contendo, no mínimo, 2,5% e, no máximo, 5,0% de ácidos livres ou combinados, expressos em ácido cinâmico (C₉H₈O₂, 148,16).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 80% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de cor castanho-amarelada ou castanho-avermelhada.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno e éter de petróleo(95:5).

Solução amostra: diluir a tintura na proporção de 1:1 (v/v) em etanol.

Solução referência: dissolver 50 µL de cinamato de benzila em 1 mL de cloreto de metileno, adicionar 50 µL de benzoato de benzila e completar o volume para 10 mL com diclorometano.

Revelador: dissolver 1 g de vanilina em 100 mL de metanol. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico e 5 mL de ácido sulfúrico.

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração roxa
Benzoato de benzila: zona de coloração azul Cinamato de benzila: zona de coloração azul	Zona de coloração azul (benzoato de benzila) Zona de coloração azul (cinamato de benzila)
	Zona de coloração amarelada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,880 a 1,100.

Etanol (5.3.3.8.1). 76% a 84% (p/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 7,0% (p/p).

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

Ácidos livres ou combinados expressos em ácido cinâmico

Aquecer, sob refluxo, em banho-maria, 3,5 g da amostra com 25 mL de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol SV, durante 1 hora. Evaporar o etanol e aquecer o resíduo com 50 mL de água até que a solução fique homogênea. Após o resfriamento até temperatura ambiente, adicionar 80 mL de água e 50 mL da solução de sulfato de magnésio a 30 mg/mL. Misturar e deixar em repouso durante 10 minutos. Filtrar e lavar o resíduo com 20 mL de água. Reunir o filtrado e a água de lavagem, acidificar com ácido clorídrico concentrado e extrair 4 vezes com 40 mL de éter etílico. Desprezar a fase aquosa. Reunir os extratos orgânicos e extrair duas vezes com 20 mL, cada, e três vezes com 10 mL, cada, de solução de bicarbonato de sódio a 5% (p/v). Desprezar a fase etérea. Reunir os extratos aquosos, acidificar com ácido clorídrico concentrado e extrair uma vez com 30 mL, duas vezes com 20 mL, cada, e uma vez com 10 mL de cloreto de metileno. Reunir os extratos orgânicos e dessecar com 10 g de sulfato de sódio anidro. Filtrar e lavar o resíduo com 10 mL de cloreto de metileno. Concentrar os extratos reunidos, sob pressão reduzida, até 10 mL e eliminar o restante do diclorometano em corrente de ar na capela. Dissolver a quente o resíduo com 10 mL de etanol neutralizado previamente em presença de solução de vermelho de fenol SI. Após resfriamento, titular com hidróxido de sódio

0,1 M SV, utilizando o mesmo indicador. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 14,816 mg de ácido cinâmico (C₉H₈O₂).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BAUNILHA, tintura *Vanillae fructus tinctura*

A tintura é obtida a partir de frutos imaturos e secos de *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, contendo, no mínimo, 0,20% de vanilina (C₈H₈O₃, 152,15).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, castanho escuro, de odor característico de vanilina.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄, (0,20 mm).

Fase móvel: ácido acético anidro, metanol e cloreto de metileno (98,5:1:0,5).

Solução amostra: diluir 0,2 mL da tintura para 10 mL de metanol. Diluir 0,04 mL da solução anterior para 2 mL de metanol.

Solução referência: dissolver 1 mg de vanilina em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar em capela de exaustão. Após a secagem, examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Vanilina: zona de coloração azul-roxa	Zona de coloração azul-roxa (vanilina)
	Zona de coloração azul-roxa
	Zona de coloração azul-roxa
	Zona de coloração azul-roxa
	Zona de coloração azul-roxa
	Zona de coloração azul-roxa
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9081 a 0,9214.

Etanol (5.3.3.8.1). 64% (v/v) a 67% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 4% (p/p).

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

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna de 3,9 µm, coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 25 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido acético glacial (99,5:0,5).

Fase móvel (2): metanol e ácido acético glacial (99,5:0,5).

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 - 10	90 → 70	10 → 30	gradiente linear
10 - 20	70 → 20	30 → 80	gradiente linear
20 - 25	20 → 20	80 → 80	gradiente linear
25 - 30	20 → 90	80 → 10	gradiente linear

Solução amostra: diluir 0,100 mL da tintura em balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com metanol.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de vanilina em metanol, para obter solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção da vanilina é de aproximadamente 13,5 minutos. Calcular o teor de vanilina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TV = \frac{C_r \times A_a \times FD \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TV = teor de vanilina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

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

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

m = massa da tintura, determinada a partir da densidade; e

FD = fator de diluição (5).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BENJOIM, tintura *Benzoe sumatranus tinctura*

A tintura é obtida a partir da resina balsâmica, obtida por incisões no tronco de *Styrax benzoin* Dryand., contendo, no mínimo, 4% (p/p) de ácidos totais, expressos como ácido benzoico (C₇H₆O₂, 122,12).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 20% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 80,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de cor castanho-amarelado ou castanho-avermelhado.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: hexano, éter isopropílico e ácido acético glacial (3:1:0,5).

Solução amostra: diluir 50 µL da tintura em 950 µL de etanol.

Solução referência (1): preparar uma solução etanólica contendo 2,5 mg/mL de vanilina e 5 mg/mL de ácido benzoico.

Solução referência (2): preparar uma solução etanólica contendo 2,5 mg/mL de ácido cinâmico e 2,5 mg/mL de metil cinamato.

Procedimento: saturar previamente a cuba com papel filtro de 15x15 cm impregnado com a *Fase móvel* por 20 minutos. Aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra*, 10 µL da *Solução referência (1)* e 10 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Metil cinamato: zona de fluorescência roxa Ácido benzóico: zona de fluorescência roxa Ácido cinâmico: zona de fluorescência roxa	Zona de fluorescência roxa (metil cinamato) Zona de fluorescência roxa (ácido cinâmico) Zona de fluorescência roxa intensa
Vanilina: zona de fluorescência roxa	
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade da relativa (5.2.5). 0,8480 a 0,9060.

Etanol (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool.* 76% (v/v) a 84% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 4,0% (p/p).

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

Ácidos totais expressos em ácido benzoico

Em balão de boca esmerilhada de 250 mL, introduzir 3,50 g da tintura e 15 mL de solução de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol SV. Aquecer, sob refluxo, em banho-maria, durante 30 minutos. Deixar esfriar, lavar o condensador com 20 mL de etanol a 96%. Titular o excesso de hidróxido de potássio com ácido clorídrico 1 M SV. Determinar o ponto final potenciométricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de solução de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol SV equivale a 61,05 mg de ácido benzoico (C₇H₆O₂).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BOLDO, extrato fluido

Boldus extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de folhas secas de *Peumus boldus* Molina, contendo, no mínimo, 0,10% de alcaloides totais expressos em boldina (C₁₉H₂₁NO₄, 327,38).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por maceração ou percolação, utilizando etanol a 70% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido verde escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄.

Fase móvel: tolueno, metanol e dietilamina (8:1:1).

Solução amostra: transferir 25 mL do extrato e secar até resíduo em banho-maria, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo com duas porções de 10 mL de ácido clorídrico 2 M. Filtrar a solução em algodão e alcalinizar com hidróxido de amônio 6 M até pH 9. Transferir a solução para um funil de separação. Extrair duas vezes com 20 mL de éter etílico. Reunir a fase orgânica e filtrar em papel de filtro. Secar a fase orgânica até resíduo, em banho-maria, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de boldina em metanol, para obter a concentração de 400 µg/mL.

Revelador: iodobismutato de potássio aquo-acético.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL das *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob luz ultravioleta em 365nm. Nebulizar a placa com iodobismutato de potássio aquo-acético. Deixar secar a placa ao ar por 5 minutos. Nebulizar a placa com nitrito de sódio SR. Após 30 minutos examinar sob a luz visível.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após exame sob a luz ultravioleta em 365 nm e sob a luz visível, na ordem. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Boldina: zona de fluorescência azul	Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Boldina: Zona coloração marrom	Zona de coloração verde
	Zona de coloração marrom Zona de coloração marrom
	Zona de coloração marrom
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0459 a 1,0592.

Etanol (5.3.3.8.1). 39,2 % (v/v) a 40,4 % (v/v). Proceder conforme descrito em tratamentos especiais, líquidos com menos de 50% de álcool.

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 35% (p/v).

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

Alcaloides totais

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 304 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 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura da *Solução A* e *Solução B* (16:84).

Solução A: mistura de 0,2 mL de dietilamina e 99,8 mL de acetonitrila.

Solução B: mistura de 0,2 mL de dietilamina e 99,8 mL de água, ajustar o pH para 3,0 com ácido fórmico anidro.

Solução amostra: homogeneizar o extrato fluido e transferir, volumetricamente, 1 mL para um béquer de 250 mL. Lavar a pipeta com 3 mL de ácido clorídrico 5,5 M, transferindo para o béquer. Adicionar 50 mL de ácido clorídrico 5,5 M. Homogeneizar e verificar o pH que deve estar entre 2 e 3. Transferir, quantitativamente, a solução para um funil de separação de 250 mL e lavar o béquer com 10 mL de ácido clorídrico 5,5 M. Extrair com 100 mL de uma mistura de hexano e acetato de etila (1:1). Agitar vigorosamente. Após a separação das fases, descartar a fase orgânica. Transferir a fase aquosa para um béquer e adicionar hidróxido de amônio 6 M, aproximadamente 150 mL, até obter o pH 9,0. Transferir a amostra para outro funil de separação de 250 mL e extrair quatro vezes com 50 mL de diclorometano. Reunir as fases orgânicas e adicionar 40 g de sulfato de sódio anidro. Agitar com bastão de vidro. Filtrar em papel de filtro para balão de fundo redondo de 250 mL. Lavar o béquer com três porções de 10 mL de diclorometano. Filtrar e reunir as soluções orgânicas. Evaporar a solução até resíduo, em evaporador rotativo, com temperatura não superior a 50 °C. Dissolver o resíduo em 5 mL de *Fase móvel*. Levar ao ultrassom por 5 minutos. Transferir a solução quantitativamente para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução referência: pesar, com exatidão, cerca de 12 mg de boldina e transferir para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL de *Fase móvel*, levar ao ultrassom durante 2 minutos,

completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1 mL da solução obtida para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: Solução amostra, mínimo 1,0 entre os picos referentes a isoboldina e a boldina.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes a boldina e aos seis alcaloides descritos a seguir. Os tempos de retenção relativos à boldina são, aproximadamente, 0,9 para isoboldina, 1,0 para boldina, 1,8 para *N*-óxido de isocoridina, 2,2 para laurotetanina, 2,8 para isocoridina e 3,2 para *N*-metil laurotetanina. Calcular o teor de alcaloides totais expressos em boldina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{\sum A_1 \times m_2 \times P}{A_2 \times m_1 \times 100}$$

em que,

TA = teor de alcaloides totais expressos em boldina % (p/p);

$\sum A_1$ = soma das áreas sob os picos correspondentes aos seis alcaloides identificados no cromatograma obtido com a *Solução amostra*;

m_1 = massa em gramas de amostra, determinada a partir da densidade;

m_2 = massa em gramas de boldina na *Solução referência*;

A_2 = área sob o pico correspondente à boldina na *Solução referência*; e

P = pureza percentual declarada da substância de referência boldina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CALÊNDULA, extrato fluido *Calendulae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de flores secas de *Calendula officinalis* L., contendo, no mínimo, 0,4% de flavonoides totais, expressos como hiperosídeo (C₂₁H₂₀O₁₂, 464,38).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro, com odor característico.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄(0,25 mm).

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

Solução amostra: secar 0,5 mL do extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura não superior a 60°C. Adicionar 2 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de rutina em metanol, para obter a concentração de 250 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de ácido clorogênico em metanol, para obter a concentração de 100 µg/mL.

Solução referência (3): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de ácido cafeico em metanol, para obter a concentração de 100 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução referência (3)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e a seguir com solução de macrogol 400 (PEG) a 5% (p/v) em etanol. Aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)*, *Solução referência (3)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: Zona de fluorescência azul clara	Zona de fluorescência azul clara Zona de fluorescência azul
Ácido clorogênico: Zona de fluorescência azul	Zona de fluorescência esverdeada Zona de fluorescência azul
Rutina: Zona de fluorescência amarela	Zona de fluorescência esverdeada Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência amarelo-esverdeado
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9660 a 0,9970.

Etanol (5.3.3.8.1). *Método II.* 52,0% (v/v) a 56% (v/v).

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 18,0% (p/p).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e no máximo 0,05% de 2-propanol.

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

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: em um balão de fundo redondo, adicionar 0,8 mL do extrato fluido de calêndula. Acrescentar 1 mL de solução de metenamina a 5 g/L, 20 mL de acetona e 7 mL de ácido clorídrico. A seguir, refluxar em banho-maria durante 30 minutos. Filtrar em papel de filtro, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetona e homogeneizar. Transferir 20 mL da solução para um funil de separação e adicionar 20 mL de água. Extrair com uma quantidade de 15 mL e, a seguir, com três quantidades de 10 mL de acetato de etila. Após o processo de extração reunir as fases de acetato de etila, transferir para outro funil de separação e lavar com duas quantidades de 50 mL de água. Transferir a fase acetato de etila para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com acetato de etila e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 10 mL da *Solução estoque* para um balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL da solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em solução de ácido acético a 5% (v/v) em metanol. Completar o volume com a solução de ácido acético a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para um balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de ácido acético a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 425 nm, após exatamente 30 minutos, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais expresso em hiperosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TFT} = \frac{A \times 1,25}{m}$$

em que,

TFT = teor de flavonoides totais expresso em hiperosídeo % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

m = massa em gramas do extrato fluido de calêndula, determinado a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CALÊNDULA, tintura *Calendulae tinctura*

A tintura é obtida a partir de flores secas de *Calendula officinalis* L., contendo, no mínimo, 0,04% de flavonoides totais, expressos como hiperosídeo (C₂₁H₂₀O₁₂, 464,38).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*,

Fase estacionária sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

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

Solução amostra: secar 1 mL da tintura até resíduo, em banho maria, em temperatura máxima de 60 °C. Adicionar 2 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade, exatamente pesada, de rutina em metanol, para obter a concentração de 250 µg/mL.

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

Solução referência (3): dissolver uma quantidade, exatamente pesada, de ácido cafeico em metanol, para obter a concentração de 100 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução referência (3)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em metanol, seguido de uma solução de macrogol 400 (PEG) a 5% (p/v) em etanol, aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)*, a *Solução referência (3)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de fluorescência azul clara	Zona de fluorescência azul clara Zona de fluorescência azul
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul	Zona de fluorescência esverdeada Zona de fluorescência azul
Rutina: zona de fluorescência amarela	Zona de fluorescência esverdeada Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência amarelo-esverdeado
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9122 a 0,9500.

Etanol (5.3.3.8.1). Método II. 60% (v/v) a 64% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 7,00% (p/p).

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

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: em um balão de fundo redondo, adicionar 8,0 mL da tintura de calêndula. Acrescentar 1 mL de solução aquosa de metenamina 5 g/L, 20 mL de acetona e 7 mL de ácido clorídrico. A seguir, refluxar em banho-maria durante 30 minutos. Filtrar em papel de filtro, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com acetona e homogeneizar. Transferir 20 mL da solução para um funil de separação e adicionar 20 mL de água. Extrair com uma quantidade de 15 mL e, a seguir, com três quantidades de 10 mL de acetato de etila. Após o processo de extração reunir as fases de acetato de etila, transferir para outro funil de separação e lavar com duas quantidades

de 50 mL de água. Transferir a fase acetato de etila para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com acetato de etila e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 10 mL da *Solução estoque* para um balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL da solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em solução de ácido acético a 5% (v/v) em metanol. Completar o volume do balão volumétrico de 25 mL com a solução de ácido acético a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para um balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com a solução de ácido acético a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 425 nm, após exatamente 30 minutos, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TFT} = \frac{A \times 1,25}{m}$$

em que,

TFT = teor de flavonoides totais expresso em hiperosídeo % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da tintura de calêndula, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CAMOMILA, flor *Matricariae flos*

A droga vegetal consiste de capítulos florais secos de *Matricaria chamomilla* L., contendo, no mínimo, 0,4% de óleo volátil, e, no mínimo, 0,25% de apigenina-7-O-glucosídeo (C₂₁H₂₀O₁₀, 432,38).

SINONIMIA CIENTÍFICA

Matricaria recutita L.

Chamomilla recutita (L.) Rausch.

CARACTERÍSTICAS

As inflorescências possuem odor aromático e característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Capítulos de 10 a 17 mm de diâmetro, constituídos de uma porção central hemisférica ou cônica, de três a 10 mm de diâmetro, internamente oca e externamente coberta de flores tubulosas amarelas, sem páleas, rodeada por 12 a 17 flores marginais, liguladas e brancas. Capítulos maduros e secos com flores liguladas visivelmente voltadas para o pedicelo. Invólucro verde, formado por duas a três séries de brácteas oblongo-lanceoladas, glabras ou com tricomas glandulares bisseriados na face abaxial, imbricadas, com ápices obtusos e margem hialina. Flores marginais pistiladas, dispostas em uma só série, com o tubo da corola curto e reto, levemente amarelado, de até 1,5 mm de comprimento, comprimido na altura da abertura da lígula; lígula bem desenvolvida, tridentada, longo-ovalada ou oblonga, de sete a 10 mm de comprimento por até dois a três mm de largura, marcada por quatro nervuras longitudinais, estas raramente acompanhadas por uma ou duas nervuras paralelas mais curtas; estilete constituído de dois ramos papilosos. Flores centrais perfeitas, numerosas, de até 2,5 mm de comprimento, com tubo reto e limbo pentalobado; lobos agudos, iguais, alargando-se a partir de forte constrição, onde se observa grande densidade de tricomas glandulares; cinco estames, sinânteros e epipétalos; ovário ínfero, estilete igual ao das flores liguladas. Fruto aquênio ovóide, com três a cinco estrias longitudinais.

B. Descrição microscópica

Brácteas do invólucro, quando diafanizadas e em vista frontal, apresentam margem escariosa formada por células alongadas, de paredes finas e com cutícula levemente estriada; a epiderme tem numerosos estômatos anomocíticos e no mesofilo, por transparência, são visíveis elementos de condução e muitas fibras, com numerosas pontoações. A epiderme da corola das flores liguladas e tubulosas, em vista frontal, apresenta cutícula estriada e células com paredes periclinais muito finas e levemente sinuosas; em secção transversal, a epiderme das flores liguladas é fortemente papilosa na face abaxial, assim como na face adaxial dos lobos das flores tubulosas. Ocorrem tricomas glandulares esparsos na epiderme da corola ligulada, particularmente numerosos na débil constrição que corresponde à abertura da lígula e também na face abaxial e margem das corolas tubulosas, onde são abundantes. Em secção transversal, no mesofilo das corolas de ambas as flores ocorrem pequenos agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio. As células do ápice dos estiletos, nos estigmas, são nitidamente papilosas. Os filetes dos estames são cilíndricos e a epiderme é composta de células pequenas de paredes levemente espessadas; nas paredes das anteras encontram-se agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio e, no seu interior, grãos de pólen esféricos com três poros germinativos e exina espinhosa. Na base do ovário dos dois tipos de flores ocorre um anel formado por três camadas de esclereídes de paredes espessadas e pontoadas; a epiderme do ovário é formada por células alongadas com paredes sinuosas, apresentando fileiras longitudinais de tricomas glandulares com cabeça bisseriada de duas a quatro células, alternadas com células oblongas a fusiformes, contendo mucilagens; numerosos agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio ocorrem nas paredes internas do ovário. Os aquênios apresentam células produtoras de mucilagem e tricomas glandulares na superfície; a base do aquênio é formada por um anel de esclereídes isodiamétricos, com paredes grossas e lúmen pequeno.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração amarelada; fragmentos de brácteas do invólucro com margem escariosa e cutícula estriada; estômatos anomocíticos e elementos de condução e fibras com numerosas pontoações; fragmentos de epiderme das corolas com cutícula estriada; fragmentos de epiderme das corolas com papilas; fragmentos de estilete e estigmas com papilas na extremidade destes; fragmentos de ovários ou de aquênios com restos do anel formado pelas camadas de esclereídes de paredes

espessadas e pontoadas; fragmentos de paredes de ovários ou de aquênios com agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio; tricomas glandulares bisseriados, com um pé de duas células e com cabeça formada por duas a quatro células por série, com cutícula bem expandida, formando vesícula onde se deposita o óleo volátil; grãos de pólen maduros com cerca de 30 µm; grupos de grãos de pólen imaturos com exina indistinta.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (97:3).

Solução amostra: diluir 50 µL de óleo volátil obtido na *Determinação de óleo volátil* em 1 mL de xileno.

Solução referência: diluir 2 µL de camazuleno, 5 µL de levomenol e 10 mg de acetato de bornila em 5 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. Nebulizar a placa com solução de vanilina sulfúrica SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 1 minuto.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Camazuleno: zona de coloração vermelho rosada	Zona de coloração vermelho rosada
Acetato de bornila: zona de coloração azul violácea	Zona de coloração azul violácea Zona de coloração violácea
Levomenol: zona de coloração violácea	Zona de coloração violácea Zona de coloração azul
	Zona de coloração amarelo-esverdeada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 12%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 5,0%.

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

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.

Material fragmentado. Passar 20 g de droga vegetal íntegra por tamis (710) (5.2.11). No máximo 25%.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Determinação de óleo volátil

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*. Adicionar 30 g de droga recentemente moída em um balão de fundo redondo de 1000 mL contendo 500 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xilol no tubo graduado do aparelho tipo clewenger. Destilar a uma velocidade de 3 a 4 mL por minuto durante 4 horas. Após o final da destilação, desligar a água do condensador, porém continuar destilando até que todo conteúdo azul aderido às paredes do condensador se junte ao óleo recolhido no tubo graduado. Reiniciar o fluxo de água e destilar por mais 10 minutos. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

Apigenina-7-O-glucosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 340 nm, pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fórmico (99,5:0,5).

Fase móvel (2): metanol e ácido fórmico (100:0,08).

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) %	Fase móvel (2) %	Sistema de eluição
0 – 3	75→50	25→50	gradiente linear
3 – 20	50	50	isocrático
20 – 23	50→0	50→100	gradiente linear
23 – 30	0	100	isocrático
30 – 31	0→75	100→25	gradiente linear
31 – 40	75	25	isocrático

Diluyente: *Fase móvel (1)* e *Fase móvel (2)* (75:25)

Solução amostra: reduzir 4 g da droga a pó (500) (5.2.11). Introduzir 0,2 g da droga pulverizada em um balão de fundo redondo de 50 mL e adicionar 20 mL de etanol a 96 %. Aquecer, sob refluxo, em

banho-maria durante 15 minutos. Resfriar e filtrar em algodão. Lavar o algodão com 2 mL de etanol a 96%. Adicionar ao filtrado 1 mL de solução de hidróxido de sódio a 8,5% (p/v) recentemente preparada e aquecer sob refluxo em banho-maria por 1 hora. Resfriar. Diluir até 25,0 mL com etanol a 96%. A 5,0 mL dessa solução adicionar 0,05 g de ácido cítrico. Agitar durante 5 minutos. Diluir 500 µL do filtrado obtido à 1,0 mL com o *Diluyente*. Filtrar em unidade filtrante 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 1,0 mg de apigenina-7-*O*-glucosídeo em 10,0 mL de metanol. Diluir 250 µL dessa solução até 2 mL com o *Diluyente*.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor, em porcentagem, de apigenina-7-*O*-glucosídeo total, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_1 \times m_2 \times P \times 0,625}{A_2 \times m_1}$$

em que,

TA = teor de apigenina-7-*O*-glucosídeo % (p/p);

A_1 = área sob o pico correspondente à apigenina-7-*O*-glucosídeo na *Solução amostra*;

A_2 = área sob o pico correspondente à apigenina-7-*O*-glucosídeo na *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação;

m_2 = massa em gramas de apigenina-7-*O*-glucosídeo na *Solução referência*; e

P = pureza percentual declarada da substância de referência apigenina-7-*O*-glucosídeo.

Adequabilidade do sistema: preparar uma solução contendo 50 µg/mL de rutina em metanol. Misturar 250 µL da solução de rutina a 250 µL da *Solução referência* de apigenina-7-*O*-glucosídeo descrita nessa monografia. Completar o volume a 1 mL. O cromatograma obtido deve apresentar resolução mínima de 2 minutos entre os picos da apigenina-7-*O*-glucosídeo e rutina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

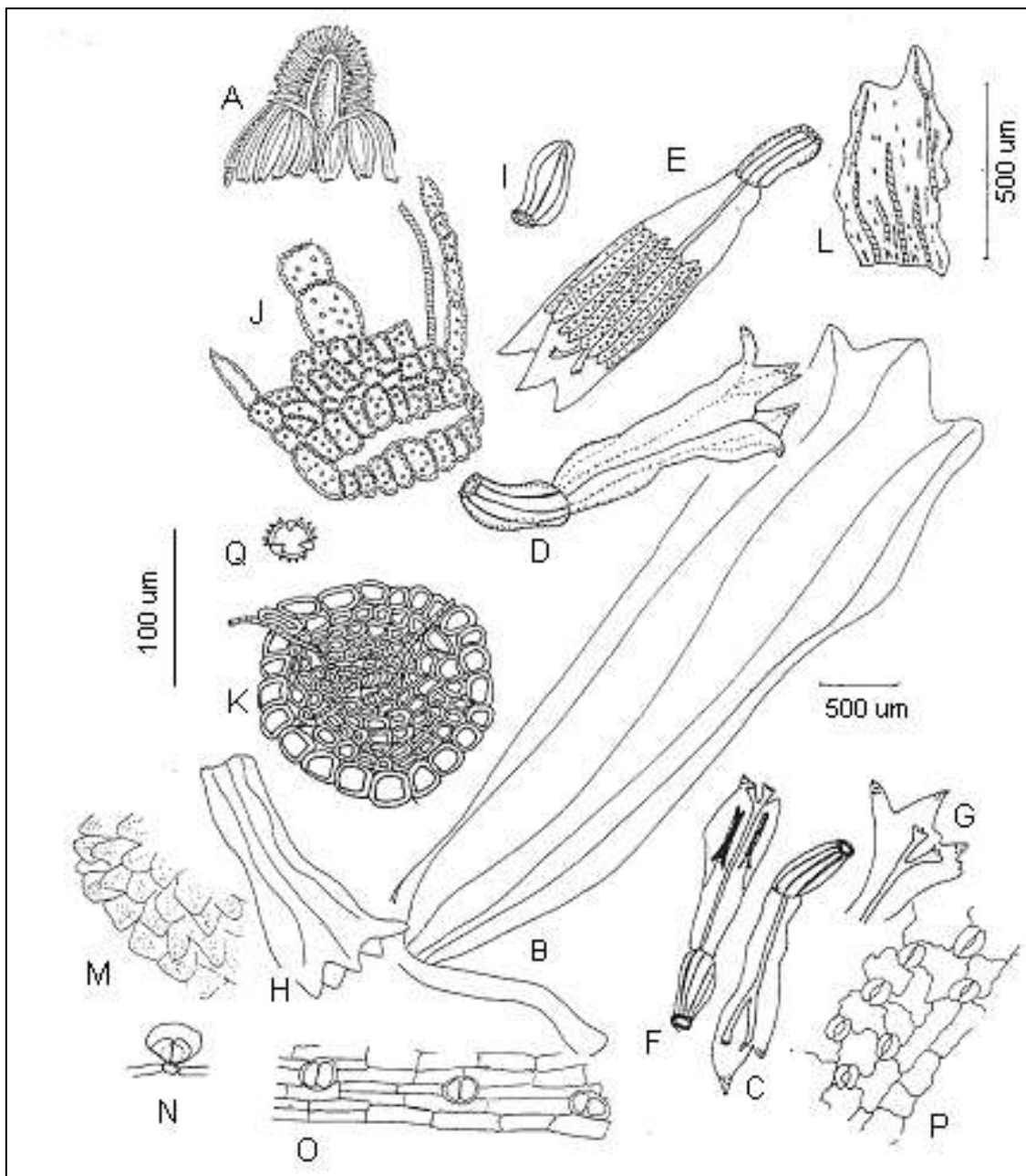


Figura 1–Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Matricaria chamomilla* L.

As escalas correspondem em A a 1 cm, em B e G a 1 mm, em C a F, H-I a 1 mm, em J-K a 100 µm, em L a Q a 500 µm. **A** – aspecto da secção longitudinal do capítulo. **B** - corola ligulada em vista lateral. **C** - fragmento de corola ligulada mostrando o estilete dividido em dois ramos papilosos. **D** - flor com corola tubulosa em vista lateral. **E** - flor tubulosa em vista lateral, seccionada longitudinalmente, mostrando os estames sinânteros. **F** - flor tubulosa em vista lateral, seccionada longitudinalmente, mostrando os estames epipétalos. **G** - fragmento de porção apical de corola mostrando o estilete dividido. **H** - corola tubulosa isolada. **I** - fruto isolado. **J** - anel de esclereídes de paredes espessadas e pontoadas da base do ovário, em vista lateral. **K** - anel de esclereídes de paredes espessadas e pontoadas da base do ovário, em vista frontal. **L** - fragmento de bráctea do involucre com elementos de condução e muitas fibras. **M** - fragmento de corola com papilas evidentes. **N** - tricoma glandular em vista lateral. **O** - fragmento de epiderme da corola com tricomas glandulares, em vista frontal. **P** - fragmento da epiderme da bráctea do involucre com estômatos anomocíticos. **Q** - grão de pólen isolado.

CAMOMILA, óleo *Matricariae aetheroleum*

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de inflorescências frescas ou secas de *Matricaria chamomilla* L. São encontrados dois tipos de óleos voláteis de camomila que diferem por apresentar teores elevados de óxidos de bisabolol ou α -bisabolol.

CARACTERÍSTICAS

Líquido viscoso límpido com cor azul intensa com odor forte e característico.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (95:5).

Solução amostra: diluir 2 mg da amostra em 1 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 2 mg de guaiazuleno, 5 μ L de alfa-bisabolol e 10 mg de acetato de bornila em 5 mL de tolueno.

Revelador: solução de anisaldeído.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 μ L da *Solução amostra* e 10 μ L da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Guaiazuleno: zona de coloração vermelha a violeta-vermelha	Zonas de coloração azuis a violeta-azuladas Zona de coloração vermelha a violeta-avermelhada (camazuleno)
Acetato de bornila: zona de coloração castanho-amarelada a verde-acinzentada	Zona de coloração acastanhada (enina-dicloéter)
α -bisabolol: zona de coloração violeta-avermelhada a violeta-azulada	Zona de coloração violeta-avermelhada a violeta-azulada (α -bisabolol) Zona de coloração acastanhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* (5.2.17.5). Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de hidrogênio e ar sintético (1:45) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar nitrogênio ultrapuro como gás de arraste (1,0 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 40	70 → 230
	40 – 50	230
Injetor		250
Detector		250

Solução amostra: diluir 20 µL do óleo volátil de camomila em cicloexano e completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente.

Solução referência: dissolver 20 µL de α -bisabolol, 5 mg de camazuleno e 6 mg de guaiazuleno em cicloexano e completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar volume de 1 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:20. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Ordem de eluição: ordem descrita na preparação da *Solução referência*. Registrar os tempos de retenção das substâncias.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, mínimo 1,5 entre os picos referentes ao camazuleno e guaiazuleno.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma obtido com a *Solução Referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia localizar os compostos no cromatograma obtido com a solução amostra. Desconsiderar o pico do cicloexano. Os cromatogramas obtidos não devem apresentar pico no tempo de retenção do guaiazuleno.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue:

	óleo volátil rico em óxidos de bisabolol (%)	óleo volátil rico em α -bisabolol (%)
óxidos de bisabolol	29-81	
α -bisabolol		10-65
camazuleno	$\geq 1,0$	$\geq 1,0$
total de óxidos de bisabolol e α - bisabolol		≥ 20

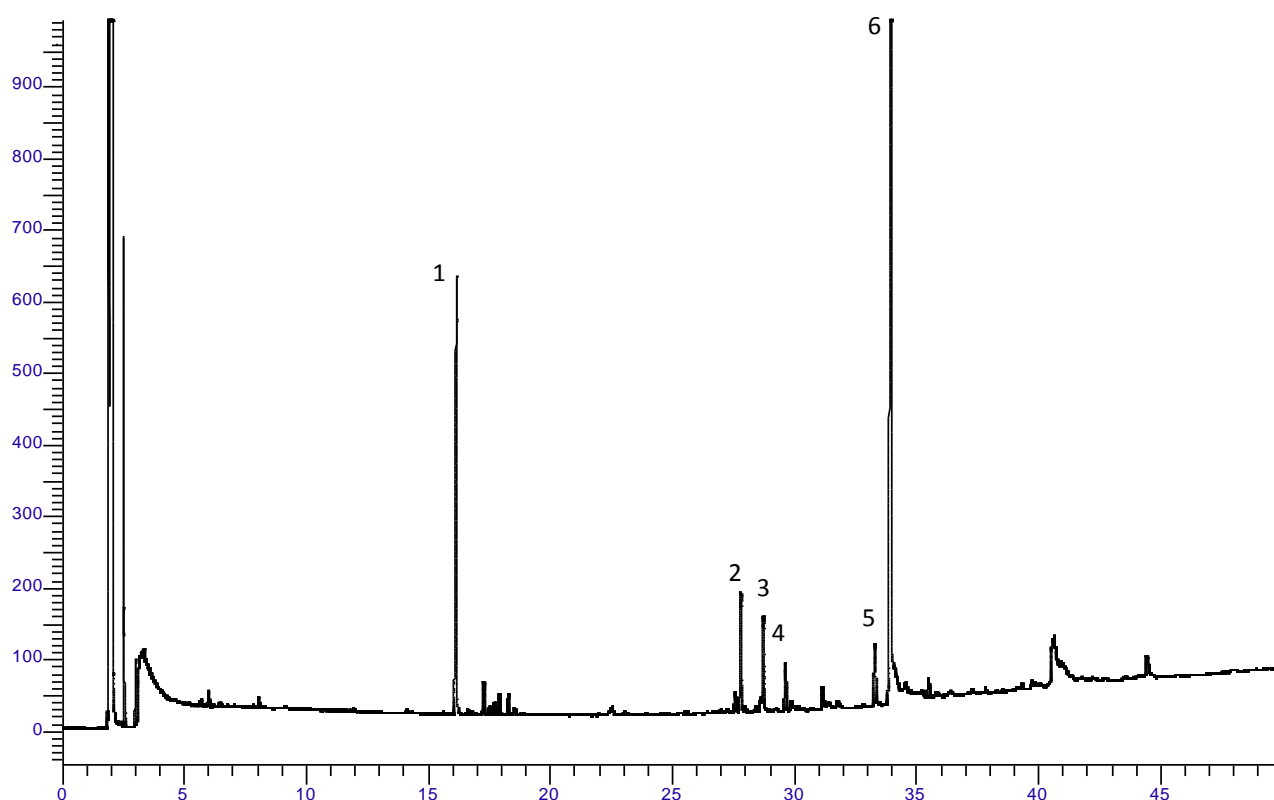


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Matricaria chamomilla* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama. 1-(Z)-β-farneseno, 2- óxido de bisabolol B, 3- bisabolona, 4- α-bisabolol, 5- camazuleno, 6- óxido de bisabolol A.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CAMOMILA, tintura *Matricariae flos tinctura*

A tintura é obtida a partir de capítulos florais secos *Matricaria chamomilla* L., contendo, no mínimo, 0,025% de apigenina-7-*O*-glicosídeo (C₂₁H₂₀O₁₀, 432,38).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de cor laranja-amarelada ou castanho-esverdeado, com odor característico.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (97:3).

Solução amostra: diluir 500 µL da tintura em 500 µL de etanol.

Solução referência: diluir 2 µL de camazuleno, 5 µL de levomenol e 10 mg de acetato de bornila em 5 mL de tolueno.

Revelador: dissolver 1 g de vanilina em 100 mL de metanol. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico e 5 mL de ácido sulfúrico.

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. Nebulizar a placa com solução de vanilina sulfúrica SR, aquecer a 105 °C durante 1 minuto.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução de referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Camazuleno: zona de coloração vermelho rosada	Zona de coloração vermelho rosada
Acetato de bornila: zona de coloração azul violácea	Zona de coloração azul violácea
Levomenol: zona de coloração violácea	Zona de coloração violácea
	Zona de coloração violácea
	Zona de coloração amarelo-esverdeada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9010 a 0,9500.

Etanol (5.3.3.8.1). 60% (v/v) a 70% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 2,5%.

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

Apigenina-7-O-glicosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 340 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fórmico (99,5:0,5).

Fase móvel (2): metanol e ácido fórmico (100:0,08).

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1) %</i>	<i>Fase móvel (2) %</i>	Sistema de eluição
0 - 3	75→50	25→50	gradiente linear
3 - 20	50	50	Isocrático
20 - 23	50→0	50→100	gradiente linear
23 - 30	0	100	Isocrático
30 - 31	0→75	100→25	gradiente linear
31 - 40	75	25	Isocrático

Diluyente: mistura da *Fase móvel (1)* e *Fase móvel (2)* (75:25).

Solução amostra: diluir 25 µL da tintura em 975 µL do *Diluyente*. Filtrar através de membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 1,0 mg de apigenina-7-glicosídeo em 10,0 mL de metanol. Diluir 250 µL até 2 mL com o *Diluyente*.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor, em porcentagem, de apigenina-7-O-glicosídeo total, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_1 \times m_2 \times P \times 0,0125}{A_2 \times m_1}$$

em que,

TA = teor de apigenina-7-O-glicosídeo % (p/p);

A₁ = área sob o pico correspondente à apigenina-7-O-glicosídeo na *Solução amostra*;

A₂ = área sob o pico correspondente à apigenina-7-O-glicosídeo na *Solução referência*;

m₁ = massa em gramas da tintura, determinada a partir da densidade;

m₂ = massa em gramas de apigenina-7-O-glicosídeo na *Solução referência*; e

P = pureza percentual declarada da substância de referência apigenina-7-O-glicosídeo.

Adequabilidade do sistema: preparar uma solução contendo 50 µg/mL de rutina em metanol. Misturar 250 µL da solução de rutina e 250 µL da *Solução referência* de apigenina-7-*O*-glicosídeo descrita acima. Completar o volume a 1 mL. Injetar 10 µL dessa solução. O cromatograma obtido deve apresentar resolução mínima de 2 minutos entre os picos de apigenina-7-*O*-glicosídeo e rutina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CANELA-DA-CHINA, óleo *Cinnamomi cassiae aetheroleum*

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas e ramos jovens de *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl.

CARACTERÍSTICAS

Líquido fluído, límpido, incolor ou amarelo-claro, com cheiro característico.

IDENTIFICAÇÃO

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

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

Fase móvel: metanol, tolueno (10:90).

Solução amostra: diluir 0,5 mL do óleo volátil em 1,0 mL de acetona e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução referência: dissolver 50 µL de aldeído *trans*-cinâmico, 10 µL de eugenol, 50 mg de cumarina em acetona e completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: aplicar em duas cromatoplas, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução referência* e 2 µL da *Solução amostra*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplasca e deixar secar ao ar. Examinar a primeira placa sob a luz ultravioleta em 254 nm, nebulizar a placa com anisaldeído R e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos. Nebulizar a segunda placa com solução de hidróxido de potássio a 10% em metanol, deixar secar a temperatura ambiente e examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, com a primeira placa após o exame sob a luz ultravioleta em 254 nm, nebulização com anisaldeído R e com a segunda placa após a nebulização com solução de hidróxido de potássio

a 10% em metanol, na ordem. A zona de cumarina pode estar visível em 254 nm dependendo da concentração na amostra. A zona do eugenol no cromatograma na *Solução amostra* é visualizada apenas após revelação com anisaldeído R e é de fraca intensidade para amostras autênticas.

Parte superior da placa	
Aldeído <i>trans</i> cinâmico: zona de coloração cinza-escuro Cumarina: zona de coloração cinza-escuro	Zona de fluorescência azul intensa
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Aldeído <i>trans</i> cinâmico: zona de coloração azul intensa Eugenol: zona de coloração verde	Zona de coloração azul intensa Zona de coloração verde de intensidade fraca
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Poder rotatório (5.2.8). -1° a $+1^{\circ}$.

Densidade relativa (5.2.29.1). 1,052 a 1,070.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,600 a 1,614.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detetor por ionização de chama, utilizando nitrogênio, hidrogênio e ar sintético (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detetor; coluna capilar de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura do filme de 0,20 μm . Utilizar hélio purificado como gás de arraste (1,5 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
Coluna	0 – 10	60
	10 – 75	60 \rightarrow 190
	75 – 160	190
Injetor		200
Detector		240

Solução amostra: diluir 200 μL da amostra em acetona e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução referência: dissolver 100 μL de aldeído *trans*-cinâmico, 10 μL de acetato de cinamilo, 10 μL de eugenol, 10 mg de *trans*-2-metoxi cinamaldeído e 20 mg de cumarina em 1 mL de acetona.

Procedimento: injetar volume de 1,0 μL da *Solução referência* e da *Solução amostra* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência*.

Ordem de eluição: ordem de preparação da *Solução referência*. Registre os tempos de retenção das substâncias.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, no mínimo, 1,5 entre os picos referentes ao *trans*-2-metoxi cinamaldeído e cumarina.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra* verificar a presença dos componentes conforme segue: aldeído *trans*-cinâmico, 70,0 a 90,0%; acetato de cinamilo, 1,0 a 6,0%; eugenol, inferior a 0,5%; *trans*-2-metoxi cinamaldeído, 3,0 a 15%; cumarina, 1,5 a 4,0%.

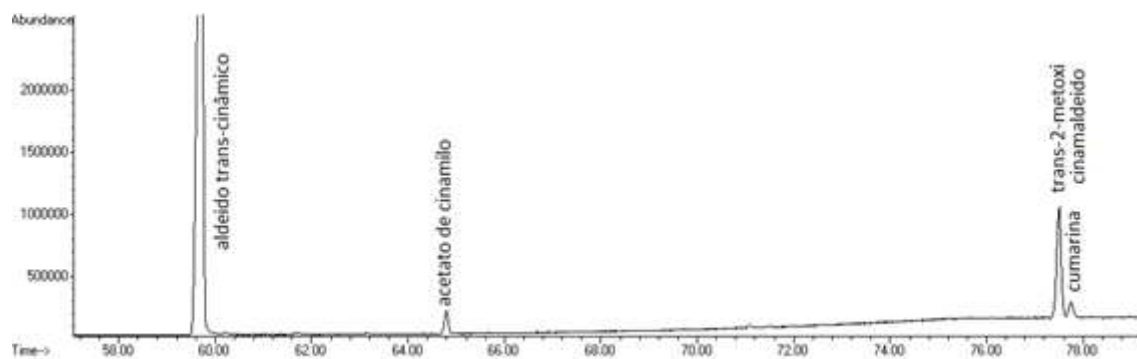


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl por cromatografia a gás acoplada a detector de massas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CANELA-DO-CEILÃO, extrato fluido *Cinnamomi zeylanici corticis extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de cascas secas de *Cinnamomum verum* J. Presl contendo, no mínimo, 9,5% (p/p) de aldeído *trans*-cinâmico.

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, vermelho acastanhado.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno e metanol (97:3).

Solução amostra: adicionar 10 mL do extrato fluido, 10 mL de solução saturada de cloreto de sódio e 5 mL de tolueno num tubo de vidro com rolha esmerilhada. Misturar durante 2 minutos e centrifugar durante 10 minutos. Utilizar a camada orgânica.

Solução referência: diluir 5 µL de eugenol e 25 µL de aldeído *trans*-cinâmico e 5 µL de *trans*-2-metoxicinamaldeído em tolueno, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos.

Resultados: nos esquemas estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após o exame sob a luz ultravioleta e após a nebulização com solução de anisaldeído. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<i>Trans</i> -2-metoxi-cinamaldeído: zona de fluorescência azul clara	Zona de fluorescência azul-clara
	Zona de fluorescência azul clara
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Eugenol: zona de coloração violácea	Zona de coloração violácea
Aldeído <i>trans</i> -cinâmico: zona de coloração acastanhada	Zona de coloração acastanhada
<i>Trans</i> -2-metoxi-cinamaldeído: zona de coloração acastanhada	Zona de coloração acastanhada
	Zona de coloração azul-acinzentado
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,89 a 0,94.

Etanol (5.3.3.8.1). Método por destilação, Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool. 65% (v/v) a 75% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 7,5% (p/p).

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

Aldeído *trans*-cinâmico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ultravioleta a 292 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com C-18 (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Um mililitro da tintura deve conter no mínimo 0,3 mg de aldeído *trans*-cinâmico. Sistema isocrático.

Fase móvel: água e metanol (1:1).

Solução amostra: transferir, analiticamente, com auxílio de uma pipeta, 1,0 mL da tintura de canela-do-ceilão para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar. Transferir 0,20 mL da solução para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de aldeído *trans*-cinâmico em metanol para obter solução a 0,520 mg/ mL.

Soluções para curva analítica: transferir 2,0 mL da *Solução referência* para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar, obtendo solução a 20,8 µg/ mL. Transferir 2,0 mL, 3,0 mL, 4,0 mL, 5,0 mL, 6,0 mL, 7,0 mL e 8,0 mL dessa solução para balões volumétricos de 10 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar, obtendo soluções a 4,16 µg/mL, 6,24 µg/mL, 8,32 µg/mL, 10,4 µg/mL, 12,48 µg/mL, 14,56 µg/mL e 16,64 µg/mL, respectivamente. Filtrar as soluções em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções para curva analítica* e 20 µL da *solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir a área sob o pico de aldeído *trans*-cinâmico. Calcular o teor de aldeído *trans*-cinâmico na tintura, a partir da equação da reta obtida com a curva analítica, e, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = C_a \times 1,25$$

em que,

TA = teor de aldeído *trans*-cinâmico em mg/mL; e

C_a = concentração de aldeído *trans*-cinâmico na *Solução amostra* em µg/mL, determinado a partir da curva analítica.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CANELA-DO-CEILÃO, óleo *Cinnamomi zeylanici folli aetheroleum*

O óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas de *Cinnamomum verum* J.S. Presl.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, vermelho-acastanhado a castanho-escuro, com odor característico lembrando o eugenol.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica gel F₂₅₄ (250 µm).

Fase móvel: metanol e tolueno (1:9).

Solução amostra: diluir 1 g da amostra em acetona, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução referência: dissolver 50 µL de aldeído *trans*-cinâmico, 10 µL de eugenol, 10 µL de linalol, 10 µL de β-cariofileno, 50 mg de cumarina em acetona, completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar em duas cromatoplasmas, em forma de banda, separadamente, 2 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplasmas e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a primeira placa com solução de anisaldeído R, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos. Nebulizar a segunda placa com solução de hidróxido de potássio 10% em metanol, secar a temperatura ambiente e examinar sob a luz UV em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra* e com a *Solução referência*. Na segunda cromatoplasma nenhuma banda fluorescente para a *Solução amostra* deve ser visualizada. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
b-cariofileno: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
Aldeído <i>trans</i> cinâmico: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
Eugenol: zona de coloração verde	Zona de coloração verde
Linalol: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
Cumarina: zona de coloração castanha	
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 1,030 a 1,059.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,527 a 1,540.

Poder rotatório (5.2.29.5): -2,5° a +2,0°.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* (5.2.17.5). Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de hélio, hidrogênio e ar sintético (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com propilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar hélio purificado como gás de arraste (1,5 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 10	45
	10 – 77,5	45 → 180
	77,5 – 87,5	180
	87,5 – 92,5	180 → 190
	92,5 – 125,5	190
Injetor		200
Detector		240

Solução amostra: óleo de canela-do-ceilão.

Solução referência: dissolver 10 µL de cineol, 10 µL de linalol, 10 µL β-cariofileno, 10 µL de safrol, 10 µL de aldeído *trans*-cinâmico, 10 µL acetato de cinamilo, 100 µL eugenol e 10 mg de cumarina em 1 mL de acetona.

Procedimento: injetar volume de 0,2 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás acoplada a detector seletivo de massas operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Ordem de eluição: ordem descrita na preparação da *Solução referência*. Registrar os tempos de retenção das substâncias.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, no mínimo, 1,5 entre os picos referentes ao linalol e ao β-cariofileno.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: cineol, inferior a 1,0%; linalol, 1,5 a 3,5%; β-cariofileno, 1,5 a 7,0%; safrol, inferior a 3,0%; aldeído *trans*-cinâmico, inferior a 3,0%; acetato de cinamilo, inferior a 2,0%; eugenol, 70 a 85%; e cumarina, inferior a 1,0%.

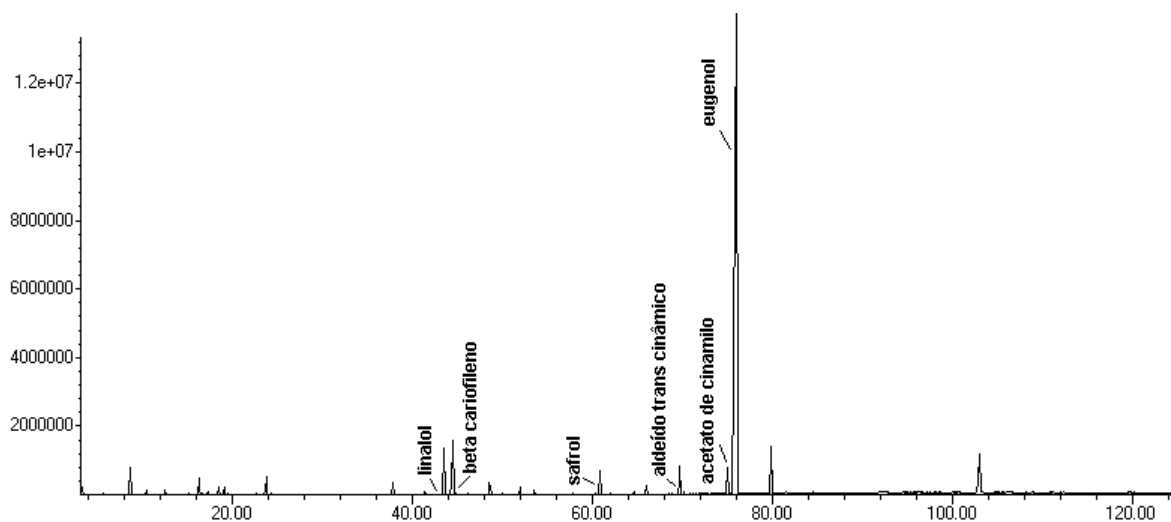


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cinnamomum verum* J.S. Presl por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CANELA-DO-CEILÃO, tintura

Cinnamomi corticis tintura

A tintura é obtida a partir de cascas secas de *Cinnamomum verum* J. Presl, contendo, no mínimo, 0,25% (p/p) de aldeído *trans*-cinâmico.

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 20,0% (p/v), por percolação, utilizando etanol a 70,0% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, vermelho acastanhado.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: cloreto de metileno.

Solução amostra: transferir 10 mL da amostra, 10 mL de solução saturada de cloreto de sódio e 5 mL de tolueno para um tubo de vidro com rolha esmerilhada. Misturar durante 2 minutos e centrifugar durante 10 minutos. Utilizar a camada orgânica.

Solução referência: diluir 5 µL de eugenol, 25 µL de aldeído *trans*-cinâmico e 5 µL de *trans*-2-metoxicinamaldeído em tolueno, completar o volume para 10 mL como mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *solução amostra* e 20 µL da *solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com solução de ácido fosfomolibdico a 200 g/L em etanol, examinar à luz do dia e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos.

Resultados: nos esquemas estão representadas as zonas obtidas com a *solução referência* e a *Solução amostra*, após o exame sob a luz ultravioleta e após nebulização com solução de ácido fosfomolibdico, na ordem. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<i>Trans</i> -2-metoxi-cinamaldeído: zona de fluorescência azul clara	Zona de fluorescência azul-clara
	Zona de fluorescência azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Eugenol: zona de coloração azul	Zona de coloração azul de fraca intensidade
Aldeído <i>trans</i> -cinâmico: zona de coloração azul escuro	Zona de coloração azul escuro
<i>Trans</i> -2-metoxi-cinamaldeído: zona de coloração esverdeada fraca	Zona de coloração acastanhada
	Zona de coloração azul-acinzentado
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,87 a 0,092.

Etanol (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool.* 64% (v/v) a 70% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo, 1,5% (p/p). Determinar em 5,0 g de tintura.

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

Aldeído *trans*-cinâmico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ultravioleta a 292 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com C-18 (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel: água e metanol (1:1).

Solução amostra: transferir analiticamente, com auxílio de uma pipeta, 1,0 mL da tintura de canela-do-ceilão para balão volumétrico de 25 mL, completa o volume com metanol e homogeneizar. Transferir 1,0 mL da solução para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de aldeído *trans*-cinâmico (cerca de 13 mg) em metanol para obter solução a 0,520 mg/mL (em balão volumétrico de 25 mL).

Soluções para curva analítica: diluir 2,0 mL da *Solução referência* em balão volumétrico de 50 mL completando o volume com metanol, obtendo solução a 20,8 µg/mL. Transferir 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 e 8,0 mL dessa solução para balões volumétricos de 10 mL, completar os volumes com metanol e homogeneizar, obtendo-se as concentrações de 4,16 µg/ mL, 6,24 µg/ mL, 8,32 µg/ mL, 10,4 µg/ mL, 12,48 µg/ mL, 14,56 µg/ mL e 16,64 µg/ mL. Filtrar as soluções em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente 20,0 µL das *Soluções para curva analítica* e 20,0 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes ao aldeído *trans*-cinâmico. Calcular o teor de aldeído *trans*-cinâmico, a partir da equação da reta obtida com a curva analítica, e, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = C_a \times \frac{25}{m}$$

em que,

TA = teor de aldeído *trans*-cinâmico % (p/p);

C_a = concentração de aldeído *trans*-cinâmico na *Solução amostra*, determinado a partir da curva analítica em µg/mL; e

m = massa em miligramas da amostra em.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CAPIM-LIMÃO, óleo
Cymbopogonis citrati aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas frescas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, contendo, no mínimo, 60% de citral A (*trans*-citral ou geranial) e citral B (*cis*-citral ou neral).

CARACTERÍSTICAS

Líquido amarelo pálido, com odor de citronela.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: cromatoplaça de sílica-gel GF₂₅₄.

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

Solução amostra: diluir 2 µL da amostra a ser examinada em 1 mL de tolueno.

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

Revelador: dissolver 1 g de vanilina em 100 mL de metanol. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico e 5 mL de ácido sulfúrico e homogeneizar.

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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Citral: zona de fluorescência azul escura	Zona de fluorescência azul escura
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,875 a 0,930.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,480 a 1,493.

Poder rotatório (5.2.29.5). $-3,10^\circ$ a $-1,10^\circ$.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polidifenildimetilsiloxano, com espessura de filme de 0,25 μm . Utilizar nitrogênio ultrapuro como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura ($^\circ\text{C}$)
Coluna	0 – 63,3	60 \rightarrow 250
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: diluir 5 μL do óleo volátil de capim-limão em 1 mL de *n*-hexano.

Solução referência: diluir 1 μL de citral em 1 mL de *n*-hexano.

Procedimento: injetar volume de 1 μL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia à gás acoplada a detector seletivo de massas operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, mínimo 3 entre os picos referentes ao citral B e citral A.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra* verificar a presença dos componentes conforme segue: soma das porcentagens dos compostos citral A (*trans*-citral) e citral B (*cis*-citral), mínimo de 60%.

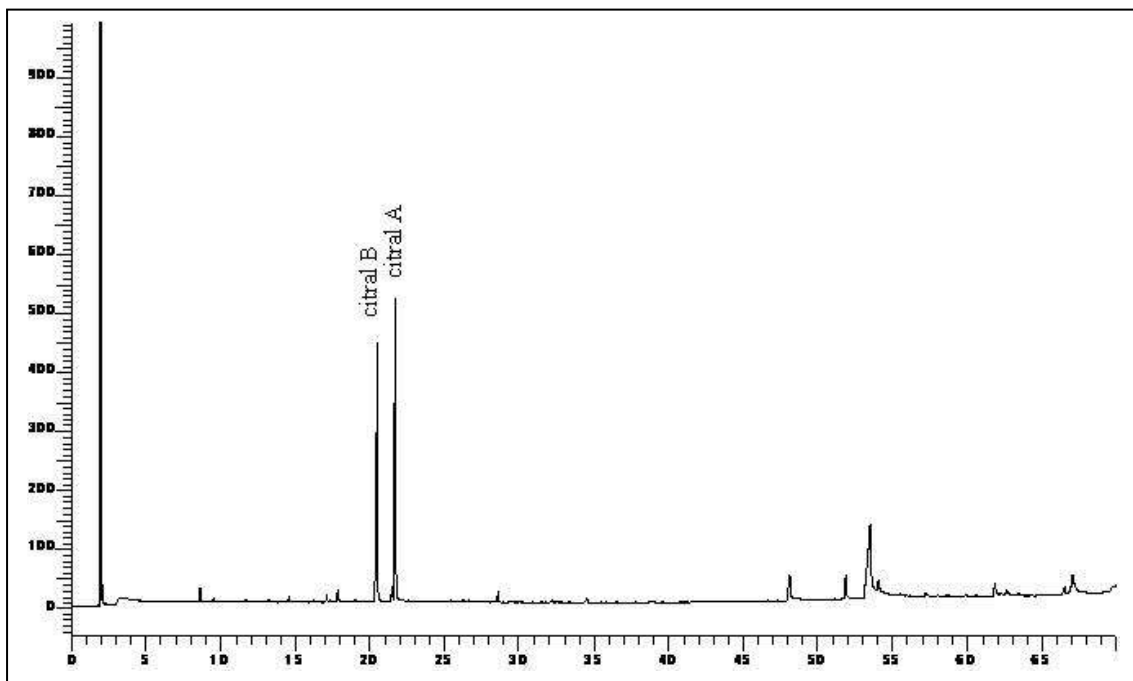


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CÁSCARA-SAGRADA, casca *Rhamni purshianae cortex*

A droga vegetal é constituída de cascas secas de caules e ramos de *Frangula purshiana* (DC.) A. Gray, contendo, no mínimo, 8% de glicosídeos hidroxiantracênicos, dos quais, no mínimo, 60% são cascarosídeos, expressos como cascarosídeo A ($C_{27}H_{32}O_{14}$, 580,54).

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Rhamnus purshiana DC.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Peças achatadas ou transversalmente acanaladas, ocasionalmente em rolos de comprimento variável, de 1-5 mm de espessura, de comprimento e largura variáveis, às vezes partidas em fragmentos pequenos, achatados e quase uniformes. Superfície externa quase lisa, marrom-púrpura escura, com estreitas costelas longitudinais e lenticelas transversais esparsas, alongadas e espaçadas, coberta com

placas acinzentadas ou esbranquiçadas de líquens, eventualmente de musgos ou hepáticas. Superfície interna amarela a marrom-avermelhada, com estrias longitudinais. Fratura breve e granular na parte externa, algo fibrosa na parte interna.

B. Descrição microscópica

A secção transversal do córtex, apresenta externamente, periderme de coloração pardo-amarelada a pardo-avermelhada, constituída por 10 ou mais camadas de súber com células pequenas, retangulares, de paredes levemente espessas. O felogênio e a feloderme, quando presentes, formam poucas camadas de células com paredes finas e conteúdo claro. Adjacente à periderme, ocorrem externamente poucas camadas de células colenquimáticas seguidas por uma região parenquimática. O parênquima cortical apresenta células alongadas tangencialmente e cristais de oxalato de cálcio na forma de drusas e cristais prismáticos. Na região mediana do córtex se encontram grupos de 20 a 50 esclereídes (células pétreas), estes tangencialmente alongados, rodeados por uma bainha parenquimática com prismas monoclinicos ou drusas de oxalato de cálcio; raios floemáticos de 1 a 4 células de largura e 15 a 25 (até mais de 30) células no comprimento, com frequência dispostos em forma diagonal ou curvada e que convergem na região do floema externo; fibras floemáticas em feixes pequenos, rodeadas por uma bainha parenquimática com prismas monoclinicos de oxalato de cálcio, estão situadas entre os raios do floema. O parênquima, com paredes de coloração parda, contém grãos de amido e cristais de oxalato de cálcio.

C. descrição microscópica do pó

O pó atende todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração marrom-amarelada a marrom-avermelhada; numerosos grupos de fibras em vista longitudinal, de 0,95 a 1,1 mm de comprimento e 16 a 24 μm de largura, cada um circundado por uma bainha parenquimática com cristais prismáticos de oxalato de cálcio; grupos densos de células pétreas, cujas células individuais são pequenas, arredondadas ou alongadas ou estreladas, de paredes espessas com pontoações simples a ramificadas e lúmen bem aparente; fibras individuais estreitas, com paredes grossas, lignificadas e não lamelares, com pontoações simples, lúmen pequeno, frequentemente inconspícuo; grupos de células pétreas rodeadas por idioblastos com cristais prismáticos de oxalato de cálcio; fragmentos de súber com coloração entre pardo-avermelhado e amarelo; fragmentos de parênquima e células de raios do floema que se colorem de pardo-avermelhado a alaranjado ao agregar uma solução alcalina forte; grãos de amido esferoidais, de até 8 μm de diâmetro; oxalato de cálcio em prismas monoclinicos ou drusas de 6 a 20 μm de diâmetro, ocasionalmente até 45 μm de diâmetro; fragmentos de parênquima contendo grãos de amido e cristais de oxalato de cálcio; fragmentos ocasionais de hepáticas, consistindo de células arredondadas dispostas em única camada, com células irregularmente engrossadas e fragmentos de musgos constituídos por pequenas células alongadas, de paredes estreitas, geralmente em única camada ou, ocasionalmente, em duas ou três.

D. 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, metanol e água (100:17:13).

Solução amostra: pesar 0,5 g da droga vegetal e adicionar 5 mL de etanol a 70%. Aquecer em banho-maria durante 15 minutos. Filtrar a amostra. Evaporar em banho-maria até securo, com temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 2 mL de metanol

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de aloína em metanol, para obter a concentração de 1 mg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de emodina em metanol, para obter a concentração de 1 mg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de hidróxido de potássio a 5% (p/v) em etanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Aquecer a cromatoplaça entre 100 °C e 105 °C durante 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Emodina: zona de coloração vermelha	Zona de coloração vermelha
Aloína: zona de coloração amarela	Zona de coloração amarela Zonas de colorações amarelas
<i>Soluções referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 1%.

Perda por dessecação (5.4.2.2.3). *Método gravimétrico*. No máximo 10%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 7%.

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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 1,0 g de droga vegetal, adicionar 100 mL de água fervente e deixar em contato durante 5 minutos. Transferir a mistura para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água destilada. Filtrar a amostra, descartando os primeiros 20 mL. Transferir 10 mL do filtrado para um funil de separação e adicionar 0,1 mL de ácido clorídrico 1 M. Extrair com 20 mL de uma mistura de hexano e éter etílico (3:1). Repetir a extração duas vezes. Após separar as fases, reservar a fase aquosa. Lavar a fase orgânica com 5 mL de água. Descartar a fase orgânica e reunir a fase aquosa com as águas de lavagem. Extrair a fase aquosa com 30 mL de acetato de etila saturado com água, preparado no momento da análise (150 mL de acetato de etila e 15 mL de água, misturados durante 3 minutos). Repetir a extração quatro vezes. Reunir as frações orgânicas obtidas com o acetato de etila. Utilizar a fase aquosa para o doseamento de cascarosídeos e a fase orgânica para o doseamento de glicosídeos hidroxiantracênicos sem os cascarosídeos.

Glicosídeos hidroxiantracênicos sem os cascarosídeos

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir a fase orgânica para uma cápsula de porcelana. Evaporar em banho-maria até resíduo. Dissolver o resíduo em 0,3 a 0,5 mL de metanol e transferir para um balão volumétrico de 50 mL. Lavar a cápsula com água quente e transferir os resíduos para o balão volumétrico de 50 mL. Diluir com água. Em seguida, transferir 20 mL da solução para um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionar 2 g de cloreto férrico hexaidratado e 12 mL de ácido clorídrico. Aquecer a mistura sob refluxo durante 4 horas. Após o resfriamento transferir a solução para um funil de separação. Lavar o balão com 3 a 4 mL de hidróxido de sódio 1 M, em seguida, com 3 a 4 mL de água. Transferir a água de lavagem para o funil de separação. Extrair com 30 mL de uma mistura de hexano e éter etílico (3:1). Repetir a extração três vezes. Transferir a fase orgânica para outro funil de separação e lavá-la, duas vezes, utilizando 10 mL de água em cada lavagem. Descartar a fase aquosa. Após esse procedimento diluir a fase orgânica para 100 mL com a mistura de hexano e éter etílico (3:1). Em seguida, transferir 20 mL e evaporar até resíduo em banho-maria. Dissolver o resíduo com 10 mL de uma solução de acetato de magnésio 5 g/L em metanol.

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e em 515 nm. Utilizar metanol para ajuste do zero. A razão entre os valores de absorvância em 515 nm e em 440 nm, menor que 2,4, invalida o ensaio. Calcular o teor de glicosídeos hidroxiantracênicos sem cascarosídeos (HAC), em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{THAC} = \frac{A \times 6,95}{m}$$

em que,

THAC = teor de glicosídeos hidroxiantracênicos sem cascarosídeo % (p/p);

A = absorvância medida em 515 nm; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

Cascarosídeos

Solução amostra: diluir a fase aquosa para um balão volumétrico de 50 mL com água. Utilizar 20 mL dessa solução.

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e em 515 nm. Utilizar metanol para ajuste do zero. A razão entre os valores de absorvância em 515 nm e em 440 nm, menor que 2,4, invalida o ensaio. Calcular o teor de cascarosídeos, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{A \times 6,95}{m}$$

em que,

TC = teor de cascarosídeos % (p/p);

A = absorvância medida em 515 nm; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

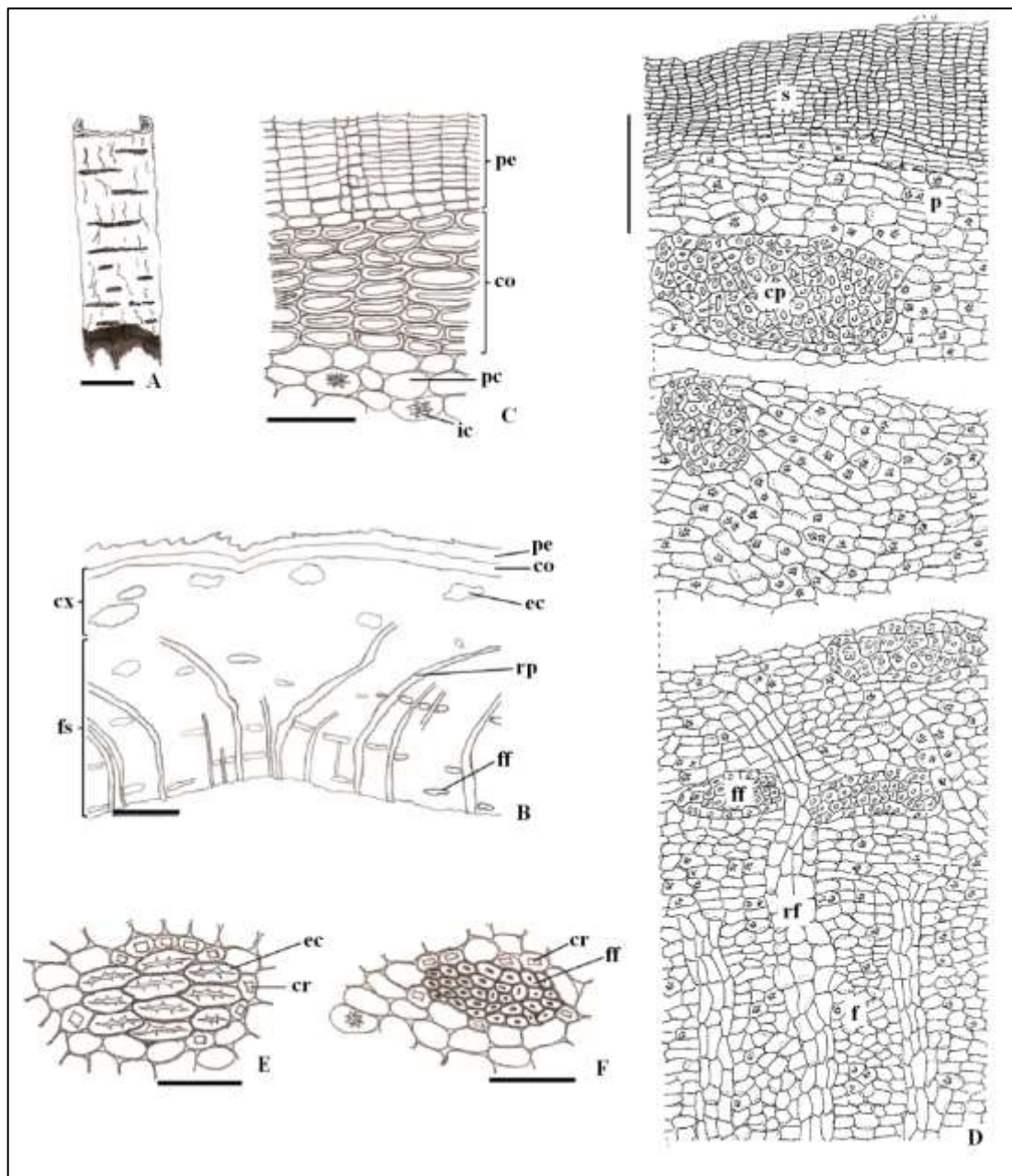


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Frangula purshiana* (DC.) A.Gray

As escalas correspondem em A a 1 cm; em B a 200 μ m; em C a 50 μ m; em D a 100 μ m; em E e F a 50 μ m.

A – aspecto geral da casca em vista frontal. **B** - representação esquemática da casca em secção transversal: colênquima (co); córtex (cx); esclereídes (células pétreas) (ec); fibras do floema (ff); floema secundário (fs); periderme (pe); raio parenquimático do floema (rp). **C** - detalhe da secção transversal da parte mais externa da casca: colênquima (co); parênquima cortical (pc); periderme (pe); idioblastos com drusas (ic). **D** – detalhe de toda a secção transversal da casca: esclereídes (células pétreas) (cp); floema (f); fibras do floema (ff); parênquima (p); raios do floema (rf); súber (s). **E** - detalhe do feixe de esclereídes (ec) na região cortical da casca circundado por parênquima contendo cristais prismáticos (cr) em secção transversal. **F** - detalhe do feixe de fibras (ff) na região do floema secundário circundado por parênquima contendo cristais prismáticos (cr) em secção transversal.



Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Frangula purshiana* (DC.) A.Gray

As escalas correspondem a 50 μm .

A - fragmento do súber em vista frontal. **B** - fragmento da secção longitudinal radial do floema secundário: elemento de tubo crivado (et); parênquima axial (pa) contendo cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (dr) e parênquima radial (pr). **C** - fragmento da secção longitudinal tangencial do floema secundário mostrando parênquima radial (pr) e parênquima axial (pa) contendo drusa (dr). **D** - fragmento do parênquima cortical com grãos de amido (ga). **E** - fragmento do

parênquima do floema com abaulamento nas paredes celulares. **F** – fragmento de parênquima. **G** – fragmento com esclereídes (células pétreas). **H** – esclereídes agrupados. **I** – drusas. **J** – esclereídes (células pétreas) isolados (ec). **K** – grãos de amido isolados. **L** – bainha parenquimática cristalífera isolada. **M** – fibras do floema com bainhas cristalíferas. **N** – fragmento de fibra do floema com bainha cristalífera. **O** – fragmento de musgo. **P** – fragmento de hepática.

CÁSCARA-SAGRADA, extrato fluido *Rhamni purshianae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de cascas secas de *Frangula purshiana* (DC.) A. Gray, contendo, no mínimo, 8,0% de glicosídeos hidroxiantracênicos, dos quais, no mínimo, 60% são cascarosídeos, expressos como cascarosídeo A (C₂₇H₃₂O₁₄, 580,54).

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Rhamnus purshiana DC.

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água(100:17:13).

Solução amostra: secar 0,5 mL do extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura máxima de 60 °C. Adicionar 5 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de aloína em metanol, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de emodina em metanol, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de hidróxido de

potássio a 5% em etanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Emodina: zona de coloração vermelha	Zona de coloração vermelha
Aloína: zona de coloração amarela	Zona de coloração amarela Zonas de colorações amarelas
<i>Soluções referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9198 a 0,9231.

Etanol (5.3.3.8.1). Método II. 57% (v/v) a 62% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 9% (p/p).

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

Solução estoque: transferir, volumetricamente, 1 mL de extrato fluido para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar a amostra, descartando os primeiros 20 mL. Transferir 10 mL do filtrado para um funil de separação e adicionar 0,1 mL de ácido clorídrico *M*. Extrair com duas quantidades de 20 mL cada, de uma mistura de hexano e éter (3:1). Após separar as fases, reservar a fase aquosa. Lavar a fase orgânica com 5 mL de água. Descartar a fase orgânica e reunir as fases aquosas com as águas de lavagem. Extrair a fase aquosa com quatro quantidades, de 30 mL, de acetato de etila saturado com água preparado no momento da análise (150 mL de acetato de etila e 15 mL de água, misturados durante 3 min). Combinar as frações acetato de etila. Utilizar a fase aquosa para o doseamento de cascarosídeos e a fase orgânica para o doseamento de glicosídeos hidroxiantracênicos sem os cascarosídeos.

Glicosídeos hidroxiantracênicos sem os cascarosídeos

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir a fase orgânica para uma cápsula de porcelana. Evaporar o solvente em banho-maria até resíduo. Dissolver o resíduo em 0,3 a 0,5 mL de metanol e transferir para um balão volumétrico de 50 mL. Lavar a cápsula com água quente e transferir os resíduos para o balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com água e homogeneizar. Em seguida, transferir 20 mL da solução para um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionar 2 g de cloreto férrico hexaidratado e 12 mL de ácido clorídrico. Aquecer a mistura sob refluxo durante 4 horas. Após o resfriamento transferir a solução para um funil de separação. Lavar o balão com 3 a 4 mL de hidróxido de sódio *M*, em seguida, com 3 a 4 mL de água. Transferir a água de lavagem para o funil de separação. Extrair com três quantidades, cada uma com 30 mL, de uma mistura de hexano e éter (3:1). Transferir a fase orgânica para outro funil de separação e lavá-la duas vezes, utilizando 10 mL de água em cada lavagem. Descartar a fase aquosa. Após esse procedimento diluir a fase orgânica para 100 mL com a mistura de hexano e éter (3:1). Em seguida, transferir 20 mL e evaporar até resíduo em banho-maria. Dissolver o resíduo com 10 mL de uma solução de acetato de magnésio 5g/L em metanol.

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e em 515 nm. Utilizar metanol para ajuste do zero. A razão entre os valores de absorvância em 515 nm e em 440 nm, menor que 2,4, invalida o ensaio. Calcular o teor de glicosídeos hidroxiantracênicos sem os cascarosídeos (HAC), em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{THAC} = \frac{A \times 6,95}{m}$$

em que,

THAC = teor de glicosídeos hidroxiantracênicos sem cascarosídeo % (p/p);

A = absorvância medida em 515 nm; e

m = massa em gramas do extrato fluido de cascara sagrada, determinada a partir da densidade.

Cascarosídeos

Solução amostra: diluir a fase aquosa, com água, num balão volumétrico de 50 mL, completar o volume e homogeneizar. Utilizar 20 mL dessa solução.

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e em 515 nm. Utilizar metanol para ajuste do zero. A razão entre os valores de absorvância em 515 nm e em 440 nm, menor que 2,4, invalida o ensaio. Calcular o teor de cascarosídeos, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TC} = \frac{A \times 6,95}{m}$$

em que,

TC = teor de cascarosídeos % (p/p);

A = absorvância medida em 515 nm; e

m = massa em gramas do extrato fluido de cascara sagrada, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CÁSCARA-SAGRADA, tintura *Rhamni purshianae tinctura*

A tintura é obtida a partir de cascas secas de *Frangula purshiana* (DC.) A. GrayDC, contendo, no mínimo, 0,75% de glicosídeos hidroxiantracênicos, dos quais, no mínimo, 60% são cascarosídeos, expressos como cascarosídeo A (C₂₇H₃₂O₁₄, 580,54).

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Rhamnus purshiana DC.

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (100:17:13).

Soluções amostra: secar 0,5 mL da tintura até resíduo, em banho-maria, em temperatura máxima de 60°C. Adicionar 5 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, de aloína em metanol, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, de emodina em metanol, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de hidróxido de

potássio 5% em etanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*, após nebulização com solução de hidróxido de potássio e exame sob a luz ultravioleta e após o aquecimento e exame sob a luz visível, na ordem. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Emodina: zona de fluorescência escura	Zona de fluorescência escura Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência azul
	Zonas de fluorescência amarelada Zonas de fluorescência alaranjada
Aloina: zona de fluorescência amarelada	Zona de fluorescência amarelada
	Zonas de fluorescência azulada Zonas de fluorescência amarelada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Emodina: zona de coloração avermelhada	Zona de coloração avermelhada
	Zona de coloração amarelada Zona de coloração vermelha
Aloina: zona de coloração amarelada	Zona de coloração amarelada
	Zona de coloração rosa Zona de coloração alaranjada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9044 a 0,9115.

Etanol (5.3.3.8.1). Método II. 60 % (v/v) a 64 % (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 3 % (p/p).

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

Solução estoque: medir 10,0 mL da tintura e transferir para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água. Filtrar a amostra, descartar os primeiros 20 mL. Transferir 10 mL do filtrado para um funil de separação e adicionar 0,1 mL de ácido clorídrico *M*. Extrair com duas quantidades de 20 mL cada, de uma mistura hexano e éter (3:1). Após separar as fases, reservar a fase aquosa. Lavar a fase orgânica com 5 mL de água. Descartar a fase orgânica e reunir as fases aquosas com as águas de lavagem. Extrair a fase aquosa com quatro quantidades, cada uma de 30 mL, de acetato de etila saturado com água preparado no momento da análise (150 mL de acetato de etila e 15 mL de água, misturados durante 3 min). Combinar as frações acetato de etila. Utilizar a fase aquosa para o doseamento de cascarosídeos e a fase orgânica para o doseamento de glicosídeos hidroxiantracênicos sem os cascarosídeos.

Glicosídeos hidroxiantracênicos sem os cascarosídeos

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir a fase orgânica para uma cápsula de porcelana. Evaporar o solvente em banho-maria até resíduo. Dissolver o resíduo em 0,3 mL a 0,5 mL de metanol e transferir para um balão volumétrico de 50 mL. Lavar a cápsula com água quente e transferir os resíduos para o balão volumétrico de 50 mL, diluir com água, completar o volume e homogeneizar. Em seguida, transferir 20 mL da solução para um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionar 2 g de cloreto férrico hexaidratado e 12 mL de ácido clorídrico. Aquecer a mistura sob refluxo durante 4 h. Após o resfriamento transferir a solução para um funil de separação. Lavar o balão com 3 a 4 mL de hidróxido de sódio 1 *M*, em seguida, com 3 a 4 mL de água. Transferir a água de lavagem para o funil de separação. Extrair com três quantidades, cada uma com 30 mL, de uma mistura de hexano e éter (3:1). Transferir a fase orgânica para outro funil de separação e lavá-la duas vezes, utilizando 10 mL de água em cada lavagem. Descartar a fase aquosa. Após esse procedimento diluir a fase orgânica para 100 mL com a mistura de hexano e éter (3:1). Em seguida, transferir 20 mL e evaporar até resíduo em banho-maria. Dissolver o resíduo com 10 mL de uma solução de acetato de magnésio 5 g/L em metanol.

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e 515 nm. Usar metanol para ajuste do zero. A razão entre os valores de absorvância em 515 nm e 440 nm, menor que 2,4, invalida o ensaio. Calcular o

teor de glicosídeos hidroxiantracênicos sem os cascarosídeos (HAC), em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{THAC} = \frac{A \times 6,95}{m}$$

em que,

THAC = teor de glicosídeos hidroxiantracênicos sem cascarosídeo % (p/p)

A = absorvância medida em 515 nm; e

m = massa em gramas da tintura de cascara sagrada, determinada a partir da densidade.

Cascarosídeos

Solução amostra: diluir a fase aquosa em um balão volumétrico de 50 mL com água e homogeneizar. Utilizar 20 mL dessa solução.

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e em 515 nm. Utilizar metanol para ajuste do zero. A razão entre os valores de absorvância em 515 nm e 440 nm, menor que 2,4, invalida o ensaio. Calcular o teor de cascarosídeos, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TC} = \frac{A \times 6,95}{m}$$

em que,

TC = teor de cascarosídeos % (p/p);

A = absorvância em 515 nm; e

m = massa em gramas da tintura de cascara sagrada, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CASTANHA-DA-ÍNDIA, extrato fluido *Hippocastani extracta fluida*

O extrato fluido é obtido das sementes secas de *Aesculus hippocastanum* L., contendo no mínimo 3,0% de glicosídeos triterpênicos expressos em escina anidra.

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: n-butanol, água e ácido acético glacial (50:40:10).

Solução amostra: secar 0,5 mL do extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura máxima de 60 °C. Adicionar 5 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de escina em metanol, para obter a concentração de 5000 µg/mL.

Revelador: anisaldeído SR.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com anisaldeído SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	zona de coloração rosa
	zona de coloração amarela
Escina: zona de coloração roxa	Escina: zona de coloração roxa
	zona de coloração rosa
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9930 a 0,9962.

Etanol (5.3.3.8.1). 63% (v/v) a 65% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 9,0% (p/p).

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

Escina

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir 10,00 mL do extrato fluido para um balão de fundo redondo. Evaporar até resíduo em evaporador rotativo com a temperatura não superior a 60 °C. Dissolver o resíduo com 20 mL de ácido clorídrico 0,1 M e transferir para um funil de separação. Lavar o balão de fundo redondo com duas porções de 5 mL de ácido clorídrico 0,1 M e transferir os líquidos para o funil de separação. Adicionar 20 mL de *n*-propanol e 50 mL de clorofórmio ao funil de separação, agitar, vigorosamente, por 2 minutos. Separar a fase orgânica (fase inferior). Adicionar 50 mL do *Solvente A* à fase superior remanescente no funil de separação. Agitar, vigorosamente, o funil de separação por mais 2 minutos e separar a fase orgânica (fase inferior). Reunir as fases orgânicas em um balão de fundo redondo e evaporar até resíduo, em evaporador rotativo. Lavar o resíduo do balão com duas porções de éter etílico e filtrar em papel de filtro. Lavar o papel de filtro com 10 mL de éter etílico. Um resíduo insolúvel em éter etílico, constituído das saponinas e outros glicosídeos, fica retido no papel de filtro. Após a eliminação de todo o éter etílico por secagem (tanto do balão quanto do papel de filtro), adicionar 10 mL de ácido acético glacial ao balão de fundo redondo, sendo esse vertido sobre o papel de filtro contendo o resíduo de saponinas. Transferir a solução para um balão volumétrico de 50 mL. Realizar esse procedimento mais duas vezes com 10 mL de ácido acético glacial, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solvente A: clorofórmio, ácido clorídrico 0,1 M e propanol (50:30:20). **Usar fase inferior.**

Reagente de cor: dissolver 75 mg de cloreto férrico hexaidratado em 50 mL de ácido acético glacial. A seguir, acrescentar 40 mL de ácido sulfúrico sobre a solução. Transferir a solução para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com ácido sulfúrico e homogeneizar. A solução deve ser preparada para uso imediato.

Soluções para curva de analítica: pesar 25 mg de escina, transferir para balão volumétrico de 25,0 mL e dissolver com ácido acético glacial, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Pipetar, separadamente, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL e 5 mL dessa solução para cinco balões volumétricos de 10 mL, diluir com ácido acético glacial para 10 mL e homogeneizar.

Solução branco: ácido acético glacial.

Procedimento: transferir 1 mL de cada uma das *Soluções para curva analítica*, da *Solução amostra* e da *Solução branco*, separadamente, para tubos de ensaio, com tampa. Adicionar 4 mL de *Reagente de cor*, em cada tubo de ensaio. A seguir, levar os tubos ao banho-maria, a temperatura de 60 °C, durante 25 minutos, agitando os tubos ocasionalmente. Medir as absorvâncias das soluções em 540

nm. Após a leitura, construir a curva analítica de escina em mg/mL e determinar a concentração em mg/mL de escina na *Solução amostra*. Calcular o teor de glicosídeos triterpênicos expressos em escina anidra, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TE = \frac{C \times 50}{m \times 3}$$

em que,

TE = teor de glicosídeos triterpênicos expressos em escina anidra % (p/p);

C = concentração de escina em mg/mL determinada para a *Solução amostra* a partir da curva analítica; e

m = massa em gramas do extrato fluido, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CASTANHA-DA-ÍNDIA, tintura *Hippocastani tinctura*

A tintura é obtida a partir das sementes secas de *Aesculus hippocastanum* L., contendo, no mínimo, 0,3% de glicosídeos triterpênicos expressos em escina anidra.

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: n-butanol, água e ácido acético glacial (50:10:40).

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de escina em metanol, para obter a concentração de 5000 µg/mL.

Solução amostra: secar 1 mL da tintura até resíduo, em banho-maria, em temperatura máxima de 60 °C. Adicionar 5 mL de metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 micras.

Revelador: anisaldeído SR.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar com anisaldeído SR, aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	zona de coloração rosa
	zona de coloração amarela
Escina: zona de coloração roxa	Escina: zona de coloração roxa
	zona de coloração rosa
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9267 a 0,9434.

Etanol (5.3.3.8.1). 60% (v/v) a 63% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 3,0% (p/p).

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

Escina

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir 10,00 mL da tintura para um balão de fundo redondo. Evaporar até resíduo em evaporador rotativo com a temperatura não superior a 60 °C. Dissolver o resíduo em 20 mL de ácido clorídrico 0,1 M e transferir para um funil de separação. Lavar o balão de fundo redondo com duas porções de 5 mL de ácido clorídrico 0,1 M e transferir os líquidos para o funil de separação. Adicionar 20 mL de *n*-propanol e 50 mL de clorofórmio ao funil de separação, agitar vigorosamente, por 2 minutos. Separar a fase orgânica (fase inferior). Adicionar 50 mL do **Solvente A** à fase superior remanescente no funil de separação. Agitar vigorosamente o funil de separação por mais 2 minutos e separar a fase orgânica separada (fase inferior). Reunir as fases orgânicas em um balão de fundo redondo e evaporar até resíduo, em evaporador rotativo. Lavar o resíduo do balão com duas porções de éter etílico e filtrar em papel de filtro. Lavar o papel de filtro com 10 mL de éter etílico. Um resíduo, insolúvel em éter etílico, constituído das saponinas e outros glicosídeos, fica retido no papel de filtro. Após a eliminação de todo o éter etílico por secagem (tanto do balão quanto do papel de filtro), adicionar 10 mL de ácido acético glacial ao balão de fundo redondo, sendo esse vertido sobre o papel de filtro contendo o resíduo de saponinas. Transferir a solução para um balão volumétrico de 50 mL. Realizar esse procedimento mais 2 vezes com 10 mL de ácido acético glacial, completando o volume para 50 mL com o mesmo solvente.

Solvente A: clorofórmio, ácido clorídrico 0,1 M e propanol (50:30:20). **Usar fase inferior.**

Reagente de cor: dissolver 75 mg de cloreto férrico hexaidratado, em 50 mL de ácido acético glacial. A seguir acrescentar 50 mL de ácido sulfúrico sobre a solução. Transferir a solução para um balão volumétrico de 100 mL. A solução deve ser preparada para uso imediato.

Soluções para curva analítica: pesar 25 mg de escina, transferir para balão volumétrico de 25,0 mL e diluir com ácido acético glacial. Pipetar, separadamente, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL e 5 mL dessa solução para cinco balões volumétricos de 10 mL e diluir com ácido acético glacial.

Solução branco: ácido acético glacial.

Procedimento: transferir 1 mL de cada uma das *Soluções para curva analítica*, da *Solução amostra* e da *Solução branco*, separadamente, para tubos de ensaio, com tampa. Adicionar 4 mL do *Reagente de cor*, em cada tubo de ensaio. A seguir, levar os tubos em banho-maria, a temperatura de 60 °C, durante 25 minutos, agitando os tubos ocasionalmente. Medir as absorvâncias das soluções em 540 nm. Após a leitura, construir a curva analítica de escina em mg/mL e determinar a concentração em mg/mL de escina na *Solução amostra*. Calcular o teor de glicosídeos triterpênicos expressos em escina anidra, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TE = \frac{C \times 50}{m \times 3}$$

em que,

TE = teor de glicosídeos triterpênicos expressos em escina anidra % (p/p);

C = concentração de escina em mg/mL determinada para a *Solução amostra* a partir da curva analítica; e

m = massa em gramas da tintura de castanha da índia, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CERA DE CARNAÚBA

Carnaubae cera

Cera obtida das folhas de *Copernicia prunifera* (Mill.) H.E. Moore.

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Copernicia cerifera (Arruda) Mart.

CARACTERÍSTICAS

Sólido, em pó, escamas ou massa sólida e de coloração amarelo pálida.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica gel G (0,25 mm).

Fase móvel: clorofórmio e acetato de etila (98:2).

Solução amostra: dissolver, a quente, 0,10 g de amostra em 5 mL de clorofórmio. Aplicar a solução ainda quente.

Solução referência: dissolver 5 mg de acetato de mentila, 5 mg de mentol e 5 mg de timol em 10 mL de tolueno.

Revelador: solução de ácido fosfomolibdico a 20% em etanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma por 10 cm. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com o *Revelador* e aquecer a 100 °C – 105 °C durante 2 a 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Acetato de mentila: zona de coloração azul escuro	Zonas de coloração azul escura
Timol: zona de coloração avermelhada	
Mentol: zona de coloração azul escura	
	Zona de coloração larga azul (triacontanol)
	Zonas de coloração azul de menor intensidade
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e etanol. Muito solúvel, à quente, em acetato de etila e xileno.

Cor de líquidos (5.2.12). Dissolver, à quente, 0,10 g da amostra em 10 mL de clorofórmio. A cor da solução é menos intensa do que a de uma solução de dicromato de potássio a 50 mg/L.

Turbidez (5.2.16). Dissolver, à quente, 0,10 g da amostra em 10 mL de clorofórmio. A preparação é límpida.

Índice de acidez (5.2.29.7). 2 a 7.

Em balão de fundo redondo de 250 mL, pesar, com exatidão, cerca de 2 g de amostra, adicionar 40 mL de xileno e algumas pérolas de vidro. Aquecer, com agitação frequente, até que a substância esteja completamente dissolvida. Adicionar 20 mL de etanol a 95% e 1 mL de solução de azul de bromotimol. Titular, imediatamente, à quente, com solução de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol SV até coloração esverdeada persistente por pelo menos 10 segundos. Proceder ao ensaio em branco. O índice de acidez é calculado conforme a expressão:

$$I_s = \frac{28,05 (n_1 - n_2)}{m}$$

em que,

n_1 = volume corrigido de titulante;

n_2 = volume corrigido de titulante no ensaio em branco; e

m = massa pesada de amostra.

Ponto de fusão (5.2.2). *Método II.* 80 °C a 88 °C.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 78 a 95.

Em balão de fundo redondo de 250 mL pesar, com exatidão, cerca de 2 g de amostra, adicionar 40 mL de xileno e algumas pérolas de vidro. Aquecer, com agitação frequente, até que a substância esteja completamente dissolvida. Adicionar 20 mL de etanol a 95% e 20,0 mL de solução de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol. Adaptar o balão ao condensador de refluxo e aquecer em banho-maria, por

3 horas, com agitação frequente. Adicionar 1 mL de solução de fenolftaleína e titular imediatamente com solução de ácido clorídrico 0,5 M SV até desaparecimento da cor vermelha. Repetir o aquecimento e a titulação até que não seja observada restauração da cor sob aquecimento. Proceder ao ensaio em branco. O índice de saponificação é calculado conforme a expressão:

$$I_s = \frac{28,05 (n_4 - n_3)}{m}$$

em que,

n_3 = volume corrigido de titulante;

n_4 = volume corrigido de titulante no ensaio em branco; e

m = massa de amostra pesada.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 0,25%. Determinar em 2,0 g.

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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CATEGORIA

Excipiente farmacotécnico.

COENTRO, fruto *Coriandri fructus*

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Coriandrum sativum* L., contendo, no mínimo, 0,3% de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

Os frutos possuem odor aromático e característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O fruto é um diaquênio, formado de dois mericarpos, subglobular e glabro, de aproximadamente 0,2 a 0,5 cm de diâmetro, castanho, castanho-amarelado ou castanho-avermelhado; possui no ápice um

estilopódio curto com dois estiletos divergentes e restos de cinco sépalas reflexas. Cada um dos mericarpos, usualmente aderidos pelas margens, possui cinco arestas longitudinais primárias, onduladas, alternadas com quatro arestas longitudinais secundárias, mais proeminentes. O fruto, em secção transversal, exhibe na porção dorsal do pericarpo uma banda contínua de esclerênquima lignificado e na face comissural ou ventral dois, raramente mais, canais secretores grandes. O endosperma é oleoso e côncavo na face comissural.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o diaquênio mostra-se circular, com 10 arestas primárias onduladas, em cada uma das quais se observa um feixe vascular, e oito arestas secundárias mais proeminentes. O epicarpo é constituído por uma camada incolor de células epidérmicas de paredes finas e cutícula lisa, que podem conter ocasionalmente um ou dois cristais de oxalato de cálcio, prismáticos, pequenos. Em vista frontal, o epicarpo mostra células poligonais e estômatos anisocíticos e/ou anomocíticos, pouco frequentes. O mesocarpo é formado por três zonas distintas: externamente ocorrem algumas camadas de células grandes, de paredes delgadas, entre as quais ocorrem resquícios de canais secretores rudimentares, voltados para a face adaxial e no lado comissural são visíveis dois grandes canais secretores de forma elíptica; a porção mediana é formada por uma zona ampla e contínua de fibras fusiformes, sinuosas, de paredes espessas, pontoadas e de lúmen estreito, formando camadas entrelaçadas que externamente orientam-se longitudinalmente e internamente tangencialmente, formando um ângulo reto entre si; a seguir ocorrem duas ou três camadas de esclereídes grandes, poligonais ou retangulares, alargados tangencialmente, de paredes espessas, com numerosas pontoações bem evidentes, de coloração amarela, frequentemente aderidos ao endocarpo, que é formado por uma ou duas camadas de células de paredes finas, lignificadas, alongadas em vista frontal, com aspecto aparquetado (disposição em “parquet”). A semente, de forma reniforme, está coberta por um tegumento formado por uma camada de células marrons e de paredes grossas, exceto sobre a superfície comissural; o endosperma é constituído por células poligonais, de paredes espessas, contendo óleo incolor ou levemente amarelado, grãos de aleurona e pequenas drusas de oxalato de cálcio, de 3 a 10 µm de diâmetro.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-amarelada; fragmentos do endosperma e do pericarpo; fragmentos de fibras fusiformes de paredes lignificadas espessas; esclereídes agrupados; poucos fragmentos acastanhados do canal secretor; numerosos cristais de oxalato de cálcio, a maioria em rosetas agregadas; numerosas gotas de óleo; fragmentos do epicarpo com células poligonais; elementos de vaso do tipo helicoidal e parênquima do xilema.

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

Fase estacionária: sílica-gel G.

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (97:3).

Solução amostra: agitar por 3 minutos 0,5 g da droga (500) (5.2.11) em 5 mL de hexano. Filtrar em 2 g de sulfato de sódio anidro e recolher 1 mL para proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: diluir 15 µL de linalol e 25 µL de óleo de oliva em 5 mL de hexano.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e

deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 1 a 2 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Óleo de oliva: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta (triacilglicerídeos)
Linalol: zona de coloração violeta intensa	Zona de coloração violeta (linalol)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 10%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 5%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 8%.

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

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

Aflatoxinas (5.4.4). 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 500 mL contendo 300 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xilol no tubo graduado. Reduzir o fruto de coentro a pó grosseiro. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 30 g da droga seca. Destilar durante 2 horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

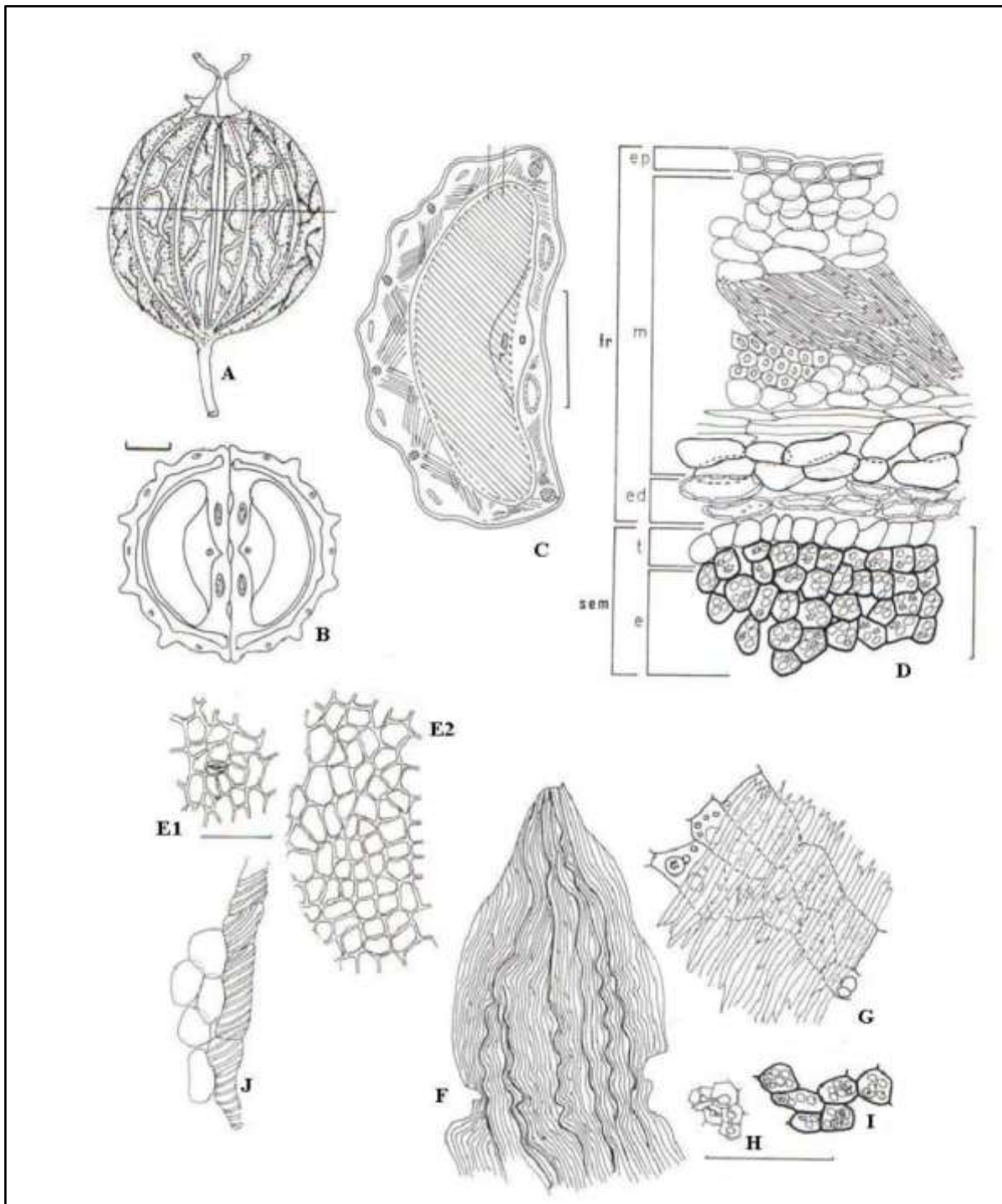


Figura 1-Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Coriandrum sativum* L.

As escalas correspondem em A e B a 1 mm, em C a 500 μ m, em D a J a 100 μ m.

A - aspecto geral do fruto. B - secção transversal do diaquênio, segundo indicado em A. C - esquema de um mericarpo; oco (o); rafe (r). D - detalhe de secção transversal em um mericarpo, segundo indicado em C; endocarpo (ed); endosperma (e); epicarpo (ep); mesocarpo (m); porção do pericarpo do fruto (fr); porção da semente (sem); tegumento (t). E a J - detalhes observados no pó. E1 - fragmento do epicarpo com estômato. E2 - fragmento do epicarpo em vista frontal. F - fragmento das fibras do mesocarpo em vista frontal. G - fragmento do endocarpo e endosperma em vista frontal. H - fragmento de fibras do mesocarpo em secção transversal. I - detalhe de fragmento do endosperma com gotas de óleo e

cristais do tipo drusa. **J** - fragmento do xilema com elementos de vaso de espessamento helicoidal e parênquima subjacente.

COENTRO, óleo *Coriandri aetheroleum*

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de frutos secos de *Coriandrum sativum* L., contendo, no mínimo, 65% de linalol (C₁₀H₁₈O, 154,25).

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, incolor a amarelo-claro com odor característico de especiarias.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila e tolueno (5:95).

Solução amostra: diluir 10 µL da amostra a ser examinada em 1 mL de tolueno.

Solução referência: diluir 10 µL de linalol e 2 µL de acetato de geranila em 1 mL de tolueno.

Revelador: misturar, na ordem, 0,5 mL de anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de metanol e 5 mL de ácido sulfúrico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com o *Revelador*, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 10 a 15 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Acetato de geranila: zona de coloração rosa violácea	Zona de coloração rosa violácea (acetato de geranila)
Linalol: zona de coloração rosa violácea	Zona de coloração rosa violácea (linalol) Zonas de coloração rosa violácea de menor intensidade
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,860 a 0,880.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,462 a 1,470.

Poder rotatório (5.2.29.5). +7° a +13°.

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo 3. Determinar em 5 g de amostra.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, coluna capilar de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar nitrogênio ultrapuro como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 10	60
	10 – 75	60 → 190
	75 – 120	190
Injetor		220
Detector		240

Solução amostra: óleo volátil de coentro.

Solução referência (1): dissolver 10 µL de α-pineno, 10 µL de limoneno, 10 µL de γ-terpineno, 10 µL de p-cimeno, 10 mg de cânfora, 20 µL de linalol, 10 µL de α-terpineol, 10 µL de acetato de geranila e 10 µL de geraniol em 1 mL de hexano. Armazenar, sob refrigeração, em frasco hermeticamente fechado e ao abrigo da luz.

Solução referência (2): diluir 5 µL de geraniol em hexano e diluir para 10 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar volume de 0,2 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:65. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás, acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: Solução referência (1), mínimo 1,5 entre os picos referentes ao linalol e cânfora.

Limite de exclusão: área sob o pico do cromatograma obtido com a Solução referência (2) (0,05%).

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: α -pineno, 3,0 a 7,0%; limoneno, 1,5 a 5,0%; γ -terpineno, 1,5 a 8,0%; p-cimeno, 0,5 a 4,0%; cânfora, 3,0 a 6,0%; linalol, 65,0 a 78,0%; α -terpineol, 0,1 a 1,5%; acetato de geranila, 0,5 a 4,0%; e geraniol, 0,5 a 3,0%.

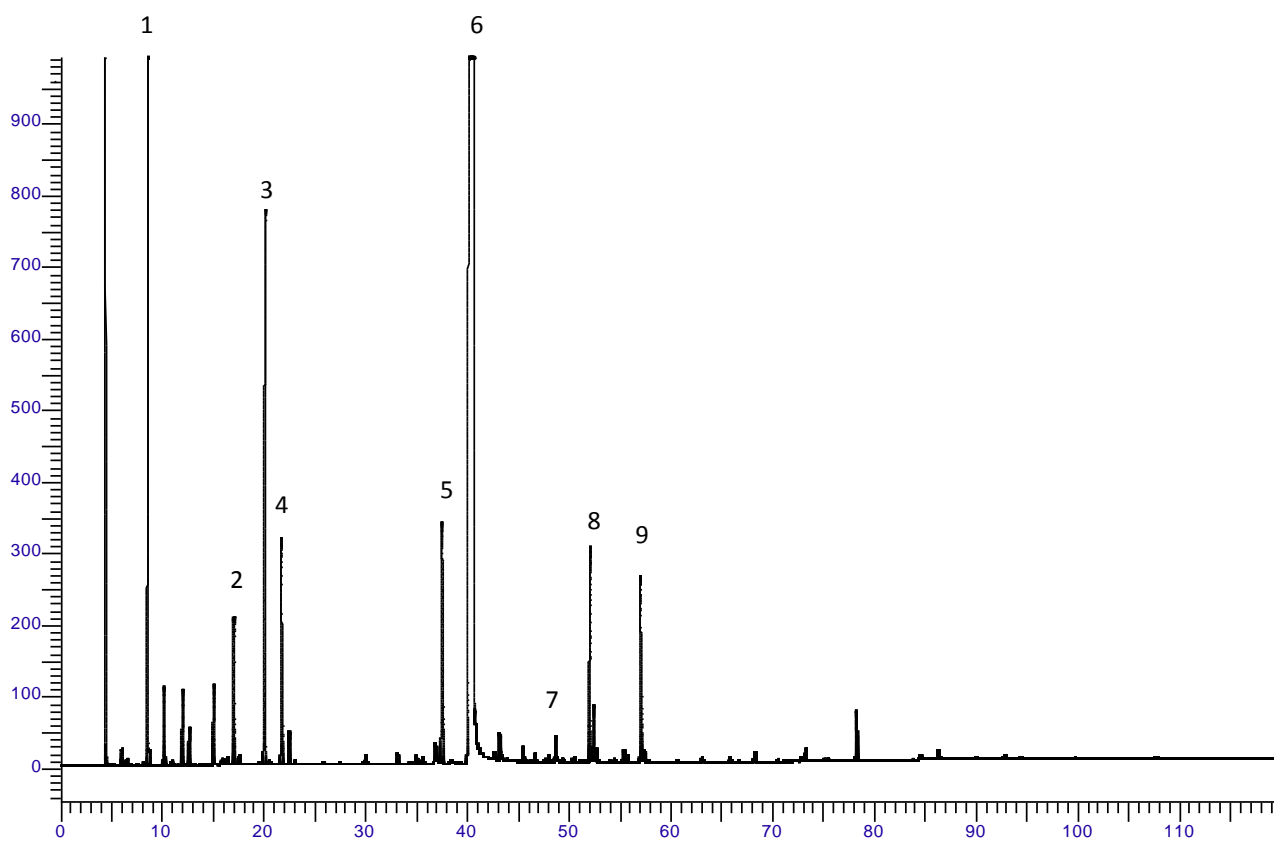


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Coriandrum sativum* L., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α -pineno, 2- limoneno, 3- γ -terpineno, 4- p-cimeno, 5- cânfora, 6- linalol, 7- α -terpineol, 8- acetato de geranila, 9- geraniol.

Determinação da pureza quiral. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com β -ciclodextrina modificada, com espessura de filme de 0,25 μ m. Utilizar nitrogênio ultrapuro como gás de arraste (1,3 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 65	50 → 180
Injetor		230
Detector		230

Solução amostra: dissolver 0,02 g da amostra em pentano e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução referência: dissolver 10 µL de linalol e 5 mg de borneol em pentano e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar volume de 1,0 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:30.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, mínimo 5,5 entre os picos referentes ao (*R*)-linalol (1º pico) e (*S*)-linalol (2º pico) e, no mínimo, 2,9 entre os picos do (*S*)-linalol e borneol (3º pico).

Limite: no máximo 14% de (*R*)-linalol. Calcular o teor de (*R*)-linalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TRL} = \frac{A_R}{A_S + A_R} \times 100$$

em que,

TRL = teor de (*R*)-linalol %;

A_S = área sob o pico correspondente ao (*S*)-linalol; e

A_R = área sob o pico correspondente ao (*R*)-linalol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CRATEGO, extrato fluido *Crataegi extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de ramos floridos secos de *Crataegus monogyna* Jacq., *Crataegus rhipidophylla* Gand. (syn. *C. oxyacantha* L., nom. rej.) *Crataegus laevigata* (Poir.) DC., *Crataegus pentagyna* Waldst. & Kit. ex Willd., *Crataegus nigra* Waldst. & Kit. e *Crataegus azarolus* L., ou de híbridos entre elas, contendo, no mínimo, 0,8% de flavonoides totais, expressos como hiperosídeo (C₂₁H₂₀O₁₂, 464,38).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração verde escuro, com odor característico.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

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

Solução amostra: secar 1,0 mL do extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura não superior a 60°C. Suspender o resíduo em 2 mL de metanol, filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de ácido clorogênico em metanol, para obter a concentração de 100 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de hiperosídeo em metanol, para obter a concentração de 250 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa difenilborato de aminoetanol SR, e a seguir com solução de macrogol 400 (PEG) a 5% (p/v) em etanol. Aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, *Solução referência (1)* e *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Hiperosídeo: zona de fluorescência laranja	Zona de fluorescência laranja
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul	Zona de fluorescência azul
Rutina: zona de fluorescência laranja	Zona de fluorescência verde
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0092 a 1,0771.

Etanol (5.3.3.8.1). Método II. 61 % (v/v) a 64 % (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (vv/) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 8,50 % (p/p).

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

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções como descrito a seguir.

Solução reagente: ácido bórico a 2,5% (p/v) e ácido oxálico a 2% (p/v) em ácido fórmico anidro. Solubilizar, com aquecimento e agitação, em capela de exaustão.

Solução estoque: em um balão volumétrico 100 mL, adicionar 0,5 mL de extrato fluido de cratego e completar o volume com etanol a 60%.

Solução amostra: transferir 5 mL da *Solução estoque* para um balão de fundo redondo de 50 mL e secar em evaporador rotativo, em temperatura não superior a 60 °C. Solubilizar o resíduo em 8 mL de uma mistura de metanol e ácido acético (10:100) e transferir para um balão volumétrico de 25 mL. Lavar o balão de fundo redondo com 3 mL da mistura de metanol e ácido acético (10:100) e adicionar ao balão volumétrico de 25 mL. Acrescentar 10 mL da *Solução reagente*. Levar ao banho de gelo por 10 minutos, não permitindo o congelamento da solução. Completar o volume com ácido acético glacial. Colocar o balão imediatamente em banho de gelo e retirar 10 minutos antes da leitura no espectrofotômetro.

Solução branco: transferir 5 mL da *Solução estoque* para um balão de fundo redondo de 50 mL e secar em evaporador rotativo, em temperatura não superior a 60 °C. Solubilizar o resíduo em 8 mL da mistura de metanol e ácido acético (10:100) e transferir para um balão volumétrico de 25 mL. Lavar o balão de fundo redondo com 3 mL da mistura de metanol e ácido acético (10:100) e adicionar ao balão volumétrico de 25 mL. Acrescentar 10 mL de ácido fórmico anidro. Levar ao banho de gelo por 10 minutos, não permitindo o congelamento da solução. Completar o volume com ácido acético glacial. Colocar o balão imediatamente em banho de gelo e retirar 10 minutos antes da leitura no espectrofotômetro.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 410 nm, após exatamente 30 minutos, utilizando a *Solução branco*, para ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais expresso em hiperosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TFT} = \frac{A \times 1,235}{m}$$

em que,

TFT = teor de flavonoides totais expresso em hiperosídeo % (p/p);

A = Absorvância medida para a *Solução amostra*; e

m = massa em gramas do extrato fluido de cratego, determinado a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CRAVO-DA-ÍNDIA, botão floral *Caryophylli flos*

A droga vegetal consiste de botões florais secos de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, contendo, no mínimo, 15% de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

Os botões florais possuem odor forte, aromático e característico; os botões exsudam óleo ao serem pressionados.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O botão floral tem coloração castanho-enegrecida, com 1,0 a 2,1 cm de comprimento e 0,2 a 0,4 cm de diâmetro na porção do botão; apresenta na sua porção inferior um hipanto subcilíndrico, de quatro lados algo achatados, que contém na região interna e superior um ovário ínfero, com dois lóculos, mostrando vários rudimentos seminiais aderidos à placenta axilar. Na extremidade superior do hipanto existe um cálice com quatro sépalas divergentes, pontiagudas, espessas, com cerca de 0,3 cm de comprimento, que circundam uma região globosa formada por quatro pétalas imbricadas, membranosas, de coloração mais clara, dispostas em forma de domo, sob a qual se encontram numerosos estames recurvados para dentro, inseridos em um disco nectarífero côncavo, circundando um único estilete ereto e subulado, de cerca de 0,3 cm de comprimento.

B. Descrição microscópica

Em vista frontal, a epiderme do hipanto mostra células poligonais de paredes espessadas e numerosos estômatos anomocíticos, quase circulares, de 30 a 35 μm de diâmetro. Por transparência observam-se glândulas esquizolisígenas e agrupamentos de cristais de oxalato de cálcio, do tipo drusas ou cristais prismáticos. Em secção transversal, observam-se cutícula espessa e lisa, células epidérmicas tubulosas, estômatos elevados e câmara subestomática bem definida, seguidos de um parênquima com zonas distintas: zona externa, de coloração castanho-amarelada, com glândulas esquizolisígenas ovoides, de eixo radial longo, medindo até 200 μm de comprimento, distribuídas próximas umas das outras, em duas ou três fileiras, acompanhadas de agrupamentos de células contendo drusas; zona média formada por células parenquimáticas, de aspecto colenquimático, com um anel de feixes vasculares biclaterais, arredondados, envolvidos por anel incompleto de fibras, além de fibras ocasionais isoladas ou em grupos de duas ou três células e lúmen preenchido por conteúdo castanho; feixes vasculares circundados por células parenquimáticas contendo cristais prismáticos; abaixo dos feixes ocorre um tecido parenquimático frouxo, do tipo aerênquima, seguido de um anel com cerca de 17 feixes vasculares biclaterais menores, circundados por algumas fibras; zona central ocupada por um parênquima de preenchimento, com células contendo cristais do tipo drusa. Ocasionalmente ocorrem esclereídes ovais a subretangulares, de paredes estriadas e fortemente espessadas, apresentando numerosas pontoações simples ou ramificadas e com lúmen frequentemente preenchido com conteúdo castanho. No cálice, corola, filete e estilete também ocorrem células com cristais semelhantes aos já descritos e glândulas esquizolisígenas. A antera, em secção transversal, apresenta uma camada fibrosa de células epidérmicas alongadas tangencialmente, com espessamento lignificado nas paredes anticlinais; no ápice do conetivo ocorre uma glândula esquizolisígena. Os grãos de pólen medem de 15 a 20 μm de diâmetro, são biconvexos, de contorno arredondado a triangular, com exina lisa. Grãos de amido estão ausentes.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração castanho-enegrecida a castanho-avermelhada; fragmentos do parênquima do hipanto com glândulas esquizolisígenas; fragmentos da epiderme do hipanto em vista frontal, com estômatos anomocíticos grandes e glândulas subjacentes; fragmentos de parênquima do hipanto com células contendo cristais do tipo drusa; fragmentos de aerênquima do hipanto; porção do hipanto, em secção transversal, mostrando cutícula espessa, epiderme e parênquima subjacente com glândulas; esclereídes do hipanto, isolados; fragmentos de camada fibrosa da antera em vista frontal; fragmentos da epiderme do filete em vista frontal, com cutícula estriada; filetes com cordão vascular

central e células parenquimáticas com drusas; grãos de pólen; fibras pontiagudas com espessas paredes, associadas a células parenquimáticas.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

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

Solução amostra: diluir em 1 mL de tolueno, 10 µL de óleo volátil de cravo obtido na *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*.

Solução referência: diluir em 1 mL de tolueno, 10 µL de eugenol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 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 solução de anisaldeído, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração rosa
Eugenol: zona de coloração violácea	Zona de coloração violácea
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

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

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 4% de pedúnculos, pecíolos e frutos. No máximo 2% de botões florais alterados. No máximo 0,5% de outros elementos estranhos. É permitida a presença de 1% do peso seco de pedicelos da inflorescência.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 7%.

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.

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 xilol no tubo graduado. Moer 5 g de botões florais dessecados a pó junto com 5 g terra diatomácea. Do pó obtido, pesar 4 g e proceder imediatamente à determinação do óleo volátil. Destilar durante 2 horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

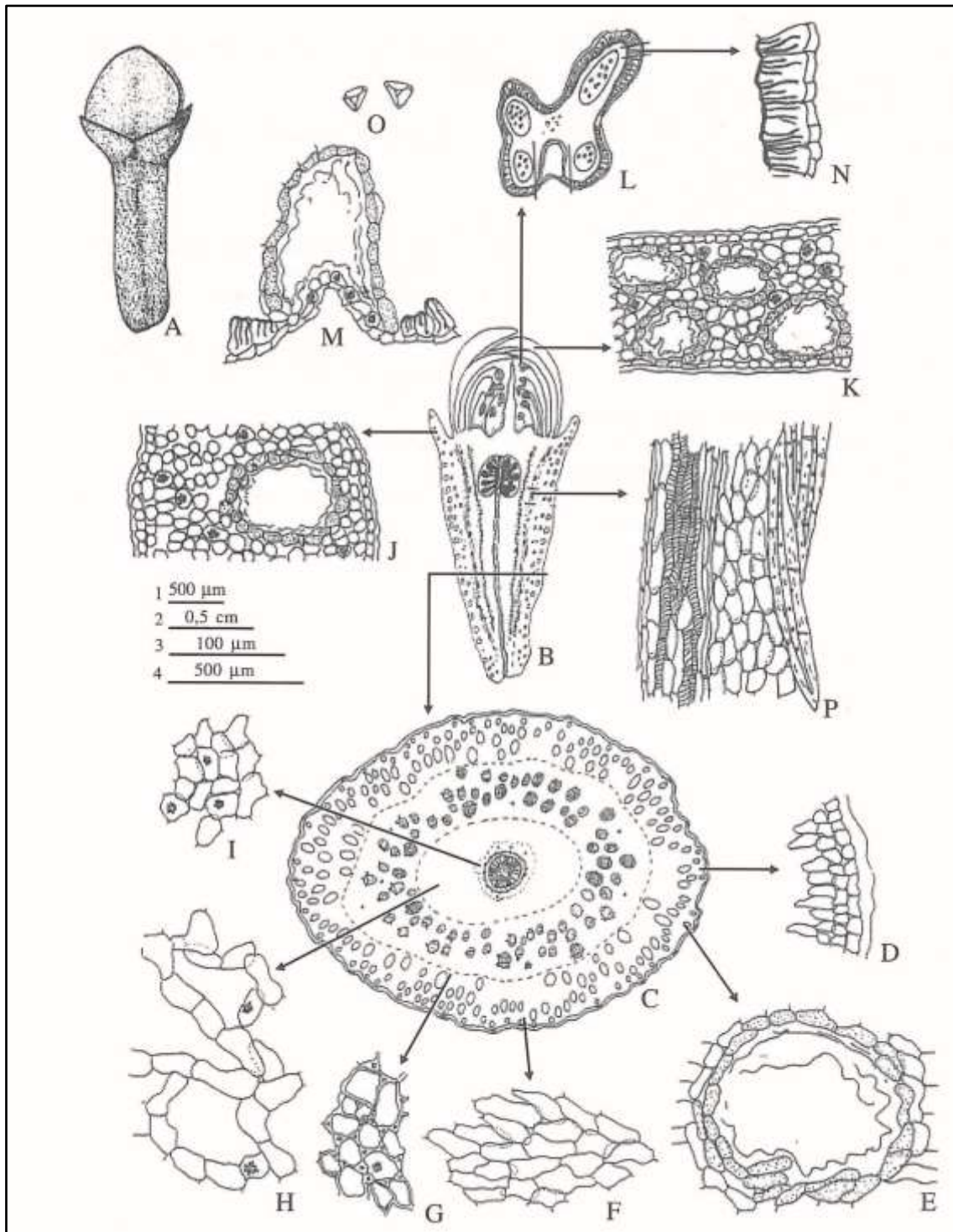


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry

As escalas correspondem em A a 0,5 cm, em B a 500 μm , em D-K, M-P a 100 μm e em L a 500 μm .

A - exomorfologia do botão floral em vista lateral. B - botão floral em secção longitudinal ao longo da porção mediana. C a O - secção transversal do botão floral: C - hipanto, abaixo da região do ovário. D - porção de epiderme e parênquima cortical. E - glândula esquizolisígena. F - parênquima com células alongadas radialmente. G - colênquima. H - aerênquima. I - parênquima. J - porção da sépala mostrando glândula esquizolisígena. K - porção da pétala. L - antera. M - detalhe da glândula esquizolisígena do conetivo da antera. N - detalhe da camada fibrosa da antera. O - grãos de pólen. P - feixe vascular em secção longitudinal.

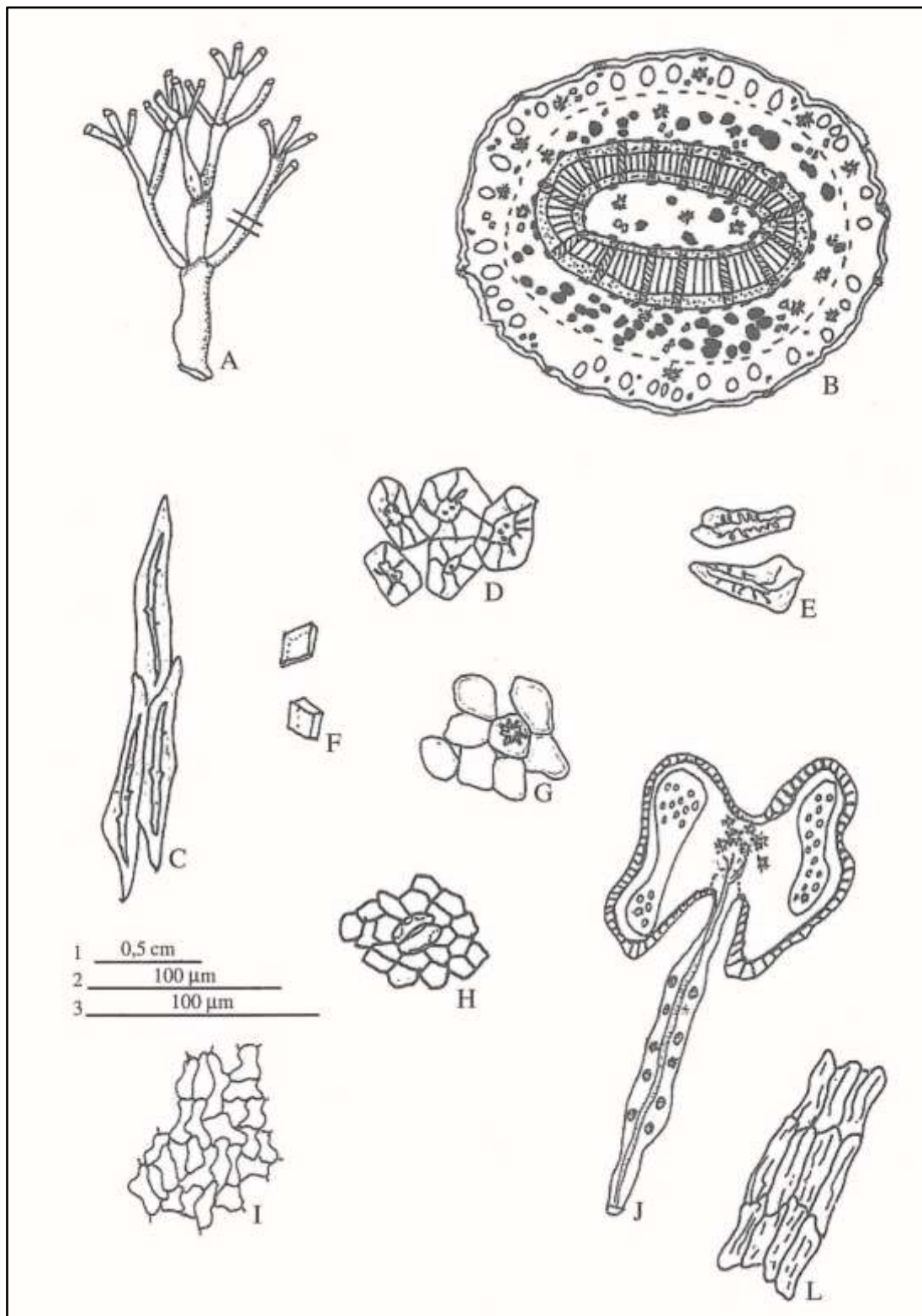


Figura 2 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry

As escalas correspondem em A a 0,5 cm, em B a J a 100 μ m.

A - pedúnculo e pedicelos da inflorescência. B - secção transversal do pedúnculo como assinalado em A. C - fibras em secção longitudinal. D - fibras em secção transversal. E - esclereídes. F - cristais isolados. G - parênquima contendo drusas. H - epiderme do hipanto em vista frontal mostrando estômato. I - epiderme da pétala em vista frontal. J - estame em secção longitudinal. L - vista frontal da epiderme do filete mostrando cutícula estriada.

CRAVO-DA-ÍNDIA, óleo
Caryophylli flos aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de botões florais secos de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry, contendo, no mínimo, 75% de eugenol (C₁₀H₁₂O₂, 164,20).

CARACTERÍSTICAS

Líquido amarelo intenso que se torna marrom quando exposto ao ar, com odor de eugenol.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno.

Solução amostra: diluir 3 µL da amostra a ser examinada em 300 µL de tolueno.

Solução referência: dissolver 1,5 µL de eugenol e 2 mg de acetato de eugenila em 200 µL de tolueno.

Revelador: misturar, na ordem, 0,5 mL de anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de metanol e 5 mL de ácido sulfúrico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 15 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Deixar em repouso por 5 minutos. Desenvolver novamente o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com o *Revelador*, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Eugenol: zona com extinção de fluorescência	Zona com extinção de fluorescência
Acetato de eugenila: zona com extinção de fluorescência	Zona com extinção de fluorescência
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Eugenol: zona de coloração castanho-violeta	Zona de coloração violeta-avermelhada Zona de coloração castanho-violeta
Acetato de eugenila: zona de coloração castanho-violeta	Zona de coloração castanho-violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 1,030 a 1,063.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,528 a 1,537.

Poder rotatório (5.2.29.5). -2° a 0° .

Solubilidade em etanol. Transferir 1 mL de amostra a ser analisada para uma proveta de 25 mL com rolha esmerilhada e adicionar, com auxílio de uma bureta, frações de 0,1 mL de etanol a 70%, até completa dissolução do óleo. A seguir, continuar a adição de etanol a 70% com frações de 0,5 mL até completar 20 mL, agitando energicamente a cada adição de etanol. A amostra é solúvel em dois volumes de etanol a 70%.

Óleos fixos e óleos voláteis resignificados. Colocar uma gota da amostra num fragmento de papel de filtro. A gota deve evaporar completamente em 24 horas sem deixar mancha translúcida ou gordurosa.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chamas; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol 20 000, com espessura de filme de 0,25 μm . Utilizar nitrogênio ultra puro como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
Coluna	0 – 8	60
	8 – 48	60 \rightarrow 180
	48 – 53	180
Injetor		270
Detector		270

Solução amostra: dissolver 0,2 g do óleo volátil em 10 g de hexano.

Solução referência: dissolver 7 mg de β -cariofileno, 80 mg de eugenol e 4 mg de acetato de eugenila em 10 g de hexano.

Procedimento: injetar volume de 1 μ L da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada por cromatografia à gás acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, no mínimo 1,5 entre os picos referentes ao eugenol e acetato de eugenila.

Número de pratos teóricos: no mínimo 30 000, calculados para o pico referente ao β -cariofileno a 110 °C.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra* verificar a presença dos componentes conforme segue: β -cariofileno, 5,0% a 14,0%; eugenol, 75,0% a 88,0% e acetato de eugenila, 4,0% a 15,0%.

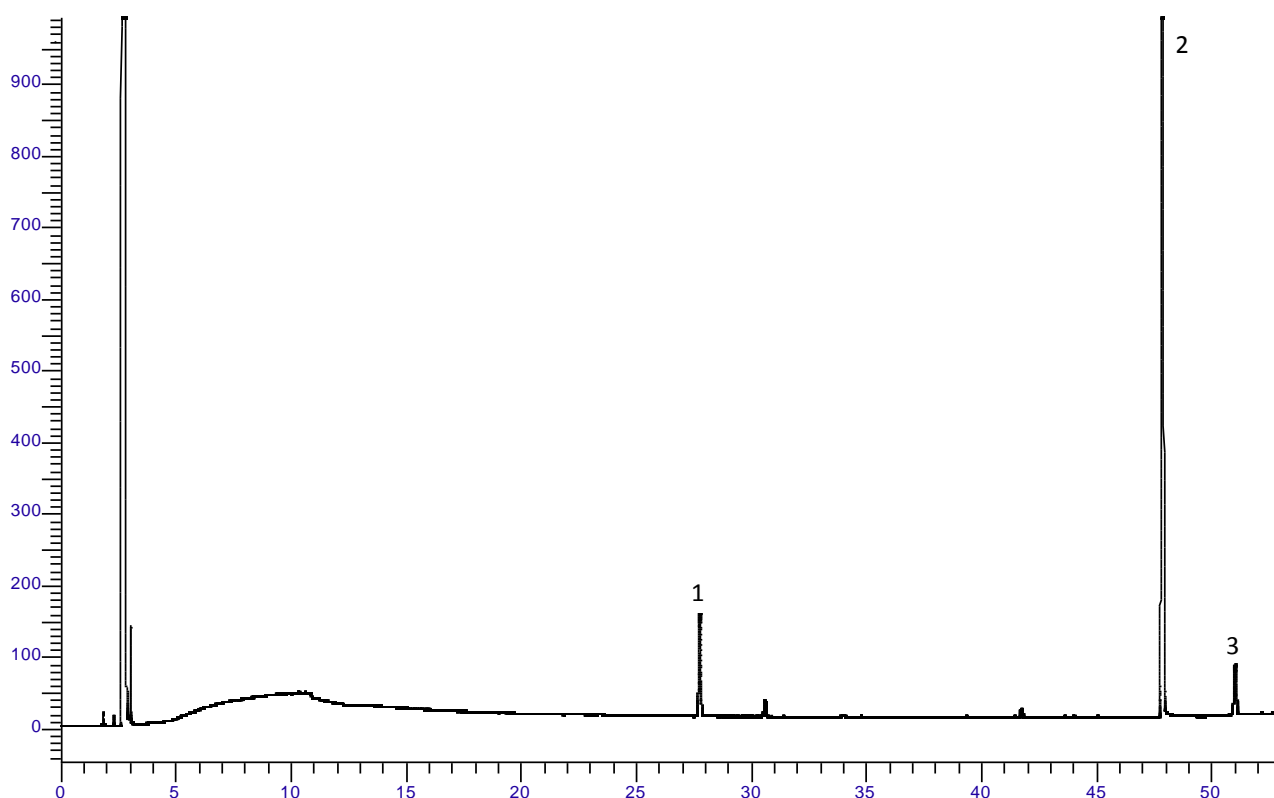


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry, por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1– β -cariofileno, 2– eugenol e 3– acetato de eugenila.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CÚRCUMA, tintura *Curcumae longae tinctura*

A tintura é obtida a partir de rizomas secos de *Curcuma longa* L., contendo, no mínimo, 0,25% de derivados do dicinamoilmetano expressos em curcumina ($C_{21}H_{20}O_6$, 368,39).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por maceração ou percolação, utilizando etanol a 70% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de cor amarelo-alaranjado.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: mistura de clorofórmio, etanol e ácido acético glacial (95:5:0,5).

Solução amostra: diluir 1 mL de tintura de cúrcuma em 1 mL de metanol.

Solução referência: dissolver 5 mg de curcumina SQR, demetoxicurcumina SQR e bisdemetoxicurcumina SQR em 5 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm e 254 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Curcumina: zona de coloração verde fluorescente	Zona de coloração verde fluorescente
Demetoxicurcumina: zona de coloração verde fluorescente	Zona de coloração verde fluorescente
Bisdemetoxicurcumina: zona de coloração verde fluorescente	Zona de coloração verde fluorescente
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,883 a 0,898.

Etanol (5.3.3.8.1). *Método por destilação, Método 2.* 63% (v/v) a 66% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% de metanol e, no máximo, 0,05% de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 1,2% (p/p). Determinar em 2 g da tintura.

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

Derivados do dicinamoilmetano

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Preparar soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: introduzir 80 mg da amostra em béquer de 50 mL, adicionar 6 mL de ácido acético glacial e cobrir com papel filme perfurado. Aquecer em banho-maria a temperatura de 90 °C durante 60 minutos. Adicionar 0,2 g de ácido bórico e 0,2 g de ácido oxálico e aquecer em banho-maria temperatura de 90 °C durante 10 minutos. Esfriar e transferir o sobrenadante para balão volumétrico de 10 mL. Lavar o resíduo do béquer com pequenas alíquotas de ácido acético glacial até que esse não apresente mais cor. Completar o volume do balão com o mesmo solvente e homogeneizar. Transferir 1 mL dessa solução para outro balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com ácido acético glacial e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 530 nm, logo após o seu preparo, utilizando ácido acético glacial para o ajuste do zero. Calcular o teor de derivados de dicinamoilmetano expresso em curcumina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{0,0426 \times A}{m}$$

em que,

TC = teor de derivados de dicinamoilmetano expresso em curcumina % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da amostra, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

EUCALIPTO, folha

Eucalypti folia

A droga consiste de folhas maduras, secas, íntegras ou rasuradas de *Eucalyptus globulus* Labill., contendo, no mínimo, 2% e 1,5% de óleo volátil, respectivamente.

CARACTERÍSTICAS

As folhas possuem forte odor aromático, pungente e característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas adultas simples, de 8 a 30 cm de comprimento e 2 a 7 cm de largura, com lâminas lanceoladas, falciformes, coriáceas ou subcoriáceas, quebradiças, glabras, de coloração verde-pálida a verde-acinzentada, algo glauca, margem inteira, ápice agudo-acuminado e base desigualmente obtusa ou arredondada; nervura principal bem marcada na face abaxial, com ramificações que se anastomosam e terminam formando uma nervura paralela a 1 ou 2 mm da margem da lâmina; as lâminas apresentam grande quantidade de pontos translúcidos, nem sempre muito evidentes, correspondentes a glândulas esquizolisígenas internas, além de, ocasionalmente, pequenas manchas pardas, salientes, formadas por células suberificadas; pecíolo de 1 a 3,5 cm de comprimento, de coloração castanho-clara, ligeiramente achatado, acanalado, quase sempre retorcido.

B. Descrição microscópica

Lâmina foliar isobilateral e anfiestomática, evidenciando maior número de estômatos na face abaxial, com venação densa. Epiderme das duas faces, em vista frontal, com células poligonais de paredes periclinais moderadamente espessadas. Em secção transversal, a epiderme em ambas as faces é uniestratificada, com cutícula lisa e espessa e é formada por células poligonais pequenas; os estômatos em geral estão aprofundados. O parênquima paliçádico, voltado para ambas as faces, é formado por três a cinco camadas de células curtas, seguidas de um parênquima esponjoso formado por duas a quatro camadas de células pequenas e muito irregulares na forma. No mesofilo são observadas grandes cavidades esquizolisígenas que contêm óleo volátil, além de drusas de oxalato de cálcio e escassas maclas (prismas). A nervura principal é formada por um grande feixe vascular bicolateral plano-convexo, rodeado por uma bainha descontínua de fibras, acompanhado nas extremidades voltadas para a face adaxial por dois feixes vasculares menores; abaixo de ambas as epidermes ocorre colênquima laminar. As manchas pardas e salientes, visíveis na superfície das folhas, quando presentes, são formadas por células de paredes suberificadas, dispostas em círculos concêntricos.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as características estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-acinzentada; fragmentos de epiderme com estômatos anomocíticos; fragmentos de epiderme superior e inferior; fragmentos de nervuras; células de parênquima com drusas de oxalato de cálcio; drusas e maclas (prismas) isoladas; fragmentos de mesofilo com partes de glândulas esquizolisígenas; fragmentos de feixes vasculares bicolaterais; fragmentos de epiderme com colênquima adjacente; fragmentos de epiderme com células de paredes suberizadas dispostas em círculos concêntricos.

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

Fase estacionária: sílica-gel G.

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (9:1).

Solução amostra: agitar 0,5 g da droga recentemente moída (355) (5.2.11) em 5 mL de tolueno durante 2 a 3 minutos. Filtrar em 2 g de sulfato de sódio anidro. Reservar uma alíquota do filtrado e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: diluir 10 µL de cineol em 1,0 mL de tolueno.

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 solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 1 minuto.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração castanho-violácea
1,8-cineol: zona de coloração castanho-violácea intensa	Zona de coloração castanho-violácea intensa
	Zona de coloração castanho-violácea
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3%. Não devem fazer parte da droga folhas jovens ou de ramificações recentes menores do que as descritas, sésseis, oval-oblongas, cordiformes na base, de coloração verde-azulada pela deposição de ceras, com pontos translúcidos mais evidentes do que aqueles das folhas adultas.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 6%.

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.

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 500 mL contendo 200 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xilol no tubo graduado. Reduzir a droga a pó grosseiro e proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 10 g da droga seca. Destilar durante duas horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

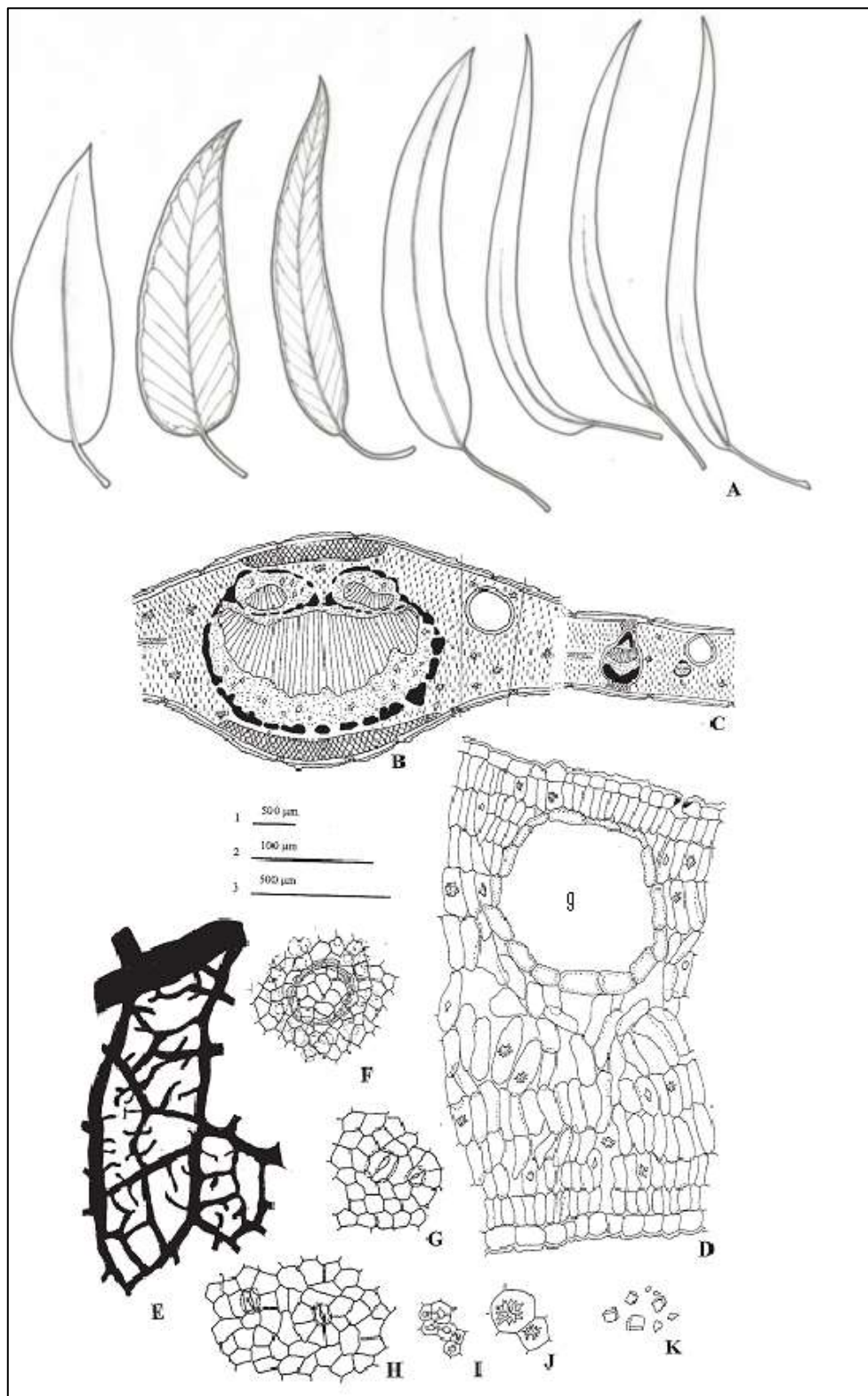


Figura 1–Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Eucalyptus globulus* Labill.

As escalas correspondem em 1 a **E**; 2 a **D e F-J**; 3 a **B e C**.

A – morfologia da folha. **B-D** – secção transversal da lâmina foliar. **B** – esquema da nervura principal. **C** – esquema do mesofilo na região laminar da folha. **D** – detalhe da porção indicada em **B**. **E-H** – detalhes de fragmentos da lâmina foliar em vista frontal. **E** – aspecto da venação. **F** – fragmento da epiderme, na face adaxial, com glândula esquizolisígena visível por transparência. **G** – fragmento da epiderme, na face adaxial, com estômatos. **H** – fragmento da epiderme, na face abaxial, com estômatos. **I** – fibras, em secção transversal. **J** – células de parênquima, com drusas. **K** – cristais do tipo maclas, isolados.

EUCALIPTO, óleo

Eucalypti aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas ou ramos terminais frescos de *Eucalyptus globulus* Labill., contendo, no mínimo, 70% de 1,8-cineol (C₁₀H₁₈O, 154,25).

CARACTERÍSTICAS

Líquido incolor a amarelo pálido, com odor aromático característico de 1,8-cineol.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila e tolueno (1:9).

Solução amostra: dissolver 0,01 g da amostra a ser examinada em 1 mL de tolueno.

Solução referência: diluir 3 µL de 1,8-cineol e 1,2 µL de α-terpineol em 300 µL de tolueno.

Revelador: misturar, na ordem, 0,5 mL de anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de metanol e 5 mL de ácido sulfúrico.

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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com o *Revelador* e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
1,8-cineol: zona de coloração marrom-avermelhada	Zona de coloração marrom-avermelhada (1,8-cineol)
α-terpineol: zona de coloração marrom-avermelhada	Zona de coloração marrom-avermelhada (α-terpineol)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,906 a 0,927.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,458 a 1,470.

Poder rotatório (5.2.29.5). 0° a +10°.

Solubilidade em etanol. Transferir 1 mL de amostra a ser analisada para uma proveta de 25 mL com rolha esmerilhada, e adicionar, com auxílio de uma bureta, frações de 0,1 mL de etanol a 80%, até completa dissolução do óleo. A seguir, continuar a adição de etanol a 80% em frações de 0,5 mL até completar 20 mL, agitando, energicamente, a cada adição de etanol. A amostra é solúvel em cinco volumes de etanol a 80%.

Aldeídos. Transferir 10 mL da amostra para um tubo de vidro com rolha esmerilhada com 25 mm de diâmetro e 150 mm de comprimento, adicionar 5 mL de tolueno e 4 mL de solução de hidroxilamina em etanol. Agitar, energicamente, e titular imediatamente com solução hidróxido de potássio 0,5 M em etanol a 60% SV até à viragem de vermelho para amarelo. Continuar a titulação, sem deixar de agitar, até o aparecimento de coloração amarela nítida do indicador. Agitar durante 2 minutos e deixar em repouso. O ponto final da titulação é obtido quando a coloração persiste na camada inferior. A titulação termina em cerca de 15 minutos. Repetir a titulação sobre uma segunda tomada de ensaio de 10 mL da amostra e utilizar como solução de referência para o ponto de viragem o líquido resultante da primeira titulação adicionado de 0,5 mL de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol a 60% SV. A quantidade de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol a 60% SV utilizada na segunda titulação não é superior a 2,0 mL.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar nitrogênio purificado como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 5	60
	5 – 33	60 → 200
	33 – 38	200
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: diluir 4 µL do óleo volátil de eucalipto em 200 µL de hexano.

Solução referência: dissolver 0,5 mg de cânfora, 0,5 mg de sabineno, 1 µL de α-pineno, 0,5 µL de β-pineno, 1 µL de limoneno, 0,5 µL de α-felandreno e 5 µL de 1,8-cineol em 1 mL de hexano. Armazenar sob refrigeração, em frasco hermeticamente fechado e ao abrigo da luz.

Procedimento: injetar volume de 1 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o

cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia agás acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: Solução referência, mínimo 1,5 entre os picos referentes ao limoneno e 1,8-cineol.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: α -pineno, 0,05 a 10,0%; β -pineno, 0,05 a 1,5%; sabineno, no máximo, 0,3%; α -felandreno, 0,05 a 1,5%; limoneno, 0,05 a 15,0%; 1,8-cineol, no mínimo, 70%; e cânfora, no máximo, 0,1%.

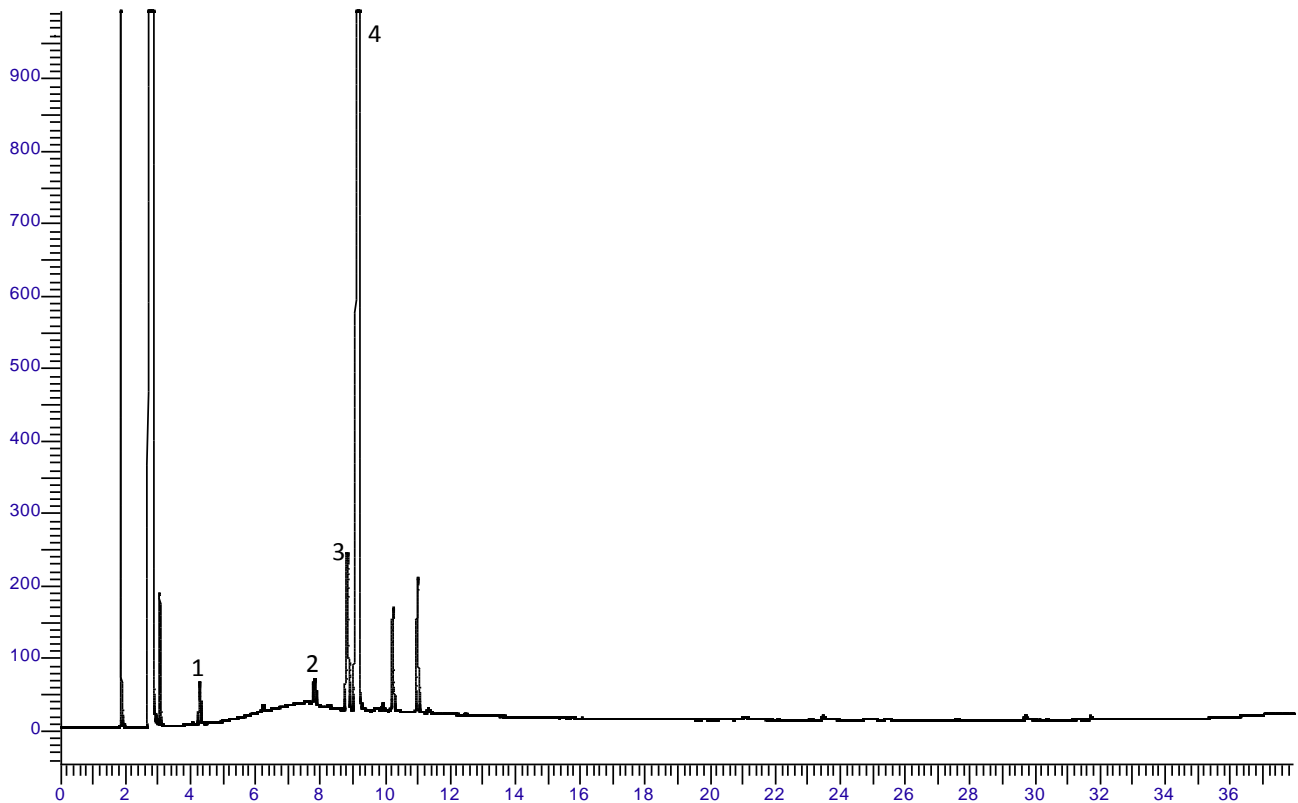


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Eucalyptus globulus* Labill., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1 - α -pineno, 2 - α -felandreno, 3 - limoneno, 4 - 1,8-cineol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

Solução de hidroxilamina em etanol: dissolver 3,5 g de cloridrato de hidroxilamina em 95 mL de etanol a 60%, adicionar 0,5 mL de uma solução de alaranjado de metila a 2 g/L em etanol a 60% e quantidade suficiente de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol a 60% para produção de coloração amarela. Diluir para 100 mL com etanol a 60%.

EUCALIPTO-LIMÃO, óleo
Eucalypti limonium aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas frescas de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson, contendo, no mínimo, 60% de citronelal (C₁₀H₁₈O, 154,25).

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Eucalyptus citriodora Hook.

CARACTERÍSTICAS

Líquido amarelo pálido, com odor aromático de citronela.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila e tolueno (1:9).

Solução amostra: diluir 0,01 g da amostra a ser examinada em 1 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 0,6 µL de citronelol e 0,6 µL de citronelal em 300 µL de tolueno.

Revelador: misturar, na ordem, 0,5 mL de anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de metanol e 5 mL de ácido sulfúrico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com o *Revelador* e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Citronelal: zona de coloração violácea	Zona de coloração violácea (citronelal)
Citronelol: zona de coloração violácea	zona de coloração violácea (citronelol)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,850 a 0,910.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,452 a 1,475.

Poder rotatório (5.2.29.5). -1° a $+2^{\circ}$.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 μm . Utilizar nitrogênio purificado como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
Coluna	0 – 2	80
	2 – 35	80 \rightarrow 185
	35 – 55	185 \rightarrow 240
Injetor		260
Detector		260

Solução amostra: diluir 5 μL do óleo volátil em 500 μL de hexano.

Solução referência: diluir 10 μL de citronelal e 2,5 μL de citronelol em 500 μL de hexano.

Procedimento: injetar volume de 1 μL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: citronelal, 60,0 a 85,0%; e citronelol, 5,0 a 7,6%.

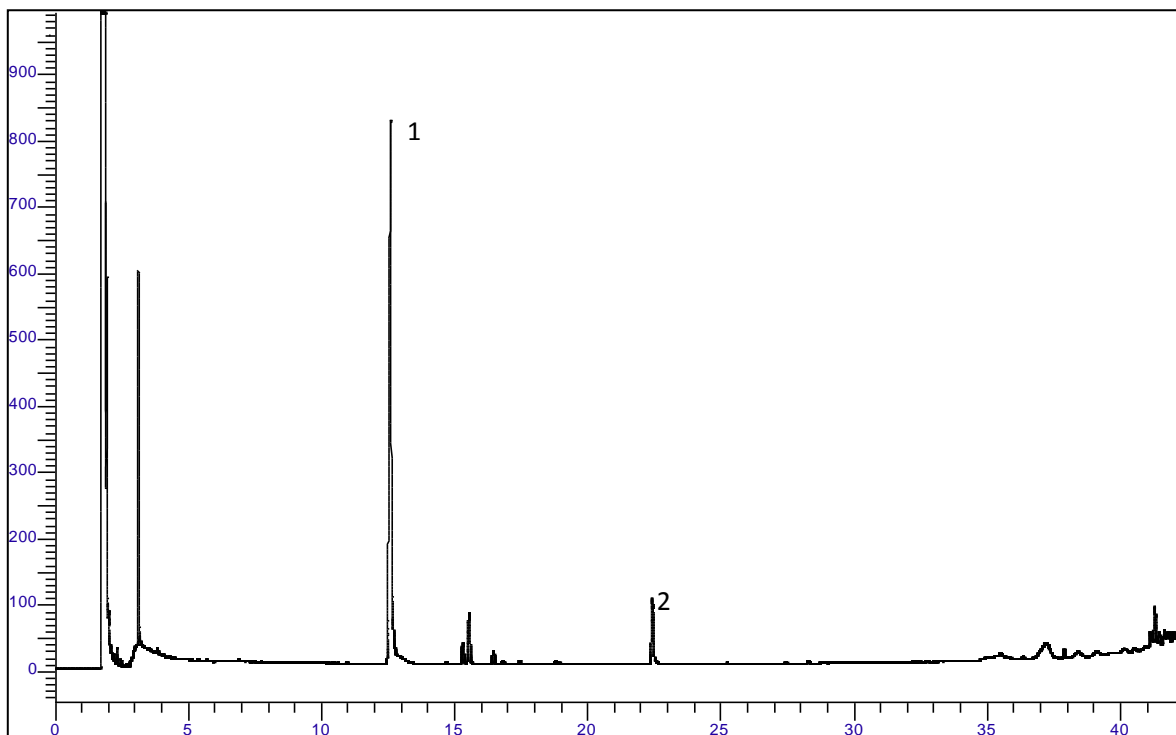


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson, por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1 - citronelal, 2 – citronelol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

FUNCHO, óleo *Foeniculi fructus aetheroleum*

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de frutos secos de *Foeniculum vulgare* Mill.

CARACTERÍSTICAS

Líquido incolor.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

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

Solução amostra: diluir 5 µL da amostra a ser examinada em 500 µL de tolueno.

Solução referência: diluir 6 µL de *trans*-anetol e 6 µL de fenchona em 500 µL de tolueno.

Revelador (1): dissolver 4 g de ácido fosfomolibdico em 40 mL de água sob aquecimento. Após resfriamento adicionar 60 mL de ácido sulfúrico.

Revelador (2): transferir 15 mL de ácido sulfúrico, com o auxílio de uma pipeta graduada, para um béquer de 50 mL. Colocar o béquer com ácido sulfúrico em um banho com gelo e adicionar, cuidadosamente, 0,5 g de permanganato de potássio. Agitar a solução com auxílio de um bastão de vidro. Utilizar para revelar a placa cromatográfica. Descartar o resíduo devidamente.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com o *Revelador (1)*, aquecer a 110 °C durante 5 minutos. Nebulizar a placa com o *Revelador (2)* e aquecer a 110 °C em estufa por 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Anetol: zona de coloração azul escura Fenchona: zona de coloração azulada	Zona de coloração azul escura (anetol) Zona de coloração azulada (fenchona)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,961 a 0,975.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,528 a 1,539.

Poder rotatório (5.2.29.5). +10° a +24°.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar nitrogênio purificado como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 8	60
	8 – 48	60 → 180
	48 – 53	180
Injetor		270
Detector		270

Solução amostra: diluir 10 µL do óleo volátil em 500 µL de hexano.

Solução referência: diluir 2 µL de α -pineno, 2 µL de limoneno, 2 µL de anisaldeído, 5 µL de fenchona, 2 µL de estragol e 10 µL de *trans*-anetol em 1 mL de hexano.

Procedimento: injetar o volume de 1 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, mínimo 5,0 entre os picos referentes ao estragol e *trans*-anetol.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: α -pineno, 1,0 a 10,0%; limoneno, 0,9 a 5,0%; fenchona, 12,0 a 25,0%; estragol, no máximo, 6,0%; *cis*-anetol, no máximo, 0,5%; *trans*-anetol, 55,0 a 75,0; e anisaldeído, no máximo, 2,0%.

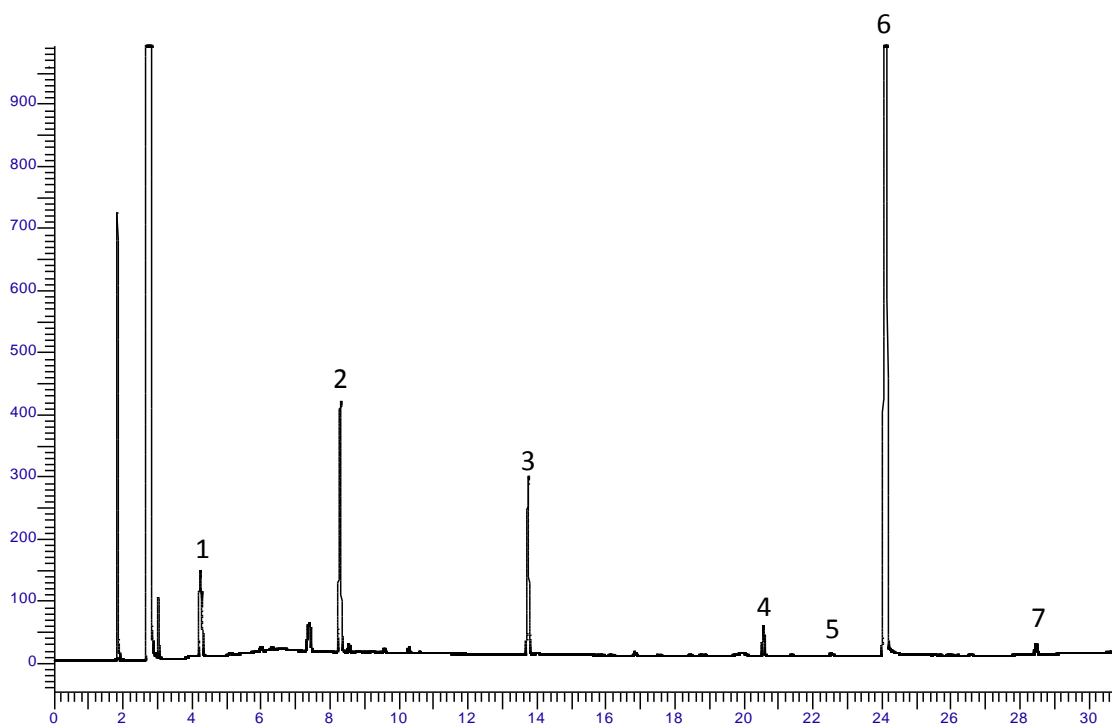


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Foeniculum vulgare* Mill., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α -pineno, 2- limoneno, 3- fenchona, 4-estragol, 5- *cis*-anetol, 6- *trans*-anetol e 7- anisaldeído.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

FUNCHO-AMARGO, fruto

Foeniculi amarus fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *vulgare*, contendo, no mínimo, 4% (v/p) de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

Os frutos possuem odor forte e agradável, semelhante ao do anetol.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O fruto inteiro é um diaquênio, seco, glabro, oblongo, de forma quase cilíndrica, mais raramente ovoide, medindo 3 a 12 mm de comprimento e 3 a 4 mm de largura, verde-pálido a castanho-acinzentado ou castanho-amarelado, com base arredondada e ápice estreitado em um curto estilopódio bifurcado. O diaquênio em regra se encontra separado em dois mericarpos; quando estes aparecem ainda justapostos são unidos fragilmente e então são visíveis as bases dos pedicelos prolongados pelos carpóforos filiformes bifendidos. Cada mericarpo apresenta cinco costelas longitudinais muito proeminentes, das quais as duas marginais são um pouco mais desenvolvidas do que as outras, alternando com quatro valéculas muito estreitas, as quais contêm canais secretores de óleo volátil, elípticos em secção transversal.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, cada mericarpo tem aspecto pentagonal, com quatro lados voltados para a região dorsal, quase iguais e pouco côncavos, e um quinto lado, ventral, correspondente à face comissural, mais comprido e levemente ondulado. As porções côncavas correspondem às valéculas e as porções mais agudas às costelas. O epicarpo é constituído de uma camada de células poligonais, com cutícula lisa e estômatos anomocíticos ocasionais. O mesocarpo é formado por um parênquima de células irregulares. Nas regiões das costelas ocorrem feixes vasculares e externamente e internamente a estas várias células de paredes espessadas, reticuladas, lignificadas, isoladas ou em grupos. Canais secretores ocorrem em cada uma das quatro valéculas, ocorrendo mais dois na face comissural; cada canal é limitado por uma camada de células secretoras poligonais de paredes castanhas. O endocarpo é constituído por uma camada de células poligonais, castanhas, alongadas transversalmente, exceto na região dos feixes, onde as células estão organizadas em grupos estendidos em diferentes direções, mostrando, em corte paradérmico, um arranjo de células perpendiculares e/ou oblíquas entre si, arranjo este denominado de aparquetado (disposição em “parquet”). Aderido ao endocarpo, encontra-se o tegumento da semente, formado por uma epiderme uniestratificada. O

endosperma, constituído de células poligonais, contém grãos de aleurona e pequenas gotas lipídicas. Cada grão de aleurona geralmente contém uma micro-roseta de oxalato de cálcio e um ou dois globoides. Os carpóforos, quando presentes, são caracterizados pela presença de fibras alongadas em vista longitudinal.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-amarelada ou castanho-acinzentada; fragmentos do epicarpo; fragmentos de mesocarpo com porções de canais secretores castanhos; fragmentos de mesocarpo acompanhados de células mais alongadas do endocarpo; fragmentos do mesocarpo com células espessadas, reticuladas e lignificadas, agrupadas ou isoladas; cordões de fibras do mesocarpo, em vista longitudinal, acompanhados de elementos de vaso com espessamento helicoidal; fibras do carpóforo; fragmentos de endosperma, contendo grãos de aleurona e pequenas gotas lipídicas; microcristais de oxalato de cálcio em roseta. O pó não deve conter tricomas tectores ou seus fragmentos, os quais caracterizam o anis-doce.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno e hexano (8:2).

Solução amostra: diluir 20 µL de óleo volátil da amostra em tolueno em balão volumétrico de 10 mL.

Solução referência: diluir 10 µL de anetol em 10 mL de tolueno.

Revelador: ácido sulfúrico concentrado.

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm (única banda referente ao anetol). Nebulizar a placa com ácido sulfúrico concentrado, aquecer entre 100 °C e 110 °C durante 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Anetol: zona de coloração violácea/parda	Zona de coloração violácea/parda
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

E. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5.)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas, hidrogênio e ar sintético (1:45) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com macrogol 20 000, com espessura de filme de 0,25 μm . Utilizar nitrogênio ultra puro como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
Coluna	0 – 4	60
	4 – 26	60 \rightarrow 170
	26 – 31	170
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: diluir 2 μL do óleo volátil da amostra em 100 μL de hexano.

Solução referência: diluir 5 μL de fenchona, 2 μL de estragol e 10 μL de *trans*-anetol em 1 mL de hexano.

Procedimento: injetar o volume de 1 μL da *Solução amostra* e 1 μL da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50.

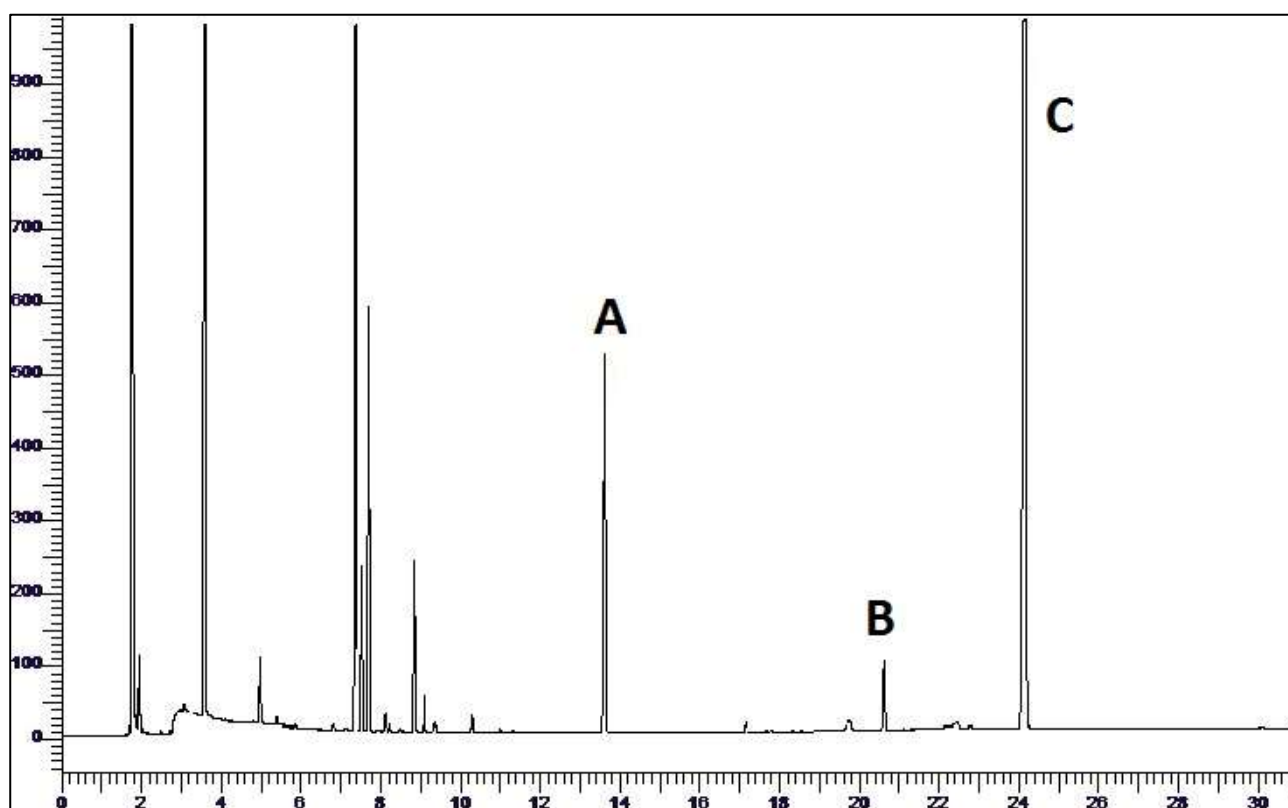


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *vulgare* por cromatografia gasosa. A- fenchona; B - estragol e C - anetol. A amostra deve conter, no mínimo, 60% de anetol, no máximo, 15% de fenchona e, no máximo, 5% de estragol.

TESTES

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 10%.

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.

Aflatoxinas (5.4.4). 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 500 mL contendo 300 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xilol no tubo graduado do aparelho de clewenger. Reduzir o fruto de funcho a pó grosseiro (≤ 1400) (5.2.11). Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 10 g da droga seca. Destilar durante 2 horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

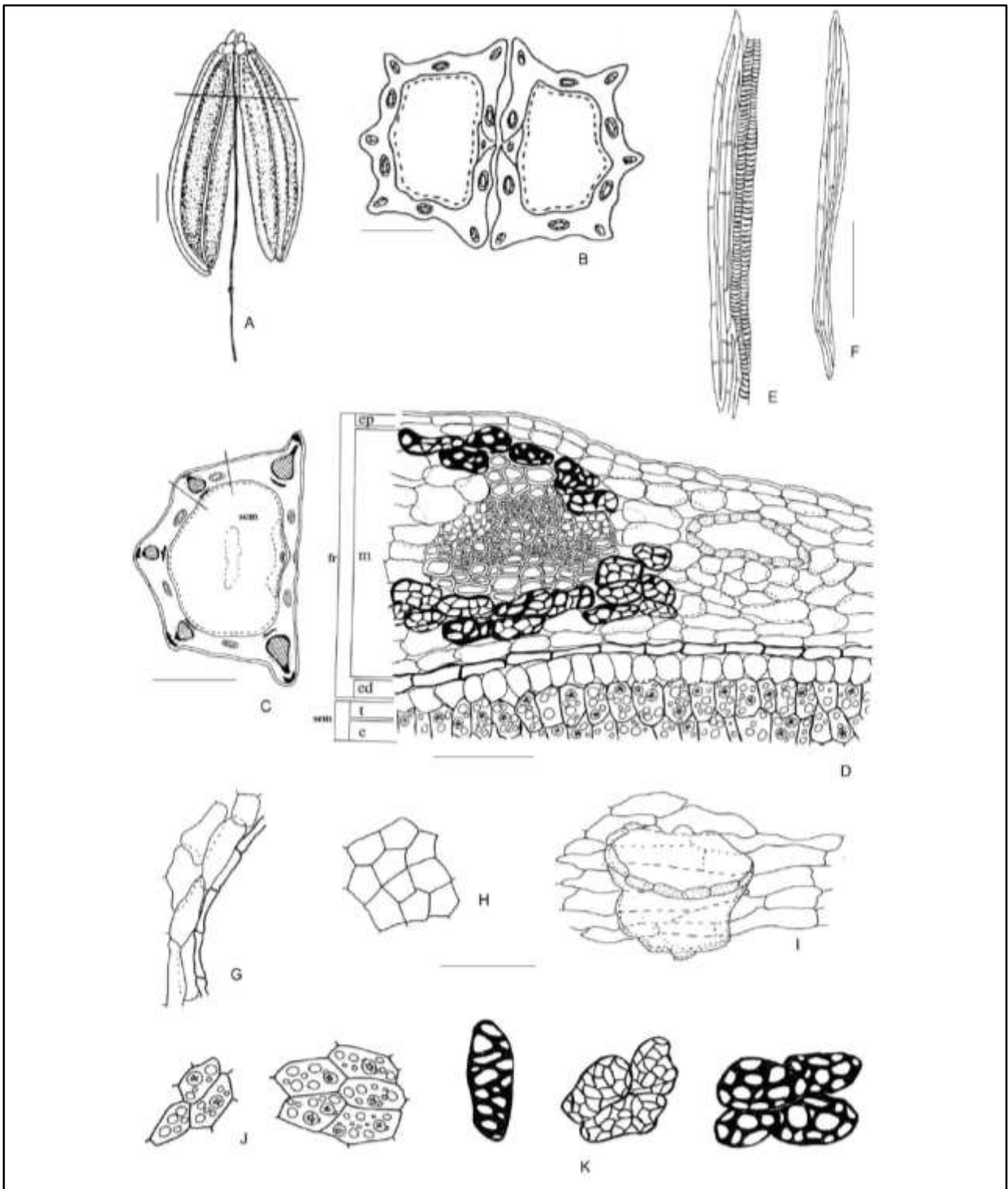


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare*

As escalas correspondem em **A** a 2 mm; em **B** e **C** a 1 mm; em **D** a 1000 μm ; em **E**, **F**, **G**, **H**, **I**, **J** e **K** a 100 μm .

A - aspecto da morfologia do fruto. **B** - esquema da secção transversal do fruto na porção indicada em **A**. **C** - esquema de secção transversal de um mericarpo; semente (sem). **D** - detalhe de secção transversal do mericarpo na porção indicada em **C**; endocarpo (ed); endosperma (e); epicarpo (ep); fruto (fr); mesocarpo (m); semente (sem); tegumento (t). **E** e **K** - detalhes observados no pó. **E** - cordão de fibras do mesocarpo, em vista longitudinal, acompanhado de elementos de vaso com espessamento helicoidal. **F** - fibras do carpóforo. **G** - fragmento de endocarpo acompanhado de células mais alongadas do mesocarpo. **H** - porção do epicarpo. **I** - fragmento de mesocarpo com porção de canal secretor castanho. **J** - fragmentos de endosperma, contendo grãos de aleurona e pequenas gotas lipídicas, além de microcristais de oxalato de cálcio em roseta. **K** - fragmentos do mesocarpo formados por células espessadas, reticuladas e lignificadas, agrupadas ou isoladas.

FUNCHO-DOCE, fruto

Foeniculi dulcis fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *dulce* (Mill.) Thelung, contendo, no mínimo, 2% (v/p) de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

Os frutos possuem odor forte e agradável, semelhante ao do anetol.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O fruto inteiro é um diaquênio, seco, glabro, oblongo, de forma quase cilíndrica, mais raramente ovoide, medindo 3 a 12 mm de comprimento e 3 a 4 mm de largura, verde-pálido a castanho-acinzentado ou castanho-amarelado, com base arredondada e ápice estreitado em um curto estilopódio bifurcado. O diaquênio em regra se encontra separado em dois mericarpos; quando estes aparecem ainda justapostos são unidos fragilmente e então são visíveis as bases dos pedicelos prolongados pelos carpóforos filiformes bifendidos. Cada mericarpo apresenta cinco costelas longitudinais muito proeminentes, das quais as duas marginais são um pouco mais desenvolvidas do que as outras, alternando com quatro valéculas muito estreitas, as quais contêm canais secretores de óleo volátil, elípticos em secção transversal.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, cada mericarpo tem aspecto pentagonal, com quatro lados voltados para a região dorsal, quase iguais e pouco côncavos, e um quinto lado, ventral, correspondente à face comissural, mais comprido e levemente ondulado. As porções côncavas correspondem às valéculas e as porções mais agudas às costelas. O epicarpo é constituído de uma camada de células poligonais, com cutícula lisa e estômatos anomocíticos ocasionais. O mesocarpo é formado por um parênquima de células irregulares. Nas regiões das costelas ocorrem feixes vasculares e externamente e internamente a estes várias células de paredes espessadas, reticuladas, lignificadas, isoladas ou em grupos. Canais secretores ocorrem em cada uma das quatro valéculas, ocorrendo mais dois na face comissural; cada canal é limitado por uma camada de células secretoras poligonais de paredes castanhas. O endocarpo é constituído por uma camada de células poligonais, castanhas, alongadas transversalmente, exceto na região dos feixes, onde as células estão organizadas em grupos estendidos em diferentes direções, mostrando, em corte paradérmico, um arranjo de células perpendiculares e/ou oblíquas entre si, arranjo este denominado de aparquetado (disposição em “parquet”). Aderido ao endocarpo, encontra-se o tegumento da semente, formado por uma epiderme uniestratificada. O endosperma, constituído de células poligonais, contém grãos de aleurona e pequenas gotas lipídicas. Cada grão de aleurona geralmente contém uma micro-roseta de oxalato de cálcio e um ou dois globoides. Os carpóforos, quando presentes, são caracterizados pela presença de fibras alongadas em vista longitudinal.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-amarelada ou castanho-acinzentada; fragmentos do epicarpo; fragmentos de mesocarpo com porções de canais secretores castanhos; fragmentos de mesocarpo acompanhados de células mais alongadas do endocarpo; fragmentos do mesocarpo com células espessadas, reticuladas e lignificadas, agrupadas ou isoladas; cordões de fibras do mesocarpo, em vista longitudinal, acompanhados de elementos de vaso com espessamento helicoidal; fibras do carpóforo; fragmentos de endosperma, contendo grãos de aleurona e pequenas gotas lipídicas; microcristais de oxalato de cálcio em roseta. O pó não deve conter tricomas tectores ou seus fragmentos, os quais caracterizam o anis-doce.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno e hexano (8:2:8).

Solução amostra: diluir 20 µL de óleo volátil da amostra em balão volumétrico de 10 mL de tolueno.

Solução referência: diluir 10 µL de anetol 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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com ácido sulfúrico concentrado e aquecer entre 100 °C e 110 °C durante 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Anetol: zona de coloração violácea/parda	Zona de coloração violácea/parda
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

E. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ionização de chamas, hidrogênio e ar sintético (1:45) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com macrogol 20 000, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar nitrogênio ultra puro como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 4	60
	4 – 26	60 → 170
	26 – 31	170
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: diluir 2 µL do óleo volátil da amostra em 100 µL de hexano.

Solução referência: diluir 5 µL de fenchona, 2 µL de estragol e 10 µL de *trans*-anetol em 1 mL de hexano.

Procedimento: injetar o volume de 1 µL da *Solução amostra* e 1 µL da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50.

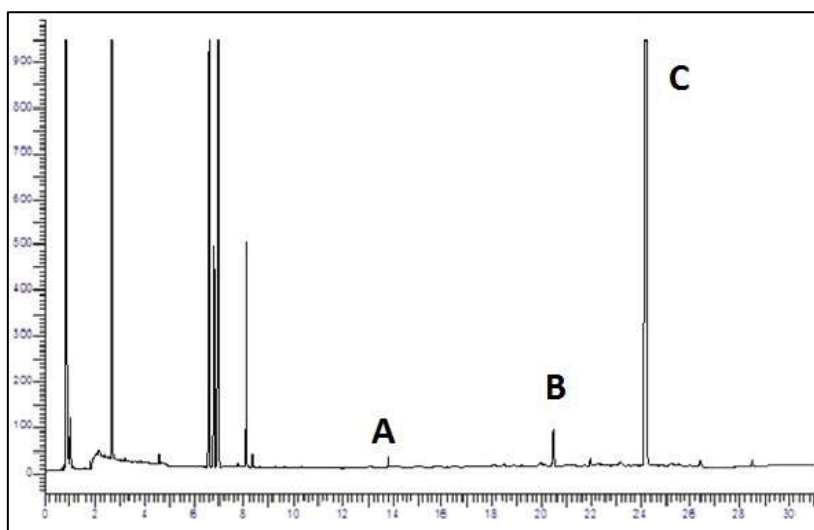


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *dulce* (Mill.) Thellung por cromatografia a gás. A - fenchona, B - estragol e C - anetol. A amostra deve conter, no mínimo, 80% de anetol, no máximo, 10% de estragol, e, no máximo, 7,5% de fenchona.

TESTES

Água (5.2.20.2). Método azeotrópico. No máximo 10%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 10%.

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.

Aflatoxinas (5.4.4). 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 500 mL contendo 300 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xilol no tubo graduado do aparelho de clevenger. Reduzir o fruto de funcho a pó grosseiro (≤ 1400) (5.2.11). Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 10 g da droga seca. Destilar durante 2 horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

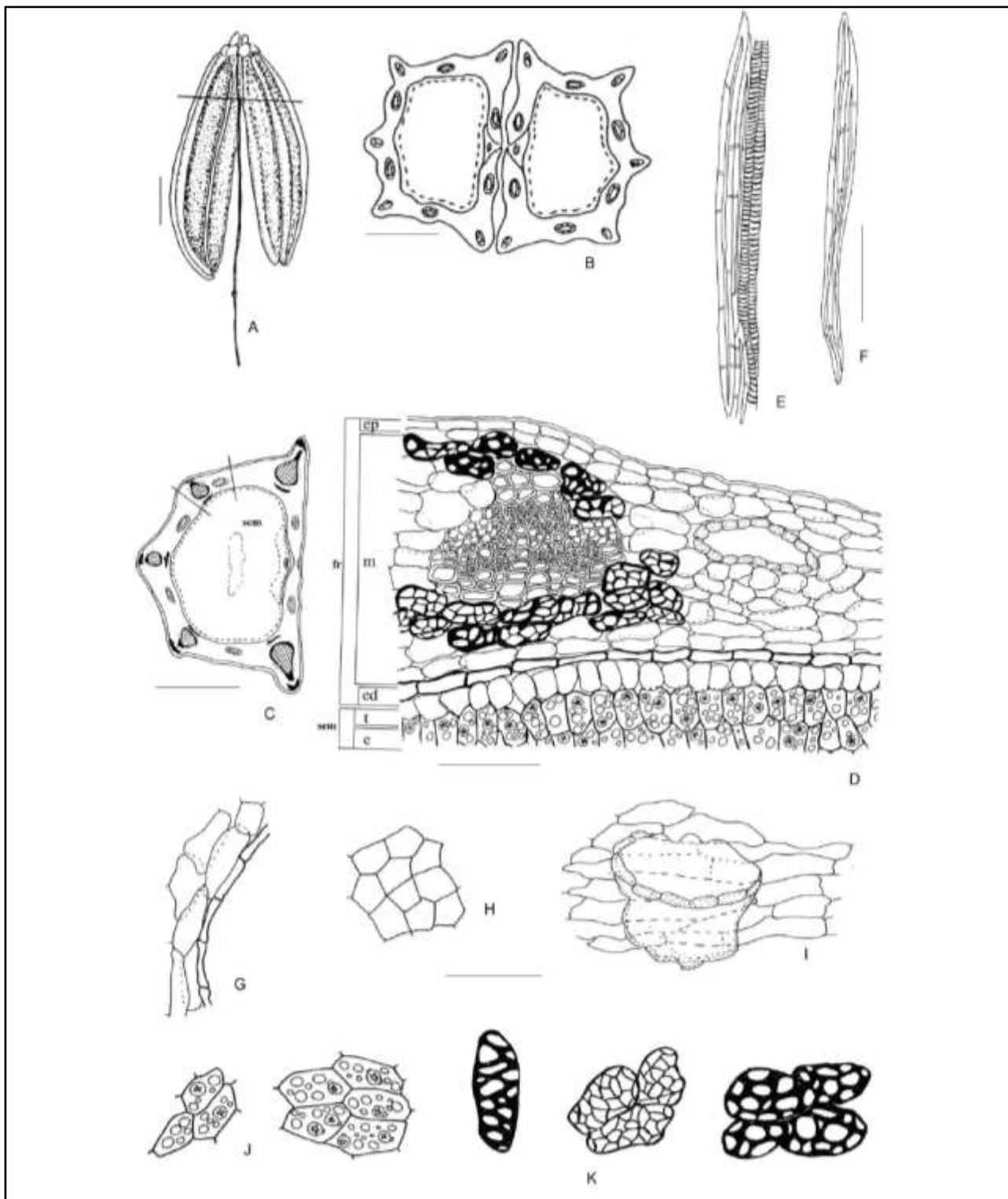


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare*

As escalas correspondem em A a 2 mm; em B e C a 1 mm; em D a 1000 μm ; em E, F, G, H, I, J e K a 100 μm .

A - aspecto da morfologia do fruto. B - esquema da secção transversal do fruto na porção indicada em A. C - esquema de secção transversal de um mericarpo; semente (sem). D - detalhe de secção transversal do mericarpo na porção indicada em C; endocarpo (ed); endosperma (e); epicarpo (ep); fruto (fr); mesocarpo (m); semente (sem); tegumento (t). E a K - detalhes observados no pó. E - cordão de fibras do mesocarpo, em vista longitudinal, acompanhado de elementos de vaso com espessamento helicoidal. F - fibras do carpóforo. G - fragmento de endocarpo acompanhado de células mais alongadas do mesocarpo. H - porção do epicarpo. I - fragmento de mesocarpo com porção de canal secretor castanho. J - fragmentos de endosperma, contendo grãos de aleurona e pequenas gotas lipídicas, além de microcristais de oxalato de cálcio em roseta. K - fragmentos do mesocarpo formados por células espessadas, reticuladas e lignificadas, agrupadas ou isoladas.

GARRA-DO-DIABO, raiz *Harpagophyti radix*

A droga vegetal consiste de raízes secundárias tuberosas dessecadas e fragmentadas ou pulverizadas de *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn., contendo, no mínimo, 1,2% de harpagosídeo (C₂₄H₃₀O₁₁, 494,49).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

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

B. Descrição microscópica

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

C. Descrição microscópica do pó

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

D. Falsificações ou adulterantes

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

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄, com espessura de 0,25 mm.

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (77:15:8).

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

Solução referência: dissolver 1 mg de harpagosídeo em 1 mL de metanol.

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

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após o exame sob a luz ultravioleta e a nebulização com a solução de anisaldeído, respectivamente. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

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

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

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 12,0%. Utilizar 2 g da droga pulverizada (355) (5.2.11) a 105 °C durante 2 horas.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

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

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

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

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

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

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Harpagósídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de arranjo de diodos na faixa ultravioleta de 200 a 400 nm com leitura a 281 nm, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 40 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: água e metanol (50:50)

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,50 g da droga pulverizada (355) (5.2.11), adicionar 50 mL de metanol e extrair sob agitação magnética durante 1 hora em erlenmeyer de 125 mL. Filtrar em papel de filtro, transferir para balão volumétrico de 100 mL e reservar. Transferir o resíduo e o papel de filtro para balão de fundo redondo de 125 mL, adicionar 50 mL de metanol e aquecer, sob refluxo, durante 1 hora. Após o resfriamento, filtrar. Lavar o condensador duas vezes com 5 mL metanol cada e filtrar. Reunir o filtrado e as soluções de lavagem. Evaporar até secura, a vácuo, em banho-maria com temperatura não superior a 40 °C. Suspender o resíduo em metanol e transferir para o balão volumétrico de 100 mL reservado. Completar o volume com metanol. Diluir uma alíquota de 3,0 mL para 10 mL com metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Curva analítica: construir uma curva analítica com a substância de referência harpagosídeo em metanol, com, no mínimo, cinco concentrações, na faixa entre 3 e 40 µg/mL.

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

$$TH = \frac{C_a \times 100 \times P}{FD \times m}$$

em que,

TH = teor de harpagosídeo % (p/p);

C_a = concentração de harpagosídeo encontrada na *Solução amostra* em µg/mL por meio da curva de calibração analítica;

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

P = pureza percentual declarada da substância de referência; e

FD = fator de diluição (3).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

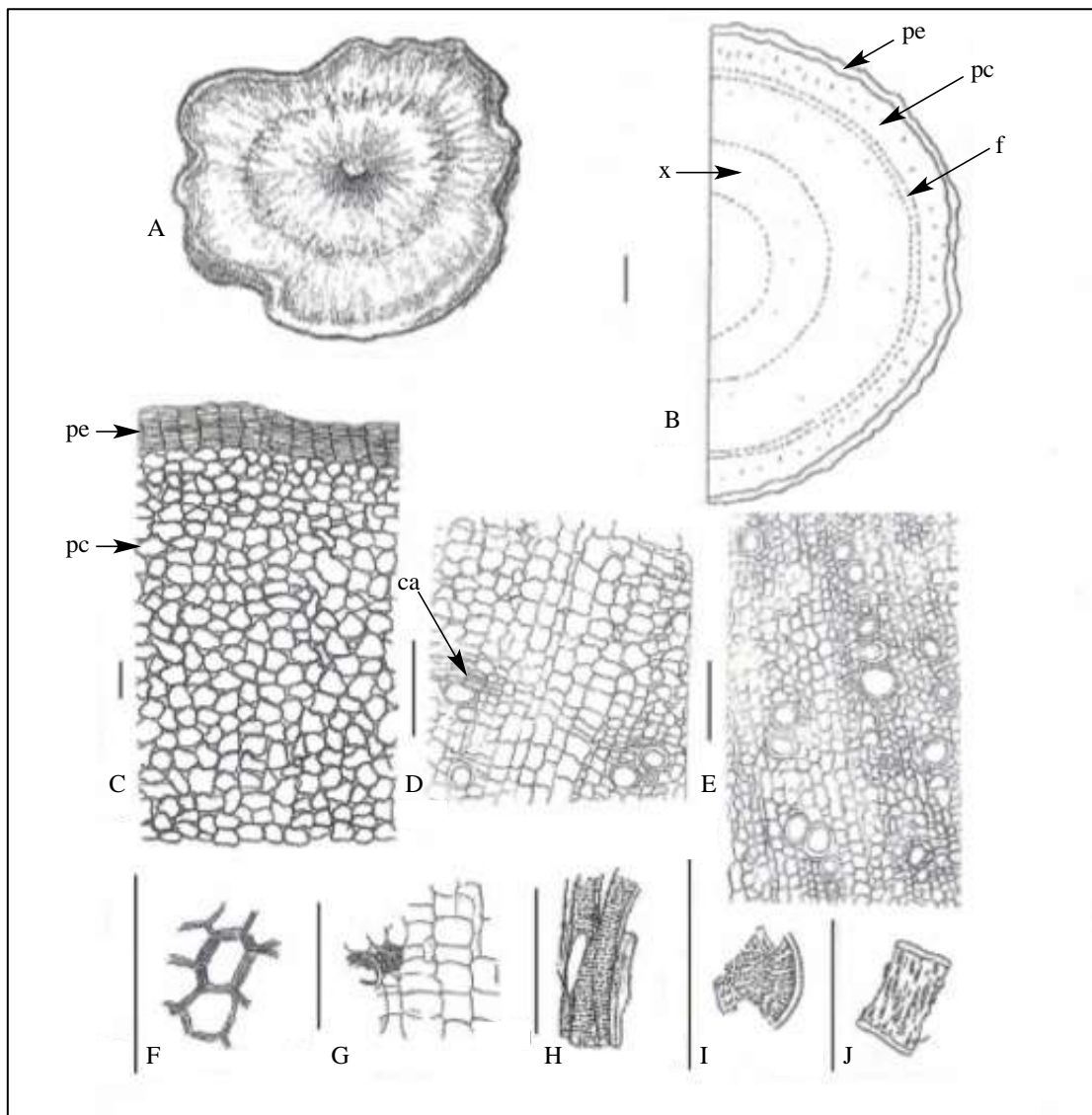


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn.

As escalas correspondem: em B a 500 μm , de C a I em 200 μm , e em J a 100 μm .

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

GENCIANA, extrato fluido *Gentianae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de rizomas e raízes secas de *Gentiana lutea* L., contendo, no mínimo, 1,5% de gentiopicrossídeo ($\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_9$, 356,33).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de cor castanho-amarelada escura ou castanho-avermelhada escura.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (77:15:8).

Solução amostra: diluir 0,1 mL de extrato fluido em 1 mL de metanol.

Solução referência (1): preparar uma solução a 280 µg/mL de gentiopicrosídeo em metanol.

Solução referência (2): preparar uma solução a 1200 µg/mL de amarogentina em metanol.

Revelador: misturar, na ordem, 0,5 mL de anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de metanol e 5 mL de ácido sulfúrico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a cromatoplaça com o *Revelador*, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 1 minuto e examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Amarogentina: zona de coloração castanho-enegrecida	Zona de coloração castanho-enegrecida
Gentiopicrosídeo: zona de coloração castanha-enegrecida	Zona de coloração castanha-enegrecida
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,049 a 1,080.

Etanol (5.3.3.8.1). 24% a 28% (v/v).

Índice de amargor (5.4.1.10). No mínimo 10 000.

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 30,0% (p/p). Determinado em 3,00 g da amostra.

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

Gentiopicrosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 272 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada ao grupo octadecilsilano (5 µm), mantida a temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/min.

Fase móvel (1): água e ácido trifluoracético (100:0,006).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 10	95 → 72	5 → 28	gradiente linear
10 - 14	72 → 80	28 → 20	gradiente linear
14 - 16	80 → 95	20 → 5	gradiente linear
16 - 20	95	5	isocrático

Solução amostra: diluir 150 µL de extrato fluido em 10 mL da mistura de metanol e água (1:1).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de gentiopicrosídeo em metanol de modo a obter solução na concentração de 0,32 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente 5 µL da *Solução referência* e 5 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir a área sob o pico referente ao gentiopicrosídeo. O tempo de retenção médio é de aproximadamente 9 minutos. Calcular o teor de gentiopicrosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TG = \frac{C_r \times A_a \times 10 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TG = teor de gentiopicrosído % (p/p);

Cr = concentração da *Solução referência* em g/mL;

Ar = área sob o pico correspondente ao gentiopicrosído na *Solução referência*;

Aa= área sob o pico correspondente ao gentiopicrosído na *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da amostra, determinado a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

GENCIANA, tintura *Gentianae tinctura*

A tintura é obtida a partir de rizomas e raízes secas de *Gentiana lutea* L., contendo, no mínimo, 0,3% de gentiopicrosído (C₁₆H₂₀O₉, 356,33).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de cor castanho-amarelada ou castanho-avermelhada.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (77:15:8).

Solução amostra: diluir 1 mL da tintura em 1 mL de metanol.

Solução referência (1): preparar uma solução a 280 µg/mL de gentiopicrosído em metanol.

Solução referência (2): preparar uma solução a 1200 µg/mL de amarogentina em metanol.

Revelador: misturar, na ordem, 0,5 mL de anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de metanol e 5 mL de ácido sulfúrico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a cromatoplaça com o *Revelador* e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 1 minuto e examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Amarogentina: zona de coloração castanho-enechada	Zona de coloração castanho-enechada
Gentiopicrosído: zona de coloração castanha-enechada	Zona de coloração castanha-enechada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,910 a 0,9200.

Etanol (5.3.3.8.1). 95 (v/v) a 105% (v/v).

Índice de Amargor (5.4.1.10). No mínimo 1000.

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo, 5,0% (p/p). Determinar em 2,00 g da amostra.

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

Gentiopicrosído

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 272 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (4 µm), mantida a temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido trifluoracético (100:0,006).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 10	95 → 72	5 → 28	gradiente linear
10 - 14	72 → 80	28 → 20	gradiente linear
14 - 16	80 → 95	20 → 5	gradiente linear
16 - 20	95	5	isocrático

Solução amostra: diluir 1,25 mL da tintura de genciana para 10 mL com uma mistura de metanol e água (1:1).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de gentiopicrosídeo em metanol de modo a obter solução a 32 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente 5 µL da *Solução referência* e 5 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir a área sob o pico correspondente ao gentiopicrosídeo. O tempo de retenção médio é de aproximadamente 9 minutos. Calcular o teor de gentiopicrosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TG = \frac{C_r \times A_a \times 10 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TG = teor de gentiopicrosídeo % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em gramas/mL;

A_r = área sob o pico correspondente ao gentiopicrosídeo na *Solução referência*;

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

m = peso em gramas da tintura, determinado a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

GIRASSOL, óleo refinado *Helianthi annui oleum raffinatum*

Óleo obtido, por expressão ou extração, a partir de sementes de *Helianthus annuus* L., submetido a processo de refino.

CARACTERÍSTICAS

Óleo amarelo pálido de aspecto límpido.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel octadecilsilanizada (RP-18).

Fase móvel (1): éter etílico (100%).

Fase móvel (2): diclorometano, ácido acético e acetona (2:4:5).

Solução amostra: diluir 20 µL de óleo de girassol em 3 mL de diclorometano. Diluir 1 µL desta solução em 20 µL de diclorometano.

Solução referência: diluir 20 µL de óleo de milho em 3 mL de diclorometano. Diluir 1 µL dessa solução em 20 µL de diclorometano.

Revelador: dissolver 10 g de ácido fosfomolibdico em 100 mL de etanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma utilizando a *Fase móvel (1)* por 0,5 cm. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Desenvolver novamente o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Desenvolver o cromatograma utilizando a *Fase móvel (2)* por 8 cm. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Desenvolver novamente o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com o *Revelador* e aquecer em estufa a 105 °C durante aproximadamente 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Óleo de milho: zona de coloração azulada Óleo de milho: zona azulada Óleo de milho: zona de coloração azulada	Zona de coloração azulada (óleo de milho) Zona de coloração azulada (óleo de milho) Zona de coloração azulada (óleo de milho)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Solubilidade. Muito pouco solúvel em etanol a 95%. Muito solúvel em éter de petróleo em temperatura entre 40 °C e 60 °C. Praticamente insolúvel em água.

Densidade relativa (5.2.5). 0,900 a 0,921.

Água (5.2.20.1). *Método coulombimétrico.* No máximo 0,1%. Determinar em 1 g.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,470 a 1,48.

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo 0,5.

Índice de peróxidos (5.2.29.11). No máximo 10.

Substâncias insaponificáveis (5.2.29.14.). *Método II.* No máximo 1,5%. Determinar em 5 g.

Impurezas alcalinas (5.2.29.15.2). Volume inferior a 0,1 mL de ácido clorídrico 0,01 M.

Óleos estranhos em óleos fixos por cromatografia a gás (5.2.29.15.4). Utilizar a mistura de substâncias para calibração da **Tabela 3**. Misturas comerciais de ésteres metílicos também podem ser utilizadas. A fração do óleo composta por ácidos graxos apresenta a seguinte composição:

Ácido palmítico: 4,0% a 9,0%;

Ácido esteárico: 1,0% a 7,0%;

Ácido oleico: 14% a 40%;

Ácido linoleico: 48% a 74%.

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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CATEGORIA

Excipiente farmacotécnico.

GOIABEIRA, folha *Guajavae folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Psidium guajava* L., contendo, no mínimo 10% de taninos totais e, no mínimo, 0,3% de derivados glicosilados de quercetina calculados como quercetina (C₁₅H₁₀O₇, 302,24).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas papiráceo-coriáceas, inteiras, oblongo-elípticas a ovaladas, de 7,0 a 15,0 cm de comprimento e 3,0 a 6,0 cm de largura; ápice obtuso ou acuminado, base obtusa e margem inteira; áreas translúcidas pouco aparentes; lâminas discoloradas, face adaxial verde-brilhante e glabrescente e abaxial verde-pálido, com tricomas simples, unicelulares ou bicelulares, mais frequentes na nervura principal, com até 0,5 mm de comprimento, raramente distribuídos em toda lâmina. Venação do tipo camptódroma-broquidódroma; nervuras principal e secundárias evidentes na face abaxial, impressas na face adaxial, as secundárias em número de 11 a 20 pares, mais ou menos paralelas entre si, formando um ângulo de 45° a 60° com a principal, terminando em uma nervura paralela ao bordo da lâmina, mais evidente na face abaxial. Pecíolo de 0,5 a 0,7 cm de comprimento.

B. Descrição microscópica

Lâmina com simetria dorsiventral, hipoestomática; estômatos anomocíticos. A epiderme, em vista frontal, apresenta células de paredes periclinais retilíneo-poligonais. Em secção transversal, a cutícula é espessa e a epiderme voltada para a face adaxial é pluriestratificada, com três a cinco camadas, sendo a mais externa formada por células muito menores do que as demais; a epiderme voltada para a face abaxial é uniestratificada, com um grande número de estômatos, geralmente projetados em relação às demais células e tricomas tectores simples, unicelulares ou bicelulares; as células epidérmicas podem conter cristais. Cavidades secretoras são encontradas na epiderme pluriestratificada, chegando até as primeiras camadas do parênquima paliçádico. O mesofilo é compacto, formado por um parênquima paliçádico de duas a quatro camadas de células alongadas e três a seis camadas de células menores; suas células contêm gotas lipídicas e grãos de amido; cavidades secretoras e idioblastos com cristais de oxalato de cálcio também ocorrem neste parênquima. A nervura principal é do tipo bicolateral, em arco aberto; o xilema organiza-se em raios com até 10 elementos; o floema externo é mais desenvolvido e possui maior quantidade de cristais do que o floema interno; pequenas cavidades secretoras são encontradas no floema; células contendo discretos grãos de amido envolvem o floema externo; compostos fenólicos ocorrem no parênquima do feixe vascular. O parênquima caracteriza-se por conter consideráveis espaços intercelulares, cavidades secretoras, idioblastos cristalíferos (drusas, prismas, monocristais, cristais romboédricos, pequenos cristais agrupados, etc.), células com gotas lipídicas e/ou cloroplastídios, assim como grande quantidade de células contendo compostos fenólicos. O colênquima é do tipo angular e é restrito à face abaxial, sendo formado por três ou geralmente quatro (raramente cinco) camadas de células, podendo apresentar cloroplastídios, cristais, compostos fenólicos e gotas lipídicas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: fragmentos de lâminas foliares com pontos translúcidos dispersos; fragmentos de lâminas foliares com restos de epiderme uniestratificada e de parênquima paliçádico; fragmentos de

epiderme pluriestratificada, com ou sem cristais, acompanhada ou não por parênquima paliçádico; fragmentos de lâmina com cavidades secretoras esparsas; restos de cavidades secretoras; porções de lâmina com células epidérmicas de contorno retilíneo, com ou sem gotas lipídicas; fragmentos de epiderme acompanhada de colênquima; tricomas unicelulares e a inserção deles; raros tricomas bicelulares; epiderme com numerosos estômatos anomocíticos, com projeção evidente ou não; células do parênquima paliçádico compactas, com ou sem cloroplastídios, geralmente agrupadas; porções de nervuras com células epidérmicas retangulares e alongadas; elementos traqueais com espessamento helicoidal; cristais de diferentes formas, conforme descrição microscópica, isolados ou inseridos em distintos tecidos.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol, água e ácido fórmico (20:2,7:2:0,2).

Solução amostra: transferir 0,2 g da droga pulverizada (355) (5.2.11) com 10 mL de metanol para balão de fundo redondo de 50 mL. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 15 minutos. Resfriar e filtrar. Evaporar o solvente em banho-maria. Suspender o resíduo em 2 mL de metanol.

Solução referência (1): preparar solução contendo 500 µg/mL de rutina.

Solução referência (2): preparar solução contendo 100 µg/mL de quercetina.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 µL da *Solução amostra*, 5 µL da *Solução referência (1)* e 5 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Quercetina: zona de coloração amarela	Zona de coloração verde-azulada
	Zonas de coloração alaranjadas
Rutina: zona de coloração alaranjada	
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

E. Proceder conforme descrito em *Doseamento de flavonoides totais expressos em quercetina*, alterando, o fluxo da *Fase móvel* para 0,5 mL/minuto, e, os seguintes parâmetros:

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 3	85 → 55	15 → 45	gradiente linear
3 - 8	55	45	isocrático
8 - 15	55 → 45	45 → 55	gradiente linear
15 - 25	45 → 35	55 → 65	gradiente linear
25 - 27	35 → 0	65 → 100	gradiente linear

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,200 g da droga vegetal seca e moída (355) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 50 mL. Adicionar 10 mL de metanol e levar ao aquecimento em banho-maria, sob refluxo, em temperatura entre 80 °C e 90 °C, durante 15 minutos. Filtrar o conteúdo, utilizando algodão. Diluir 1 mL do filtrado em 1 mL da *Fase móvel* inicial.

Procedimento: injetar 10 µL da *Solução amostra*.

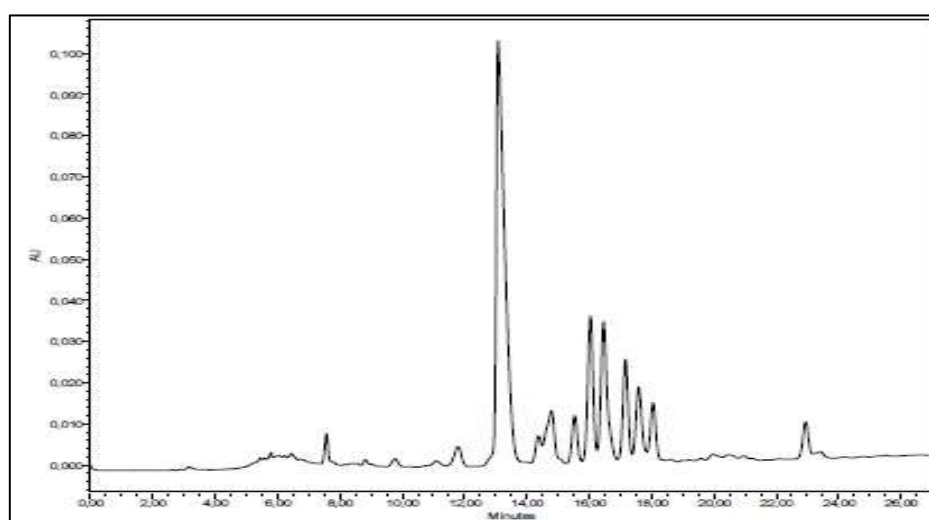


Figura 1– Perfil ilustrativo do extrato metanólico das folhas de *Psidium guajava* L.

TESTES

Água (5.2.20.2). *Método azeotrópico.* No máximo 12%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 9%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga moída (355) (5.2.11), transferir, quantitativamente, para balão de fundo redondo de 250 mL e adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, à temperatura entre 80 °C e 90 °C durante 30 minutos. Resfriar em água corrente, transferir a mistura para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Deixar sedimentar. Filtrar em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado. O restante do filtrado constituirá a *Solução estoque*.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 715 nm (A_1), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó-de-pele: adicionar 0,2 g de pó-de-pele a 20 mL da *Solução estoque* e agitar mecanicamente durante 60 minutos. Filtrar. Diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 715 nm (A_2), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver 50 mg de pirogalol em água, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Diluir 5 mL desta solução em balão volumétrico de 100 mL com água. Misturar 5 mL desta solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 715 nm (A_3), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente e dentro de 15 minutos contados da dissolução do pirogalol, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{13,12 \times (A_1 - A_2)}{A_3 \times m}$$

em que,

TT = Teor de taninos totais expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó-de-pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água.

Flavonoides totais expressos em quercetina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 371 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6

mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida a temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fórmico (100:0,1).

Fase móvel (2): metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 – 3	60	40	isocrático
3 – 15	60 → 0	40 → 100	gradiente linear
15 – 16	0 → 60	100 → 40	gradiente linear
16 – 21	60	40	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga vegetal seca e moída (355) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 20 mL de metanol a 70% (v/v), 1 mL de ácido clorídrico e levar ao aquecimento em banho-maria, sob refluxo, em temperatura entre 80 °C e 90 °C, durante 30 minutos. Filtrar utilizando algodão para outro balão de fundo redondo de 100 mL. Retornar para o primeiro balão o resíduo insolúvel, junto com o algodão, e adicionar 20 mL de metanol a 70%. Proceder ao aquecimento nas mesmas condições já realizadas, durante 10 minutos. Filtrar novamente para o balão de fundo redondo que contém o primeiro filtrado. Repetir mais uma vez este processo. Após, reduzir o volume, a vácuo, até 10 mL. Transferir o volume para funil de separação. Realizar a extração da amostra com 10 mL de acetato de etila. Filtrar a fase orgânica em papel filtro contendo sulfato de sódio anidro, para um novo balão de fundo redondo de 100 mL. Realizar este processo de extração mais 4 vezes, totalizando 50 mL. Evaporar a fase orgânica obtida até obter resíduo totalmente seco. Suspender o resíduo com metanol e diluir em balão volumétrico de 5 mL. Transferir, quantitativamente, 2,5 mL dessa solução para balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com metanol a 50% (v/v).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de quercetina em metanol para obter solução a 1 mg/mL. Diluir a solução com metanol a 50% (v/v) para obter solução com concentração de 0,038 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir a área sob o pico referente à quercetina. O tempo de retenção médio é de aproximadamente 9 minutos. Calcular o teor de quercetina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TQ = \frac{C_r \times A_a \times 10 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TQ = teor de quercetina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

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

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

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

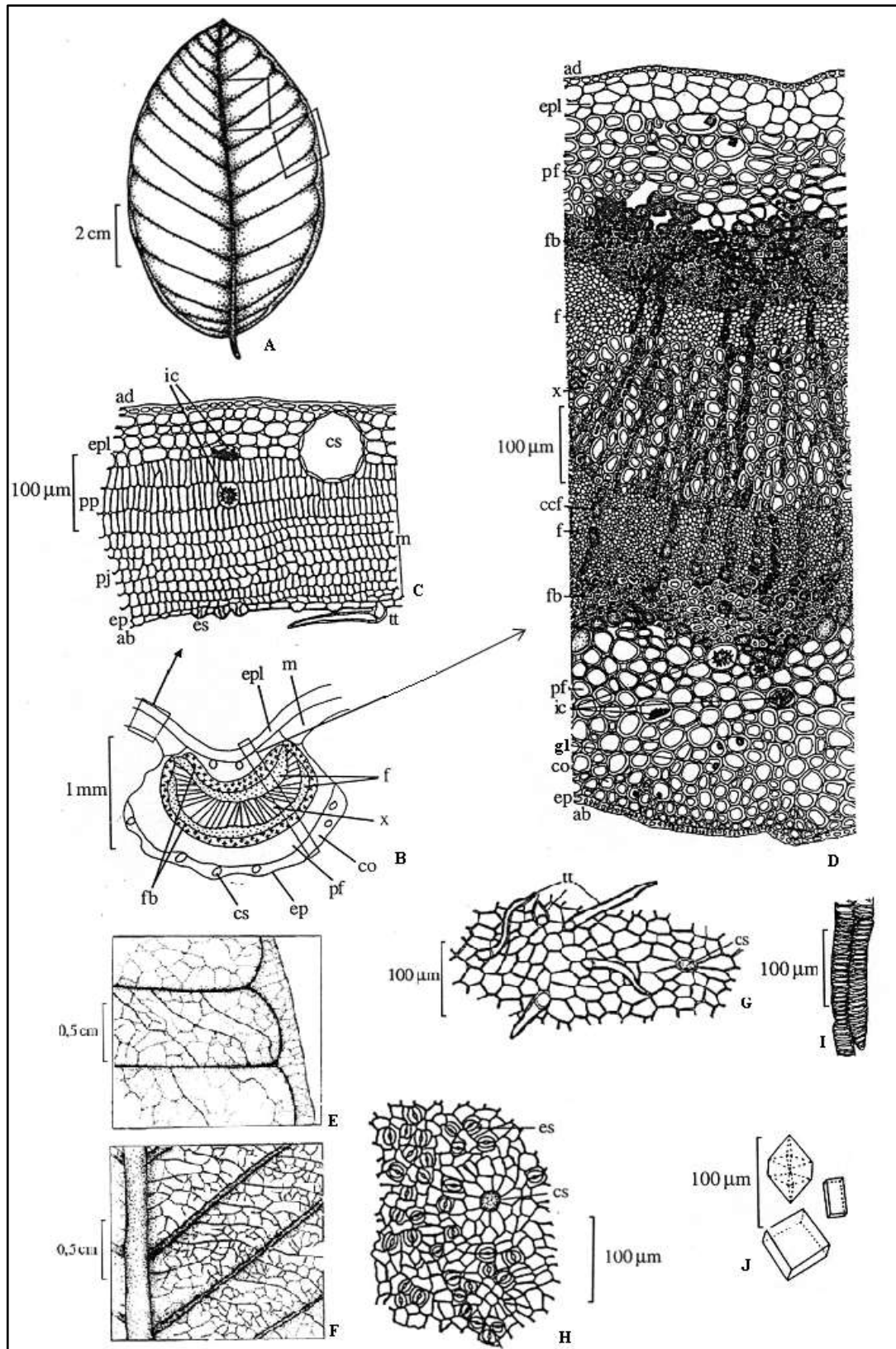


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Psidium guajava* L.

As escalas correspondem: em A a 2 cm, B a 1 mm, E e F a 0,5 cm, C, D, G até J a 100 μm.

A - aspecto geral da face adaxial da folha. **B** - esquema do aspecto geral da nervura principal, em secção transversal; cavidade secretora (cs); colênquima angular (co); epiderme (ep); epiderme pluriestratificada (epl); floema (f); fibras (fb); mesofilo (m); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **C** - detalhe de uma porção do mesofilo foliar em secção transversal conforme assinalado em B; face abaxial (ab); face adaxial (ad); cavidade secretora (cs); epiderme (ep); epiderme pluriestratificada (epl); estômato (es); idioblasto cristalífero (ic); mesofilo (m); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); tricoma tector (tt). **D** - detalhe de uma porção da nervura principal, em secção transversal, conforme assinalado em B; face abaxial (ab); face adaxial (ad); células contendo compostos fenólicos (ccf); colênquima (co); epiderme pluriestratificada (epl); floema (f); fibras (fb); idioblasto cristalífero (ic); gotas lipídicas (gl); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **E** - detalhe da nervação da face adaxial de um segmento foliar, na região mediana, em vista frontal (indicado em A); **F** - detalhe da nervação da face abaxial de um segmento foliar, na região do bordo, em vista frontal (indicado em A). **G-J**. Detalhes observados no pó. **G** - vista frontal da face adaxial da epiderme da lâmina foliar; cavidade secretora (cs); tricoma tector (tt). **H** - vista frontal da face abaxial da epiderme da lâmina foliar; cavidade secretora (cs); estômato (es). **I** - detalhe de elementos traqueais com espessamento do tipo helicoidal. **J** - detalhe de alguns tipos de cristais de oxalato de cálcio.

GUACO-CHEIROSO, folha *Mikania laevigatae folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Mikania laevigata* Sch.Bip. ex Baker, contendo, no mínimo, 0,15% de cumarina (C₉H₆O₂, 146,15).

CARACTERÍSTICAS

As folhas possuem forte odor de cumarina.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas glabras a olho nu, coriáceas, escuras quando secas. Lâmina foliar com 6,0 a 15,0 cm de comprimento e 4,0 a 6,5 cm de largura, ovalada a ovalado-lanceolada, levemente assimétrica; base atenuada, ápice acuminado e margem inteira a sinuosa, com um ou poucos dentes laterais ou sem dentes; bordo revoluto. Venação actinódroma, com três nervuras evidentes ao longo da lâmina, as laterais formando um arco e unindo-se à principal na porção apical; podem ocorrer mais duas nervuras próximas à porção basal, acompanhando o bordo da lâmina. Pecíolo de 1,4 a 4,5 cm de comprimento, quase cilíndrico, sulcado na face adaxial. Difere de *Mikania glomerata* Spreng. pelo forte odor de cumarina e pela forma das folhas. A lâmina foliar de *Mikania laevigata* possui maior comprimento do que largura, a base não é hastada e os dentes laterais, quando presentes, são pouco evidentes, enquanto que em *Mikania glomerata* as medidas de comprimento e largura são muito próximas, a base da lâmina é hastada e os dentes laterais são muito evidentes.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar é hipoestomática e de simetria dorsiventral. Em vista frontal, as paredes anticlinais das células epidérmicas são sinuosas e espessas; os estômatos são anisocíticos e anomocíticos; corpos silicosos e tricomas glandulares unisseriados, curvos, formados por cerca de seis células, além de tricomas glandulares capitados, pluricelulares e bisseriados, ocorrem em maior densidade na face abaxial. Em secção transversal, a cutícula é fina e lisa e a epiderme apresenta uma ou duas camadas

de células; os estômatos localizam-se no mesmo nível das células epidérmicas; os tricomas ocorrem em depressões epidérmicas. O parênquima paliçádico possui uma a quatro camadas de células com grande quantidade de gotas lipídicas; o parênquima esponjoso é constituído por seis a doze camadas. Canais secretores, de tamanhos variados e delimitados por células achatadas, dispõem-se junto aos feixes vasculares. Na região do bordo foliar, onde ocorre colênquima angular formado por três ou quatro camadas, o mesofilo é homogêneo e ocorrem corpos silicosos. A nervura principal, em secção transversal é biconvexa, com proeminência cuneada na face adaxial e arredondada na face abaxial, com cutícula mais espessa e células epidérmicas de menores dimensões. O colênquima angular ocorre em ambas as faces, sendo que algumas de suas células apresentam conteúdo pardo. O sistema vascular é constituído por três a oito feixes do tipo colateral, livres, em arco aberto; são visíveis canais secretores; o floema possui uma calota de fibras bem desenvolvida e o xilema é formado por duas a oito fileiras de elementos traqueais. O parênquima voltado para a face abaxial apresenta esclereídes isolados. Gotas lipídicas e grãos de amido ocorrem em todos os parênquimas. O pecíolo, em secção transversal, apresenta cutícula com as mesmas características da região da nervura principal e epiderme uniestratificada, seguida de colênquima angular, formado por até dez camadas e parênquima com grande quantidade de esclereídes; canais secretores ocorrem próximos aos feixes vasculares; grãos de amido e gotas lipídicas ocorrem no parênquima. O sistema vascular tem organização semelhante ao da nervura principal, com maior número de feixes, em U.

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄.

Fase móvel: tolueno e éter etílico (1:1).

Solução amostra: agitar 0,1 g da droga em 3 mL de etanol durante 10 minutos. Filtrar o extrato.

Solução referência: preparar uma solução contendo 25 µg/mL de cumarina e 1 mg/mL de ácido *o*-cumárico em metanol.

Revelador: dissolver 10 g de hidróxido de potássio em 100 mL de etanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Saturar a cuba com ácido acético glacial. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar com o *Revelador*. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Cumarina: zona fluorescente azul-esverdeada	Zona fluorescente azul-esverdeada (cumarina)
Ácido <i>o</i> -cumárico: zona fluorescente azul-esverdeada	Zona fluorescente azul-esverdeada (ácido <i>o</i> -cumárico)
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 13%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 16%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Cumarina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 275 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm), fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: água e metanol (53:47).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga seca e moída (500) (5.2.11) e transferir, quantitativamente, para balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de etanol a 50% (v/v) e aquecer em banho-maria a temperatura de 90 °C, sob refluxo, durante 30 minutos. Após resfriamento, filtrar o extrato em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Extrair o resíduo da droga no balão e no algodão com 10 mL de etanol a 50% (v/v), e, aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Após resfriamento, reunir todos os extratos no balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com

etanol a 50% (v/v).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de cumarina em metanol para obter a concentração de 10 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de cumarina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a \times 25 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

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

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

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

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

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

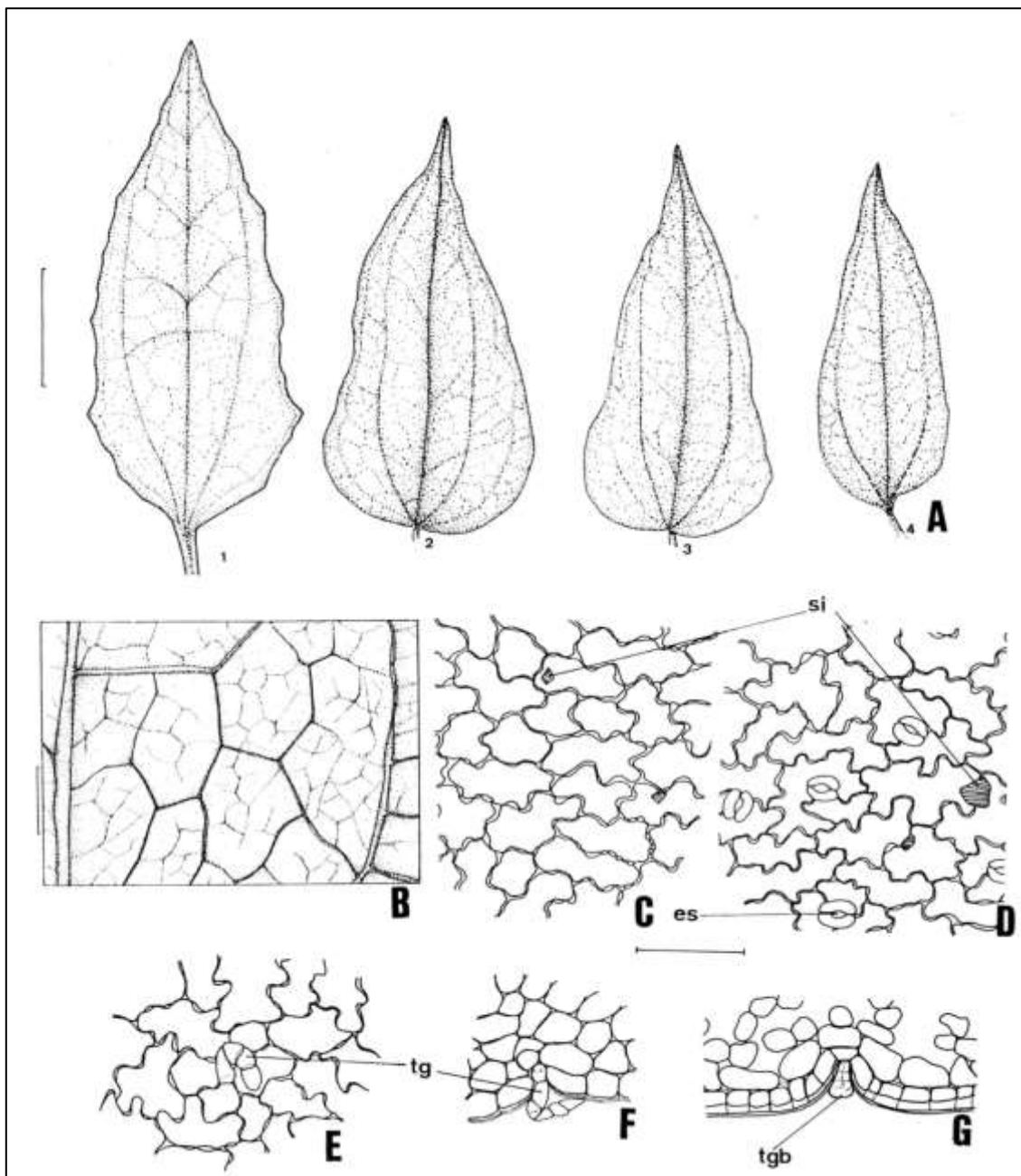


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e da microscopia do pó em *Mikania laevigata* Sch.Bip. ex Baker

As escalas correspondem: em **A** a 3 cm; em **B** a 2 mm; em **C, D, E, F** e **G** a 100 μ m.

A - aspectos gerais de folhas, mostrando assimetria da lâmina; **A1** - folha de margem sinuosa com alguns dentes nos bordos da lâmina; **A2** - folha com lâmina de base mais alargada, bordo liso e ápice mais estreito; **A3** - folha com lâmina evidenciando um dente basal; **A4** - folha característica das porções apicais dos ramos, com lâmina de base estreita e bordo liso. **B** - porção da lâmina foliar mostrando detalhe da venação, em vista abaxial. **C** - detalhe da epiderme voltada para a face adaxial da lâmina foliar, em vista frontal. **D** - detalhe da epiderme voltada para a face abaxial da lâmina foliar, em vista frontal; estômato (es); corpo silicoso (si). **E** - detalhe da epiderme voltada para a face abaxial da lâmina foliar, em vista frontal, com um tricoma; tricoma glandular (tg). **F** - detalhe de porção da região da nervura principal, voltada para a face abaxial, em secção transversal, com um tricoma glandular; tricoma glandular (tg). **G** - detalhe de porção do mesofilo, voltado para a face abaxial, em secção transversal, mostrando tricoma glandular bisseriado (tgb).

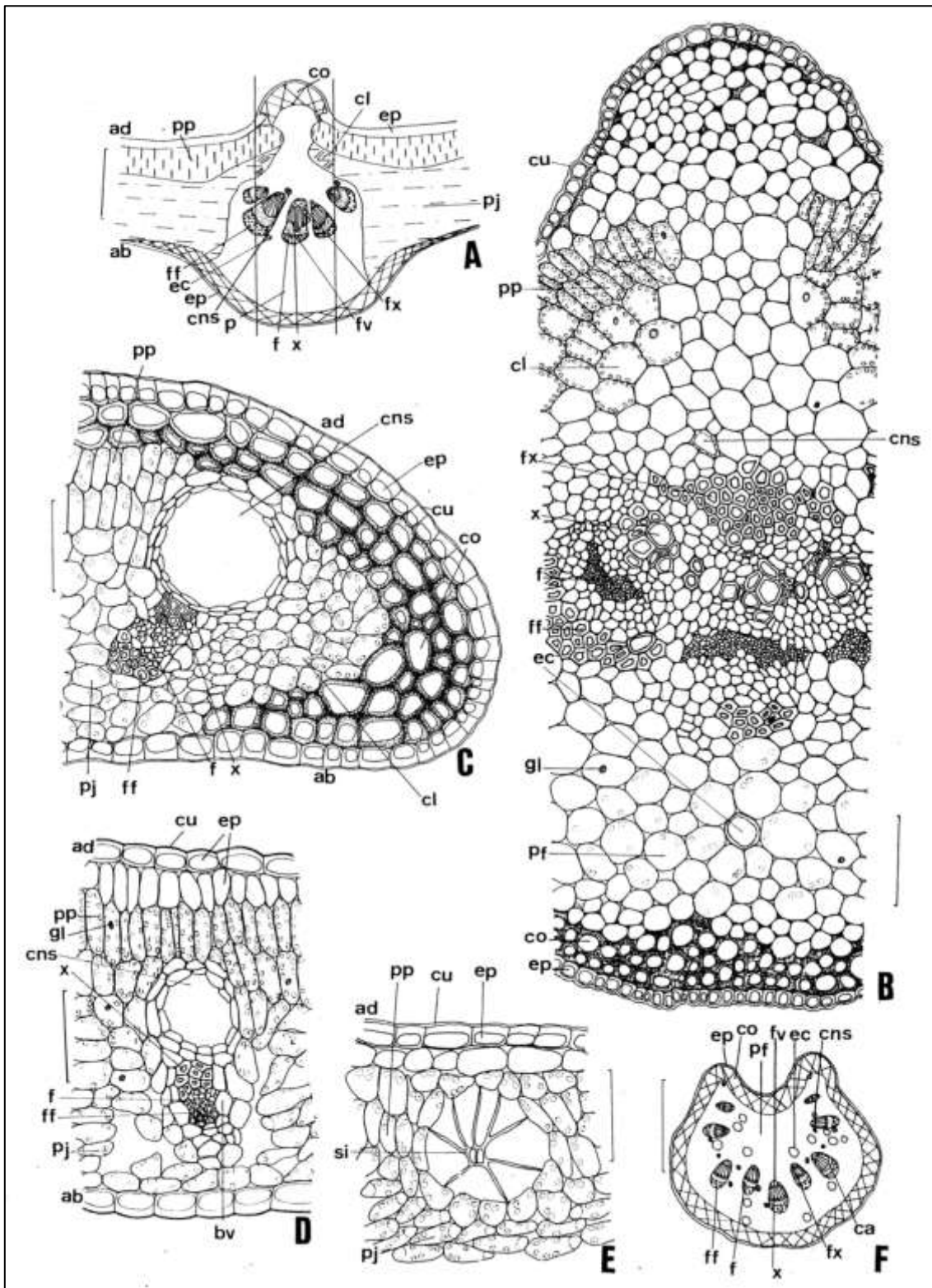


Figura 2 – Aspectos microscópicos em *Mikania laevigata* Sch.Bip. ex Baker

As escalas correspondem: em **A** a 300 μ m; em **B**, **C**, **D** e **E** a 100 μ m; em **F** a 1 mm.

A - esquema de porção da lâmina foliar, na região da nervura principal, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); colênquima (co); canal secretor (cns); epiderme (ep); esclereíde (ec); floema (f); fibras do floema (ff); feixe vascular (fv); fibras do xilema (fx); parênquima fundamental (p); parênquima esponjoso (pp); parênquima paliçádico (pp); xilema (x). **B** - detalhe da secção transversal da nervura principal, como indicado em **A**; clorênquima (cl); colênquima (co); canal secretor (cns); cutícula (cu); esclereíde (ec); epiderme (ep); floema (f); fibras do floema (ff); fibras do xilema (fx); gota lipídica (gl); parênquima (p); parênquima paliçádico (pp); xilema (x). **C** - detalhe da região do bordo da lâmina foliar, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); canal secretor (cns); colênquima (co); cutícula (cu); epiderme (ep); floema (f); fibras do floema (ff); parênquima esponjoso (pp);

parênquima paliçádico (pp); xilema (x). **D** - detalhe de porção do mesofilo em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); bainha vascular (bv); canal secretor (cns); cutícula (cu); epiderme (ep); floema (f); fibras do floema (ff); gota lipídica (gl); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); xilema (x). **E** - detalhe de porção do mesofilo em secção transversal, mostrando corpo silicoso; face adaxial (ad); cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); corpo silicoso (si). **F** - aspecto geral da secção transversal do pecíolo; câmbio fascicular (ca); canal secretor (cns); colênquima (co); esclereíde (ec); epiderme (ep); floema (f); fibras do floema (ff); feixe vascular (fv); fibras do xilema (fx); parênquima fundamental (pf); xilema (x).

GUARANÁ, extrato fluido *Paullinae cupanae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de sementes secas de *Paullinia cupana* Kunth, desprovidas de arilo e tegumento (casquilho), contendo, no mínimo, 3,5% de cafeína (C₈H₁₀N₄O₂, 194,19).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por maceração ou percolação, utilizando etanol a 70% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido turvo de cor castanho-avermelhada. Diluído em igual volume de água produz mistura turva.

IDENTIFICAÇÃO

Caracterização da presença de taninos

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, tolueno e ácido fórmico (7:3:0,5).

Solução amostra: diluir o extrato fluido em etanol absoluto na proporção de 1:10 (v/v).

Solução referência: solução a 1 mg/mL de catequina em metanol.

Revelador: dissolver 1 g de vanilina em 100 mL de metanol. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico e 5 mL de ácido sulfúrico.

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR, aquecer a 105 °C durante 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração pardo-castanha (catequina)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Caracterização da presença de metilxantinas

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (10:1,4:1).

Solução amostra: diluir a amostra de extrato fluido de guaraná em metanol na proporção 1:10 (v/v).

Solução referência: solução a 100 µg/mL de cafeína em metanol.

Revelador (1): solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em etanol.

Revelador (2): dissolver 1 g de iodo em 100 mL de água, acrescentar 2 g de iodeto de potássio, agitar, deixar em repouso por algumas horas e filtrar em lã de vidro.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 a 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com solução de ácido clorídrico a 25% em etanol e, a seguir, com iodo SR.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Cafeína: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração pardo-castanha (cafeína)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9920 a 1,020.

Etanol (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool. 55% (v/v) a 65% (p/v).*

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e no máximo 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 18% (p/p).

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

Cafeína

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 272 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 22 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: água, metanol e ácido trifluoracético (70:30:0,005).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de cafeína em metanol, para obter solução a 130 µg/mL.

Solução amostra: diluir 30 µL de extrato fluido para 10 mL com uma mistura de metanol e água (1:1).

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção relativo para o pico

da cafeína é de cerca de 8,5 minutos. Calcular o teor de cafeína, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a \times 10 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TC = teor de cafeína % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

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

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

m = massa em gramas da amostra, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

GUARANÁ, tintura *Paullinia cupanae tinctura*

A tintura é obtida a partir de sementes secas de *Paullinia cupana* Kunth, desprovidas de arilo e tegumento (casquilho), contendo, no mínimo, 0,35% de cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$, 194,19).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por maceração ou percolação, utilizando etanol a 70% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho-avermelhada. Observa-se turvação após diluição em três volumes de água.

IDENTIFICAÇÃO

Caracterização da presença de taninos

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

Fase estacionária: sílica gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, tolueno e ácido fórmico (7:3:0,5).

Solução amostra: tintura de guaraná.

Solução referência: solução a 1 mg/mL de catequina em metanol.

Revelador: dissolver 1 g de vanilina em 100 mL de metanol. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico e 5 mL de ácido sulfúrico.

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e aquecer a 105 °C durante 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração pardo-	Zona de coloração pardo-castanha (catequina)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Caracterização da presença de metilxantinas

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (10:1.4:1).

Solução amostra: diluir a amostra de tintura de guaraná em metanol na proporção 1:1 (v/v).

Solução referência: solução a 100 µg/mL de cafeína em metanol.

Revelador (1): solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em etanol.

Revelador (2): dissolver 1 g de iodo em 100 mL de água, acrescentar 2 g de iodeto de potássio, agitar, deixar em repouso por algumas horas e filtrar em lã de vidro.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 a 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em etanol e, a seguir, com iodo SR.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Cafeína: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração pardo-castanha (cafeína)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,8990 a 0,9150.

Etanol (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool.* 66% (v/v) a 70% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e no máximo 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 2,0% (p/p).

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

Cafeína

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência* (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 272 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (4 µm), mantida a temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: água, metanol e ácido trifluoracético (70:30:0,005).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de cafeína em metanol para obter solução a 130 µg/mL.

Solução amostra: diluir 0,3 mL da tintura de guaraná a 10 mL com uma solução de metanol e água (1:1).

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção médio para o pico da cafeína é de cerca de 8,5 minutos. Calcular o teor de cafeína, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a \times 10 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TC = teor de cafeína % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em gramas/mL;

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

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

m = massa em gramas da amostra, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

HAMAMELIS, folha *Hamamelidis folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas, inteiras ou fragmentadas de *Hamamelis virginiana* L., contendo, no mínimo, 3% de taninos, expressos em pirogalol (C₆H₆O₃, 126,11).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A folha é curtamente peciolada, com pecíolo de 1 a 1,5 cm de comprimento. A lâmina foliar é rugosa, apresenta coloração pardo-esverdeada a pardo-acastanhada na face adaxial e verde-clara na face abaxial, mede 7 a 15 cm de comprimento e 6 a 10 cm de largura, é ovalada ou ovalado-romboidal, com base assimetricamente cordada, ápice agudo, algumas vezes obtuso e margem sinuosa, grosseiramente crenada a denteada. A nervação é peninérvea, com nervura principal saliente na face abaxial, nervuras secundárias alternas e retilíneas, terminando nos dentes das margens sem se unirem, nervuras terciárias e quaternárias mais finas e anastomosadas, conferindo aspecto reticulado ao limbo. Folhas jovens com tricomas estrelados, visíveis com lente de aumento.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar é hipostomática e de simetria dorsiventral. A epiderme, em vista frontal, em ambas as faces, apresenta células com paredes periclinais sinuosas, estômatos paracíticos e tricomas estrelados, de paredes espessas. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada em ambas as

faces e os estômatos encontram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas; a cutícula é delgada. O mesofilo é formado por uma camada de células paliçádicas, voltadas para a face adaxial, seguida por quatro a seis camadas de células de parênquima esponjoso. Astroesclereídes atravessam o mesofilo, podendo alcançar de uma epiderme à outra. Os feixes vasculares de menor calibre e da nervura principal apresentam-se envoltos por uma bainha com cristais prismáticos e, geralmente, apresentam fibras esclerenquimáticas ou esclereídes associadas aos tecidos vasculares.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-acastanhada; tricomas com paredes espessas e lúmen visível, agrupados pela base formando tufo (tricomas estrelados); fragmentos da face adaxial da epiderme em vista frontal com células de paredes espessas e contorno ondulado a sinuoso; fragmentos da face abaxial da epiderme em vista frontal com células de paredes espessas de contorno reto a ondulado e estômatos do tipo paracítico, principalmente; feixes de fibras esclerenquimáticas septadas, com paredes levemente espessadas e circundadas por uma bainha de idioblastos com cristais prismáticos de oxalato de cálcio e esclereídes; vasos xilemáticos do tipo anelar ou reticulado associados a fibras lignificadas, bainha de idioblastos com cristais prismáticos e esclereídes, ou cristais e esclereídes isolados; cristais prismáticos de formas variadas; células parenquimáticas com cloroplastídios isolados; fragmentos maiores verde-acastanhados, em vista frontal, mostrando a região das nervuras com cristais prismáticos e o parênquima esponjoso com células de formato irregular e grandes espaços intercelulares.

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (6:2:2:1,5).

Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 10 mL de metanol e levar ao banho-maria durante 10 minutos. Filtrar e secar o extrato em banho-maria até resíduo. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e proceder a análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido gálico em metanol, para obter uma concentração de 1000 µg/mL

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de hamamelitanino em metanol, para obter uma concentração de 1000 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra*, 10 µL da *Solução referência (1)* e 10 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar com solução de cloreto férrico a 1% (p/v) em etanol. Examinar a placa sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa		
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentado	Hamamelitanino: zona de coloração azul-acinzentado	Zona de coloração azul-acinzentado Zona de coloração verde Zona de coloração azul-acinzentado
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 14%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 7%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 7%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,750 g da droga vegetal pulverizada e transferir para béquer de 250 mL. Adicionar 150 mL de água fervente. Levar ao banho-maria durante 30 minutos. Resfriar em água corrente e transferir para balão volumétrico de 250 mL. O resíduo da amostra deve ser lavado e transferido quantitativamente para o balão volumétrico. Completar o volume para 250 mL com água. Deixar decantar e filtrar em papel de filtro com 125 mm de diâmetro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: diluir 5 mL da *Solução estoque* em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, protegido da luz, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,10 g de pó de pele e agitar mecanicamente durante 60 minutos. Filtrar em papel filtro com 125 mm de diâmetro. Diluir 5 mL desse filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, protegido da luz, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol em água, em balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, protegido da luz, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

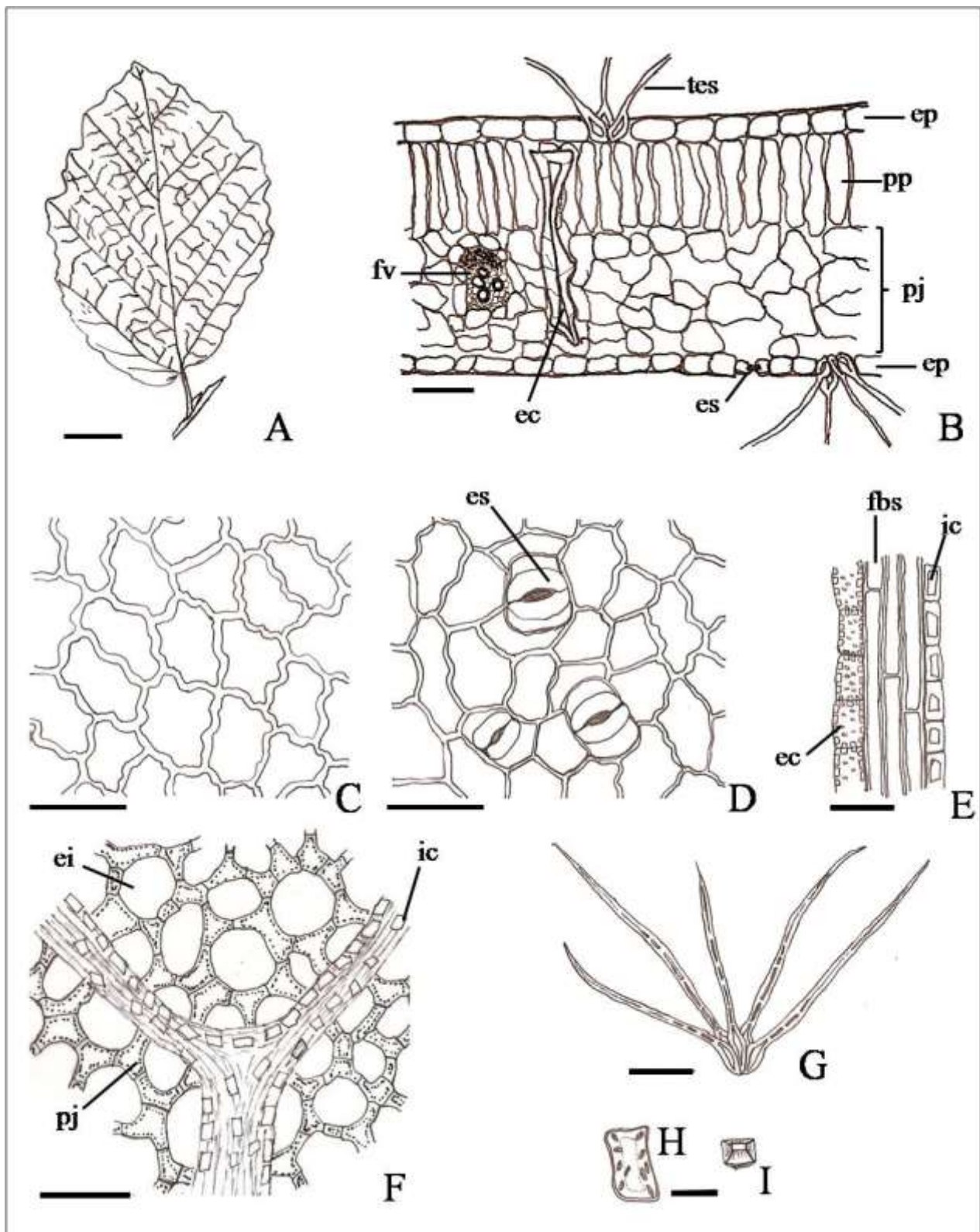


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Hamamelis virginiana* L.

As escalas correspondem em A a 1 cm; B e E a 100 µm; C, D, F e G a 50 µm; H-I a 20 µm.

A - aspecto geral da folha em vista frontal. B - detalhe da porção da lâmina foliar em secção transversal: epiderme (ep); estômato (es); esclereíde (ec); feixe vascular (fv); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); tricomas estrelados (tes). C - vista parcial frontal da epiderme da face adaxial com células de paredes espessas e sinuosas. D - detalhe de porção da epiderme voltada para a face abaxial com células de paredes retas a sinuosas e mais delgadas que as da face adaxial; estômato paracítico (es). E - fragmento de feixe de fibras septadas (fbs) com idioblastos cristalíferos (ic) e esclereídes (ec). F - vista frontal de fragmento de folha mostrando a nervação com idioblastos cristalíferos (ic) e parênquima esponjoso (pj) com espaços intercelulares (ei). G - tricoma estrelado de paredes espessadas. H - célula do parênquima paliçádico com cloroplastos. I - cristal prismático isolado.

HAMAMELIS, extrato fluido

Hamamelidis extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de folhas secas de *Hamamelis virginiana* L., contendo, no mínimo, 3% de taninos (p/p) expressos em pirogalol (C₆H₆O₃, 126,11).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por maceração ou percolação, utilizando etanol a 70% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração verde escura.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (6:2:2:1,5).

Solução amostra: tomar 1 mL do extrato e secar até resíduo em banho-maria, em temperatura não superior a 60°C. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido gálico em metanol, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de hamamelitanino em metanol, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Revelador: cloreto férrico a 1% (p/v).

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra*, 10 µL da *Solução referência (1)* e 10 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com cloreto férrico a 1% (p/v), aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)*, e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido gálico: Zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
Hamamelitanino: Zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0394 a 1,0409.

Etanol (5.3.3.8.1). *Método II, Líquidos com mais de 30% de álcool.* 38% (v/v) a 44% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e no máximo 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo de 30,0% (p/p).

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

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pipetar 750 µL de extrato fluido de hamamelis e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar a pipeta com água destilada e completar o volume para 250 mL com água. Deixar a solução em repouso para que os sólidos precipitem. Filtrar em papel de filtro de 125 mm de diâmetro. Descartar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: diluir 5 mL da *Solução estoque* em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com

solução carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, protegido da luz, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,10 g de pó de pele e agitar vigorosamente durante 60 minutos. Filtrar em papel filtro com 125 mm de diâmetro. Diluir 5 mL desse filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, protegido da luz, utilizando água para ajuste do zero.

Solução padrão: dissolver, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol em água, em balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, protegido da luz, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra, determinada a partir da densidade; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

HORTELÃ-DO-BRASIL, parte aérea *Mentha arvensis herbae*

A droga vegetal consiste de partes aéreas secas de *Mentha arvensis* L., inteiras, quebradas, cortadas ou pulverizadas, contendo, no mínimo, 0,8% de óleo volátil em partes aéreas inteiras e, no mínimo, 0,6% de óleo volátil em partes aéreas rasuradas. A porcentagem de caules não deve exceder 20%.

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Mentha arvensis var. *canadensis* (L.) Kuntze

CARACTERÍSTICAS

As partes aéreas possuem odor forte, aromático, penetrante, semelhante ao mentol.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Caules tetragonares eretos, com até 60 cm de comprimento, recobertos por tricomas esbranquiçados, multicelulares e reflexos. Folhas simples, opostas cruzadas, tornando-se menores em direção ao ápice dos ramos, pecíolo com 2 a 7 mm de comprimento, lâmina elíptica a oval-lanceolada, com 2 a 5 cm de comprimento e 0,8 a 2 cm de largura, ápice agudo, base cuneada a arredondada, margem serrada. Inflorescências, quando presentes, dispostas nos nós apicais dos ramos, globosas, densas, com flores alvas, de cálice gamossépalo, campanulado, com 2 a 3 mm de comprimento, face externa recoberta por tricomas, lobos triangulares iguais, agudos; corola gamopétala bilabiada, com 4 a 5 mm de comprimento e limbo de quatro lobos, o superior maior e bilobado, os demais subiguais, de ápice obtuso; quatro estames, adnatos ao tubo da corola, alternos às pétalas, insertos em flores pistiladas (anteras estéreis) ou mais longos que a corola nas flores bissexuadas; ovário súpero, bicarpelar, tetralocular; estilete longo, estigma bifido, exserto. Frutos, quando presentes, compostos de quatro mericarpos secos, elipsoides, castanhos.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o caule apresenta forma quadrangular, com quatro alas evidentes. A epiderme é uniestratificada e composta por células arredondadas, com cutícula espessa e com tricomas glandulares e tectores uni ou pluricelulares unisseriados, seguida de uma a duas camadas de colênquima com paredes irregularmente espessadas formando um anel contínuo e cerca de dez camadas de células colenquimáticas na região das alas e de um parênquima cortical contínuo por três a quatro camadas de células volumosas, de paredes delgadas. O tecido vascular é mais desenvolvido nas regiões contíguas às alas e apresenta um a dois feixes vasculares colaterais diminutos nas regiões entre elas. Na região das alas o floema apresenta elementos de tubo crivado e células parenquimáticas e poucos raios parenquimáticos. A região cambial apresenta três a quatro camadas de células retangulares de paredes não espessadas. O xilema é formado por células parenquimáticas de disposição radial e elementos condutores com parede espessada. O parênquima medular apresenta células volumosas com diâmetro maior em direção ao centro e paredes delgadas. A lâmina foliar, em secção transversal, tem simetria dorsiventral e é hipoestomática. A região da nervura central é mais saliente na face abaxial e apresenta os seguintes tecidos: epiderme composta por células arredondadas com cutícula delgada, com tricomas multicelulares unisseriados, seguida de camadas de colênquima (três a quatro na face adaxial, uma a duas na face abaxial), e de células parenquimáticas volumosas, isodiamétricas, com paredes não espessadas e amplos espaços intercelulares; o feixe vascular é colateral. A região do limbo apresenta epiderme uniestratificada composta de células elípticas, com tricomas glandulares e tectores uni ou pluricelulares unisseriados em ambas as faces e estômatos diacíticos restritos à face abaxial; o parênquima paliçádico é constituído por uma camada de células tabulares e justapostas e o parênquima esponjoso é composto por células arredondadas, com espaços intercelulares amplos. No mesofilo encontram-se feixes vasculares colaterais dispersos.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração verde com alguns fragmentos verde-amarelados; fragmentos de tricomas pluricelulares unisseriados; fragmentos de tecido parenquimático com células prismáticas ou arredondadas e espaços intercelulares; fragmentos de epiderme identificados pelas células com as paredes anticlinais mais ou menos sinuosas e pela presença de estômatos diacíticos com células subsidiárias semelhantes às epidérmicas; fragmentos de colênquima com as células cilíndricas alongadas e densamente justapostas e fragmentos de tecido condutor associado a parênquima clorofiliano e restos de epiderme.

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

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

Fase móvel: hexano e acetato de etila (85:15).

Solução amostra: diluir 0,1 mL do óleo volátil em 1,0 mL de acetato de etila.

Solução referência: dissolver 4 µL de carvona, 4 µL de pulegona, 10 µL de acetato de mentilo, 20 µL de cineol e 50 mg de mentol em 5 mL de acetato de etila.

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. Examinar sob a luz ultravioleta a 254 nm. Nebulizar com vanilina sulfúrica SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 1 minuto. Após visualização, aquecer durante mais 3 minutos.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas, obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após exame sob a luz ultravioleta, nebulização com o revelador e aquecimento durante 1 minuto, e, aquecimento durante mais três minutos, respectivamente. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Carvona e pulegona: zona de fluorescência castanho-avermelhado	Zona de fluorescência castanho-avermelhado
	Zona de fluorescência azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
<p>Acetato de mentilo: zona de coloração violeta-azulado</p> <p>Cineol: zona de coloração violeta-claro</p> <p>Pulegona: zona de coloração verde-acastanhado</p> <p>Carvona: zona de coloração rosa-claro</p> <p>Mentol: zona de coloração azul a violeta intenso</p>	<p>Zona de coloração violeta-avermelhada</p> <p>Zona de coloração violeta-azulado</p> <p>Zona de coloração verde-claro</p> <p>Zona de coloração verde-acastanhado</p> <p>Zona de coloração rosa-claro</p> <p>Zona de coloração azul</p> <p>Zona de coloração azul a violeta intenso</p> <p>Zona de coloração azul</p>
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
<p>Acetato de mentilo: zona de coloração violeta-azulado</p> <p>Cineol: zona de coloração violeta-claro</p> <p>Pulegona: zona de coloração verde-acastanhado</p> <p>Carvona: zona de coloração rosa-claro</p> <p>Mentol: zona de coloração azul a violeta intenso</p>	<p>Zona de coloração violeta-avermelhada</p> <p>Zona de coloração violeta-azulado</p> <p>Zona de coloração verde-claro</p> <p>Zona de coloração verde-acastanhado</p> <p>Zona de coloração rosa-claro</p> <p>Zona de coloração azul a violeta intenso</p>
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Água (5.2.20.2). *Método azeotrópico.* No máximo 12,0%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

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

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

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2,5%.

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.

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 500 mL contendo 200 mL de água como líquido de destilação, e adicionar 1,0 mL de xilol pela abertura K. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil a partir de 50 g da droga moída. Destilar durante 4 horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

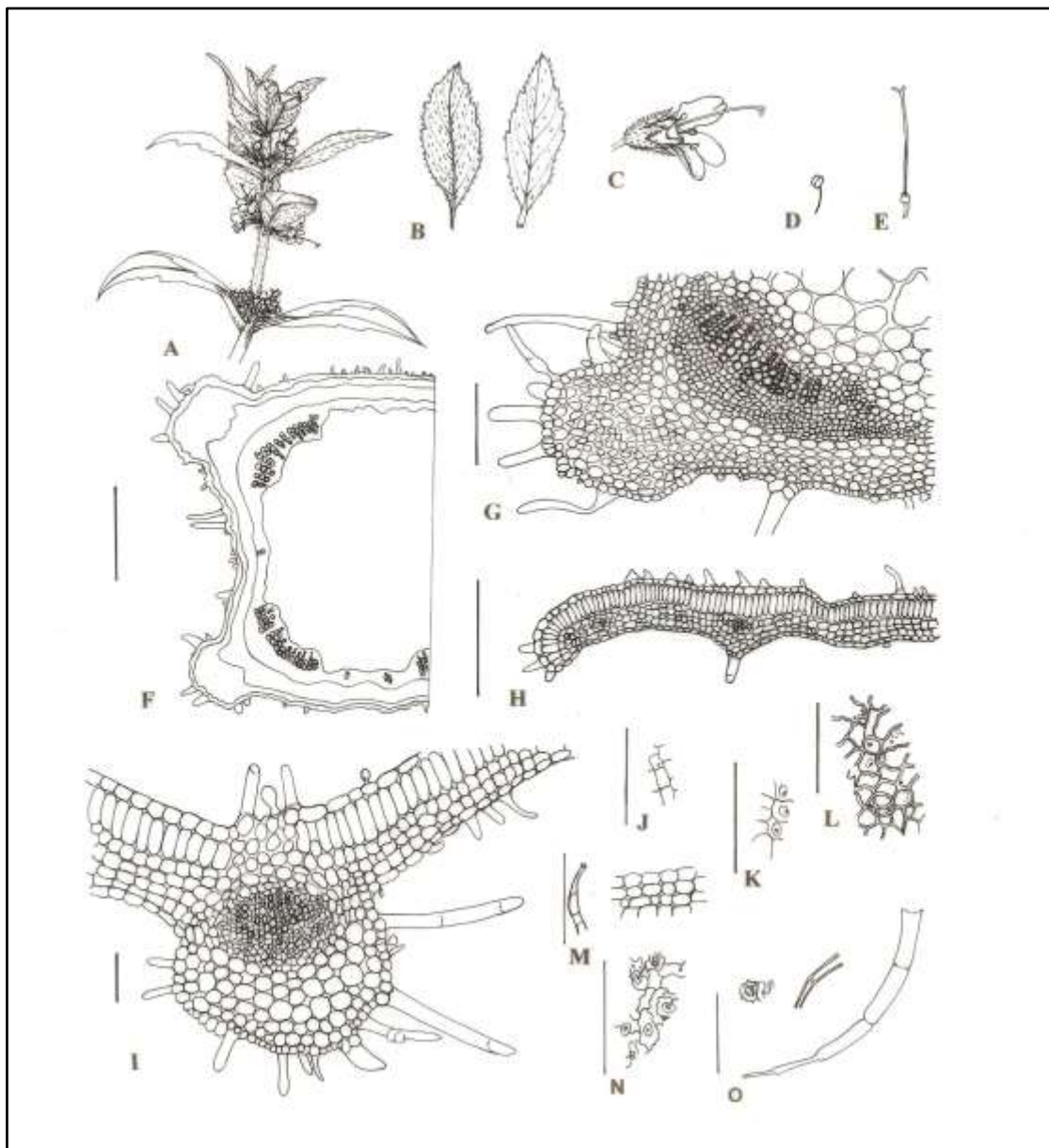


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Mentha arvensis* L.

As escalas correspondem: em F a 200 μm , em G a 100 μm , em H a 200 μm , em I a 50 μm , em J a 200 μm , de K-L a 100 μm , em M a 200 μm e de N-O a 100 μm .

A – aspecto geral do ápice do ramo com inflorescências; **B** – aspecto das folhas em face adaxial (à esquerda) e abaxial; **C** – aspecto da flor funcionalmente feminina; **D** – estame estéril, sem grãos de pólen; **E** – ovário, estilete e estigma; **F** – esquema da secção transversal do caule; **G** – detalhe do caule em secção transversal na região da ala, apresentando epiderme, córtex com colênquima e parênquima, medula com feixes vasculares em estrutura secundária; **H** – detalhe da região marginal da folha, em secção transversal; **I** – detalhe da região da nervura central da folha, em secção transversal; **J-O** – aspecto geral do pó da planta; **J-K** – fragmentos de tecido parenquimático com células prismáticas ou arredondadas e espaços intercelulares; **L** – fragmento de epiderme; **M e O** – fragmentos de tricomas pluricelulares unisseriados; **N** – fragmento de epiderme com células com paredes anticlinais sinuosas, estômatos diacíticos com células subsidiárias semelhantes às demais células epidérmicas.

HORTELÃ-DO-BRASIL, óleo

Mentha arvensis aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de partes aéreas secas de *Mentha arvensis* L., contendo, no mínimo, 30% de mentol (C₁₀H₂₀O, 156,27).

CARACTERÍSTICAS

Líquido fluído, límpido, incolor ou amarelo claro, com cheiro característico de mentol.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica gel F₂₅₄(250 µm).

Fase móvel: acetato de etila e hexano (15:85).

Solução amostra: diluir 0,1 mL do óleo volátil em 1,0 mL de acetato de etila.

Solução padrão: dissolver 4 µL de carvona, 4 µL de pulegona, 10 µL de acetato de mentila, 20 µL de cineol e 50 mg de mentol em 5 mL de acetato de etila.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com abundância com solução de vanilina sulfúrica. Aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 1 minuto para visualização do mentol no terço inferior da placa e aquecer durante mais 3 minutos para visualização dos outros componentes da amostra.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após o exame sob a luz ultravioleta, nebulização com solução de vanilina sulfúrica e aquecimento durante 1 minuto e durante mais 3 minutos, na ordem. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Carvona e pulegona: zona de atenuação de fluorescência	Zona de atenuação de fluorescência Zona de atenuação de fluorescência
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Acetato de mentila: zona de coloração violeta-azulado Cineol: zona de coloração violeta claro Pulegona: zona de coloração verde-acastanhado Carvona: zona de coloração rosa-claro Mentol: zona de coloração azul a violeta intenso	Zona de coloração violeta avermelhado Zona de coloração violeta-azulado Zona de coloração violeta claro Zona de coloração verde-acastanhado Zona de coloração rosa-claro Zona de coloração azul a violeta intenso Zona de coloração azul claro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Poder rotatório (5.2.8). -16° a -34°.

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,888 a 0,910.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,456 a 1,470.

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo 1,0. Determinar em 5,00 g da amostra.

Perfil Cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização em chamas, utilizando mistura de nitrogênio, hidrogênio e ar sintético (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura do filme de 0,20 µm. Utilizar hélio purificado como gás de arraste (1,5 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 10	60
	10 – 70	60 → 180
	70 – 75	180
Injetor		200
Detector		200

Solução amostra: dissolver 0,20 g da amostra em hexano e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução referência: dissolver 10 mg de limoneno, 20 mg de cineol, 40 mg de mentona, 10 mg de isomentona, 40 mg de acetato de mentila, 20 mg de isopulegol, 20 mg de pulegona, 60 mg de mentol e 10 mg de carvona em hexano, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: injetar volume de 1,0 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência*.

Ordem de eluição: ordem de preparação da *Solução referência*. Registre os tempos de retenção das substâncias.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, no mínimo, 1,5 entre os picos devidos do pulegona e mentol.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra* verificar a presença dos componentes conforme segue: limoneno, 1,5 a 7,0%; cineol, no máximo, 1,5%; mentona, 17,0 a 35,0%; isomentona, 5,0 a 13,0%; acetato de mentila, 1,5 a 7,0%; isopulegol, 1,0 a 3,0%; Pulegona, no máximo, 2,0%; mentol, 30,0 a 50,0%; carvona, no máximo, 2,0%.

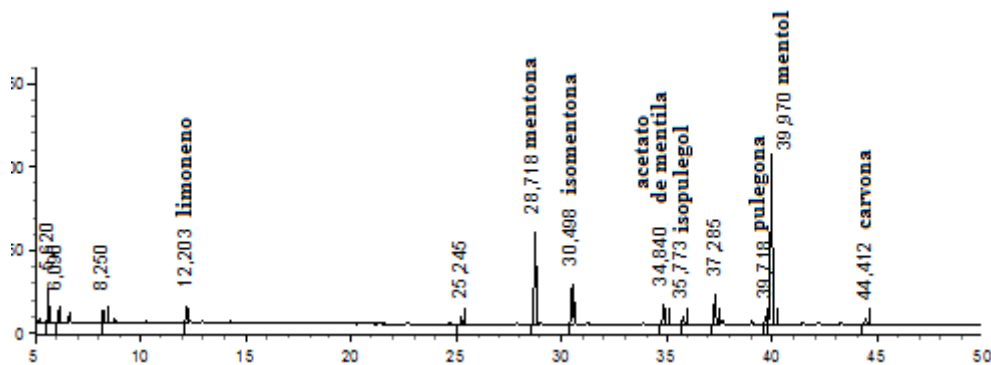


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Mentha arvensis* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

JALAPA, raiz *Operculina radix*

A droga vegetal consiste de raízes secas de *Operculina macrocarpa* (L.) Urb., contendo, no mínimo, 6,4% de polissacarídeos totais, expressos em D-maltose (C₁₂H₂₂O₁₁, 342,30).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Raiz tuberosa, pivotante, de formato cônico a napiforme e contorno cilíndrico; externamente tem coloração castanha a preta e, em secção transversal, internamente, coloração amarelada, exsudando líquido resinoso quando comprimida. A droga é encontrada inteira ou cortada em discos com 0,5 a 2,0 cm de espessura e 3,0 a 6,0 cm de diâmetro. As secções transversais (discos) mostram coloração branca a amarelo-acinzentada, da borda para o centro, com linhas concêntricas sinuosas e mais escuras.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o córtex mostra externamente lenticelas e muitas camadas de súber; felogênio difícil de observar e feloderme constituída por células parenquimáticas contendo diminutos grãos de amido em seu interior. O parênquima cortical externo é formado por células de paredes delgadas, com muitas drusas de maior tamanho e outras com menor tamanho nas células do parênquima cortical interno. A raiz é poliarca. O cilindro central tem feixes vasculares colaterais, com anéis concêntricos de xilema e floema produzidos pelos câmbios sucessivos, na estrutura secundária, e faixas largas de parênquima entre os feixes. As células condutoras de floema formam faixas de células achatadas periclinalmente, com células de parênquima associadas contendo inúmeros e diminutos grãos de amido. Os vasos laticíferos, formando uma rede, aparecem com paredes espessadas e forma estrelar, e são visíveis em secção transversal na região do floema mais próxima do córtex. O xilema mostra

traqueídes e os elementos de vaso apresentam espessamento reticulado e escalariforme, com pontoações areoladas em fenda, contíguas. Diminutos grãos de amido ocorrem no interior das células do parênquima associado.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração castanho-amarelada a esbranquiçada; fibras esclerenquimáticas libriiformes; porções de células de parênquima contendo grãos de amido; elementos de vaso com espessamento escalariforme e paredes terminais oblíquas; elementos de vaso com paredes terminais retas; elementos de vaso com e sem prolongamentos curtos e longos. A ornamentação da parede é predominantemente do tipo reticulado, apenas pequenas áreas mostram aspecto escalariforme.

D. 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, água, ácido fórmico e ácido acético (100:27:11:11).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 2 g da droga vegetal moída, acrescentar 20 mL da mistura metanol e água (1:1) e aquecer durante 10 minutos a temperatura de 100 °C. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida em algodão.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de D-maltose e dissolver em 1 mL de metanol.

Solução reveladora: dissolver 0,5 g de timol em 95 mL de etanol 96 °GL, manter a mistura em banho de gelo durante 15 minutos. Após esse período, ainda sob banho de gelo, adicionar aos poucos 5 mL de ácido sulfúrico, homogeneizar devagar. Armazenar a solução em refrigerador até o momento do uso.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar com a *Solução reveladora*, deixar secar ao ar e aquecer a 100 °C durante 2 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
D-maltose: zona de coloração rósea amarronzada	Zona de coloração rósea amarronzada (D-maltose) Zona de coloração rósea amarronzada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 1%.

Água (5.4.1.4). *Método gravimétrico.* No máximo 10%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 9%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 7%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar 2 g da droga pulverizada e transferir para balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 100 mL de água. Aquecer, sob refluxo, em banho-maria à temperatura de 85 °C durante 30 minutos. Resfriar em água corrente, deixar decantar. Filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água.

Solução amostra para polissacarídeos totais: transferir 3 mL da *Solução estoque* para balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada, adicionar 1 mL de solução de fenol a 5% (p/v), e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Aquecer, sob refluxo, em banho-maria à temperatura de 85 °C durante 30 minutos. Resfriar a temperatura ambiente. Transferir, volumetricamente, 0,550 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com água. Determinar imediatamente a absorvância em 495 nm (A_1), utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, imediatamente antes do uso, 50 mg de D-maltose, em água, em balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. Transferir, volumetricamente, 3 mL dessa solução para balão de fundo redondo, adicionar 1 mL de solução de fenol a 5% (p/v), e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Aquecer, sob refluxo, em banho-maria à temperatura de 85 °C durante 30 minutos. Resfriar à temperatura ambiente. Transferir, volumetricamente, 0,500 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com água. Determinar, imediatamente, a absorvância em 495 nm (A_2), utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de polissacarídeos totais expressos em D-maltose, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TPT} = \frac{A_1 \times m_2 \times 363,64}{(m_1 - p) \times A_2}$$

em que,

TPT = teor de polissacarídeos totais % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polissacarídeos totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra;

m_2 = massa em gramas da D-maltose; e

p = perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

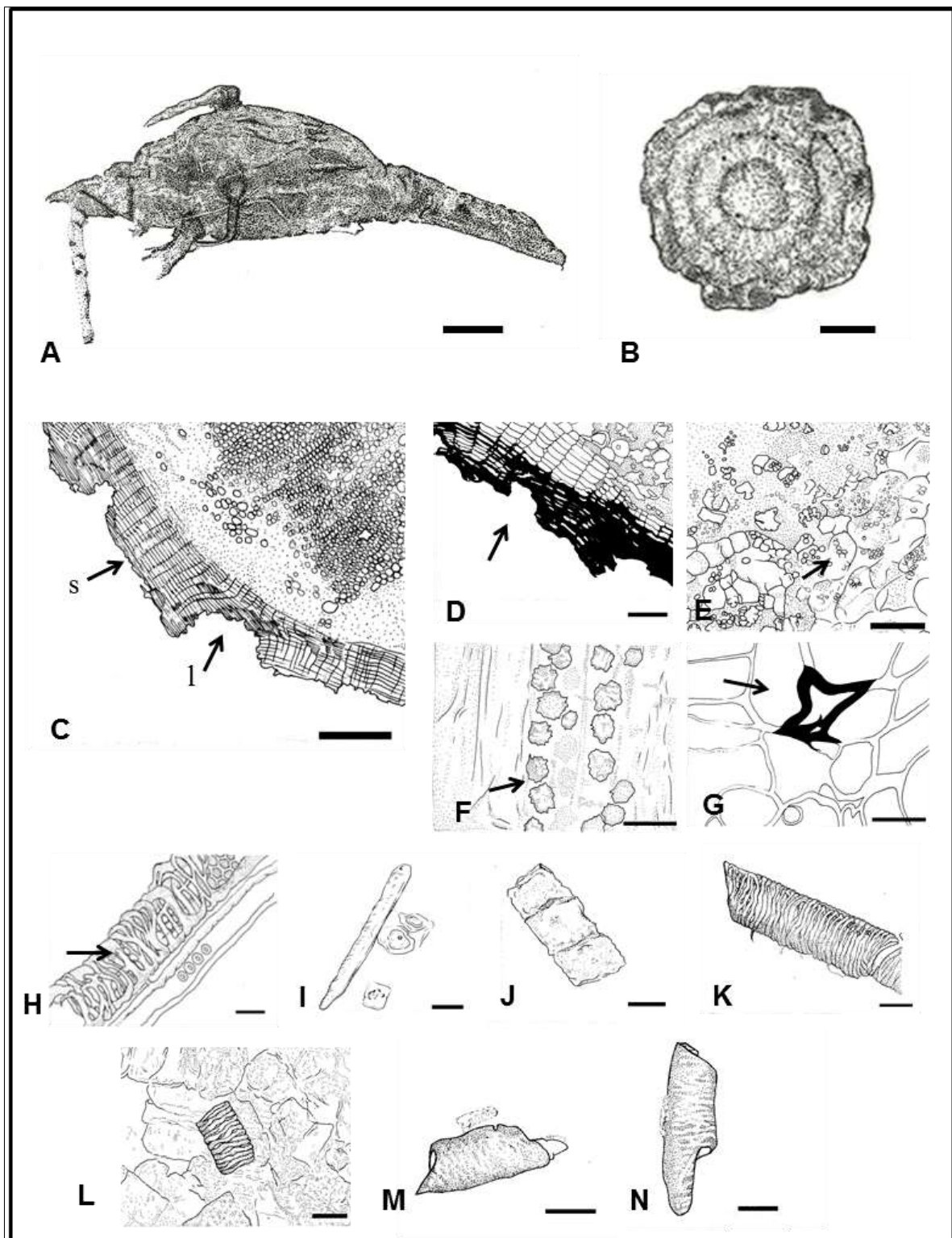


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Operculina macrocarpa* (L.) Urb.

As escalas correspondem em **A** e **B** a 1 cm; **C** e **D** a 100 μ m; **E**, **F**, **G**, **H**, **I**, **J**, **K**, **L**, **M** e **N** a 25 μ m.

A - aspecto geral da raiz. **B** - detalhe da secção transversal da raiz, mostrando os câmbios sucessivos. **C** e **D** - detalhe da secção transversal da raiz: súber e lenticela (setas). **E** - detalhe da secção transversal da raiz, mostrando células do parênquima cortical externo contendo diminutos grãos de amido (setas). **F** - detalhe da secção transversal da raiz, mostrando células do parênquima cortical externo contendo drusas de oxalato de cálcio. **G** - detalhe da secção transversal da raiz, indicando um vaso laticífero (seta). **H** - detalhe da secção longitudinal da raiz mostrando elemento de vaso com espessamento reticulado. **I-N** - detalhes de fragmentos observados no pó. **I** - fibras esclerenquimáticas libriformes. **J** - porções de células de parênquima. **K** - fragmento de elemento de vaso com espessamento escalariforme e paredes

terminais oblíquas. **L** - fragmento de elemento de vaso com paredes terminais retas. **M** - fragmento de elemento de vaso com prolongamento curto. **N** - fragmento de elemento de vaso com prolongamento longo.

JUCÁ, casca *Libidibiae cortex*

A droga vegetal consiste de cascas secas do caule de *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz, contendo, no mínimo, 8% de taninos totais e, no mínimo, 0,02% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12).

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Caesalpinia ferrea Mart.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As cascas caulinares, quando secas, apresentam-se em fragmentos levemente curvos, variáveis em tamanho, com 9,0 a 13,0 cm de comprimento, 1,5 a 4,0 cm de largura e 0,2 a 0,6 cm de espessura. Externamente têm coloração acinzentada, com manchas esbranquiçadas, são enrugadas e muito duras; internamente a coloração é castanho-clara. Cascas com manchas lisas e mais claras podem estar presentes, pois elas anualmente se renovam.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, a porção externa da casca apresenta súber com oito a doze camadas de células tabulares enfileiradas, com paredes delgadas, seguidas por células parenquimáticas do córtex. O parênquima cortical apresenta células parenquimáticas de formato poliédrico, com esclereídes distribuídos em toda a extensão cortical, formando uma larga faixa. Idioblastos contendo drusas e cristais prismáticos também são visíveis neste parênquima. O floema apresenta células achatadas periclinalmente, e as células do cordão parenquimático do floema contêm cristais prismáticos. Em secção longitudinal, na região do floema, são evidenciadas células dos raios parenquimáticos multisseriados, com margens unisseriadas, fibras, cordões parenquimáticos e esclereídes.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração amarronzada; esclereídes predominantemente agrupados e também isolados; fibras esclerenquimáticas; porções de células parenquimáticas.

D. 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, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: pesar cerca de 1 g de droga e levar a fervura com 5 mL de metanol durante 5 minutos. Filtrar e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de cloreto férrico a 1% (p/v).

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada	Zona de coloração marrom Zona de coloração azul-acinzentada (ácido gálico)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

E. Aquecer, sob refluxo, cerca de 3 g da droga vegetal moída com 60 mL de água, durante 15 minutos. Esfriar e filtrar. A 2 mL do extrato adicionar duas gotas de ácido clorídrico SR e gotejar gelatina SR até precipitação. O aparecimento de um precipitado nítido indica reação positiva para taninos totais.

F. A 2 mL do extrato obtido no teste **B.** em *Identificação*, adicionar 10 mL de água e duas a quatro gotas de solução de cloreto férrico a 1% (p/v) em etanol. O desenvolvimento de coloração cinza escura indica reação positiva para taninos totais.

G. A 2 mL do extrato obtido no teste **B.** em *Identificação*, adicionar 0,5 mL de vanilina a 1% (p/v) em metanol e 1 mL de ácido clorídrico. O desenvolvimento de coloração vermelha indica reação positiva para taninos condensados.

H. A 5 mL do extrato obtido no teste **B.** em *Identificação*, adicionar 10 mL de ácido acético 2 M e 5 mL de acetato de chumbo SR. O aparecimento de precipitado esbranquiçado, indica a presença de taninos.

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). Método gravimétrico. No máximo 13%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 1%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 8%.

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

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

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,500 g da droga pulverizada e transferir para balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria à temperatura entre 85 °C e 90 °C durante 30 minutos. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo e transferir as águas de lavagem com todo o conteúdo de droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: diluir 5 mL da *Solução estoque* em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque* adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL desta solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol em balão volumétrico de 100 mL com água. Transferir volumetricamente 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir volumetricamente 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos expressos em pirogalol % (p/p);

A₁ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A₂ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A₃ = absorvância medida para a *Solução referência*;

m₁ = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação; e

m₂ = massa em gramas de pirogalol.

Ácido gálico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 24°C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 - 10	80 → 77,5	20 → 22,5	gradiente linear
10 - 20	77,5 → 60	22,5 → 40	gradiente linear
20 - 25	60 → 25	40 → 75	gradiente linear
25 - 28	25 → 80	75 → 20	gradiente linear
28 - 32	80	20	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 4 g da droga pulverizada e transferir para balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 60 mL de água. Aquecer em banho-maria à temperatura entre 80 °C e 85 °C durante 30 minutos. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 100 mL. Lavar o balão de fundo redondo e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 20 mL do filtrado. Em seguida, transferir 5,0 mL da solução restante para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido gálico em água, para obter solução a 6,8 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de ácido gálico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times FD \times 100$$

em que,

TA = teor de ácido gálico % (p/p);

C_r = concentração do ácido gálico na *Solução referência* em g/mL;

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

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

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

FD = fator de diluição (200).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

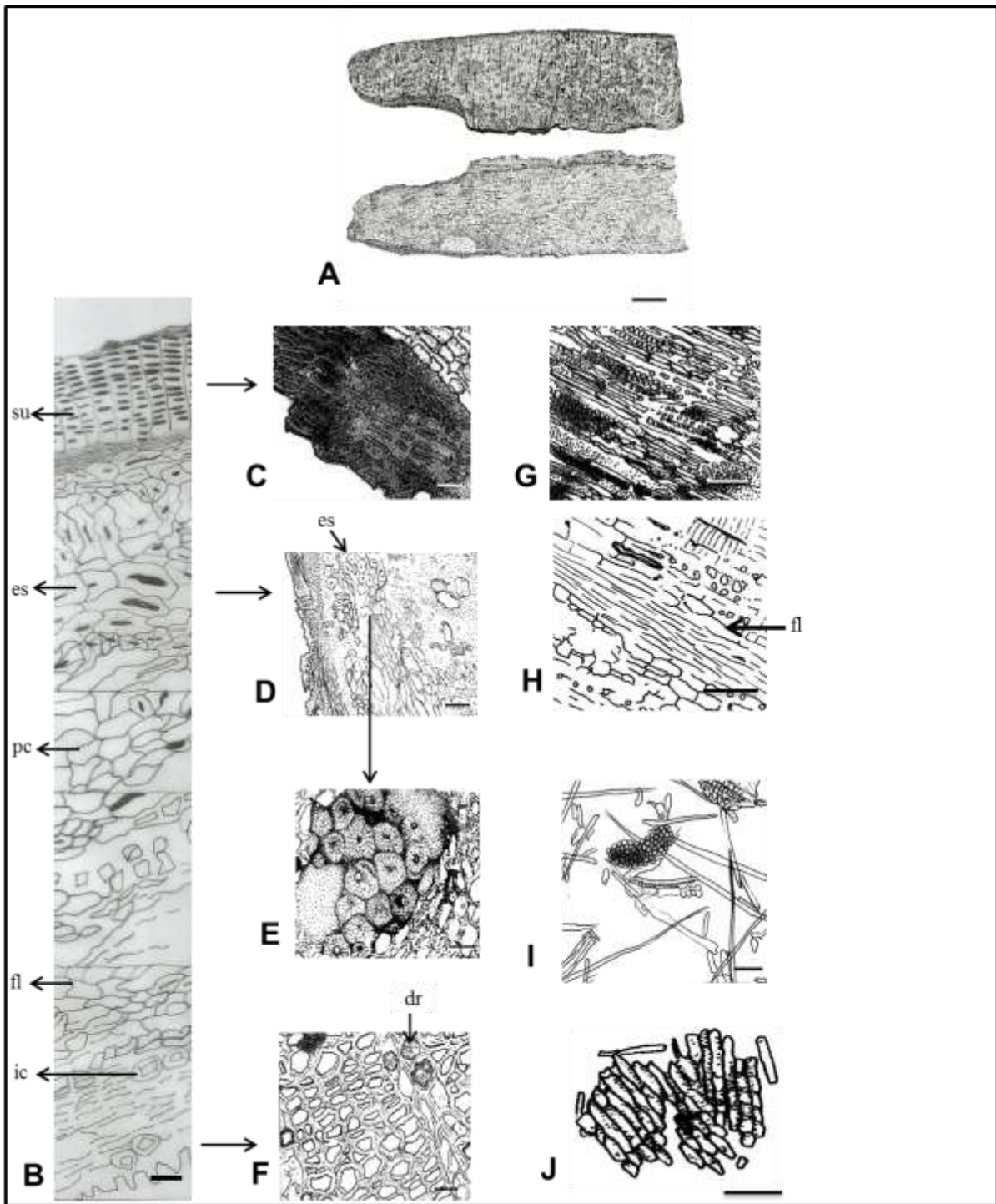


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Libidibia ferrea* (Mart.)
L.P. Queiroz

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; **B** a 25 μ m, **C**, **D**, **F** e **G** a 100 μ m; **E**, **H**, **I** e **J** a 25 μ m.

A - aspecto geral da casca do caule, em vista frontal e interna, respectivamente. **B** - detalhe da distribuição dos tecidos da casca do caule, em secção transversal: súber (su); parênquima cortical (pc); esclereíde (es); floema (fl); idioblasto contendo cristal prismático (ic). **C** - detalhe da secção transversal da casca, mostrando o ritidoma com células tabulares enfileiradas. **D** e **E** - aspecto de esclereídes distribuídos por toda a extensão da região cortical. **F** - idioblastos contendo drusas (dr). **G** - na região do floema, em secção longitudinal, são evidenciadas células dos raios multisseriados, fibras e cordão parenquimático. **H** - detalhe do floema em secção longitudinal: floema (fl). **I-J** - detalhes observados no pó. **I** - fragmentos de fibras e de células parenquimáticas. **J** - fragmentos de células parenquimáticas.

JUCÁ, fruto
Libidibiae fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz, contendo, no mínimo, 9% de taninos totais e, no mínimo, 1,0% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12).

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Caesalpinia ferrea Mart.

IDENTIFICAÇÃO

A. descrição macroscópica

Legumes dessecados, de coloração castanho-escura, ligeiramente reniformes a oblongos, achatados, com extremidades levemente pontiagudas, medindo 6,0 a 8,0 cm de comprimento, 2,0 a 4,0 cm de largura e cerca de 1,0 cm de espessura, contendo de uma a três sementes achatadas, duras, de coloração castanha.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o pericarpo do fruto apresenta cutícula espessa sobre uma epiderme uniestratificada, com células apresentando espessamento na parede periclinal externa, seguida de um colênquima visível, mais quatro a cinco camadas de parênquima e cinco a sete camadas de esclerênquima no terço inferior do fruto, próximo aos feixes vasculares. Cristais prismáticos foram evidenciados no parênquima. Raros macroesclereídes e esclereídes ramificados foram observados nas camadas do esclerênquima. Numerosas camadas de células parenquimáticas separam os feixes vasculares, onde se observa uma zona floemática seguida de células de xilema. Em secção paradérmica, em algumas regiões da epiderme são visíveis poucos tricomas tectores simples e unicelulares; as células da epiderme apresentam paredes anticlinais retas e os estômatos são do tipo ciclocítico.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; macroesclereídes alargados; esclereídes volumosos e ramificados; porções de células parenquimáticas contendo cristais prismáticos; fibras esclerenquimáticas libríformes; elementos de vaso com espessamentos escalariforme e reticulado, com paredes terminais simples, retas e oblíquas, e com prolongamentos curtos e longos.

D. 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, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: pesar cerca de 1 g da droga e levar a fervura, sob refluxo, com 10 mL de etanol durante 15 minutos. Após o resfriamento, filtrar em algodão.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de cloreto férrico a 1% (p/v).

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada	Zona de coloração azul-acinzentada (ácido gálico)
	Zona de coloração azul-acinzentada
	Zona de coloração azul-acinzentada
	Zona de coloração azul-acinzentada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

E. Aquecer, sob refluxo, cerca de 3 g da droga vegetal moída em 60 mL de água, durante 15 minutos. Esfriar e filtrar. A 2 mL do extrato, adicionar duas gotas de ácido clorídrico SR e gotejar gelatina SR até precipitação. O aparecimento de um precipitado nítido indica reação positiva para taninos totais.

F. A 2 mL do extrato obtido no teste **B.** em *Identificação*, adicionar 10 mL de água e duas a quatro gotas de solução de cloreto férrico a 1% (p/v) em etanol. O desenvolvimento de coloração cinza escura indica reação positiva para taninos totais.

G. A 2 mL do extrato obtido no teste **B.** em *Identificação*, adicionar 0,5 mL de vanilina a 1% (p/v) em metanol e 1 mL de ácido clorídrico. O desenvolvimento de coloração vermelha indica reação positiva para taninos condensados.

H. A 5 mL do extrato obtido no teste **B.** em *Identificação*, adicionar 10 mL de ácido acético 2 M e 5 mL de acetato de chumbo SR. O aparecimento de precipitado esbranquiçado, indica presença de taninos.

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 1%.

Água (5.4.1.4). Método gravimétrico. No máximo 14%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 4%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,50 g da droga pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria à temperatura entre 85 °C e 90 °C durante 30 minutos. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo e transferir as águas de lavagem com todo o conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: diluir 5 mL da *Solução estoque* em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir volumetricamente 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque* adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar mecanicamente em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água. Transferir volumetricamente 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol em balão volumétrico de 100 mL com água. Transferir volumetricamente 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Transferir volumetricamente 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v). Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos expressos em pirogalol % (p/p);

A₁ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A₂ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A₃ = absorvância medida para a *Solução referência*;

m₁ = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água em drogas vegetais; e

m₂ = massa em gramas de pirogalol.

Ácido gálico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 - 10	85 → 75	15 → 25	gradiente linear
10 - 12,5	75 → 60	25 → 40	gradiente linear
12,5 - 15	60 → 25	40 → 75	gradiente linear
15 - 17,5	25 → 85	75 → 15	gradiente linear
17,55 - 18	85	15	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca 0,50 g da droga pulverizada e transferir para um balão de fundo redondo de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria à temperatura entre 85 °C e 90 °C durante 30 minutos. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o balão de fundo redondo e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo da droga vegetal para o balão volumétrico. Completar o volume com água. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Soluções referência: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido gálico em água, para obter solução a 25,0 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção do ácido gálico na amostra é de aproximadamente 8,5 minutos. Calcular o teor de ácido gálico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times FD \times 100$$

em que,

TA = teor de ácido gálico % (p/p);

C_r = concentração do ácido gálico na *Solução referência* em g/mL;

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

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

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação; e
FD = fator de diluição (250).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

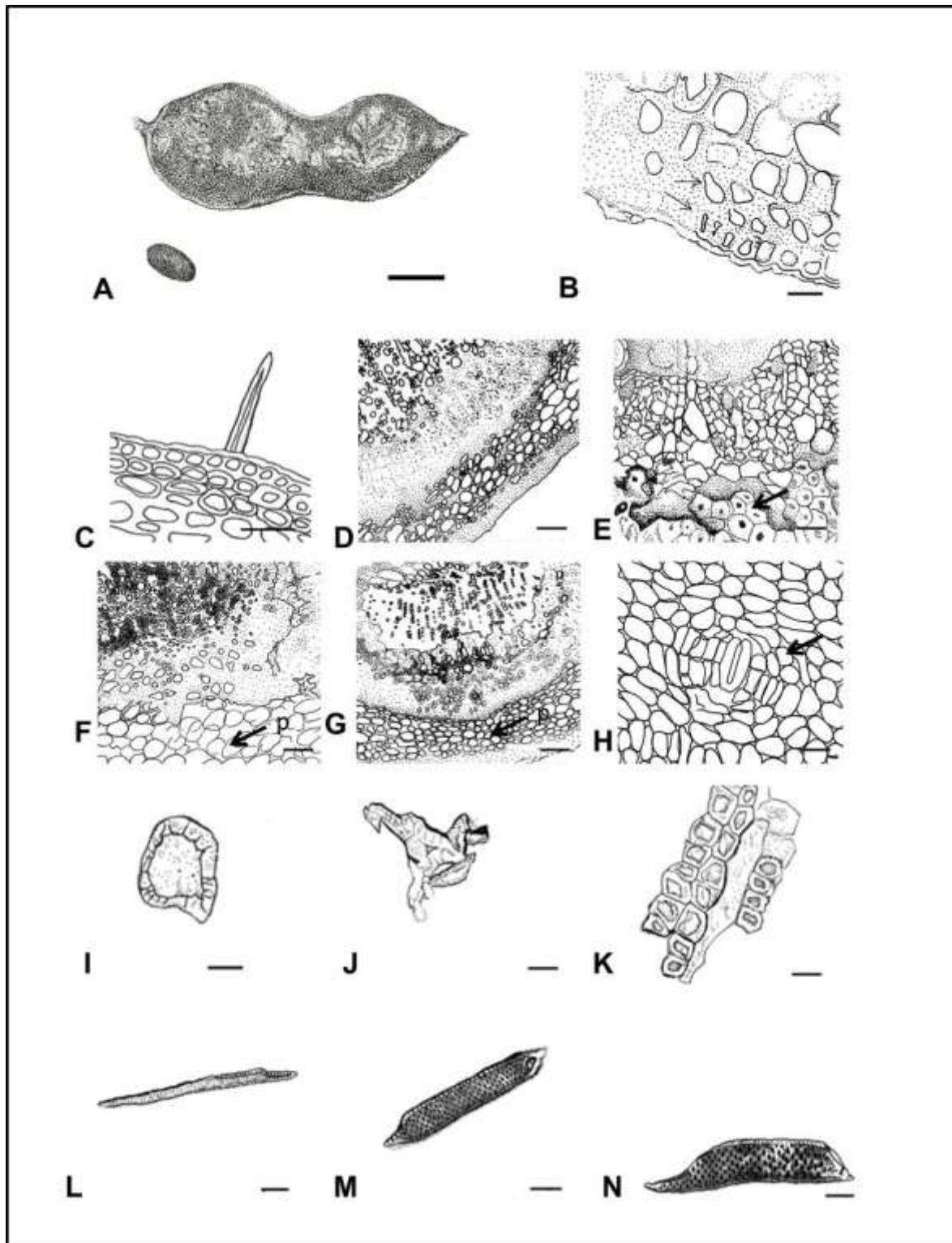


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó do fruto em *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B** e **G** a 100 μ m; **C**, **D**, **E**, **F** e **H** a 25 μ m; **I**, **J**, **K**, **L**, **M** e **N** a 25 μ m.

A – aspecto geral do fruto e da semente, em vista frontal. **B** - secção transversal do pericarpo do fruto mostrando o colênquima (seta) abaixo da epiderme (seta). **C** – tricoma tector. **D** - secção transversal do pericarpo do fruto. **E** - secção transversal do pericarpo do fruto mostrando o esclerênquima (seta). **F** - células parenquimáticas (seta) e parte de feixe vascular. **G** - feixe vascular e parênquima cortical (seta- p: parênquima). **H** – secção paradérmica na epiderme do pericarpo mostrando estômato ciclocítico (seta). **I-N** – detalhes observados no pó. **I** – macroesclereíde. **J** – esclereíde ramificado. **K** – células parenquimáticas contendo cristais prismáticos. **L** – fibras esclerenquimáticas libriformes. **M** – elemento de vaso com espessamento escalariforme. **N** - elemento de vaso com paredes terminais simples, retas e oblíquas, e com prolongamentos curtos e longos.

LARANJA-AMARGA, extrato fluido *Aurantii amari exocarpium extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir de porções secas do exocarpo, correspondente ao flavedo do fruto maduro, isento da maior parte do mesocarpo, correspondente ao albedo de *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium*, contendo, no mínimo, 2% de naringina (C₂₇H₃₂O₁₄, 580,54).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de cor castanho-amarelada ou castanho-avermelhada e odor cítrico.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel G₆₀.

Fase móvel: acetato de etila, água e ácido fórmico (75:15:10).

Solução amostra: diluir 0,3 mL de extrato fluido de laranja-amarga em 0,7 mL de etanol.

Solução referência: preparar uma solução a 10 mg/mL de naringina em metanol.

Revelador (1): dissolver 1 g de difenilborato de amino etanol em metanol e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

Revelador (2): solução de macrogol 400 a 50 g/L em metanol.

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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR (reagente natural A) e, a seguir, com solução de macrogol 400 a 50 g/L em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm após, no mínimo, 2 horas.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Naringina: zona fluorescente verde-escura	Zona fluorescente verde-escura (naringina)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0500 a 1,0850.

Etanol (5.3.3.8.1). 25% (v/v) a 40% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% de metanol e, no máximo, 0,05% de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo, 30,0% (p/p). Determinar em 2,0 g da amostra.

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

Naringina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 284 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida à temperatura ambiente de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido fórmico (100:0,1).

Fase móvel (2): metanol.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 - 3	80	20	isocrática
3 - 33	80 → 0	20 → 100	gradiente linear
33 - 34	0 → 80	100 → 20	gradiente linear
34 - 40	80	20	isocrática

Solução amostra: diluir 0,200 mL de extrato fluido de laranja-amarga em 25 mL com uma mistura de metanol e água (1:1).

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de naringina em solução de metanol e água (1:1), de modo a obter solução com concentração de 0,250 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir a área sob o pico correspondente a naringina. O tempo de retenção médio é de aproximadamente 17,6 minutos. Calcular o teor de naringina, em percentagem, segundo a expressão:

$$TN = \frac{C_r \times A_a \times 25 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TN = teor de naringina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

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

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

m = massa em gramas da amostra, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

LARANJA-AMARGA, óleo *Aurantii amari aetheroleum*

Óleo volátil obtido, por procedimento mecânico adequado sem aquecimento, a partir do exocarpo de frutos frescos de *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium*, contendo, no mínimo, 92% de limoneno ($C_{10}H_{16}$, 136,24).

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, amarelo, de cheiro característico de flores de laranjeira amarga.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila e tolueno (15:85).

Solução amostra: diluir 4 µL da amostra em etanol e completar o volume para 1 mL com o mesmo solvente.

Solução referência: diluir 0,5 µL de antranilato de metila, 1 µL de linalol, 2 µL de acetato de linalila e 1 mg de bergapteno em etanol e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Revelador: solução de anisaldeído.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com o *Revelador*, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 10 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após o exame sob a luz ultravioleta em 365 nm e, nebulização com o *Revelador*, e exame novamente sob a luz ultravioleta em 365 nm, na ordem. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Antranilato de metila: zona de fluorescência azul	Zona fraca de fluorescência azul (antranilato de metila)
Bergapteno: zona de fluorescência amarela-esverdeada	
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Acetato de linalila: zona de fluorescência amarela-acastanhada	Zona de fluorescência laranja-acastanhado Zona de fluorescência amarela-acastanhada fraca (acetato de
Antranilato de metila: zona de fluorescência azul	Zona fraca de fluorescência azul (antranilato de metila)
Linalol: zona de fluorescência alaranjada	Uma zona fraca de fluorescência vermelho-acastanhado Zona de fluorescência alaranjada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,848 a 0,860.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,473 a 1,476.

Poder rotatório (5.2.29.5). +88° a +98°.

Óleos fixos e óleos voláteis resignificados: Colocar uma gota da amostra num fragmento de papel de filtro. A gota deve evaporar completamente em 24 horas sem deixar mancha translúcida ou gordurosa.

Resíduo de evaporação. 2,0 % a 5,0%. Evaporar à secura em banho-maria 5,0 g da amostra e secar em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 4 horas.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de hidrogênio e ar sintético (1:45) 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 de filme de 0,25 µm. Utilizar nitrogênio ultrapuro como gás de arraste (1,0 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 8	60
	8 – 48	60 → 180
	48 – 53	180
Injetor		250
Detector		250

Solução amostra: diluir 200 µL do óleo volátil em 1 mL de hexano.

Solução referência: diluir 10 µL de α-pineno, 10 µL de β-pineno, 10 µL de mirceno, 800 µL de limoneno, 10 µL de linalol e 10 µL de acetato de linalila em 1 mL de hexano.

Procedimento: injetar volume de 0,5 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Adequabilidade do sistema

Ordem de eluição: ordem de preparação da *Solução referência*. Registrar os tempos de retenção das substâncias.

Resolução entre picos: *Solução referência*, mínimo 1,5 entre os picos referentes ao β-pineno e mirceno.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: α -pineno, 0,5 a 0,6%; β -pineno, 0,3 a 1,0%; mirceno, 1,0 a 3,0%; limoneno, 92,0 a 96,0%; linalol, 0,1 a 0,6%; acetato de linalila, 0,3 a 1,6%.

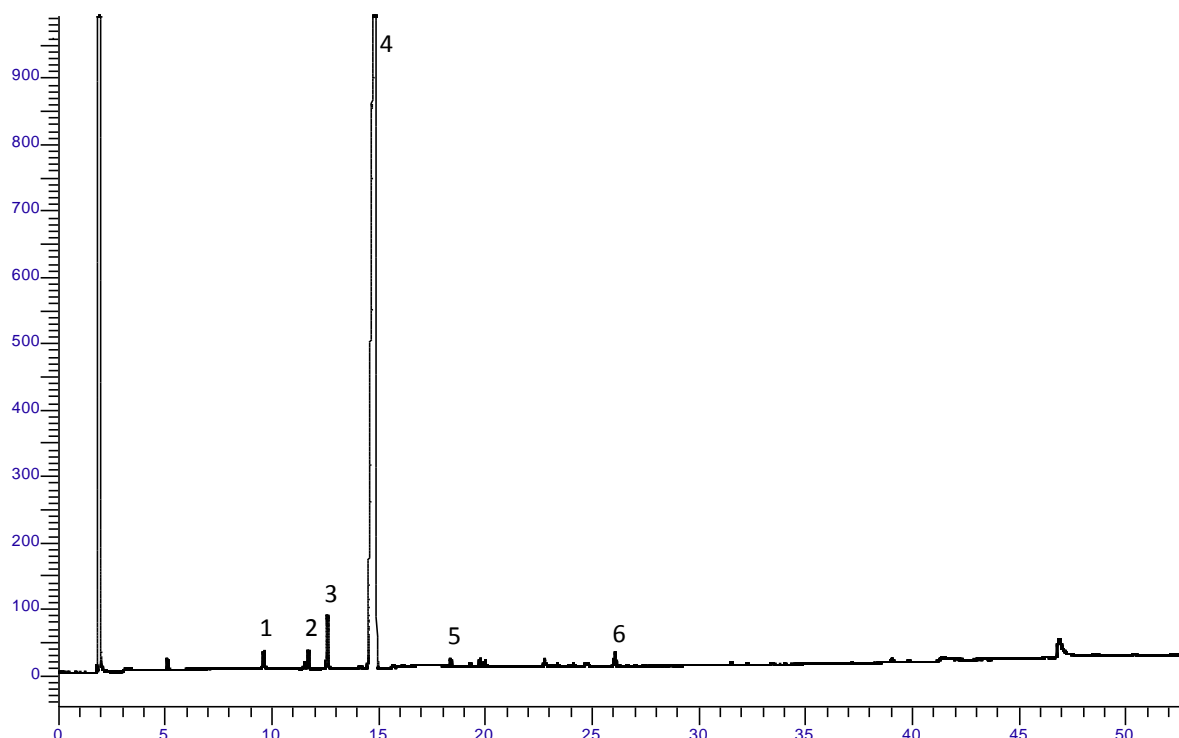


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *C. aurantium* L. subsp. *aurantium* por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α -pineno, 2- β -pineno, 3- mirceno, 4- limoneno, 5- linalol, 6- acetato de linalila.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

LARANJA-AMARGA, tintura *Aurantii amari exocarpium tinctura*

A tintura é obtida a partir do exocarpo, correspondente ao flavedo do fruto maduro, isento da maior parte do mesocarpo, correspondente ao albedo, de *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium* contendo, no mínimo, 0,25% de naringina ($C_{27}H_{32}O_{14}$, 580,54).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70 % como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de cor castanho-amarelada ou castanho-avermelhada e odor cítrico.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel G₆₀.

Fase móvel: acetato de etila, água e ácido fórmico (75:15:10)

Solução amostra: tintura de laranja amarga.

Solução referência: preparar uma solução a 10 mg/mL de naringina em metanol.

Revelador (1): dissolver 1 g de difenilborato de aminoetanol em metanol e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

Revelador (2): solução de macrogol 400 R 50 g/L em metanol.

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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR (reagente natural A) e, a seguir, com solução de macrogol 400 a 50 g/L em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365nm após, no mínimo, 2 horas.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Naringina: zona fluorescente verde escura	Zona fluorescente verde escura (naringina)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.5.5). 0,9030 a 0,9180.

Etanol (5.3.3.8.1). 95% (v/v) a 105% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo, 4,5% (p/p). Determinar em 2,00 g da amostra.

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

Naringina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 284 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida à temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): água-ácido fórmico (100:0,1)

Fase móvel (2): metanol

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 - 3	80	20	isocrático
3 - 33	80 → 0	20 → 100	gradiente linear
33 - 34	0 → 80	100 → 20	gradiente linear
34 - 40	80	20	isocrático

Solução amostra: diluir 0,3 mL de tintura de laranja amarga em 5 mL com uma mistura de metanol e água (1:1).

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de naringina em solução de metanol e água (1:1), de modo a obter solução com 0,225 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir a área sob o pico correspondente a naringina. O tempo de retenção médio é de aproximadamente 17,6 minutos. Calcular o teor de naringina, em percentagem, segundo a expressão:

$$TN = \frac{C_r \times A_a \times 5 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TN = teor de naringina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

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

A_a = área correspondente à naringina na *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da tintura, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes hermeticamente fechados ao abrigo da luz e do calor.

LARANJA-DOCE, óleo *Citrus aurantium dulcis aetheroleum*

Óleo volátil obtido, por meios mecânicos apropriados sem aquecimento, a partir do epicarpo de frutos frescos de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, contendo, no mínimo, 92% de limoneno ($C_{10}H_{16}$, 136,24).

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Citrus aurantium L. var. *sinensis* L.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, amarelo-claro a alaranjado, que pode turvar por arrefecimento.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila e tolueno (15:85).

Solução amostra: diluir 0,2 mL da amostra em 1 mL de etanol.

Solução referência: dissolver 2 mg de bergapteno, 10 µL de linalol e 20 µL de acetato de linalila em 10 mL de etanol.

Revelador: solução de anisaldeído.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105°C durante 5 a 10 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após o exame sob a luz ultravioleta em 365 nm e, nebulização com solução de anisaldeído, e exame novamente sob a luz ultravioleta em 365 nm, na ordem. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Bergapteno: zona de fluorescência amarela-esverdeada	Outras zonas de fluorescência azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Acetato de linalila: zona de fluorescência amarela-acastanhada	Zona de fluorescência castanha Zona de fluorescência amarela-acastanhada fraca (antranilato de metila)
Linalol: zona de fluorescência alaranjada Bergapteno: zona de fluorescência esverdeada fraca	Zonas de fluorescência laranja Zona de fluorescência alaranjada (linalol)
	Zonas de fluorescência laranja-acastanhada Zonas de fluorescência azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,842 a 0,850.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,470 a 1,476.

Poder rotatório (5.2.29.5). +94° a +99°.

Índice de peróxidos (5.2.29.11). No máximo 20.

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.

Óleos fixos e óleos voláteis resignificados. Cumpre o teste. Em um papel filtro de dimensões 3x3 cm, sobre um vidro de relógio de 10 cm de diâmetro, aplicar 5 µL da amostra. Aguardar 24 horas, tempo necessário para o óleo volatilizar completamente. Verificar ausência de resíduo. Realizar o teste em triplicata.

Resíduo de evaporação. 1,0% a 5,0%. Evaporar a secura em banho-maria 5,0 g da amostra e secar entre 100 °C e 105 °C, durante 4 horas.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de hidrogênio e ar sintético (1:45) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar nitrogênio ultrapuro como gás de arraste (1,0 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 6	50
	6 – 31	50 → 150
	31 – 41	150 → 180
	41 – 55	180
Injetor		250
Detector		250

Solução amostra: diluir 300 µL do óleo volátil de laranja-doce em 1 mL de acetona.

Solução referência (1): diluir 10 µL de α -pineno, 10 µL de β -pineno, 10 µL de sabineno, 20 µL de β -mirceno, 800 µL de limoneno, 10 µL de octanal, 10 µL de decanal, 10 µL de linalol, 10 µL de citral, 10 µL de valenceno em 1 mL de acetona.

Solução referência (2): diluir 5 µL de β -pineno em 10 mL de acetona. Diluir 0,5 mL dessa solução em 10 mL de acetona.

Procedimento: injetar 0,5 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência (1)* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Adequabilidade do sistema

Resolução dos picos: *Solução referência (1)*, mínimo 3,9 entre os picos referentes ao β -pineno e ao sabineno, e, no mínimo, 1,5 entre os picos referentes ao valenceno e ao geranial.

Limite de exclusão: área do pico do cromatograma obtido com a *Solução referência (2)* (0,01%).

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: α -pineno 0,4 a 0,6%; β -pineno 0,02 a 0,3%; sabineno 0,2 a 1,1%; β -mirceno 1,7 a 2,5%; limoneno 92,0 a 97,0%; octanal 0,1 a 0,4%; decanal 0,1 a 0,4%; linalol 0,2 a 0,7%; neral 0,02 a 0,10%; valenceno 0,02 a 0,5%; e geranial 0,03 a 0,20%.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

LIMÃO, óleo
Limonis aetheroleum

Óleo volátil obtido por meios mecânicos apropriados, sem aquecimento, a partir do pericarpo fresco de *Citrus x limon* (L.) Osbeck, contendo, no mínimo, 56,0% de limoneno (C₁₀H₁₆, 136,24).

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de coloração amarelo-clara a amarelo-esverdeada, com odor característico. Pode tornar-se turvo à baixa temperatura.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (85:15)

Solução amostra: diluir 1 mL da amostra em 1 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 10 mg de citropteno e 50 µL de citral em tolueno e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de bandas, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: nos esquemas abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após exame sob a luz ultravioleta em 254 nm e 365 nm, respectivamente. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Citral: zona de atenuação de fluorescência	Zona de atenuação de fluorescência Zona de atenuação de fluorescência
Citropteno: zona de atenuação de fluorescência	Zona de atenuação de fluorescência Zona de atenuação de fluorescência Zona de atenuação de fluorescência
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência azul brilhante
Citropteno: zona de fluorescência azul brilhante	Zona de fluorescência azul brilhante Zona de fluorescência laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,850 a 0,858.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,473 a 1,476.

Poder rotatório (5.2.29.5). $+57^\circ$ a $+70^\circ$.

Óleos fixos e óleos voláteis resignificados. Colocar uma gota da amostra em papel filtro. A gota deve evaporar completamente em 24 horas sem deixar mancha translúcida ou gordurosa.

Resíduo de evaporação: No mínimo 1,8% e, no máximo 3,6%. Aquecer 1,0 g da amostra em banho-maria e secar em estufa entre 100°C e 105°C , durante 4 horas. Resfriar em dessecador e pesar.

Espectro no ultravioleta. Dissolver 0,250 g da amostra em etanol, misturar, completar o volume para 100,0 mL com o mesmo solvente e homogeneizar. Determinar a absorvância (5.2.14) entre 260 nm e 400 nm. Se o espectrofotômetro utilizado não for de registro automático, efetuar as determinações de absorvância em intervalos de 5 nm a partir de 260 nm até cerca de 12 nm antes do máximo de absorção esperado. Efetuar então três determinações com intervalos de 3 nm e depois determinações, sucessivas, com intervalos de 1 nm até cerca de 5 nm para além do máximo e finalmente a intervalos de 10 nm até 400 nm. Traçar a curva do espectro de absorção colocando em ordenadas os valores da absorvância e em abcissas os comprimentos de onda. Traçar a tangente entre os pontos *A* e *B* do diagrama que constitui a linha de base. O máximo de absorção *C* está em 315 ± 3 nm. Partindo do ponto *C*, baixar perpendicularmente ao eixo das abcissas uma linha vertical que intercepte a tangente *AB* em *D*. Deduzir a absorvância no ponto *D* da absorvância no ponto *C*. O valor *C-D* está compreendido entre 0,20 e 0,96. Para o óleo volátil de limão do tipo Siciliano, esse valor não é inferior a 0,45.

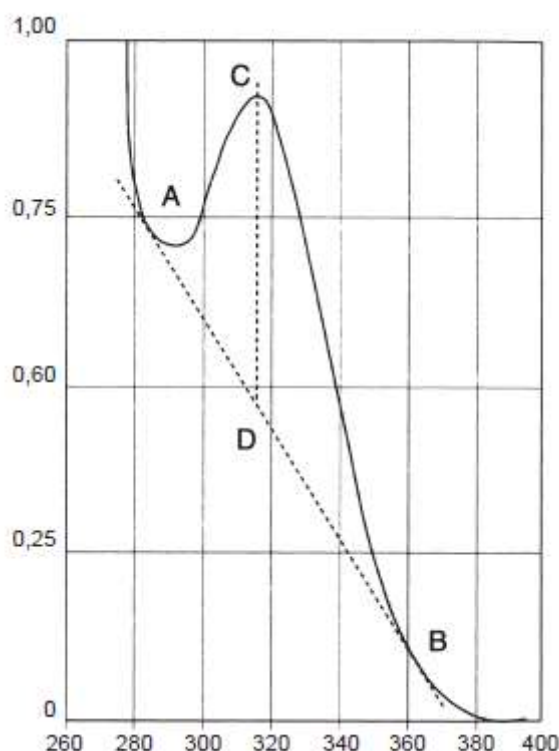


Figura 1 – Espectro de absorvância no ultravioleta do pericarpo fresco de *Citrus x limon* (L.) Osbeck.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás* (5.2.17.5). Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de nitrogênio, hidrogênio e ar sintético (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de

filme de 0,25 µm. Utilizar hélio purificado como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 6	45
	6 – 21	45 → 90
	21 – 39	90 → 180
	39 – 55	180
Injetor		220
Detector		220

Solução amostra: óleo volátil de limão.

Solução referência: diluir 20 µL de β-pineno, 10 µL de sabineno, 100 µL de limoneno, 10 µL de γ-terpineno, 5 µL de β-cariofileno, 20 µL de citral, 5 mg de α-terpineol, 5 µL de acetato de nerilo e 5 µL de acetato de geranilo em 1 mL de acetona.

Procedimento: injetar volume de 0,5 µL da *Solução referência* e 0,2 µL da *Solução amostra* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia gasosa acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Ordem de eluição: ordem de preparação da *Solução referência*. Registre os tempos de retenção das substâncias.

Adequabilidade do sistema

Resolução dos picos: *Solução referência*. mínimo 1,5 entre os picos devidos ao β-pineno e sabineno, mínimo 5,0 entre os picos devidos de acetato de nerila e α-terpineol e mínimo 1,5 entre os picos devidos ao geraniol e ao acetato de geranilo.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra* verificar a presença dos componentes conforme segue: β-pineno, 7,0 a 17,0%; sabineno, 1,0 a 3,0%; limoneno, 56,0 a 78,0%; γ-terpineno, 6,0 a 12,0%; β-cariofileno, no máximo 0,5%; neral, 0,3 a 1,5%; α-terpineol, no máximo 0,6%; acetato de nerilo, 0,2-0,9%; geraniol, 0,5 a 2,3%; e acetato de geranilo, 0,1 a 0,8%.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

MACELA, inflorescência

Achyroclines flos

A droga vegetal consiste de inflorescências secas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., contendo, no mínimo, 3% de flavonoides totais calculados como quercetina, no mínimo, 0,8% de quercetina (C₁₅H₁₀O₇, 302,24), e, no mínimo, 0,6% de 3-*O*-metilquercetina (C₁₆H₁₂O₇, 316,27).

CARACTERÍSTICAS

As inflorescências possuem coloração variando de amarelo-pálido à amarelo-ouro intenso e odor aromático característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A droga é constituída pelas flores reunidas em capítulos agrupados em glomérulos, sendo estes por sua vez organizados em cimas paniculiformes. Cada capítulo apresenta quatro a oito flores dimorfas, protegidas por um involúcro subcilíndrico, de 4,0 a 7,0 mm de altura, formado por nove a 14 brácteas involucrais escariosas, hialinas, naviculares, imbricadas, dispostas em três ou quatro séries, de coloração amarela, amarelo-clara, amarelo-pálida a esverdeada, ou ainda amarelo-dourada, amarelo-pardo a amarelo-avermelhada. Brácteas externas de 2,5 a 3,0 mm de comprimento; brácteas medianas de 3,5 a 4,5 mm de comprimento; brácteas internas de 3,0 a 7,0 mm de comprimento, todas com tricomas tectores simples, lanosos, de 2,0 a 3,0 mm de comprimento e/ou tricomas glandulares apenas no seu terço inferior externo. Flores marginais três a seis, pistiladas, com corola filiforme, de 3,0 a 4,5 mm de comprimento, dentada ou partida no ápice, com tricomas glandulares na porção apical externa; estilete filiforme, bífido, glabro, dilatado próximo à base, com ramos estigmáticos geralmente exsertos na maturação, de ápice truncado, papiloso e com uma coroa de tricomas na porção apical; ovário ínfero, bicarpelar e unilocular, monospermico; papus unisseriado, com cerca de 20 cerdas brancas, ásperas, livres entre si na base, que alcançam quase a mesma altura da corola, raramente mais. Flores do disco uma a três, perfeitas, com corola tubulosa, estreita, de 3,0 a 4,5 mm de comprimento, tubo ligeiramente dilatado na base e limbo pentadentado, dentes com tricomas glandulares na face externa; androceu com 5 estames, epipétalos, inseridos na metade inferior da corola, com anteras sinânteras, de 1,5 a 2,0 mm de comprimento, com deiscência longitudinal e introrsa, sagitadas na base, apresentando duas caudas laciniadas, uma de cada lado; conetivo prolongado em um apêndice apical triangular, levemente obtuso, hialino; ovário, estilete e papus semelhantes aos das flores pistiladas. Fruto aquênio, castanho-claro ou pardo, de 0,7 a 0,8 mm de comprimento, elipsoidal a obovado, levemente comprimido, glabro, de superfície papilosa.

B. Descrição microscópica

A face abaxial das brácteas apresenta epiderme formada por células alongadas, de formato retangular. No terço inferior ocorrem tricomas tectores pluricelulares e unisseriados, e/ou glandulares, formados por um pedicelo bi a trisseriado, com três ou quatro camadas de células e por duas células terminais ovalado-alongadas, bem maiores do que as anteriores. Os tricomas glandulares das brácteas medem 60 a 100 µm de comprimento total e sua cabeça possui diâmetro de 30 a 40 µm. O papus é constituído de cerdas longas, formadas por células alongadas, hialinas, de paredes finas, muitas delas projetadas lateralmente. A face abaxial da corola apresenta epiderme formada por células alongadas, de contorno poligonal. Cinco feixes vasculares percorrem longitudinalmente o tubo da corola. As lacínias são

cobertas na face externa por tricomas glandulares semelhantes aos das brácteas. Os grãos de pólen apresentam exina espinhosa, são esferoidais e tricolpados, medindo de 17 a 35 µm de diâmetro. O ovário é recoberto por uma camada de células epidérmicas poligonais, seguido por um tecido parenquimático constituído por várias camadas de células, que na maturação se reduzem a três ou quatro. Internamente, encontra-se apenas um rudimento seminal anátropo, preenchendo totalmente a cavidade ovariana. O estilete apresenta uma expansão globosa próxima à base, constituída por numerosas células arredondadas, de paredes finas. O fruto, quando maduro, apresenta um pericarpo formado por três ou quatro camadas de células.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração amarela ou uma variante de amarelo; brácteas involucrais ou seus fragmentos; fragmentos de corola das flores liguladas; fragmentos de corola das flores tubulosas; fragmentos do tubo da corola com células alongadas, de contorno poligonal, com ou sem porções de feixes vasculares; fragmentos de lacínias da corola com tricomas glandulares, como os descritos em microscopia; tricomas glandulares esparsos; cerdas do papus ou seus fragmentos com células projetadas lateralmente; estames ou partes destes com anteras sagitadas na base e cauda laciniada; grãos de pólen como os descritos; estiletos bífidos de base dilatada, ou fragmentos destes; aquênios como os descritos; fragmentos do pericarpo; fragmentos do tegumento da semente.

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

Fase estacionária: celulose.

Fase móvel: clorofórmio, ácido acético e água (50:45:5).

Solução amostra: adicionar 0,3 g da droga em 15 mL de metanol e agitar durante 20 minutos. Filtrar e secar o filtrado em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol.

Solução referência (1): preparar solução com concentração de 100 µg/mL de quercetina em metanol.

Solução referência (2): preparar uma solução com concentração de 100 µg/mL de luteolina em metanol.

Solução referência (3): preparar uma solução com concentração de 100 µg/mL de 3-O-metilquercetina em metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL das *Soluções referência (1), (2) e (3)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida, com solução de polietilenoglicol 400 a 50 g/L em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm, após, no mínimo 2 horas.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução referência (3)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Luteolina: zona fluorescente laranja	Zona fluorescente laranja (luteolina)
3- <i>O</i> -metilquercetina: zona fluorescente amarela	Zona fluorescente amarela (3- <i>O</i> -metilquercetina)
Quercetina: zona fluorescente laranja	Zona fluorescente laranja (quercetina)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

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

Fase estacionária: sílica gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol, água (100: 17:10).

Solução amostra: agitar 0,1 g da droga em 15 mL de metanol durante 20 minutos. Filtrar e secar o filtrado em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol.

Solução referência: preparar solução com concentração de 200 µg/mL de ácido clorogênico em metanol.

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. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida, com solução de polietilenoglicol 400 a 5% (p/v) em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra* e a *Solução referência*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração castanha Zona de coloração amarela intensa Zona de coloração azul
	Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência amarela Zona de coloração castanha
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azulada	Zona de fluorescência azulada Zona de coloração amarela
	Zona de fluorescência azulada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%. É permitida a presença de pedúnculos e pedicelos das inflorescências, em um comprimento de até 3 cm e correspondendo a um valor máximo de 1% do peso seco do conjunto.

Perda por dessecação (5.4.2.3). *Método gravimétrico.* No máximo 12,5%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 6%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da droga pulverizada (800 µm) (5.2.11) em balão de fundo redondo com boca esmerilhada de 100 mL. Acrescentar 15 mL de etanol a 80% (v/v) e aquecer em banho-maria a temperatura de 90 °C, sob refluxo, durante 15 minutos. Após resfriamento

filtrar em pequena porção de algodão para balão volumétrico de 25 mL. Retornar o resíduo da droga e o algodão para o mesmo balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de etanol a 80% (v/v). Aquecer, sob refluxo, durante 15 minutos. Filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Após resfriamento, à temperatura ambiente, completar o volume para 25 mL com etanol a 80% (v/v) e homogeneizar. Diluir alíquota de 10 mL dessa solução a 25 mL com etanol a 80% (v/v).

Solução amostra: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL de solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em etanol a 80% (v/v), completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com etanol a 80% (v/v) e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 420 nm, 30 minutos após seu preparo, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais expressos como quercetina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TF = \frac{A \times FD}{m \times A_{1cm}^{1\%}}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expresso em quercetina % (p/p);

A = absorvância medida;

FD = fator de diluição;

$A_{1cm}^{1\%}$ = coeficiente de absorção específica da quercetina (561); e

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

Quercetina e 3-O-metilquercetina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 357 nm para a 3-O-metilquercetina e 371 nm para a quercetina, pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida a temperatura de 22 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido trifluoracético (100:0,006).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 - 5	72 → 65	28 → 35	gradiente linear
5 - 13	65	35	isocrático
13 - 18	65 → 40	35 → 60	gradiente linear
18 - 20	40 → 30	60 → 70	gradiente linear
20 - 25	30 → 72	70 → 28	gradiente linear
25 - 30	72	28	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,15 g da droga seca e moída (850) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 15 mL de etanol a 80% (v/v) e levar ao refluxo em banho-

maria a 90°C durante 30 minutos. Deixar esfriar a temperatura ambiente. Filtrar o extrato em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Retornar o algodão e o resíduo da droga para o mesmo balão de fundo redondo e extrair novamente, sob refluxo, com mais 10 mL de etanol a 80% (v/v), durante 15 minutos. Esfriar e filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com etanol a 80% (v/v) e homogeneizar.

Solução referência (1): dissolver quantidade exatamente pesada de quercetina em metanol para obter solução a 54 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver quantidade exatamente pesada de 3-*O*-metilquercetina em metanol para obter solução a 40 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência (1)*, 10 µL da *Solução referência (2)* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Os tempos de retenção para a quercetina e 3-*O*-metilquercetina são cerca de 18 e 19 minutos, respectivamente. Calcular o teor de quercetina e 3-*O*-metilquercetina, separadamente, em porcentagem, considerando as respectivas *Soluções referências*, segundo a expressão:

$$TQ = \frac{C_r \times A_a \times 25 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TQ = teor de quercetina ou 3-*O*-metilquercetina % (p/p);

C_r = concentração da quercetina ou 3-*O*-metilquercetina na *Solução referência* em g/mL;

A_r = área sob o pico correspondente à quercetina ou a 3-*O*-metilquercetina na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente à quercetina ou a 3-*O*-metilquercetina na *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

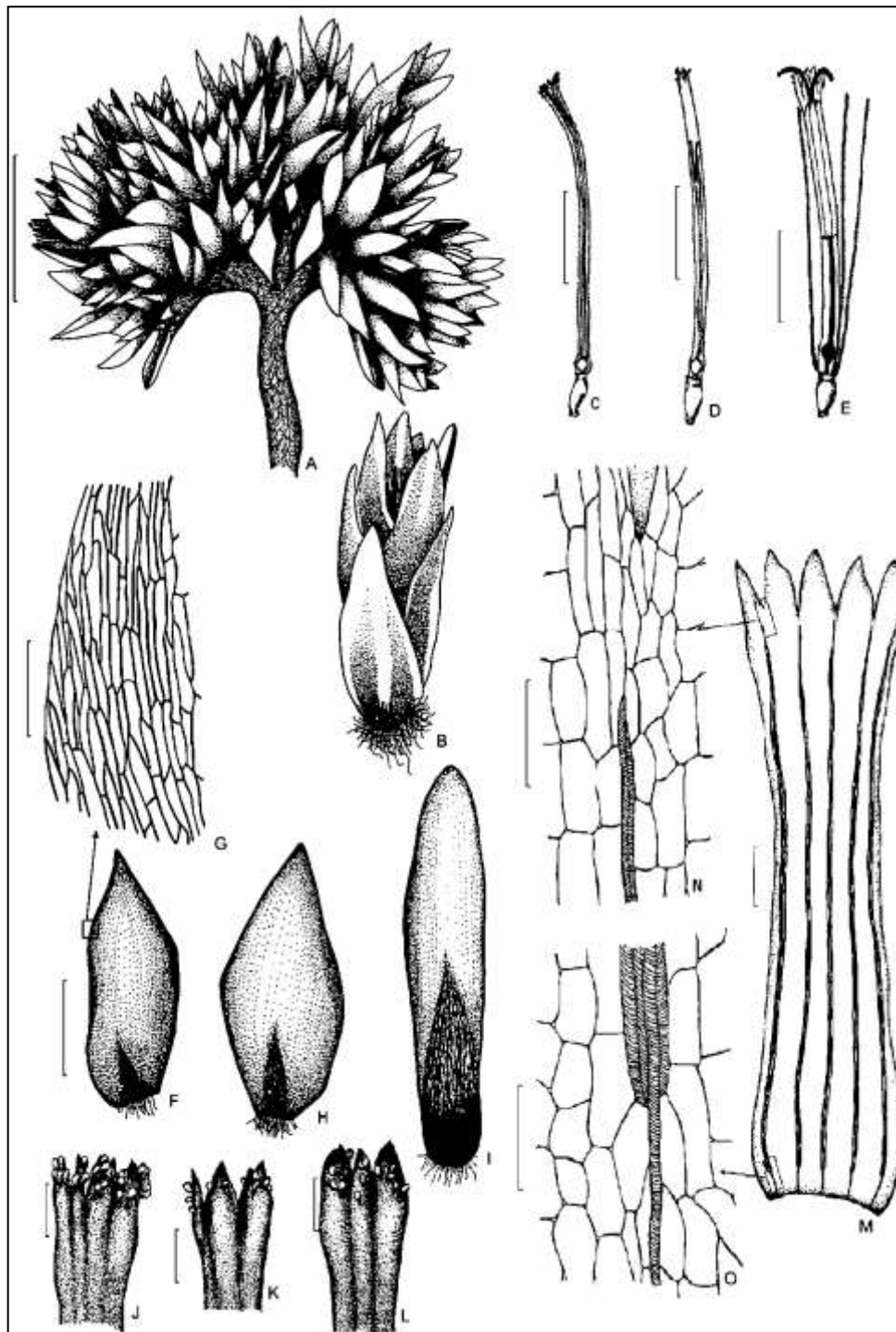


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

As escalas correspondem em A a 5 mm, B, C, D, E, F, H e I a 1 mm, G a 100 μ m, J, K e L a 200 μ m, M a 300 μ m, N e O a 50 μ m.

A - aspecto geral de uma inflorescência. B - aspecto de um capítulo em vista lateral. C e D - flores pistiladas em vista lateral. E - flor perfeita com cerdas do pappus em vista lateral. F - aspecto da bráctea externa do capítulo. G - detalhe do parênquima da bráctea, como indicado em F. H - aspecto da bráctea mediana do capítulo. I - aspecto da bráctea interna do capítulo. J a L - porção apical da corola tubulosa, mostrando a variabilidade de número e tamanho dos tricomas glandulares. M - aspecto geral da nervação da corola. N - detalhe da nervação na porção apical da corola, como indicado em M. O - detalhe da nervação na porção basal da corola, como indicado em M.

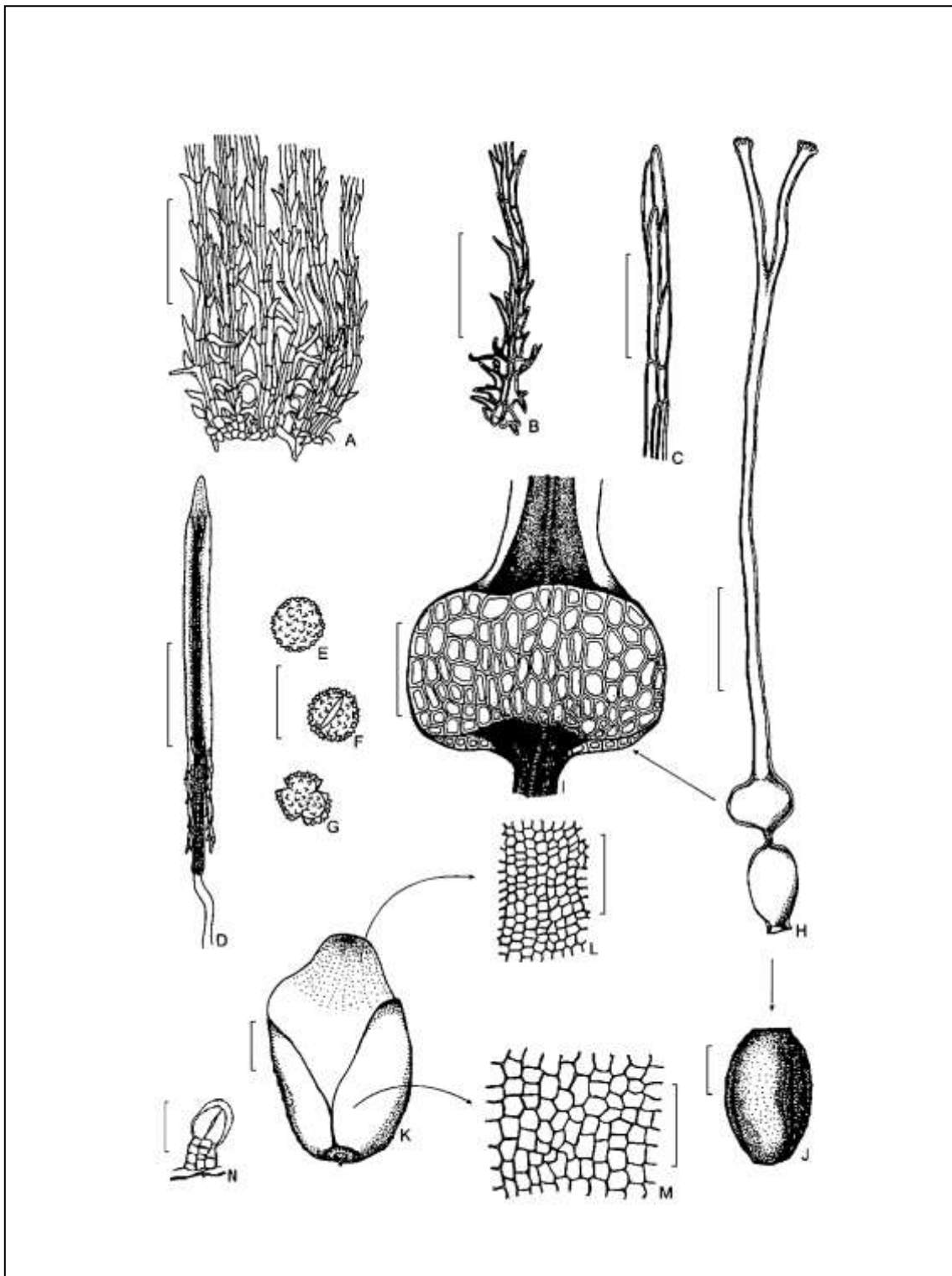


Figura 2 – Aspectos macroscópicos e microscópicos do pó em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

As escalas correspondem em A a 10 μm , B, C, D, I, L e M a 100 μm , E, F e G a 30 μm , H a 0,5 mm, J e K a 200 μm , N a 50 μm .

A - detalhe da base do papus. B - base da cerda do papus. C - ápice da cerda do papus. D - estame, em vista lateral. E, F e G - grãos de pólen. H - aspecto do gineceu em vista lateral. I - detalhe do gineceu, na região dilatada indicada em H. J - detalhe do ovário, na região indicada em H. K - fruto, em vista lateral. L - detalhe de fragmento do tegumento da semente na porção indicada em K. M - detalhe de fragmento do pericarpo do fruto na porção indicada em K. N - aspecto de um tricoma glandular com pedicelo trisseriado e duas células terminais.

MALVA, flor

Malvae flos

A droga vegetal consiste de flores secas, inteiras ou fragmentadas de *Malva sylvestris* L. ou de suas variedades cultivadas.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Flores actinomorfas, com 3 a 6 cm de diâmetro quando abertas; cálculo formado por três brácteas esverdeadas, pilosas, elípticas, de até 7 mm de comprimento; cálice gamossépalo na base, formado por cinco sépalas triangulares, pilosas, esverdeadas; corola três a quatro vezes maior que o cálice, com cinco pétalas cuneiformes, cada pétala com nervação escura evidente, pétalas de coloração violácea ou rosada quando frescas e coloração violácea escura quando secas; estames numerosos, soldados pelos filetes formando um tubo estaminal unido à base das pétalas, densamente coberto de tricomas tectores e glandulares, as anteras são monotecas e livres; ovário piloso externamente, com vários carpelos, estiletes unidos, envoltos pelo tubo estaminal e estigmas livres e capitados. Fruto esquizocarpo, raramente presente.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, as bractéolas, sépalas e pétalas apresentam epiderme uniestratificada, com tricomas tectores simples, unicelulares de ponta curvada e estrelados com duas a seis células de paredes espessadas, além de tricomas glandulares, formados por uma célula basal, duas células no pé e uma cabeça secretora pluricelular, unisseriada; na face abaxial da epiderme das bractéolas e sépalas encontram-se estômatos anomocíticos; no parênquima das sépalas ocorrem idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio; mesofilo das pétalas com grandes idioblastos contendo mucilagem; anteras com epiderme papilosa, pólen globoso, com exina espinhosa, de coloração amarelada e com 110 a 160 µm de diâmetro; o parênquima do ovário apresenta idioblastos com drusas e células mucilaginosas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: porções de epiderme das bractéolas com estômatos anomocíticos; porções de epiderme das sépalas com estômatos anomocíticos; porções de epiderme de bractéolas, sépalas e pétalas com diferentes tipos de tricomas; fragmentos de parênquima com drusas de oxalato de cálcio; porções de células dos tecidos das pétalas contendo idioblastos mucilaginosos; fragmentos de anteras; restos de tecido da deiscência das anteras; grãos de pólen amarelados com exina espinhosa.

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

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

Fase móvel: butanol, água e ácido acético (60:30:15).

Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 10 mL de etanol a 60% e agitar mecanicamente durante 15 minutos. Filtrar e secar, à vácuo, o extrato até resíduo, em temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL de metanol e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de vermelho de quinaldina em etanol absoluto, para obter a concentração de 0,5 g/L.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar a placa sob a luz visível.

Resultado: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Vermelho de quinaldina: zona de coloração rosa	Zona de coloração roxa Zona de coloração roxa
<i>Soluções de referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 12%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 14,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2,0%.

Índice de intumescência (5.4.1.11). No mínimo 15%. Determinar em 0,2 g da droga pulverizada e umedecida com 0,5 mL de etanol absoluto.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

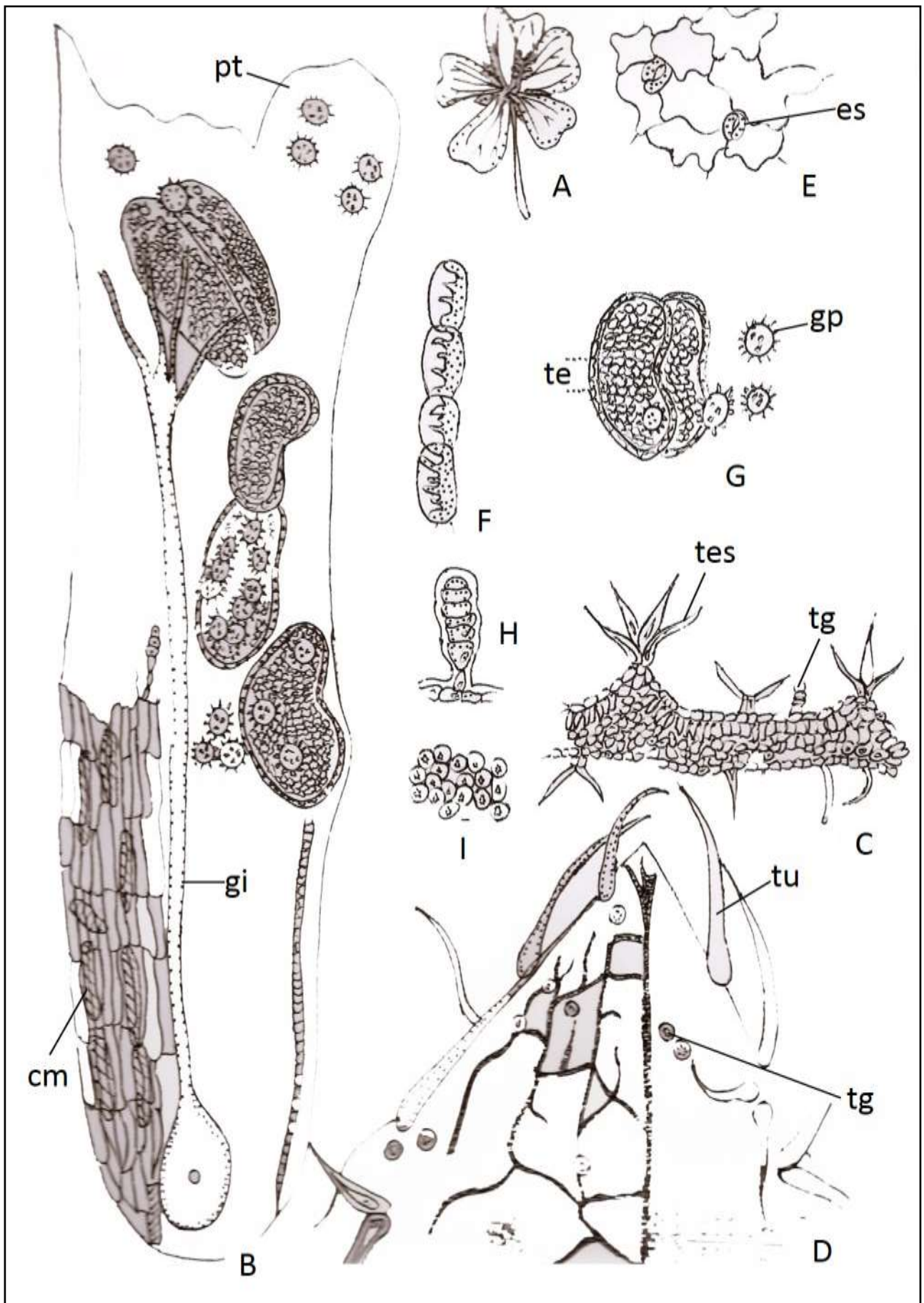


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Malva sylvestris* L.

A - aspecto geral da flor. **B** - fragmento da flor, em vista longitudinal, mostrando as células mucilaginosas (cm) na epiderme da pétala (pt), gineceu (gi) com os estiletos unidos e estigmas separados, anteras com as tecas e grãos de pólen. **C-D** - cálice; **C** - secção transversal da sépala com tricomas glandulares (tg) e tricomas estrelados (tes); **D** - fragmento apical da sépala, em vista frontal, com tricomas glandulares (tg) e tricomas simples unicelulares curvos (tu); **E** - vista frontal de fragmento da epiderme da bractéola com estômatos (es) anomocíticos; **F** - tecido mecânico de deiscência da antera; **G** - anteras monotecas (te) e grãos de pólen (gp); **H** - tricoma glandular unisseriado da corola; **I** - detalhe de fragmento do parênquima de sépalas e bractéolas contendo drusas de oxalato de cálcio.

MANTEIGA DE CACAU

Cacao oleum

Gordura sólida obtida a partir das sementes torradas de *Theobroma cacao* L.

CARACTERÍSTICAS

Gordura amarelo-pálida, sólida, com odor característico, semelhante ao cacau.

TESTES

Solubilidade. Facilmente solúvel em éter etílico e éter de petróleo com faixa de ebulição de 40 °C a 60 °C. Pouco solúvel em etanol a 96%.

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo 4,0.

Índice de iodo (5.2.29.10). 35 a 40.

Ponto de fusão (5.2.2). *Método II.* 31°C a 34 °C.

Índice de refração (5.2.6). 1,456 a 1,458, a 40 °C.

Índice de saponificação. 188 a 196.

Dissolver 35 a 40 g de hidróxido de potássio em 20 mL de água e completar o volume com etanol a 95% em balão de 1000 mL. Deixar a solução em repouso por 12 horas e filtrar. Em balão de fundo redondo de 250 mL pesar, com exatidão, cerca de 2 g de amostra e adicionar 25 mL da solução de hidróxido de potássio em etanol preparada. Adaptar o balão ao condensador de refluxo e aquecer em banho-maria, por 1 hora, com agitação frequente. Titular à quente com solução de ácido clorídrico 0,5 M SV utilizando 1 mL de solução de fenolftaleína como indicador. Proceder ao ensaio branco. O índice de saponificação é calculado conforme a expressão:

$$I_s = \frac{28,05 (n_2 - n_1)}{m}$$

em que,

n_1 = volume corrigido de titulante;

n_2 = volume corrigido de titulante no ensaio em branco; e

m = massa de amostra pesada.

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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CATEGORIA

Excipiente farmacotécnico.

MELALEUCA, óleo *Melaleuca aetheroleum*

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas e ramos terminais de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel, contendo, no mínimo, 30% de terpinen-4-ol (C₁₀H₁₈O, 154,25).

CARACTERÍSTICAS

Líquido incolor à amarelo pálido.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila e heptano (20:80).

Solução amostra: diluir 0,1 mL da amostra a ser examinada em 5 mL de heptano.

Solução referência: dissolver 30 µL de 1,8-cineol, 60 µL terpinen-4-ol e 10 mg de α-terpineol em 10 mL de heptano.

Revelador: misturar, na ordem, 0,5 mL de anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de metanol e 5 mL de ácido sulfúrico.

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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com o *Revelador* e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
1,8-cineol: zona de coloração rosada	Zona de coloração rosada (1,8-cineol)
terpinen-4-ol: zona de coloração rosada	Zona de coloração rosada (terpinen-4-ol)
α -terpineol: zona de coloração rosada	Zona de coloração rosada (α -terpineol)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,885 a 0,906.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,475 a 1,482.

Poder rotatório (5.2.29.5). +5° a +15°.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 μ m. Utilizar nitrogênio purificado como gás de arraste (1,3 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 1	50
	1 – 37	50 → 230
	37 – 45	230
Injetor		240
Detector		240

Solução amostra: diluir 4,5 μ L do óleo volátil em 300 μ L de hexano.

Solução referência: dissolver 5 μ L de α -pineno, 5 μ L de sabineno, 15 μ L α -terpineno, 5 μ L de limoneno, 5 μ L de 1,8-cineol, 30 μ L de γ -terpineno, 5 μ L de *p*-cimeno, 5 μ L de terpinoleno, 60 μ L de terpinen-4-ol, 5 μ L de aromadendreno e 5 mg de α -terpineol em 10 mL de hexano.

Procedimento: injetar volume de 1 μ L da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo à gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás acoplada a detector de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: Solução referência, mínimo 2,5 entre os picos referentes ao limoneno e 1,8-cineol.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: α -pineno, 1,0 a 6,0%; sabineno, inferior a 3,5%; α -terpineno, 5 a 13,0%; limoneno, 0,5 a 4,0%; 1,8-cineol, inferior a 15%; γ -terpineno, 10 a 28%; *p*-cimeno, 0,5-12%; terpinoleno, 1,5 a 5%; terpinen-4-ol, no mínimo 30,0%; aromadendreno, inferior a 7,0%; e α -terpineol, 1,5 a 8,0%.

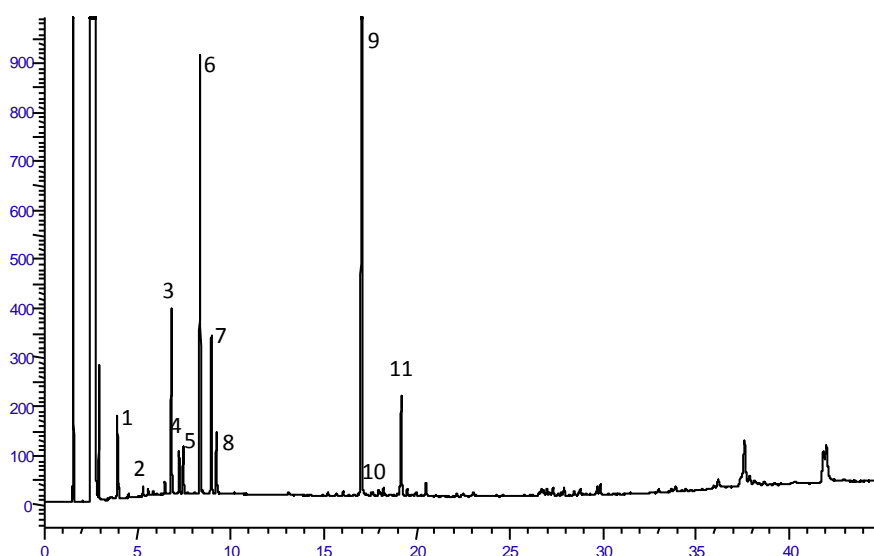


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α -pineno, 2- sabineno 3- α -terpineno, 4- limoneno, 5- 1,8-cineol, 6- γ -terpineno, 7- *p*-cimeno, 8- terpinoleno, 9-terpinen-4-ol, 10-aromadendreno e 11- α - terpineol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

NOZ-DE-COLA, extrato fluido

Colae semen extractum fluidum

O extrato fluido é obtido a partir de cotilédones secos de *Cola nítida* (Vent.) Schott & Endl., contendo, no mínimo, 0,6% (p/v) de cafeína ou, no mínimo, 1,0% (p/v) de metilxantinas, expresso como cafeína (C₈H₁₀N₄O₂, 194,19).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido, castanho escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (77:13:10).

Solução amostra: extrato fluido

Solução referência (1): dissolver 25 mg de cafeína em 10 mL de etanol a 60%.

Solução referência (2): dissolver 10 mg de teobromina em 10 mL de uma mistura de água, metanol e etanol (1:2:2), aquecendo se necessário.

Revelador (1): etanol e ácido clorídrico concentrado (1:1).

Revelador (2): dissolver 1 g de iodo e 1 g de iodeto de potássio em 100 mL de etanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com o *Revelador (1)*. A seguir, nebulizar a placa com o *Revelador (2)*.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas ocasionalmente podem estar presentes.

Parte superior da placa	
<p>Cafeína: zona de coloração castanho avermelhada</p> <p>Teobromina: zona de atenuação de fluorescência</p>	<p>Zona de coloração castanho avermelhada</p>
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9755 a 0,9785

Etanol (5.3.3.8.1). 65% a 75% (p/v). *Método por destilação, Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool.*

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 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.

DOSEAMENTO

Metilxantinas

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: transferir 1,0 mL da amostra de extrato fluido de noz-de-cola para um balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) e homogeneizar. Transferir 3,0 mL da solução obtida, diluir para 100 mL utilizando solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) e homogeneizar. Preparar um branco com 1,0 mL de etanol a 70% submetido às mesmas condições de diluição da amostra diluente e subtrair o valor encontrado na leitura da

Solução amostra.

Solução referência: dissolver 25 mg de cafeína com ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) em balão volumétrico de 100 mL, completar o volume e homogeneizar para obter solução a 250 µg/ mL. Diluir 5 mL dessa solução para 50 mL utilizando o mesmo diluente obtendo-se uma solução a 25 µg/ mL de cafeína.

Soluções para curva analítica: transferir alíquotas de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL e 7 mL da *Solução referência*, diluir com ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) em balão volumétrico de 25 mL, completar o volume e homogeneizar, obtendo-se soluções com as concentrações respectivas de 1 µg/mL, 2 µg/mL, 3 µg/mL, 4 µg/mL, 5 µg/mL, 6 µg/mL e 7 µg/mL.

Procedimento: determinar a absorvância das *Soluções para curva analítica* e da *Solução amostra* em 271 nm utilizando cubetas de 1 cm e solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) para ajuste do zero. Calcular o teor de metilxantinas, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TM = C \times 0,3333$$

em que,

TM = teor de metilxantinas % (p/v); e

C = concentração de metilxantinas (cafeína) em µg/mL obtida a partir da curva analítica.

Cafeína

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ultravioleta a 273 nm; pré-coluna contendo fase reversa C-18 e coluna de 250 mm de comprimento e 4,9 mm de diâmetro interno, empacotada com C-18 (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,50 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: Eluente A e Eluente B (70:30).

Eluente A: água contendo 1% de ácido acético (70 partes).

Eluente B: metanol (30 partes).

Solução amostra: transferir, analiticamente, com auxílio de uma pipeta, 1,0 mL do extrato fluido de noz-de-cola para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 3,0 mL dessa solução para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

Solução referência (1): dissolver quantidade exatamente pesada de cafeína em *Fase móvel* para obter solução a 0,400 mg/mL.

Solução referência (2): solução contendo teobromina e cafeína à 16 µg/mL.

Soluções para curva analítica: diluir 1,0 mL da *Solução referência (1)* com a *Fase móvel* em balão volumétrico de 25 mL, obtendo-se solução de concentração de 16 µg/mL. Tomar alíquotas de 1,0 mL, 3,0 mL, 5,0 mL e 7,0 mL dessa solução e diluir com a *Fase móvel* em balão volumétrico de 10 mL, obtendo-se as concentrações de 1,6 µg/mL, 4,8 µg/mL, 8,0 µg/mL e 11,2 µg/mL que juntamente

com a solução de concentração de 16 µg/ mL obtida são as *Soluções para curva analítica*. Filtrar as soluções em unidade filtrante de 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre os picos: Solução referência (2), no mínimo 2,5 entre os picos referentes à teobromina e à teofilina.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções para curva analítica* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos correspondentes à cafeína. Calcular o teor de cafeína, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = C \times 0,08333$$

em que,

TC = teor de cafeína % (p/v); e

C = concentração de cafeína em µg/mL obtida a partir da curva analítica.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

NOZ-MOSCADA, óleo *Myristicae fragrans aetheroleum*

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de sementes desprovidas de arilo e tegumento, secas e moídas de *Myristica fragrans* Houtt.

CARACTERÍSTICAS

Líquido, incolor ou amarelo-claro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila e tolueno (5:95).

Solução amostra: diluir 1 mL da amostra a ser examinada em 1 mL de tolueno, e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

Solução referência: diluir 20 µL de miristicina em 10 mL de tolueno.

Revelador: vanilina sulfúrica SR.

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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 10 a 15 minutos.

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

Parte superior da placa	
	Zona de coloração violácea (hidrocarbonetos)
	Zona de coloração castanha (safrol)
Miristicina: zona de coloração rosada a castanho-avermelhada	Zona de coloração castanho-avermelhada (miristicina)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,885 a 0,905.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,475 a 1,485.

Poder rotatório (5.2.29.5). +8° a +18°.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de hidrogênio e ar sintético (1:45) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 25 a 60 m de comprimento e 0,3 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar nitrogênio ultrapuro como gás de arraste (1,5 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 10	50
	10 – 75	50 → 180
	75 – 130	180
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: óleo volátil de noz-moscada.

Solução referência: diluir 15 µL de α -pineno, 15 µL de β -pineno, 15 µL de sabineno, 5 µL de 3-careno, 5 µL de limoneno, 5 µL de γ -terpineno, 5 µL de terpinen-4-ol, 5 µL de safrol, 10 µL de miristicina, em 1 mL de hexano. Armazenar sob refrigeração, em frasco hermeticamente fechado e ao abrigo da luz.

Procedimento: injetar volume de 0,2 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, mínimo 1,5 entre os picos referentes ao β -pineno e sabineno.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: α -pineno, 15,0 a 28,0%; β -pineno, 13,0 a 18%; Sabineno, 14,0 a 29,0%; 3-careno, 0,5 a 2,0%; limoneno, 2,0 a 7,0%; γ -terpineno, 2,0 a 6,0%; terpinen-4-ol, 2,0 a 6,0%; safrol, inferior a 2,5%; miristicina, 5,0 a 12,0%.

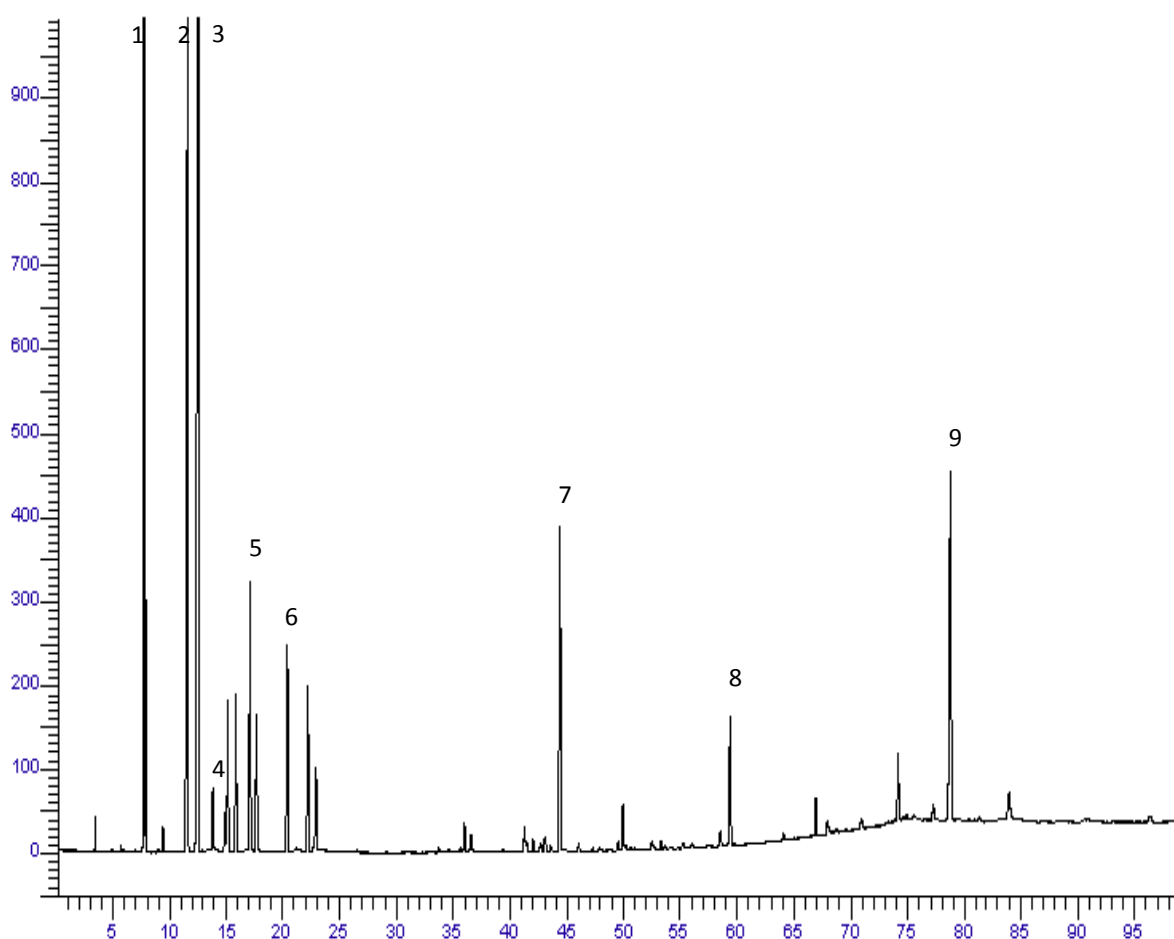


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Myristica fragrans* Houtt. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α -pineno, 2- β -pineno, 3- sabineno, 4- 3-careno, 5- limoneno, 6- γ -terpineno, 7- terpinen-4-ol, 8- safrol e 9- miristicina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

NOZ-VÔMICA, semente *Strychni semen*

A droga vegetal consiste de sementes secas de *Strychnos nux-vomica* L., contendo, no mínimo, 0,5% de estriquinina (C₂₁H₂₂N₂O₂, 334,42).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As sementes possuem coloração cinza-acastanhada, forma discoide, margem ligeiramente engrossada, medindo 10 a 30 mm de diâmetro e 4 a 6 mm de espessura. Na região central encontra-se o hilo protuberante, de onde parte uma linha radial até a micrópila localizada num ponto da margem. O tegumento é rígido e a superfície apresenta textura acetinada, densamente coberta por tricomas tectores lignificados, com disposição radiada do centro para a margem. Internamente ao tegumento, o endosperma é translúcido, córneo, cinza-claro, separado em duas partes por uma cavidade central em forma de disco. Adjacente à micrópila ocorre o embrião, formado por dois pequenos cotilédones cordiformes, 5 a 7 nervados e uma radícula.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o tegumento apresenta uma epiderme formada por células de paredes espessadas e lignificadas, com pontoações lineares e oblíquas. Cada célula tem a base dilatada, poligonal, semelhante a uma célula pétreia, que se prolonga externamente de forma inclinada, formando com as demais um tapete de tricomas tectores. Internamente à epiderme, células parenquimáticas achatadas e comprimidas formam uma faixa amarronzada de células indistintas. Na região do hilo, encontram-se pequenos vasos xilêmicos espiralados como componentes de um curto feixe vascular. O endosperma é recoberto por uma camada epidérmica de células com paredes levemente espessadas, seguida por células endospermicas poliédricas, de paredes hemicelulósicas espessadas, conectadas por plasmodesmos, contendo gotículas lipídicas e grãos de aleurona, estes com aproximadamente 30 µm de diâmetro. O embrião consiste de células parenquimáticas com pequenas gotículas lipídicas e grãos de aleurona.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração cinza-acastanhada, tricomas lignificados isolados ou aglomerados, inteiros ou fragmentados, fragmentos do endosperma com tecido parenquimático de paredes hemicelulósicas espessadas com conteúdo amorfo e alguns grãos de aleurona visíveis.

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

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

Fase móvel: n-butanol, água e ácido acético glacial (70:20:10).

Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal pulverizada e adicionar 20 mL de etanol a 70% (v/v). Levar ao banho-maria durante 15 minutos. Filtrar e evaporar em banho-maria até secura, a temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL de metanol. Filtrar em unidade filtrante 0,45 µm e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de estriquinina em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de brucina em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar com solução de ácido sulfúrico a 10% em etanol absoluto (v/v), e, em seguida, com iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR. Deixar a placa secar ao ar por 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Estriquinina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
	Zona de coloração laranja
Brucina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 12,0%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 3,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 0,7%.

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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Estriquinina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 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 à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,3 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: tampão fosfato de potássio dibásico 7 g/L, com pH 3 ajustado com ácido fosfórico, acetonitrila e dietilamina (900:100:20).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1,00 g da droga vegetal moída e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 20 mL de ácido clorídrico 0,1 M, e aquecer, sob refluxo, durante 30 minutos. Após resfriamento, filtrar em algodão para balão de fundo redondo de 100 mL. Extrair o resíduo da droga no filtro e no algodão com 20 mL de ácido clorídrico 0,1 M e aquecer, sob refluxo, durante 15 minutos. Reunir a fase aquosa e adicionar hidróxido de amônio 6 M, até obtenção de pH 9,0. Transferir para funil de separação de 250 mL e extrair três vezes com 30 mL de éter etílico. Reunir as fases orgânicas em um béquer e adicionar 5 g de sulfato de sódio anidro. Agitar com bastão de vidro. Filtrar em papel de filtro para cápsula de porcelana. Lavar o béquer com 20 mL de éter etílico. Reunir o líquido de lavagem com as fases orgânicas. Evaporar até resíduo em banho-maria, com temperatura não superior a 50 °C. Dissolver o resíduo em 1 mL de metanol. Transferir para balão volumétrico de 10 mL. Lavar a cápsula de porcelana com 5 mL da *Fase móvel*. Transferir o líquido de lavagem para o balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com a *Fase móvel*. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para vial.

Solução referência: pesar 8,0 mg de estriquinina, transferir para balão volumétrico de 10 mL e diluir com a *Fase móvel*. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para vial.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de estriquinina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TE = \frac{A_a \times C_r \times P}{A_r \times C_a}$$

em que,

TE = teor de estriquinina % (p/p);

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

A_a = área sob o pico correspondente à estriquinina na *Solução amostra*;
 C_r = concentração da estriquinina na *Solução referência* em mg/mL;
 C_a = concentração da droga vegetal na *Solução amostra* em mg/mL, considerando a perda por dessecação; e
P = Pureza percentual declarada da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

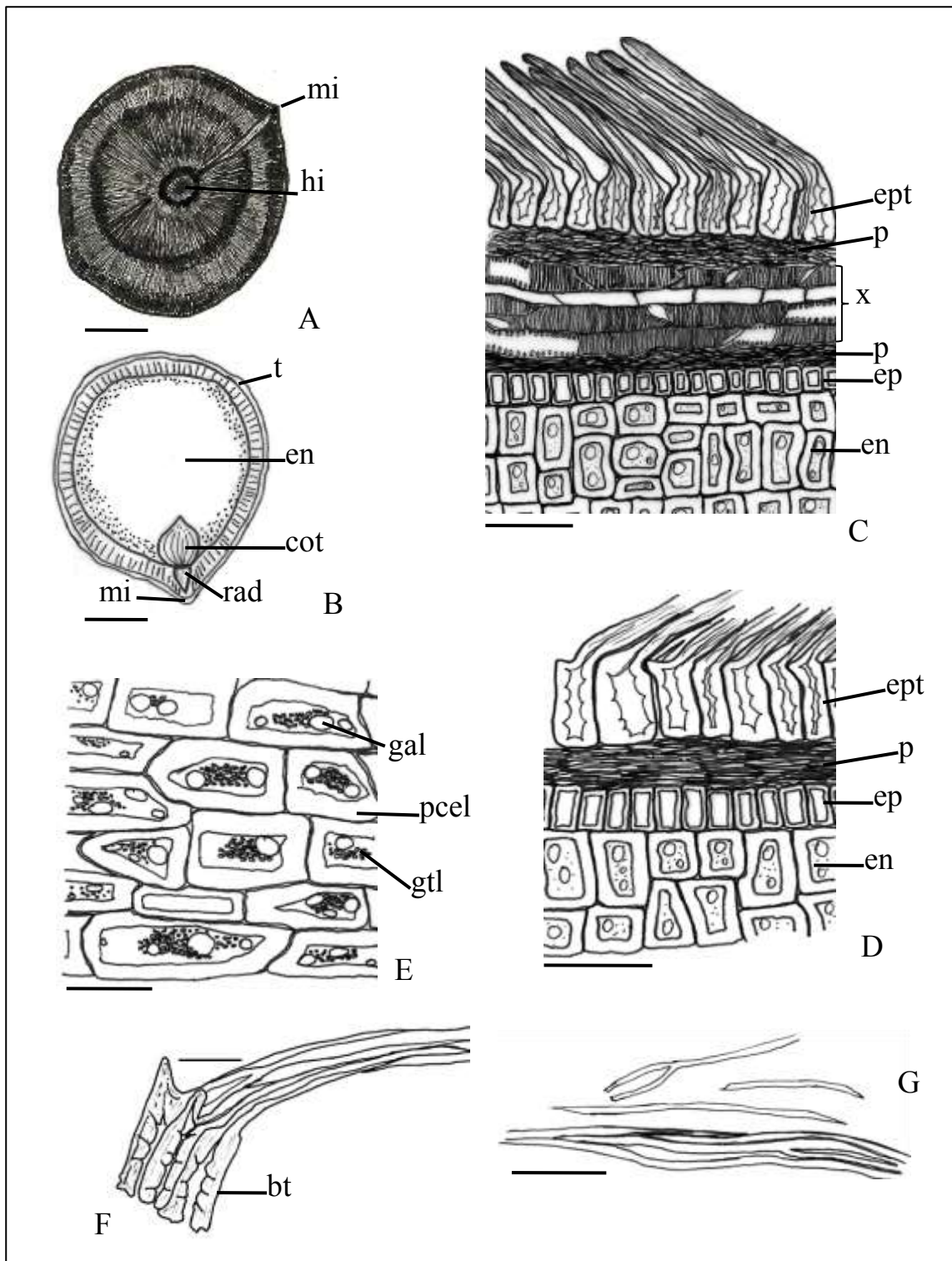


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Strychnos nuxvomica* L.

As escalas correspondem em **A** e **B** a 1 cm; em **C** e **D** a 200 μ m; em **F** e **G** a 100 μ m; em **E** a 50 μ m.

A - vista frontal da semente inteira mostrando o hilo (hi) e a micrópila (mi). **B** - vista frontal da semente aberta longitudinalmente mostrando um dos cotilédones (cot), endosperma (en), micrópila (mi), radícula do embrião (rad) e o tegumento (t). **C** - secção transversal na região da micrópila: endosperma (en), epiderme do endosperma (ep), epiderme do tegumento (ept) evidenciando os tricomas tectores lignificados, parênquima comprimido do tegumento (p) e vasos do xilema (x). **D** - secção transversal fora da região da micrópila com endosperma (en), epiderme do endosperma (ep), epiderme do tegumento (ept) e parênquima comprimido (p). **E** - fragmento do tecido endospérmico com destaque para os grãos de aleurona (gal), as gotículas lipídicas (gtl) e o espessamento celulósico da parede celular (pcl). **F** - fragmento da epiderme do tegumento, destacando a base do tricoma (bt) semelhante a uma célula pétreia com paredes espessadas e lignificadas e pontoações simples. **G** - fragmento da porção estendida do tricoma da epiderme do tegumento.

NOZ-VÔMICA, extrato fluido

Strychni extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de sementes secas de *Strychnos nux-vomica* L., contendo, no mínimo, 0,5% de estriquinina ($C_{21}H_{22}N_2O_2$, 334,42).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: butanol, água e ácido acético glacial (70:20:10).

Solução amostra: secar 1,0 mL de extrato fluido até resíduo, em banho-maria, em temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL metanol e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de estriquinina em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de brucina em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de ácido sulfúrico a 10% em etanol, e a seguir com reagente iodobismutato de potássio aquo-acético (Reagente de Dragendorff). Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 5 minutos e examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Estriquinina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
Brucina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,985 a 1,000.

Etanol (5.3.3.8.1). Método II. 52 % (v/v) a 56 % (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo de 0,05% de metanol e no máximo de 0,05% de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 18,0 % (p/p).

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

Estriquinina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 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 à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,3 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: tampão fosfato de potássio dibásico (7g/L) pH 3,00 ajustado com ácido fosfórico, acetonitrila e dietilamina (900:100:20).

Solução referência: pesar 15,0 mg de estriquinina. Transferir para balão volumétrico de 10,0 mL e diluir com a *Fase móvel*. Filtrar a solução em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para um vial.

Solução amostra: homogeneizar a amostra em banho de ultrassom por 5 minutos, pipetar 1,0 mL do extrato fluido e transferir para balão volumétrico de 5 mL. Limpar a ponteira do micropipetador pelo

menos duas vezes com a *Fase móvel*. Completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar a solução em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para um vial.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes a estriquinina. Calcular o teor de estriquinina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TE = \frac{A_a \times C_r \times P}{A_r \times C_a}$$

em que,

TE = teor de estriquinina % (p/p);

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

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

C_r = concentração da estriquinina na *Solução referência* em mg/mL;

C_a = concentração da droga vegetal na *Solução amostra* em mg/mL; e

P = pureza percentual declarada da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

NOZ-VÔMICA, tintura *Strychni tinctura*

A tintura é obtida de sementes secas de *Strychnos nux-vomica* L., contendo, no mínimo, 0,05% de estriquinina (C₂₁H₂₂N₂O₂, 334,42).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: butanol, água e ácido acético glacial (70:20:10).

Solução amostra: secar 1,0 mL da tintura até resíduo, em banho-maria, em temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL metanol, filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de estriquinina em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de brucina em metanol, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de ácido sulfúrico a 10% em etanol, e, a seguir com reagente de iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR (Reagente de Dragendorff). Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar por 5 minutos e examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Estriquinina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
	Zona de coloração laranja
Brucina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,900 a 0,9170.

Etanol (5.3.3.8.1). Método II. 57 % (v/v) a 60 % (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, de 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 2,0 % (p/p).

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

Estriquinina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 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 à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,3 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: tampão fosfato de potássio dibásico (7 g/L) pH 3,00 ajustado com ácido fosfórico, acetonitrila e dietilamina (90:10:2).

Solução referência: pesar 10,0 mg de estriquinina. Transferir para balão volumétrico de 10,0 mL e completar o volume com a *Fase móvel*. Transferir 1,0 mL dessa solução para um balão volumétrico de 5 mL e completar o volume com a *Fase móvel*. Filtrar a solução em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para um vial.

Solução amostra: homogeneizar a tintura em banho de ultrassom por 5 minutos, pipetar 1,0 mL da tintura e transferir para balão volumétrico de 5 mL. Enxaguar a ponteira do micropipetador pelo menos duas vezes com a *Fase móvel*. Completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar a solução em unidade filtrante de 0,45 µm diretamente para um vial.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes à estriquinina. Calcular o teor de estriquinina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TE = \frac{A_a \times C_r \times P}{A_r \times C_a}$$

em que,

TE% = teor de estriquinina % (p/p);

Ar = área sob o pico correspondente a estriquinina na *Solução referência*;

Aa = área sob o pico correspondente a estriquinina na *Solução amostra*;

C_r = concentração da estriquinina na *Solução referência* em mg/mL;

C_a = concentração da droga vegetal na *Solução amostra* em mg/mL; e

P = pureza percentual declarada da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

OLIVA, óleo virgem *Olivae oleum virginum*

Óleo fixo obtido, por expressão a frio ou por outro meio mecânico apropriado, a partir dos frutos maduros de *Olea europaea* L..

CARACTERÍSTICAS

Óleo amarelo-pálido ou amarelo-esverdeado com leve odor característico.

IDENTIFICAÇÃO

Identificação dos óleos vegetais por *Cromatografia em camada delgada (5.2.29.15.1)*.

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

Fase estacionária: sílica-gel octadecilsilanizada (RP-18).

Fase móvel (1): éter etílico (100%).

Fase móvel (2): diclorometano, ácido acético e acetona (2:4:5).

Solução amostra: diluir 20 µL de óleo em 3 mL de diclorometano. Diluir 1 µL dessa solução em 20 µL de diclorometano.

Solução referência: diluir 20 µL de óleo de milho em 3 mL de diclorometano. Diluir 1 µL dessa solução em 20 µL de diclorometano.

Revelador: dissolver 10 g de ácido fosfomolibdico em 100 mL de etanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma por 0,5 cm, utilizando a *Fase móvel (1)*. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Desenvolver novamente o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Desenvolver novamente o cromatograma por 8 cm, utilizando a *Fase móvel (2)*. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Desenvolver novamente o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com o *Revelador*, e aquecer a 105 °C durante aproximadamente 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<p>Óleo de milho: zona de coloração azulada Óleo de milho: zona de coloração azulada Óleo de milho: zona de coloração azulada</p>	<p>Zona de coloração azulada Zona de coloração azulada Zona de coloração azulada</p>
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em etanol 95%. Muito solúvel em n-hexano e éter etílico.

Densidade relativa (5.2.5). 0,910 a 0,915.

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo 2,0. Determinar em 5 g.

Índice de peróxidos (5.2.29.11). No máximo 20.

Matéria insaponificável (5.2.29.14.). Método II. No máximo 1,5%. Determinar em 5 g.

Absorvância (5.2.14). Dissolver 0,5 g de óleo em cicloexano e diluir a 50 mL em balão volumétrico. A absorvância medida em 270 nm é inferior a 0,20. A razão das absorvâncias medidas em 232 nm e 270 nm é superior a 8.

Composição de ácidos graxos (5.2.29.15.4). A fração do óleo composta por ácidos graxos apresenta a seguinte composição:

Ácidos graxos saturados com cadeia inferior a 16 carbonos: no máximo 0,1%;

Ácido palmítico: 7,5% a 20,0%;

Ácido palmitoleico: no máximo 3,5%;

Ácido esteárico: 0,5% a 5%;

Ácido oleico: 56% a 85%;

Ácido linoleico: 3,5% a 20,0%;

Ácido linolênico: no máximo 1,2%;

Ácido araquídico: no máximo 0,7%;

Ácido eicosenoico: no máximo 0,4%;

Ácido behênico: no máximo 0,2%;

Ácido lignocérico: no máximo 0,2%.

Óleo de gergelim. Em um tubo provido de rolha, agitar, por aproximadamente 1 minuto, 10 mL de óleo com uma mistura de 0,5 mL de uma solução de furfural a 0,35% em anidrido acético e 4,5 mL de anidrido acético. Filtrar em papel impregnado com anidrido acético. Ao filtrado, adicionar 0,2 mL de ácido sulfúrico. Não há desenvolvimento de cor verde azulada.

Água (5.2.20.1). No máximo 0,1%. Determinar em 1 g.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CATEGORIA

Excipiente farmacotécnico.

PALMA-ROSA, óleo *Palmae rosae aetheroleum*

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas frescas de *Cymbopogon martini* (Roxb.) Will. Watson, contendo, no mínimo, 60% de geraniol (C₁₀H₁₈O, 154,25).

CARACTERÍSTICAS

Líquido incolor a amarelado, com odor aromático, agradável, semelhante ao de rosa.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila e tolueno (1:9).

Solução amostra: diluir 2 µL da amostra a ser examinada em 300 µL de tolueno.

Solução referência: diluir 2 µL de geraniol e 2 µL de acetato de geranila em 1 mL de tolueno.

Revelador: vanilina sulfúrica SR.

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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Acetato de geranila: zona de coloração azul-violeta	Zona de coloração azul-violeta (acetato de geranila)
α -terpineol: zona de coloração azul-violeta	Zona de coloração azul-violeta (α -terpineol)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,880 a 0,900.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,472 a 1,477.

Poder rotatório (5.2.29.5). +2,3° a +3°.

Índice de acidez (5.2.29.7). 0,5 a 3. Determinar em 5 g de amostra.

Solubilidade em etanol. Transferir 1 mL de amostra a ser analisada para uma proveta de 25 mL com rolha esmerilhada, e adicionar com auxílio de uma bureta, frações de 0,1 mL de etanol a 60% ou de etanol absoluto, até completa dissolução do óleo. A seguir, continuar a adição de etanol a 60% ou etanol absoluto com frações de 0,5 mL até completar 20 mL, agitando energicamente a cada adição de etanol. A amostra é solúvel em qualquer proporção de etanol absoluto e em cinco volumes de etanol a 60%.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama; coluna capilar de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 μ m. Utilizar nitrogênio purificado como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 2	70
	2 – 40,3	70 → 185
	40,3 – 45,8	185 → 240
Injetor		240
Detector		240

Solução amostra: óleo volátil de palma-rosa.

Solução referência: diluir 20 µL de geraniol, 20 µL de β-cariofileno, 5 µL de citronelol, 4 µL de mirceno, 4 µL de citral e 20 µL de linalol em 1 mL de hexano. Armazenar sob refrigeração, em frasco hermeticamente fechado e ao abrigo da luz.

Procedimento: injetar volume de 0,2 µL da *Solução amostra* e 1 µL da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, mínimo 1,5 entre os picos referentes ao acetato de geranila e citronelol.

Utilizando os tempos de retenção determinados a partir do cromatograma obtido com a solução referência, localizar os compostos no cromatograma obtido com a solução amostra. Desconsiderar o pico do *n*-hexano.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: geraniol, no mínimo 60%; β-cariofileno, 0,5 a 5,0%; citronelol, 1,0 a 3,0%; mirceno, 0,1 a 0,4%; citral, no máximo 4% (citral A e citral B); linalol, 1,0 a 5,0%; e acetato de geranila, 10,0 a 18,0%.

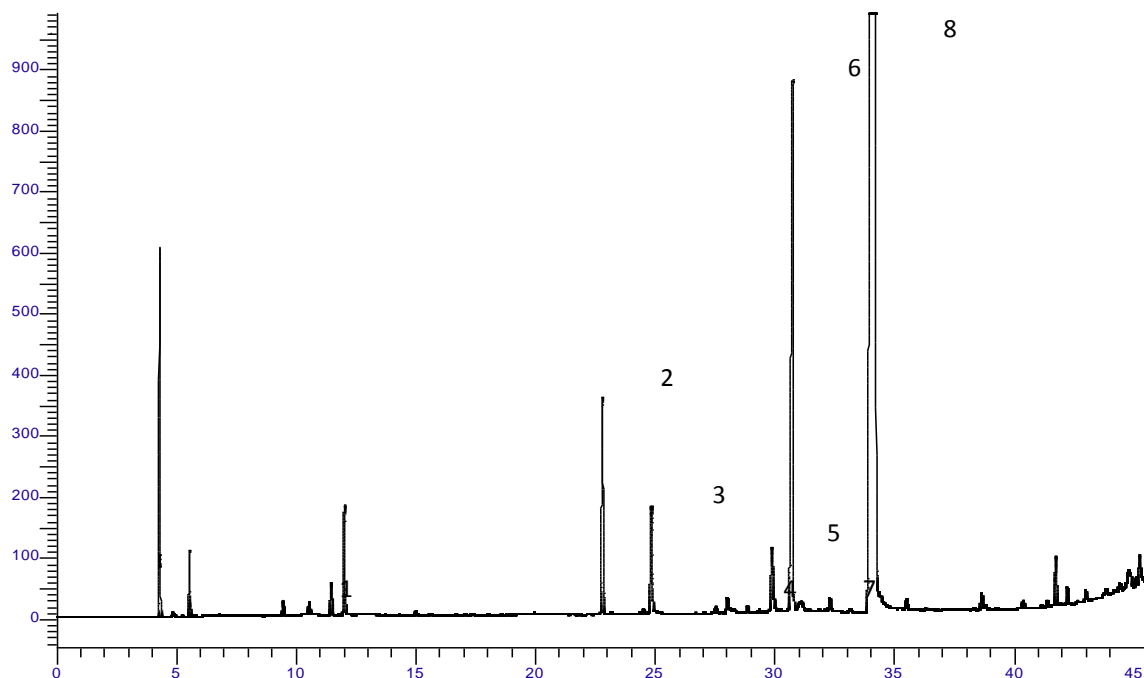


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cymbopogon martini* (Roxb.) Will. Watson por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- mirceno, 2- linalol, 3- β-cariofileno, 4- citral b, 5- citral a, 6- acetato de geranila, 7- citronelol e 8- geraniol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

PLANTAGO, testa *Plantaginis ovatae seminis tegumentum*

A droga vegetal consiste da testa das sementes de *Plantago ovata* Forssk., a qual intumescce e toma consistência coloidal quando misturada com água.

SINONÍMIA CIENTÍFICA

Plantago ispaghula Roxb. ex Fleming

CARACTERÍSTICAS

A testa das sementes é inodora.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Fragmentos da testa das sementes, achatados, ovalados ou naviculares, com até 2 mm de comprimento e 1 mm de largura, de coloração bege-rosada, alguns deles mostrando uma mancha castanho-clara e oval, correspondente ao ponto onde estava o embrião, antes deste ter sido removido.

B. Descrição microscópica

Em vista frontal, as células da epiderme da testa apresentam forma poligonal-prismática de tamanho variado. Ao adicionar água, as camadas externas de mucilagem intumescem rapidamente, rompendo as paredes das células epidérmicas. Em secção transversal, as paredes externas das células da epiderme mostram espessas camadas de mucilagem, mais evidentes na região marginal da testa. Internamente à epiderme mucilagínosa, há uma camada delgada de células descoradas e obliteradas, pouco resistentes e que permitem que a epiderme se separe facilmente do restante da semente. A camada mais interna da testa da semente, quando presente, consiste de uma camada de células frequentemente obliteradas, de cor castanho-amarelada. Especialmente nas células da epiderme da região das margens da semente ocorrem alguns grãos de amido, evidenciados com solução de Lugol, compostos por dois a quatro elementos.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-clara a amarelo-pálida; fragmentos com células epidérmicas poligonais contendo mucilagem; fragmentos das camadas internas da testa com paredes acastanhado-claras, às vezes associadas a restos das camadas externas do endosperma; grãos de amido como os descritos, no interior de células ou isolados.

D. Descrição microscópica das impurezas

Ocasionalmente ocorrem fragmentos de células do endosperma com paredes espessadas, contendo gotas lipídicas e grãos de aleurona e fragmentos com células do embrião de paredes delgadas.

E. Falsificações ou adulterantes

São consideradas falsificações a presença de sementes de outras espécies de *Plantago*, que apresentam significativamente uma menor capacidade de intumescer, e sementes de *Salvia aegyptica* L. Uma droga substituta perigosa é a semente de *Lallemantia royleana* (Benth.) Benth., cuja mucilagem exsudada das células mistura-se com o conteúdo intestinal formando uma massa muito dura, o que pode levar à obstrução intestinal.

TESTES

Água (5.2.20.2). Método azeotrópico. No máximo 12,0%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 4,0%.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Matéria estranha leve. Realizar o ensaio em capela ventilada. Transferir 30 g da droga, pesados em balança semi-analítica, com precisão de 0,1 g, para um béquer de 500 mL e adicionar 250 mL de diclorometano. Agitar a suspensão com uma bagueta, esperar o material decantar. Retirar o material flutuante com auxílio de uma cápsula de porcelana pequena, passando-o por um tamis (300 µm), retornando o líquido para o mesmo béquer. Repetir o processo até não haver mais material flutuante. Colocar a peneira em uma estufa ventilada a 50 °C até a eliminação total do solvente. Transferir o pó seco da peneira para um papel previamente tarado e determinar a massa. Calcular a porcentagem em relação à massa inicial. O valor encontrado não deve exceder 5%.

Índice de intumescência. Transferir 200 mg da droga pulverizada (250) (5.2.11) para uma proveta de 25 mL, com subdivisões de 0,2 mL, provida de boca esmerilhada e tampa. Adicionar 12,5 mL de fluido intestinal simulado*. Diluir com o fluido simulado até 25 mL, agitar mecanicamente a proveta durante 1 minuto e repetir o processo de agitação a cada 30 minutos durante 8 horas. Aguardar o gel decantar durante 16 horas, totalizando um experimento de 24 horas. Determinar o volume de gel formado. O gel formado deve ser ≥ 8 mL para a droga moída e ≥ 7 mL para a droga não moída.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

* Fluido intestinal simulado: dissolver 0,68 g de fosfato monobásico de potássio em 25 mL de água, misturar e adicionar 7,7 mL de hidróxido de sódio 0,2 M e 50 mL de água. Adicionar 1 g de pancreatina, misturar e ajustar o pH para 6,8 mL \pm 0,1 com hidróxido de sódio 0,2 M ou com ácido clorídrico 0,2 M.

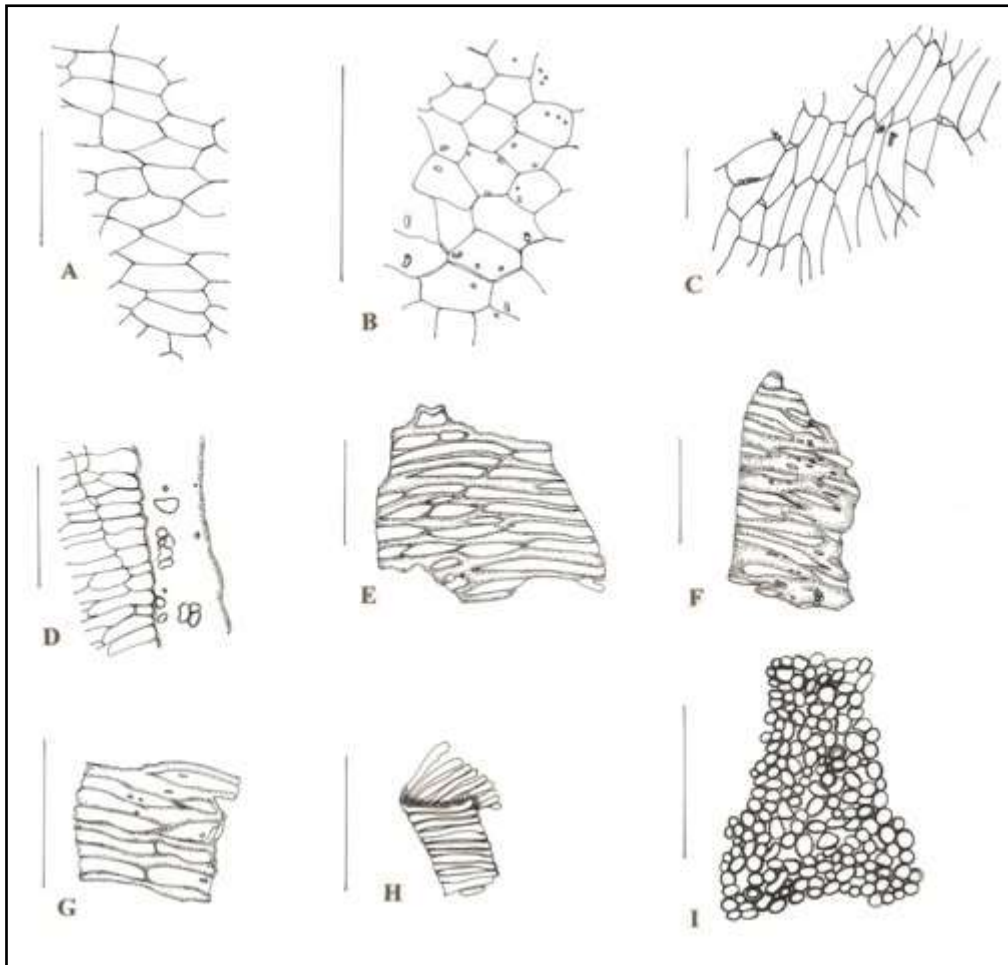


Figura 1 – Aspectos microscópicos do pó do tegumento da semente de *Plantago ovata* Forssk.

As escalas correspondem: em A e C a 50 μm , em B e de D-H a 100 μm e I a 200 μm .

A-D – fragmentos de epiderme da semente com células prismáticas, às vezes apresentando grãos de amido no seu interior;
E-H – fragmentos de células com paredes espessadas; **I** – fragmento de células do embrião.

RATÂNIA, extrato fluido *Ratanhiae extracta fluida*

O extrato fluido é obtido a partir das raízes de *Krameria triandra* Ruiz & Pav., contendo, no mínimo, 1,5% de taninos totais, expressos em pirogalol ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$, 126,11).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 70,0% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: diluir 1 mL do extrato fluido para 5 mL de metanol.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 2 mL de metanol.

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 em capela de exaustão. Nebulizar a placa com vanilina a 1% (p/v) em etanol e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada _____	Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada _____
	Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9687 a 0,9688.

Etanol (5.3.3.8.1). 63% (v/v) a 66% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 5% (p/p).

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

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 1,5 g do extrato fluido, em balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL desta solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água destilada para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL desta solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos totais expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

SENE, fruto *Sennae fructus*

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Senna alexandrina* Mill., contendo, no mínimo, 2,2% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B e, no mínimo, 0,92% de senosídeo B ($C_{42}H_{38}O_{20}$, 862,75) e 0,49% de senosídeo A ($C_{42}H_{38}O_{20}$, 862,75). Não deve ser utilizada antes de um ano após a colheita.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Legumes dessecados, de coloração verde a castanho-esverdeada nos bordos e castanho escuro nas porções correspondentes às sementes, elípticos a oblongos e ligeiramente reniformes, achatados, arredondados nas extremidades e ligeiramente pontiagudos no ápice, medindo até 7,0 cm de comprimento e até 2,5 cm de largura. Cada legume contém cinco a oito sementes achatadas, duras, de coloração castanho-clara.

B. Descrição microscópica

O epicarpo, em secção paradérmica, apresenta epiderme com células poligonais de paredes retas ou formando uma leve curvatura, com esparsos estômatos anomocíticos, e raros tricomas tectores unicelulares e cônicos, de paredes verrucosas, frequentemente curvos próximo à base; em secção transversal, é visível a cutícula espessa sobre a epiderme uniestratificada. As células epidérmicas são ricas em grãos de amido. Abaixo da epiderme, ocorre uma camada de células mais volumosas, correspondentes à hipoderme, seguida de quatro camadas de parênquima, contendo feixes vasculares muito esparsos. Drusas bastante evidentes estão distribuídas no parênquima. Segue uma camada de células de paredes finas, contendo cada uma delas cristal prismático de oxalato de cálcio, seguida por duas camadas fibrosas, com células de paredes espessadas, a mais interna com células perpendiculares ao eixo longitudinal do fruto, e a mais externa com células em ângulo oblíquo ou paralelo ao eixo longitudinal do fruto. As fibras destas camadas têm pontoações esparsas e lúmen visível. A epiderme interna é indistinta, com células alongadas e de paredes finas, quando observada em secção paradérmica. Na região da base e do bordo do fruto, a cutícula é mais espessa e apresenta ondulações, a epiderme também é uniestratificada, seguida de quatro a cinco camadas de parênquima com densos agrupamentos de esclereídes, geralmente associados aos feixes vasculares. Estes esclereídes apresentam paredes espessadas e pontoações distintas. As sementes apresentam testa com paredes espessadas, formada por células em paliçada e de lúmen estreito, coberta por cutícula espessa; o endosperma é formado por células poliédricas, a camada mais externa em paliçada e as camadas mais internas esponjosas, com paredes mucilaginosas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração esverdeada clara; fibras esclerenquimáticas libriformes e cristais isolados no pó; porções de células parenquimáticas, fragmentos de elemento de vaso com espessamento escalariforme, paredes terminais simples, retas e oblíquas, com prolongamentos curtos; fragmentos de fibras em camadas cruzadas; cristais de oxalato de cálcio presentes nas fibras em camadas cruzadas.

D. 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 propílico, água e ácido acético glacial (40:40:30:1).

Solução amostra: adicionar 0,5 g da droga moída em 5 mL da mistura de etanol e água (1:1). Aquecer à ebulição. Filtrar.

Solução referência: dissolver 2,5 mg de senosídeo A e 2,5 mg de senosídeo B em 1 mL de metanol e 1 mL de água, aquecer ligeiramente, se necessário.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de hidróxido de potássio a 5% (p/v) até o aparecimento de zonas de colorações.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Senosídeo A: zona de coloração castanho avermelhada	Zona de coloração castanho avermelhada
Senosídeo B: zona de coloração castanho avermelhada	Zona de coloração castanho avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Água (5.4.1.4). *Método gravimétrico.* No máximo 12%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 9%.

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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Derivados hidroxiantracênicos

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 1,0 g da droga pulverizada (425 µm) (5.2.11) em balão de fundo redondo com boca esmerilhada. Adicionar 30 mL de solução de etanol a 70% e misturar. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Após resfriamento filtrar em algodão para balão volumétrico de 100 mL. Retornar o resíduo da droga e o algodão para o balão de fundo redondo, adicionar 30 mL de etanol a 70% e aquecer novamente, sob refluxo, durante 15 minutos. Filtrar novamente em algodão para o balão volumétrico de 100 mL. Retornar novamente o resíduo da droga e o algodão para o balão de fundo redondo, adicionar 30 mL de solução de etanol a 70% (v/v), aquecer sob refluxo, durante 15 minutos e filtrar para o balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume do balão volumétrico de 100 mL com etanol a 70% (v/v) e homogeneizar.

Solução amostra: transferir alíquota de 30 mL da *Solução estoque* para um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionar 1 mL de ácido clorídrico 2 M e levar à manta aquecedora, sob refluxo, durante 15 minutos. A seguir, transferir para um funil de separação e extrair com três porções de 15 mL de clorofórmio. Reunir a fase clorofórmica e lavar com 50 mL de água. Evaporar a fase clorofórmica em cápsula de porcelana até *secura* em banho-maria. Suspender o resíduo em etanol e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Lavar a cápsula de porcelana várias vezes e transferir o resíduo obtido para o balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com etanol e homogeneizar. Transferir alíquota de 4 mL para balão volumétrico de 10 mL, adicionar 2 mL de hidróxido de amônio concentrado, completar o volume com etanol e homogeneizar.

Procedimento: Determinar a absorvância da *Solução amostra* em 515 nm, após 45 minutos da adição do hidróxido de amônio concentrado. Utilizar a *Solução amostra* sem adição de hidróxido de amônio concentrado para ajuste do zero. Calcular o teor de derivados hidroxiantracênicos expressos como senosídeo B, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TDH} = \frac{A_a \times 2,27}{m}$$

em que,

TDH = teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B % (p/p);

A_a = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água em drogas vegetais.

Senosídeo A e senosídeo B

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 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 μ m); fluxo da *Fase móvel* de 0,9 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido trifluoracético (100:0,08).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 – 12	86	14	isocrático
12 – 19	86 → 77	14 → 23	gradiente linear
19 – 28	77 → 70	23 → 30	gradiente linear
28 – 31	70 → 0	30 → 100	gradiente linear
31 – 33	0	100	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da droga seca e moída e colocar em tubo de centrífuga. Adicionar 5 mL de solução de bicarbonato de sódio a 0,05% (p/v) e levar ao banho de ultrassom durante 10 minutos. Centrifugar durante 20 minutos a 2000 rpm. Transferir o sobrenadante, filtrando-o em algodão, para balão volumétrico de 5 mL. Completar o volume com bicarbonato de sódio a 0,05% (p/v) e homogeneizar. Filtrar o sobrenadante em unidade filtrante de 0,45 μ m. Diluir 50 μ L da solução resultante em 150 μ L de água.

Solução referência estoque: dissolver 2 mg da mistura de senosídeo A e senosídeo B (40:60) em balão volumétrico de 5 mL com metanol a 50% (v/v).

Curva analítica (1) (para o senosídeo A): a partir da *Solução referência estoque* construir curva analítica para o senosídeo A em metanol a 50% (v/v), com no mínimo cinco concentrações, na faixa entre 45 μ g/mL e 85 μ g/mL.

Curva analítica (2) (para o senosídeo B): a partir da *Solução referência estoque* construir curva analítica para o senosídeo B em metanol a 50% (v/v), com no mínimo cinco concentrações, na faixa entre 100 μ g/mL a 150 μ g/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μ L de cada solução da *Curva analítica (1)* e da *Curva analítica (2)*, e 10 μ L da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular o teor de senosídeo A e senosídeo B em mg/g de droga vegetal segundo a expressão:

$$TS = \frac{C_a \times FD \times P}{1000 \times m}$$

em que,

TS = teor de senosídeo A ou B (mg/g);

C_a = concentração do senosídeo A ou B ($\mu\text{g/mL}$) encontrada na *Solução amostra* a partir das curvas analíticas;

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

P = pureza percentual declarada da substância de referência; e

FD = fator de diluição (20)

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

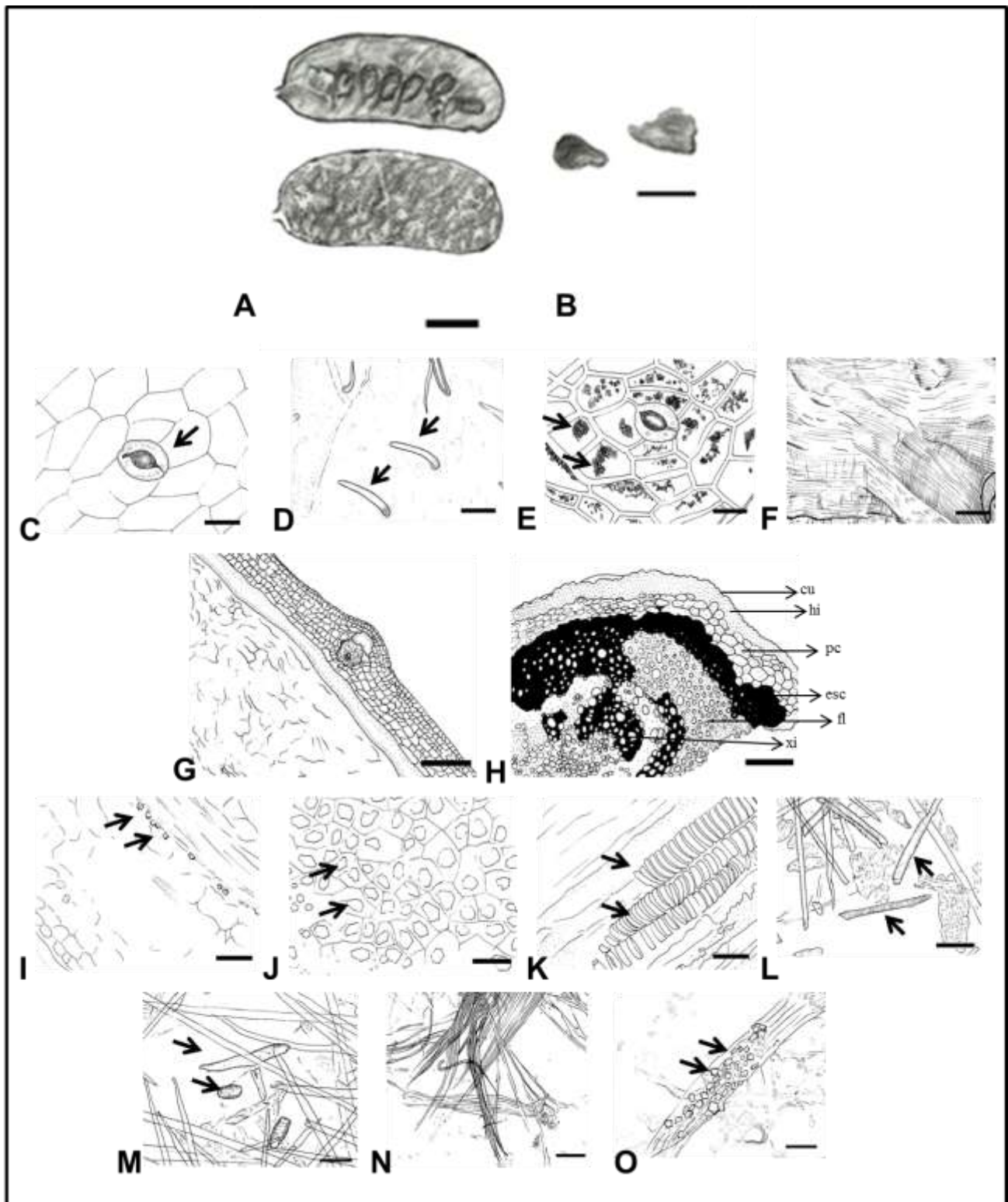


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; **B** a 0,5 cm; **C**, **D** e **E** a 25 μ m; **F**, **G** e **H** a 100 μ m; **I**, **J**, **K**, **L**, **M**, **N** e **O** a 25 μ m. **A** - aspecto geral do fruto: legumes dessecados de formato reniforme, em vista interna e vista externa. **B** - detalhe geral das sementes. **C** - detalhe da secção paradérmica do fruto mostrando estômato do tipo anomocítico (seta). **D** - detalhe da secção paradérmica do fruto, mostrando tricomas tectores unicelulares (setas). **E** - detalhe da secção paradérmica do fruto, com grãos de amido nas células epidérmicas (setas). **F** - detalhe da secção paradérmica do fruto, com fibras em camadas cruzadas. **G** - detalhe da secção transversal do fruto, mostrando o mesofilo com parênquima fundamental e feixe vascular. **H** - detalhes da secção transversal do fruto na região do bordo; cutícula (cu); esclereídes (esc); floema (fl); hipoderme (hi); parênquima cortical (pc); xilema (xi). **I** - detalhe da secção transversal do fruto mostrando a presença de cristais prismáticos de oxalato de cálcio (setas). **J** - detalhe da secção transversal do fruto mostrando cristais prismáticos (setas).

K - detalhe da secção longitudinal do fruto, mostrando elementos de vaso (setas). **L - O** - detalhes observados no pó. **L** - fragmentos de fibras esclerenquimáticas (setas). **M** - fragmentos de células parenquimáticas e de elemento de vaso. **N** - fragmentos de fibras em camadas cruzadas. **O** - cristais de oxalato de cálcio nas fibras em camadas cruzadas (setas).

TOMILHO, óleo *Thymus vulgaris aethaeroleum*

O óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de partes aéreas floridas de *Thymus vulgaris* L.

CARACTERÍSTICAS

Líquido fluído, límpido, de coloração amarela a castanho-avermelhado, muito escuro e de odor aromático, picante, lembrando o do timol.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica gel F₂₅₄ (250 µm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (95:5).

Solução amostra: dissolver 0,2 g da amostra em pentano, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução referência: dissolver 0,15 g de timol, 25 mg de α -terpineol, 40 µL de linalol, 10 µL de carvacrol em pentano, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos. Examinar sob a luz do dia.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e com a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração violeta
Timol: zona de coloração rosa-acastanhado	Zona de coloração rosa acastanhado
Carvacrol: zona de coloração violeta-pálido	Zona de coloração violeta pálido
Linalol: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
α -Terpineol: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,915 a 0,935.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,499 a 1,505.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chama, utilizando mistura de hélio, hidrogênio e ar sintético (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com propilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 μ m. Utilizar hélio purificado como gás de arraste (1,0 mL/minutos).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 15	60
	15 – 61,7	60 → 200
	61,7 – 91,7	200
Injetor		200
Detector		220

Solução amostra: diluir 0,1 mL do óleo volátil de tomilho em 10 mL de hexano. Armazenar sob refrigeração, em frasco hermeticamente fechado e ao abrigo da luz.

Solução referência: dissolver 0,15 g de β -mirceno, 0,1 g de γ -terpineno, 0,1 g de *p*-cimeno, 0,1 g de linalol, 0,2 g de terpinen-4-ol, 0,2 g de timol e 50 mg de carvacrol em 5 mL de hexano.

Procedimento: injetar volume de 0,2 µL da *Solução referência* e 0,5 µL da *Solução amostra* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

Ordem de eluição: ordem de preparação da *Solução referência*. Registre os tempos de retenção das substâncias.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução referência*, no mínimo, 1,5 entre os picos referentes ao timol e carvacrol.

Números de pratos teóricos: no mínimo, 30 000, calculado para o pico referente ao *p*-cimeno, a 80 °C.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: β-mirceno, 1,0 a 3,0%; γ-terpineno, 5,0 a 10,0%; *p*-cimeno, 15,0 a 28,0%; linalol, 4,0 a 6,5 %; terpinen-4-ol, 0,2 a 2,5%; timol, 36,0 a 55,0% e carvacrol, 1,0 a 4,0%.

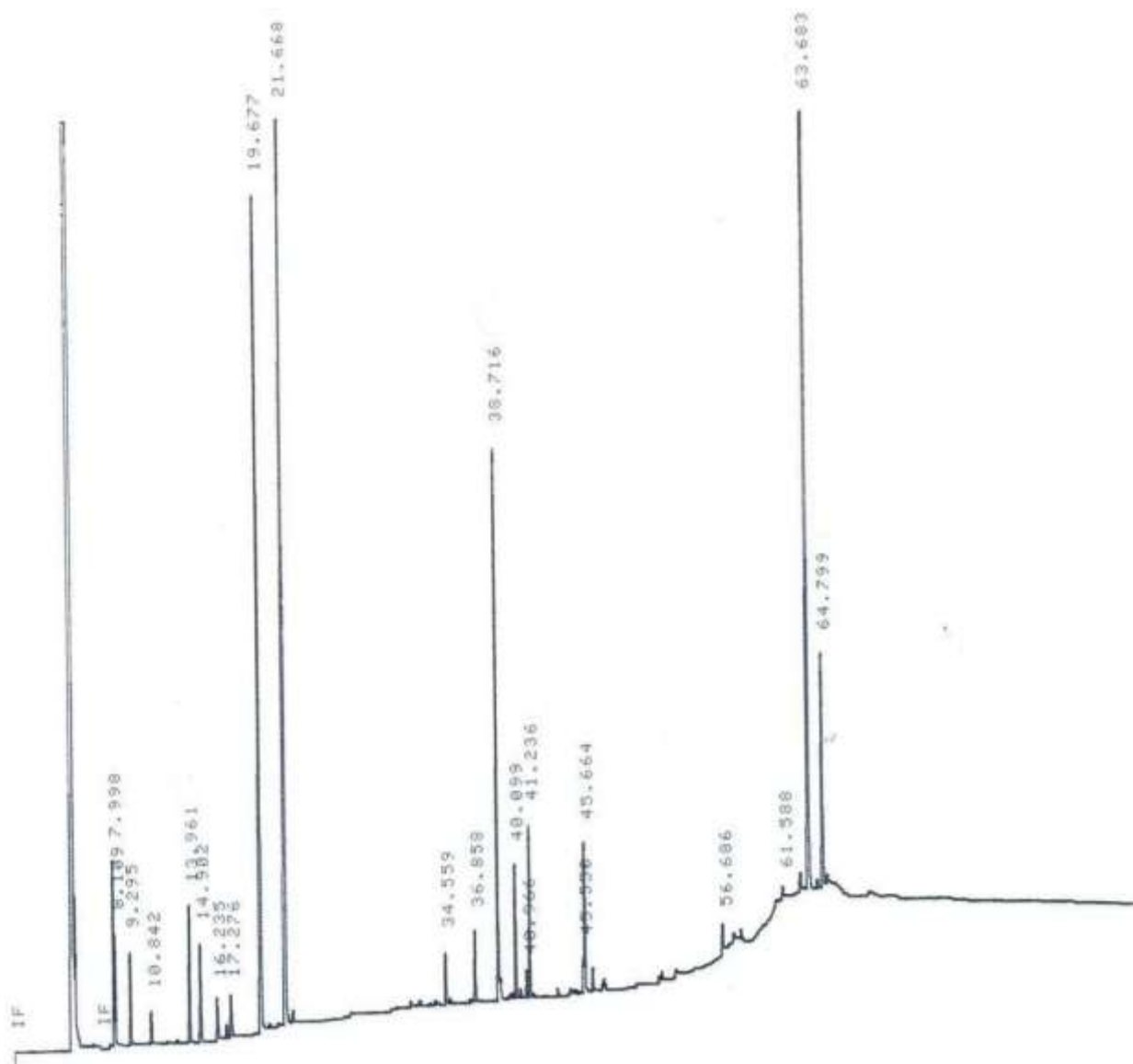


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Thymus vulgaris* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

UVA-URSI, folha *Uvae ursi folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas, íntegras ou rasuradas, de *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., contendo, no mínimo, 7% de arbutina anidra (C₁₂H₁₆O₇, 272,25).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas inteiras, coriáceas, rígidas e quebradiças, obovaladas, oblongo-espatuladas ou elípticas, de 1,2 a 3,0 cm de comprimento e 0,5 a 1,5 cm de largura; ápice obtuso ou arredondado, às vezes aparentemente emarginado, margens inteiras e levemente revolutas, base cuneiforme e atenuada em um curto pecíolo, de 0,3 a 0,5 cm de comprimento. Face adaxial de cor verde escura ou verde-oliva a castanho-esverdeada, glabra e brilhante, cerosa, finamente reticulada, com nervuras fortemente depressas. Face abaxial verde-amarelada a verde-pálido-acinzentada, glabra a levemente pubescente em folhas jovens, com tricomas pequenos e simples no pecíolo e sobre as nervuras principal e secundárias. As folhas jovens podem apresentar, na face abaxial, tricomas tectores unicelulares cônicos, frequentemente curvos. As nervuras são finamente reticuladas, mais salientes na face abaxial do que na adaxial, sendo as principais escuras. Fratura curta.

B. Descrição microscópica

Lâmina foliar hipoestomática, com mesofilo dorsiventral. Em vista frontal, as células da face adaxial da epiderme são poligonais-retilíneas a retangulares e as da face abaxial são poligonais, com estômatos ciclocíticos formados por seis a 11 células subsidiárias, cujas células-guarda têm tamanho muito maior (cerca de 40 μ m a 50 μ m de comprimento). São visíveis gotas lipídicas. A cutícula, na face adaxial, é lisa e espessa e pode apresentar fendas irregulares que chegam à parede periclinal externa das células da epiderme; na face abaxial, mostra-se interrompida por espaços circulares correspondentes aos poros dos estômatos. Em secção transversal, a face adaxial da epiderme é formada por células achatadas, com paredes periclinais externas mais espessas do que as anticlinais e a face abaxial mostra cutícula espessa, interrompida pela abertura dos estômatos. O mesofilo é muito rico em cristais prismáticos de oxalato de cálcio e é formado por três a cinco camadas de células paliçádicas, tendo cada camada espessura diferente, dando ao tecido um aspecto irregular. O parênquima esponjoso possui células braciiformes, frouxas, onde se distribuem feixes vasculares secundários e terciários, revestidos de fibras, acompanhadas de extensão de bainha parenquimática para ambas as faces. A nervura principal é plano-convexa, e o feixe vascular é do tipo colateral em arco aberto, apresentando, em ambas as faces, um colênquima angular bem desenvolvido, com numerosos cristais prismáticos de oxalato de cálcio. O pecíolo, em secção transversal, é plano-convexo, apresentando cutícula espessa, epiderme com tricomas simples e estômatos. O parênquima fundamental possui células com paredes espessadas e preenche quase que a totalidade desta região, exceto nas porções laterais do feixe vascular, onde ocorre um aerênquima. Compostos fenólicos são encontrados no colênquima, parênquima, aerênquima, floema e, em menor quantidade, no xilema.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração amarela a oliva-claro, raro verde-escura; fragmentos de cutícula isolada e com fendas; cutícula com interrupções, de forma circular, nos locais onde ocorrem os estômatos; fragmentos de células epidérmicas mostrando a espessa cutícula; fragmentos de epiderme com células poligonais de paredes espessas sem estômatos, caracterizando a face adaxial ou fragmentos com estômatos ciclocíticos, como descritos para a face abaxial; células da epiderme da face abaxial menores do que as da face adaxial, quando em vista frontal; paredes anticlinais com campos de pontoações primários pouco visíveis; tricomas simples, unicelulares, curtos, retos ou sinuosos ou seus fragmentos; fragmentos da epiderme da face abaxial em vista frontal podem mostrar cicatrizes da base dos tricomas; sob a epiderme, frequentemente ficam visíveis restos de células clorofiladas; fragmentos da lâmina em secção transversal inteiros são raros; ocasionalmente são visíveis os parênquimas paliçádico e esponjoso, contendo pigmentos castanho-alaranjados; fragmentos das

nervuras principal e secundárias em secção transversal com pigmentos; fragmentos de feixes vasculares mostrando elementos helicoidais, unidos a fibras estreitas e lignificadas, associadas com fibras cristalíferas contendo prismas monoclinicos de oxalato de cálcio, de até 30 µm de comprimento; cristais prismáticos de oxalato de cálcio, em células parenquimáticas dos feixes vasculares ou livres, de tamanho variável, os menores frequentemente formando pequenos agrupamentos; grupos de fibras de paredes espessas, lignificadas e com poucas pontoações, são frequentemente associados a células parenquimáticas contendo prismas de oxalato de cálcio; grupos de traqueídes e elementos de vaso; fibras isoladas, de forma irregular com pontoações conspícuas; fragmentos de células com substância pardo-amarelada, que por adição de solução de cloreto férrico SR, cora de negro-azulado.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico anidro e água (88:6:6).

Solução amostra: aquecer, sob refluxo, 0,5 g da droga em pó (355) (5.2.11) e 5 mL da mistura de água e metanol (1:1), durante 10 minutos. Filtrar o extrato ainda quente, completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução referência (1): preparar uma solução a 2,5 mg/mL de ácido gálico em metanol.

Solução referência (2): preparar uma solução a 2,5 mg/mL de arbutina em metanol.

Revelador (1): solução de 2,6-dicloroquinona-4-clorimida 10 g/L em metanol.

Revelador (2): solução de carbonato de sódio 20 g/L.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra*, 10 µL da *Solução referência (1)*, e 10 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com o *Revelador (1)* e deixar secar ao ar durante 15 minutos, e, após, nebulizar com o *Revelador (2)*, deixar secar ao ar por mais 30 minutos. Visualizar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido gálico: zona de coloração castanho-ene­gre­cida	Zona de coloração castanho-ene­gre­cida (ácido gálico)
	Zona de coloração castanho-ene­gre­cida
Arbutina: Zona de coloração azul	Zona de coloração azul (arbutina)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Perda por dessecação (5.4.2.2.3). *Método gravimétrico.* No máximo 10%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 5%.

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.

Folhas de colorações diferentes. No máximo 10%.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Arbutina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: água e metanol (90:10).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,800 g da droga vegetal seca e moída (250) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 20 mL de água, e aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Esfriar o conteúdo do balão e filtrar o líquido em pequena porção de

algodão. Transferir o resíduo e o algodão para o balão de fundo redondo e adicionar 20 mL de água. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Esfriar o conteúdo do balão e filtrar o líquido em papel de filtro. Combinar os filtrados e diluir em balão volumétrico de 50 mL com água. Filtrar em papel de filtro, descartando os primeiros 10 mL do filtrado.

Solução referência (1): dissolver 50 mg de arbutina na *Fase móvel* e diluir em balão volumétrico de 50 mL com a *Fase móvel*.

Solução referência (2): dissolver 2,5 mg de hidroquinona na *Fase móvel*, diluir em balão volumétrico de 10 mL com a *Fase móvel* e homogeneizar. A 5 mL dessa solução, adicionar 2,5 mL da *Solução referência (1)*, diluir em balão volumétrico de 10 mL com a *Fase móvel* e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes a arbutina. O tempo de retenção médio é de aproximadamente 4 minutos. Calcular o teor de arbutina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_a \times m_r \times P}{A_r \times m_a}$$

em que,

TA = teor de arbutina % (p/p);

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

A_r = área sob o pico correspondente à arbutina na *Solução referência (1)*;

m_a = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação;

m_r = massa em gramas da arbutina, utilizada para preparação da *Solução referência (1)*; e

P = pureza percentual declarada da substância de referência arbutina.

Adequabilidade do sistema: resolução mínima de 4,0 entre os picos equivalentes a arbutina e a hidroquinona no cromatograma obtido com a *Solução referência (2)*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

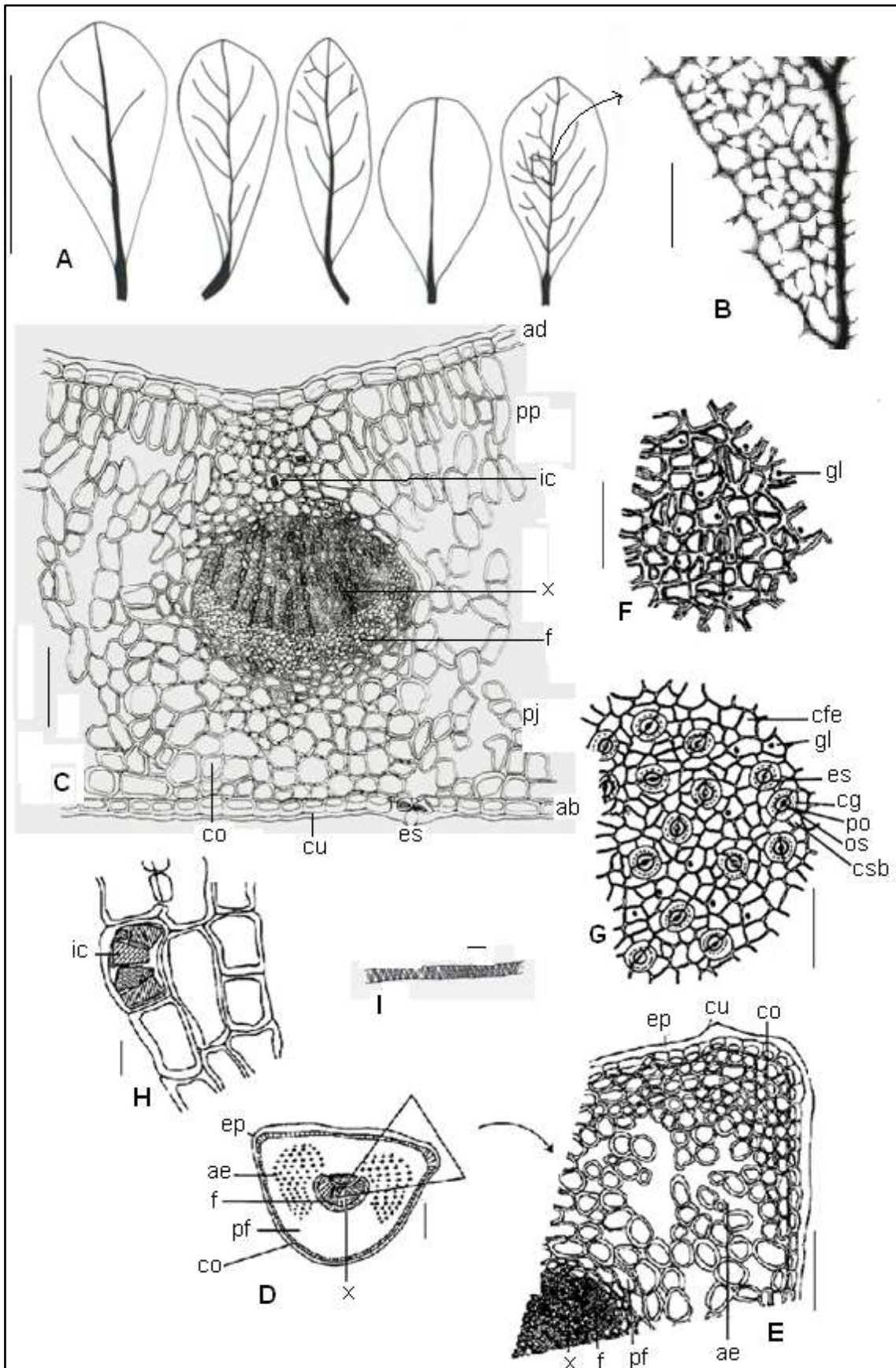


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.

As escalas correspondem em A a 2 cm, em B a 0,1 cm, em C, E, F, G a 100 µm, em D a 200 µm, em H a 20 µm e em I a 10 µm.

A – variação da lâmina foliar: obovalada, oblongo-espatulada ou elíptica. **B** - detalhe da nervação foliar da face adaxial de um segmento da lâmina, em vista frontal, indicado em A. **C** - região da nervura principal em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); colênquima (co); cutícula (cu); estômato (es); floema (f); idioblasto cristalífero (ic); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliádico (pp); xilema (x). **D** - aspecto geral da região do pecíolo, em secção transversal; aerênquima (ae); colênquima (co); epiderme (ep); floema (f); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **E** - detalhe de uma porção do pecíolo, em secção transversal, assinalado em D; aerênquima (ae); colênquima (co); cutícula (cu); epiderme (ep); floema (f); parênquima fundamental (pf); xilema (x). **F** - células epidérmicas da face adaxial da lâmina foliar, em vista frontal; gotas lipídicas (gl). **G** - células epidérmicas da face abaxial da lâmina foliar, em vista frontal, com estômatos ciclocíticos; célula fundamental epidérmica (cfe); célula-guarda (cg); célula subsidiária (csb); estômato (es); gotas lipídicas (gl); ostíolo (os); poro (po). **H** - detalhe de células parenquimáticas e prismas de oxalato de cálcio; ic: idioblasto cristalífero (ic). **I** - detalhe de um elemento de vaso com espessamento helicoidal.

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 (C₁₅H₂₂O₂, 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

O pó atende 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 1,0 g da droga vegetal e adicionar 10 mL de metanol. 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 metanol e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido valerênico em metanol, para obter a concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido acetoxivalerênico em metanol, para obter a concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$.

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 5 minutos. Examinar a placa sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

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

E. Transferir 0,2 g da droga para um tubo de ensaio e adicionar 5,0 mL de diclorometano. Em seguida, agitar o tubo de ensaio por alguns minutos e deixar em repouso durante 5 minutos. Após, filtrar a solução e lavar o papel filtro com 2,0 mL de diclorometano. Secar o filtrado em banho-maria até resíduo. Dissolver o resíduo em 0,2 mL de diclorometano, transferir 0,1 mL desta solução para outro tubo de ensaio e adicionar 3,0 mL de uma mistura de volumes equivalentes de ácido acético glacial e ácido clorídrico a 25% (v/v). Agitar o tubo de ensaio durante 1 minuto. Observar a formação de coloração azulada após 15 minutos. A formação dessa coloração indica a presença dos ácidos sesquiterpênicos.

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método Gravimétrico.* No máximo 10%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

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

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 12%.

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

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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste

Resíduo 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 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 4 horas.

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 µm), mantida à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido fosfórico 5 mL/L e acetonitrila (80:20)

Fase móvel (2): acetonitrila e ácido fosfórico 5 mL/L (80:20)

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 - 5	55	45	isocrático
5 - 15	55 → 20	45 → 80	gradiente linear
15 - 25	20	80	isocrático
25 - 28	20 → 55	80 → 45	gradiente linear
28 - 30	55	45	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1,00 g da droga vegetal moída (500) (5.2.11) e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 20 mL de metanol e aquecer em banho-maria a temperatura de 70 °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 metanol 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 evaporador rotativo, com temperatura não superior a 60 °C. Dissolver o resíduo em 5 mL de metanol e levar ao ultrassom durante 5 minutos. Transferir a solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido valerênico em metanol, para obter uma solução a 100 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O 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:

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

em que,

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

C_r = concentração do ácido valerênico na *Solução referência* em g/mL;

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, considerando a perda por dessecação;

FD = fator de diluição (10); e

P = pureza percentual declarada da substância de referência ácido valerênico.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

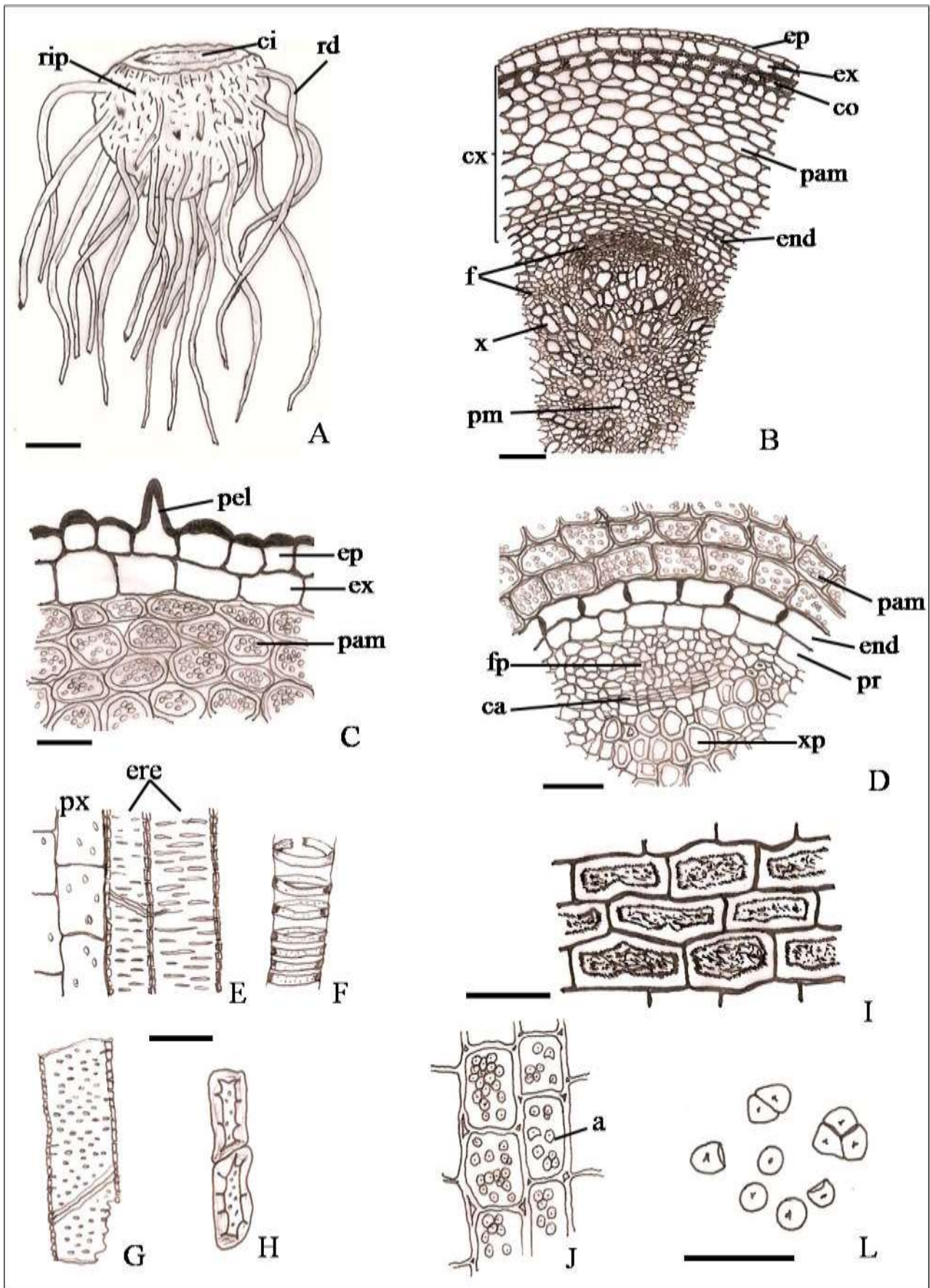


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Valeriana officinalis* L.

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.

VALERIANA, extrato fluido

Valerianae extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de órgãos subterrâneos (raízes, rizomas e estolões), secos, de *Valeriana officinalis* L., contendo, no mínimo, 0,15% de ácidos sesquiterpênicos totais, expressos em ácido valerênico (C₁₅H₂₂O₂, 234,34).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por maceração ou percolação, utilizando etanol a 70% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido castanho escuro, de odor forte e persistente.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

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

Solução amostra: medir 1 mL de extrato fluido e secar até resíduo em banho-maria, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e proceder à análise cromatográfica.

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

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

Revelador: anisaldeído sulfúrico SR.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 15 µL da *Solução amostra*, 15 µL da *Solução referência (1)* e 15 µL da *Solução referência (2)*. Remover a cromatoplaça

e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com anisaldeído sulfúrico SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, *Solução referência (1)* e *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

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

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0048 a 1,0079.

Etanol (5.3.3.8.1). *Método II, Líquidos com mais de 50% de álcool.* 51 % (v/v) a 53 % (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e, no máximo, 0,05% de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 24,00 % (p/p).

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

Ácidos Sesquiterpênicos

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 octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido fosfórico a 5 mL/L e acetonitrila (80:20).

Fase móvel (2): acetonitrila e ácido fosfórico a 5 mL/L (80:20).

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 5	55	45	isocrático
5 - 15	55 → 20	45 → 80	gradiente linear
15 - 25	20	80	isocrático
25 - 28	20 → 55	80 → 45	gradiente linear
28 - 30	55	45	isocrático

Solução amostra: transferir 5,0mL do extrato fluido para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido valerênico em metanol, para obter uma solução a 50 µg/mL e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O 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:

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

em que,

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

C_r = concentração do ácido valerênico na *Solução referência* em g/mL;

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, determinada a partir da densidade; e

P = pureza percentual declarada da substância de referência de ácido valerênico.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

VALERIANA, tintura *Valerianae tinctura*

A tintura é obtida a partir dos órgãos subterrâneos (raízes, rizomas e estolões), secos, de *Valeriana officinalis* L., contendo, no mínimo, 0,015% (p/p) de ácidos sesquiterpênicos totais, expressos em ácido valerênico ($C_{15}H_{22}O_2$, 234,34).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 20% (p/v), pela maceração ou percolação, utilizando etanol a 70% como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido castanho escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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: medir 1 mL de tintura e secar até resíduo em banho-maria, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e proceder à análise cromatográfica.

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

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

Revelador: anisaldeído sulfúrico SR.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 15 µL da *Solução amostra*, 15 µL da *Solução referência (1)* e 15 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com anisaldeído sulfúrico SR, aquecer entre 100 °C a 105 °C por aproximadamente 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)*, e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

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

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9044 a 0,9166.

Etanol (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 50% de álcool.* 62% (v/v) a 64% (v/v).

Metanol e 2-propanol (5.4.2.2.1). No máximo 0,05% (v/v) de metanol e no máximo 0,05% (v/v) de 2-propanol.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 5% (p/p).

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

Ácidos Sesquiterpênicos

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 octadecilsilanizada, coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (5 µm), mantida à temperatura de 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): solução de ácido fosfórico 5 mL/L e acetonitrila (80:20).

Fase móvel (2): acetonitrila e solução de ácido fosfórico 5 mL/L (80:20).

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 5	55	45	isocrático
5 - 15	55 → 20	45 → 80	gradiente linear
15 - 25	20	80	isocrático
25 - 28	20 → 55	80 → 45	gradiente linear
28 - 30	55	45	isocrático

Solução amostra: transferir 5,0 mL da tintura para um balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com metanol.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido valerênico em metanol, para obter uma solução a 50 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O 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:

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

em que,

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

C_r = concentração do ácido valerênico na *Solução referência* em g/mL;

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, determinada a partir da densidade;

P = pureza percentual declarada da substância de referência ácido valerênico; e

FD = fator de diluição (2).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

REVISÃO

ABACATEIRO, folha *Persea folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Persea americana* Mill. (syn. *Persea gratissima* Gaertn. f.) contendo, no mínimo, 0,4% de flavonoides totais expressos em apigenina (C₁₅H₁₀O₅, 270,24) e 0,14% de óleo volátil.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, elípticas, oblongas ou oval-acuminadas, semi-coriáceas, de margens inteiras, mais ou menos onduladas; lâmina com 8 a 20 cm de comprimento e 4 a 9 cm de largura; pecíolo de até 5 cm de comprimento e 3 a 4 mm de largura na base; quando frescas são de coloração verde-escura na face adaxial, pouco brilhantes e quase lisas, e mais clara, foscas e um tanto ásperas na face abaxial; folhas secas de coloração castanho-clara. Nervura principal proeminente na face abaxial, com nervuras secundárias oblíquas, também proeminentes, dando origem às nervuras terciárias que se anastomosam em fina trama.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar tem simetria dorsiventral e é hipostomática, com estômatos anomocíticos. A epiderme em vista frontal mostra cutícula granulosa, e na face adaxial é formada por células poligonais com raros tricomas tectores unicelulares, de paredes espessas; a face abaxial é formada por células retangulares ou arredondadas. Os tricomas tectores são frequentes em folhas jovens e raros em folhas adultas. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada em ambas as faces e coberta por cutícula espessa. O mesofilo é formado por uma ou duas camadas de células paliçádicas, apresentando muitos idioblastos secretores de mucilagem e de óleo volátil. O parênquima esponjoso apresenta cerca de seis camadas de células irregulares, com grandes espaços intercelulares. Pode ocorrer uma organização diferenciada no mesofilo, junto aos idioblastos secretores, formada por células parenquimáticas alongadas e achatadas tangencialmente, de paredes espessas. A nervura principal mostra um feixe vascular colateral desenvolvido, envolto por uma bainha esclerenquimática, praticamente contínua. Cristais fusiformes de oxalato de cálcio ocorrem em células parenquimáticas próximas às nervuras. Na base da lâmina foliar, dois outros feixes colaterais pequenos ocorrem junto ao bordo, voltados para a face adaxial.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-escura; fragmentos da epiderme adaxial com células poligonais recobertas por cutícula espessa; fragmentos da epiderme abaxial, contendo células retangulares e estômatos anomocíticos; tricomas tectores inteiros acompanhados de células epidérmicas ou isolados; fragmentos de tricomas tectores; fragmentos do mesofilo com idioblastos secretores; fragmentos de nervura, como descrita, acompanhados de células contendo cristais fusiformes.

D. 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, isopropanol, água e ácido fórmico (300:17:13:0,1).

Solução amostra: preparar tintura 20% (p/v) das folhas pulverizadas com etanol a 65% (v/v) por maceração ou percolação.

Solução referência: rutina a 1 mg/mL em metanol.

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, deixar secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C e, ainda morna, nebulizar com uma solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em metanol, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol. Deixar a placa secar ao ar livre por 30 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração amarela
	Zona de coloração amarela
	Zona de coloração amarela
	Zona de coloração amarela
	Zona de coloração amarela
	Zona de coloração rosa
	Zona de coloração azul
Rutina: zona de fluorescência marron-amarelada	Zona de coloração amarela
Solução referência	Solução amostra

TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). 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. Utilizar planta seca rasurada e não contundida. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil a partir de 100 g da droga rasurada. Destilar por 4 horas.

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da droga pulverizada (800 µm) e colocar em balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar à droga 1 mL de solução aquosa de metenamina a 0,5% (p/v), 30 mL de solução de etanol a 50% (v/v) e 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer em manta de aquecimento por 30 minutos, sob refluxo. Filtrar a mistura em algodão para balão volumétrico de 100 mL. Retornar o resíduo da droga e o algodão ao balão de fundo redondo, adicionar mais 30 mL de solução de etanol a 50% (v/v) e aquecer novamente, sob refluxo, durante 15 minutos. Filtrar em algodão para o mesmo balão volumétrico de 100 mL. Repetir a operação, retornar o resíduo da droga e o algodão para o balão de fundo redondo, adicionar 30 mL de solução de etanol a 50% (v/v), aquecer sob refluxo, por 15 minutos e filtrar para o mesmo balão volumétrico de 100 mL. Após resfriamento, completar o volume do balão volumétrico de 100 mL com solução de etanol a 50% (v/v).

Solução amostra: adicionar 10 mL da *Solução estoque* em balão volumétrico de 25 mL com 2 mL de solução de cloreto de alumínio a 5% (p/v) em solução de etanol a 50% (v/v) e completar o volume com solução de etanol 50% (v/v). Após 30 minutos fazer a leitura.

Solução branco: adicionar 10 mL da *Solução estoque* em balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de etanol a 50% (v/v).

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* a 425 nm, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. O teor de flavonoides totais, expressos em apigenina por 100 g de droga seca, é calculado segundo a expressão:

$$\text{TFT} = \frac{A \times 250}{(m - \text{PD}) \times 336,5}$$

em que,

TFT = teor de flavonoides totais % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

250 = fator de diluição;

m = massa em gramas da droga;
PD = perda por dessecação;
336,5 = absorvidade específica da apigenina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado protegido da luz e do calor.

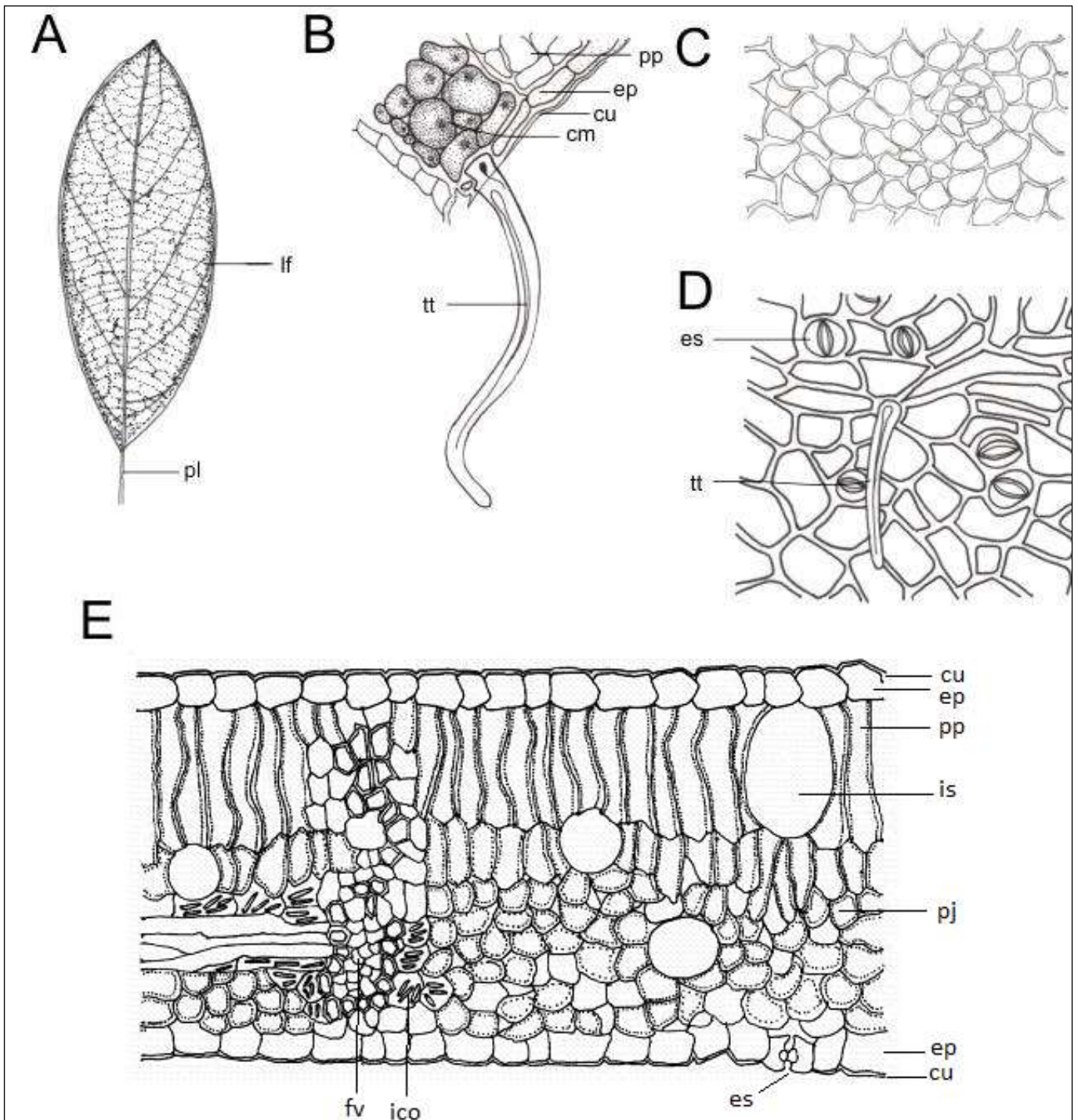


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Persea americana* Mill.

As escalas correspondem em A a 5 mm; em B, C e D a 20 μ m; e em E a 50 μ m.

A – folha em vista frontal: lâmina foliar (lf); pecíolo (pl). **B** – detalhe parcial da epiderme voltada para a face abaxial, em secção transversal: parênquima paliádico (pp); epiderme (ep); cutícula (cu); célula contendo mucilagem (cm); tricoma tector (tt). **C** – detalhe parcial da epiderme voltada para a face adaxial, em vista frontal. **D** – detalhe parcial da epiderme voltada para a face abaxial, em vista frontal: estômato (es); tricoma tector (tt). **E** – detalhe de porção da lâmina foliar, em secção transversal: cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima paliádico (pp); idioblasto secretor (is); parênquima esponjoso (pj); estômato (es); idioblasto com cristais de oxalato de cálcio (ico); feixe vascular (fv).

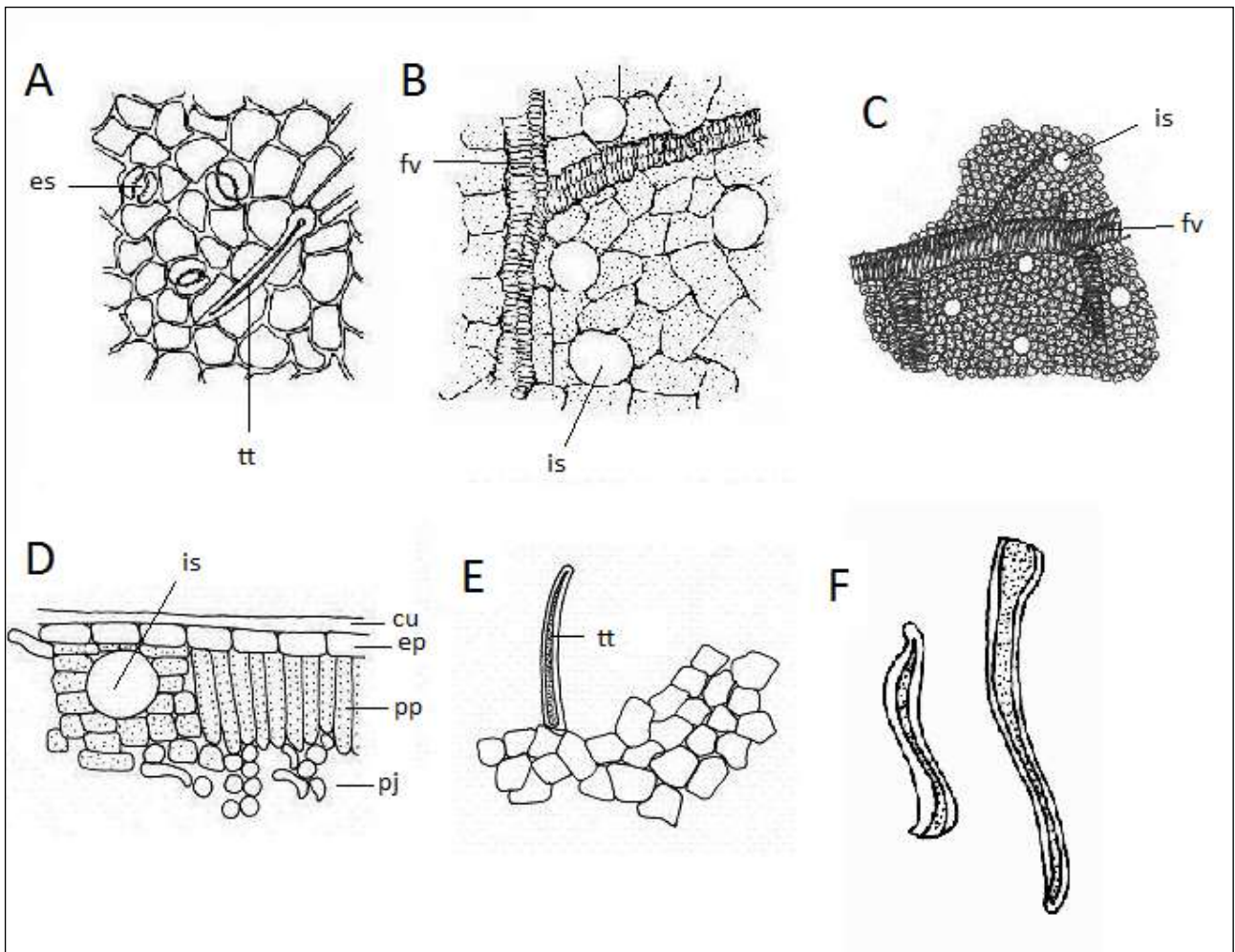


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Persea americana* Mill.

As escalas correspondem em A, D, E e F a 20 μm ; B a 30 μm ; e em C a 100 μm .

A – da epiderme voltada para a face abaxial: estômato (es); tricoma tector (tt). **B e C** – fragmentos da lâmina foliar, em vista frontal, com destaque para feixe vascular e idioblastos secretores: feixe vascular (fv); idioblasto secretor (is). **D** – fragmento da lâmina foliar em secção transversal, mostrando idioblasto secretor acompanhado de células com conformação diferenciada: idioblasto secretor (is); cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj). **E** – fragmento da epiderme: tricoma tector (tt). **F** – fragmentos de tricomas tectores.

ALECRIM, óleo ***Rosmarini aetheroleum***

Óleo volátil obtido, por hidrodestilação, a partir de sumidades floridas de *Rosmarinus officinalis* L.

CARACTERÍSTICAS

Líquido incolor ou de cor levemente amarelo-esverdeado, de odor forte característico.

IDENTIFICAÇÃO

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

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

Fase móvel: cloreto de metileno.

Solução amostra: diluir 0,5 mL da amostra a ser examinada em tolueno e completar o volume com o mesmo solvente para 10 mL.

Solução referência: dissolver 50 mg de borneol, 50 mg de acetato de bornila e 100 µL de 1,8-cineol em acetato de etila e completar o volume com o mesmo solvente a 10 mL.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a palca com uma solução de *p*-anisaldeído e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C durante 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração avermelhada intensa
Acetato de bornila: zona de coloração amarelo-esverdeado	Zona de coloração amarelo-esverdeado
1,8-Cineol: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
	Zona de coloração avermelhada
Borneol: zona de coloração verde com borda amarela	Zona de coloração verde com borda amarela
	Zona de coloração violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.29.1). 0,894 a 0,912.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,460 a 1,476.

Poder rotatório (5.2.29.5). -5° a +8°.

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo 1%.

Perfil cromatográfico. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector por ionização de chamas, utilizando mistura de nitrogênio, hidrogênio e ar sintético (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, revestida com polietilenoglicol, com espessura de filme de 0,25 µm. Utilizar hélio purificado como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 10	50
	10 – 85	50 → 200
	85 – 110	200
Injetor		200
Detector		240

Solução amostra: dissolver 0,2 mL do óleo volátil de alecrim em 10 mL de *n*-hexano. Armazenar sob refrigeração, em frasco hermeticamente fechado e ao abrigo da luz.

Solução referência: Dissolver 20 µL de α -pineno, 10 mg de canfeno, 20 µL de β -pineno, 10 µL de β -mirceno, 20 µL de limoneno, 50 µL de cineol, 10 µL de *p*-cimeno, 50 mg de cânfora, 30 mg de acetato de bornila, 10 mg de α -terpinol, 10 mg de borneol e 10 µL de verbenona em 10 mL de *n*-hexano.

Procedimento: injetar volume de 1 µL da *Solução amostra* e 1 µL da *Solução referência (1)* e 1 µL da *Solução referência (2)* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:50. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o perfil cromatográfico da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma obtido com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência (1)* e (2) ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama (**Figura 1**).

O cromatograma poderá, ainda, apresentar os seguintes compostos: acetato de bornila, borneol, β -pineno, β -mirceno, limoneno, *p*-cimeno, α -terpineol e verbenona.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra* verificar a presença dos componentes conforme segue: α -pineno, no mínimo, 9%; canfeno, no mínimo, 2,5%; cineol, no mínimo, 16%; e cânfora, no mínimo, 5%.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

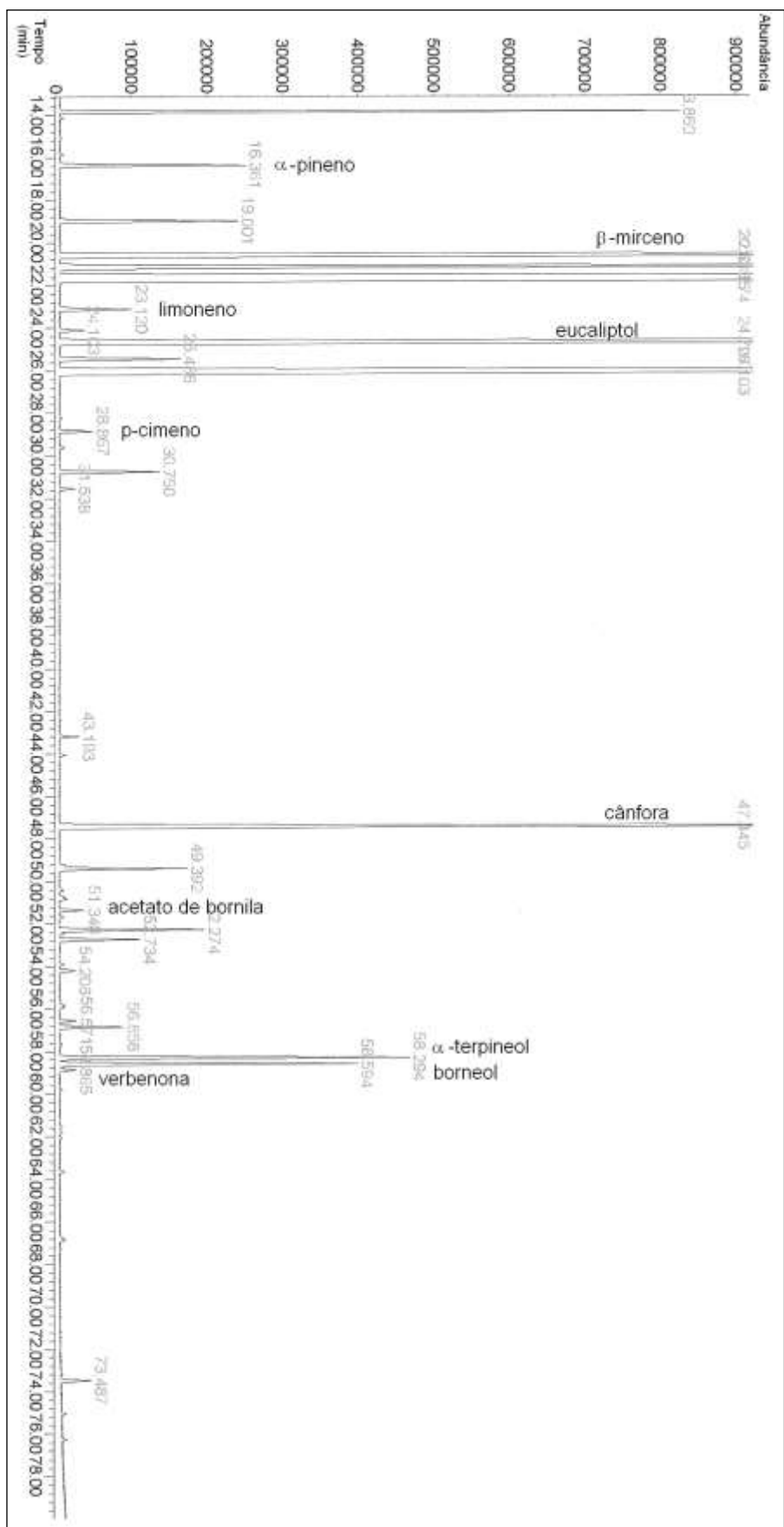


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Rosmarinus officinalis* L. por cromatografia gasosa acoplada a detector de massas.

ALOE, exsudato seco

Aloe exudatum siccum

A droga vegetal consiste do suco espesso obtido das folhas de *Aloe vera* (L.) Burm. f., *Aloe ferox* Mill., *Aloe africana* Mill. e *Aloe spicata* L.f. ou de seus híbridos interespecíficos, ou ainda, da mistura delas, dessecado por meio de calor, contendo, no mínimo, 18% de derivados hidroxiantracênicos, expressos em barbalóina (C₂₁H₂₂O₉, 418,39).

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor acre, desagradável e característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Massas irregulares, de coloração castanho-escuro, com reflexos esverdeados, de fratura lisa e vítrea. Seus fragmentos são translúcidos nos bordos, muito friáveis, originando um pó marrom-amarelado.

B. 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, metanol e água (100:17:13).

Solução amostra: a 0,25 g do pulverizado, adicionar 20 mL de metanol e aquecer até ebulição. Agitar por alguns minutos, decantar a solução e manter a cerca de 4 °C. Essa solução pode ser utilizada até 24 horas depois.

Solução referência: dissolver 2,5 mg de barbalóina em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 10 µL de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de hidróxido de potássio a 10% (p/v) em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. A seguir, aquecer a placa em estufa a 110 °C durante cinco minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa		
Barbaloína: zona de fluorescência laranja	Zona de fluorescência laranja Zona de coloração violeta	Zona de coloração marrom Zona de fluorescência azul-clara Zona de fluorescência azul-clara
Solução referência	Solução amostra	Solução amostra <i>A. ferox</i>

TESTES

Solubilidade. Parcialmente solúvel em água fervente, solúvel em etanol quente e praticamente insolúvel em éter etílico.

Substâncias insolúveis em álcool. Pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga vegetal e transferir para um balão contendo 50 mL de etanol. Aquecer a mistura e mantê-la, moderadamente, em ebulição durante 15 minutos, repondo o etanol evaporado. Deixar esfriar e agitar a mistura, de vez em quando, durante uma hora. Filtrar em papel de filtro pequeno, dessecado e tarado, e lavar o resíduo com etanol até que os líquidos de lavagem passem incolores. Dessecar esse resíduo a 105 °C, até peso constante. O peso encontrado deve ser inferior a 10,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 4,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 4,0%.

DOSEAMENTO

Derivados hidroxiantracênicos

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: transferir 0,4 g da amostra pulverizada para um erlenmeyer de 250 mL. Umedecer com 2 mL de metanol, adicionar 5 mL de água previamente aquecida a cerca de 60 °C e homogeneizar. Adicionar 75 mL de água aquecida à cerca de 60 °C e agitar durante 30 minutos. Esfriar e filtrar para balão volumétrico. Lavar o erlenmeyer e o filtro com 20 mL de água. Verter a água de lavagem para balão volumétrico e completar com água até 1000 mL. Introduzir 10 mL dessa

solução num balão de fundo redondo de 100 mL, contendo 1 mL de solução de cloreto férrico a 60% (p/v) e 6 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria sob refluxo durante 4 horas, mantendo o nível de água acima do líquido do balão e ao abrigo da luz intensa. Deixar esfriar e transferir a solução para funil de separação. Lavar sucessivamente o balão com 4 mL de água, 4 mL de hidróxido de sódio *M* e 4 mL de água. Reunir os líquidos de lavagem ao conteúdo do funil de separação. Agitar três vezes com 20 mL de éter etílico de cada vez. Reunir as camadas etéreas e lavar duas vezes com 10 mL de água de cada vez, rejeitando as águas de lavagem. Completar a camada orgânica até 100 mL com éter etílico.

Solução amostra: evaporar 20 mL da *Solução estoque* até resíduo em banho-maria. Suspender o resíduo em 10 mL de acetato de magnésio a 0,5% (p/v) em metanol.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 512 nm, imediatamente após o seu preparo, utilizando metanol para ajuste do zero. Considerar para a barbalóina o coeficiente de absorção específico ($A_{1\%}^{1\text{cm}}$) de 255, em 512 nm, em metanol. Calcular o teor de derivados hidroxiantracênicos, expressos em barbalóina, segundo a expressão:

$$\text{TDHC} = \frac{A \times 19,6}{m}$$

em que,

TDHC = derivados hidroxiantracênicos em %;

A = absorvância medida;

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ALTEIA, raiz

Althaeae radix

A droga vegetal consiste de fragmentos de raízes secas de *Althaea officinalis* L.

CARACTERÍSTICAS

Consistência mucilaginosa após hidratação.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A raiz não mondada é cilíndrica, ligeiramente retorcida e sulcada longitudinalmente, com até 20 cm de comprimento e até 2 cm de espessura. A superfície externa é pardo-grisácea e apresenta numerosas cicatrizes das raízes laterais. A fratura é fibrosa na porção externa e irregular e granulosa

internamente. Na secção transversal são visíveis camadas concêntricas do córtex de coloração parda e sua estrutura estratificada, separado por uma faixa cambial bem marcada, sinuosa e de coloração amarelada, seguida pelo cilindro central de coloração esbranquiçada, mostrando xilema com estrutura radial, especialmente após hidratação em água e com auxílio de lente. A raiz mondada é quase cilíndrica e a face externa tem cicatrizes escuras originadas pelas raízes laterais e apresenta coloração amarelo-esbranquiçada. Frequentemente a droga se apresenta fragmentada, sendo bem visíveis porções de fibras dispostas longitudinalmente ou desprendidas dos restos do córtex. As três regiões descritas podem ser visíveis nos fragmentos.

B. Descrição microscópica

A raiz não mondada, em vista frontal, apresenta súber com células poliédricas de paredes retilíneas. Em secção transversal, são bem visíveis as três regiões mencionadas na descrição macroscópica. O córtex externamente apresenta súber pouco desenvolvido, constituído por células tabulares e irregulares, de paredes delgadas e retilíneas, dispostas em fileiras e internamente parênquima cortical com células geralmente poliédricas e volumosas, de paredes delgadas e retilíneas. Neste parênquima ocorrem agrupamentos irregulares de fibras do floema, dispostos aleatoriamente, com células de paredes pouco espessadas e cujas células condutoras são raramente visíveis. Os raios parenquimáticos distribuem-se desde o córtex interno até o cilindro central e são constituídos geralmente por poucas fileiras de células.. O câmbio é formado por células pequenas, dispostas em fileiras, a maioria achatada longitudinalmente. O cilindro central é muito desenvolvido, formado por parênquima xilemático com células variadas em forma e volume, com paredes retilíneas e delgadas. Os elementos condutores formam agrupamentos irregulares alinhados longitudinalmente e muitas vezes associados a pequenas células parenquimáticas; mais internamente mostram disposição anelar. Agrupamentos de fibras ou fibras isoladas são encontrados em todo o cilindro central, ocorrendo também junto ao xilema primário, quando presente nas raízes com medula sólida, isto é, preenchida por um parênquima composto por células de grande volume. Grãos de amido simples, de variadas formas, frequentemente arredondados, ovoides ou reniformes, com hilo geralmente central e ramificado, raramente excêntrico, ou raramente grãos compostos, muitas vezes mostrando lamelação, ocorrem em grande quantidade em todos os tecidos, exceto no parênquima medular. Cristais de oxalato de cálcio, do tipo drusa, com diferentes tamanhos são muito comuns no córtex e no cilindro central. Células contendo mucilagem, ovaladas ou arredondadas, em regra maiores do que as demais parenquimáticas, com protoplasto denso e escuro, também ocorrem no córtex e no cilindro central. Raízes mondadas podem não apresentar súber e parênquima cortical externo. Com a adição de azul de toluidina os elementos de vaso adquirem coloração azul intenso, as fibras coram de azul-claro e as células contendo mucilagem, de violeta. Devido à grande quantidade de grãos de amido e de células contendo mucilagem há dificuldade na confecção de lâminas histológicas utilizando-se material hidratado, sendo necessário testar o tempo de hidratação.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende 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. São característicos: coloração branca a branco-amarelada, quando proveniente de raízes mondadas ou pardo-acinzentada quando proveniente de raízes não mondadas; fragmentos de súber em secção transversal: com células retangulares e achatadas longitudinalmente, idem com células quadrangulares, idem contendo idioblastos cristalíferos, idem com células retangulares e achatadas longitudinalmente, contendo idioblastos cristalíferos e grãos de amido, em vista frontal, contendo grãos de amido, em secção transversal, com células retangulares e achatadas longitudinalmente, repletas de grãos de amido; fragmentos de parênquima em vista frontal: contendo células com mucilagem e muitos grãos de amido, idem mostrando idioblastos cristalíferos e células repletas de grãos de amido, fragmentos de parênquima em secção transversal, contendo grãos de amido, idem

contendo idioblastos cristalíferos, idem com células contendo mucilagem e grande quantidade de grãos de amido; fragmentos de raio parenquimático, em secção longitudinal, mostrando células parenquimáticas e fibras; células parenquimáticas isoladas, repletas de grãos de amido e/ou contendo cristais; fragmentos de raio parenquimático, em secção transversal, com células contendo grãos de amido; fragmentos de xilema, em secção longitudinal, mostrando elemento de vaso com espessamento reticulado associado a fibras e a parênquima, idem mostrando elementos de vaso com espessamento reticulado, fibras e parênquima com grãos de amido, idem mostrando elementos de vaso com espessamento reticulado e com espessamento pontoadado, associados a células parenquimáticas repletas de grãos de amido, porções de elemento de vaso com espessamento helicoidal, em secção longitudinal, elementos de vaso em secção transversal, associados a células parenquimáticas repletas de grãos de amido, porções de elementos de vaso com espessamento reticulado, em secção longitudinal; fragmentos de fibras, em secção longitudinal associados a células parenquimáticas do xilema, fragmentos de feixes de fibras, em secção longitudinal, contendo grãos de amido, fragmentos de feixe de fibras, em secção longitudinal, associados a células do raio parenquimático, fragmentos de agrupamentos de fibras, em secção transversal; fibras ou porções destas, em secção longitudinal, isoladas e/ou agrupadas; grãos de amido, em vista frontal, simples ou compostos, isolados ou agrupados em pequeno número; agrupamentos formando grumos de grãos de amido, em vista frontal; mucilagem desprendida das células; células isoladas contendo mucilagem; cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, isolados.

D. 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, metil-etil-cetona, ácido fórmico e água (50:30:10:10).

Solução amostra: pesar 1 g da amostra, adicionar 10 mL de metanol, aquecer em banho-maria durante 15 minutos. Filtrar.

Solução referência: dissolver 2,5 mg de rutina e 1 mg de ácido clorogênico em 10 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR (Reagente Natural A) e examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de fluorescência azul
Acido clorogênico: zona de fluorescência verde	Zona de fluorescência azul
Rutina: zona de fluorescência alaranjada	Zona de fluorescência azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 2,0% de elementos de cor castanho. No máximo, 2,0% de elementos do súber (raiz mondada).

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%. Determinar em 1 g da amostra moída (710 µm), em estufa de 100 °C a 105 °C, durante 2 horas.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo, 6,0% na raiz mondada. No máximo, 8,0% na raiz não mondada.

Índice de intumescência (5.4.1.11). No mínimo 10, determinado na amostra pulverizada (710).

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.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado, protegido da luz e do calor.

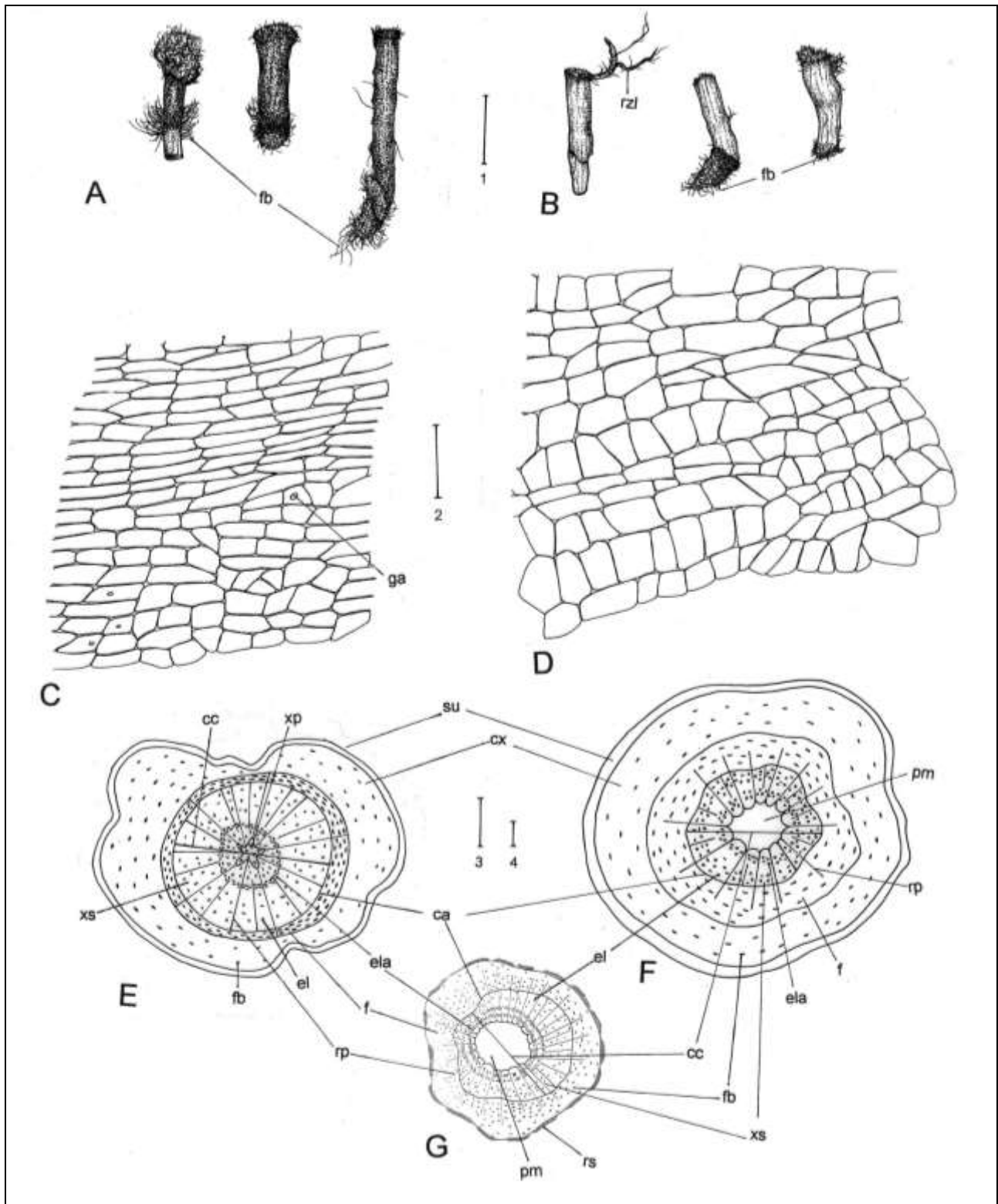


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Althaea officinalis* L.

As escalas correspondem em **A** e **B** a 2 cm (régua 1); em **C** e **D** a 100 µm (régua 2); em **E** e **F** a 1 mm (régua 3); em **G** a 1 mm (régua 4).

A - aspectos gerais de raízes não mondadas; fibra (fb). **B** - aspectos gerais de raízes mondadas; fibra (fb); raiz lateral (rzl). **C** - vista frontal do súber externo de uma raiz não mondada; grão de amido (ga). **D** - vista frontal do súber interno de uma raiz mondada. **E** - representação esquemática de uma raiz não mondada, em secção transversal; câmbio (ca); cilindro central (cc); córtex (cx); elemento traqueal (el); elementos traqueais com disposição anelar (ela); floema (f); fibra (fb); raio parenquimático (rp); súber (su); xilema primário (xp); xilema secundário (xs). **F** - representação esquemática de uma raiz não mondada, em secção transversal; câmbio (ca); cilindro central (cc); córtex (cx); elemento traqueal (el); elementos traqueais com disposição anelar (ela); floema (f); fibra (fb); parênquima medular (pm); raio parenquimático (rp); súber (su); xilema secundário (xs). **G** - representação esquemática de uma raiz mondada, em secção transversal; câmbio (ca);

cilindro central (cc); córtex (cx); elemento traqueal (el); elementos traqueais com disposição anelar (ela); floema (f); fibra (fb); parênquima medular (pm); raio parenquimático (rp); restos de súber (rs); xilema secundário (xs).

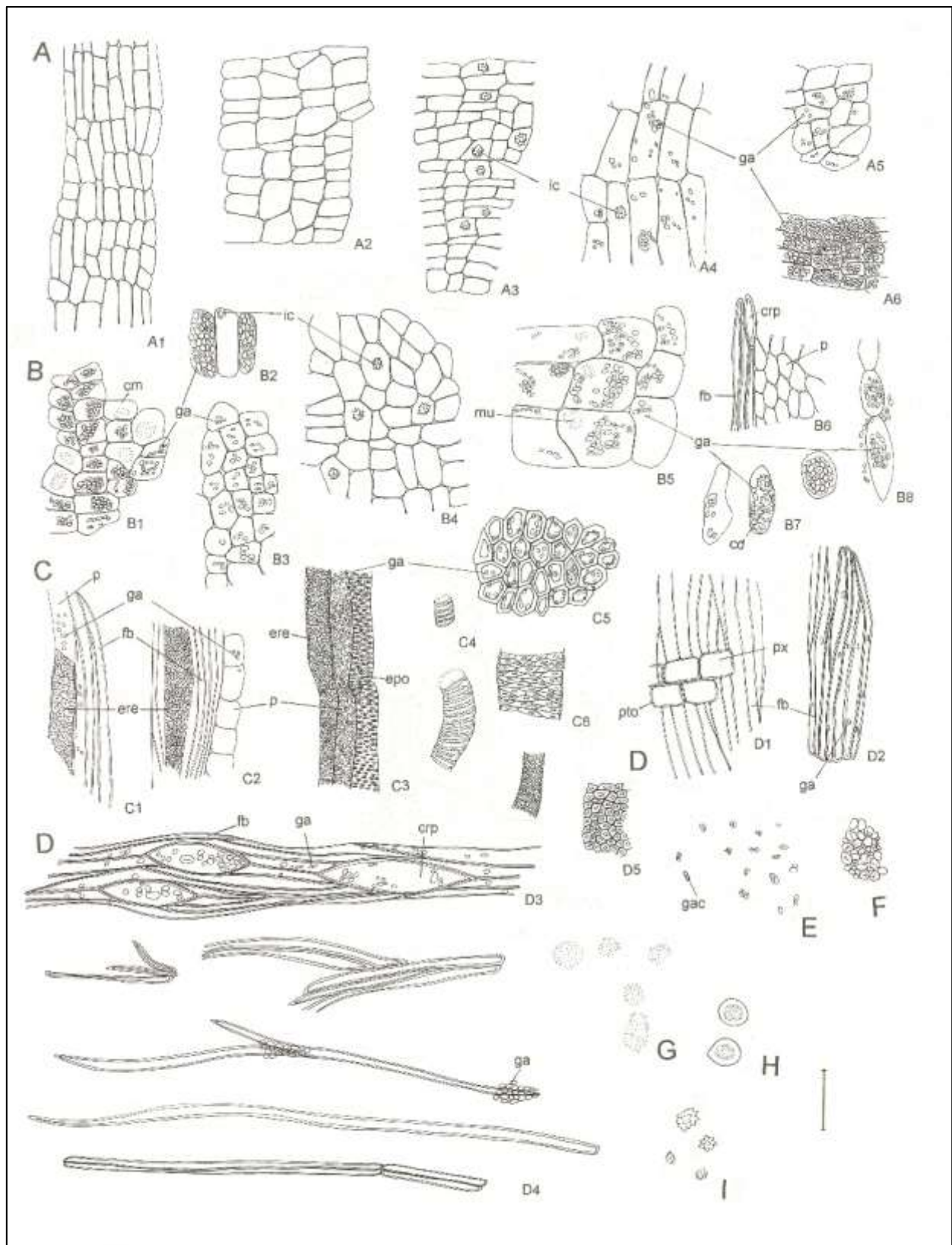


Figura 2 – Aspectos da microscopia do pó em *Althaea officinalis* L.

A escala corresponde a 100 µm.

A - fragmentos de súber; **A1** - fragmento de súber, em secção transversal, mostrando células retangulares e achatadas longitudinalmente; **A2** - fragmento de súber, em secção transversal, mostrando células quadrangulares; **A3** - fragmento

de súber, em secção transversal, contendo idioblastos cristalíferos (ic); A4 - fragmento de súber, em secção transversal, com células retangulares e achatadas longitudinalmente, contendo idioblastos cristalíferos (ic) e grãos de amido (ga); A5 - fragmento de súber, em vista frontal, contendo grãos de amido (ga); A6 - fragmento de súber, em secção transversal, com células retangulares e achatadas longitudinalmente, repletas de grãos de amido (ga). **B** - fragmentos de parênquima; B1 - fragmento de parênquima, em vista frontal, contendo células com mucilagem (mu) e muitos grãos de amido (ga); B2 - fragmento de parênquima, em vista frontal, mostrando idioblastos cristalíferos (ic) e células repletas de grãos de amido (ga); B3 - fragmento de parênquima, em secção transversal, contendo grãos de amido (ga); B4 - fragmento de parênquima, em secção transversal, contendo idioblastos cristalíferos (ic); B5 - fragmento de parênquima, em secção transversal, com células de mucilagem (mu) e com muitos grãos de amido (ga); B6 - fragmento de raio parenquimático (crp), em secção longitudinal, mostrando células parenquimáticas (p) e fibras (fb); B7- células parenquimáticas isoladas, contendo grãos de amido (ga) e cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (cd) ou repletas de grãos de amido; B8 - fragmento de raio parenquimático, em secção transversal, com células contendo grãos de amido (ga). **C** - fragmentos de xilema; C1 - fragmento de xilema, em secção longitudinal, mostrando elemento de vaso com espessamento reticulado (ere) associado a fibras (fb) e a parênquima (p) com grãos de amido (ga); C2 - fragmento de xilema, em secção longitudinal, mostrando elemento de vaso com espessamento reticulado (ere), fibras (fb) e parênquima (p) em secção transversal e com grãos de amido (ga); C3 - fragmento de xilema, em secção longitudinal, mostrando elementos de vaso com espessamento reticulado (ere) e com espessamento pontoadado (epo), associados a células parenquimáticas (p) repletas de grãos de amido (ga); C4 - porções de elemento de vaso com espessamento helicoidal, em secção longitudinal; C5 - elementos de vaso em secção transversal, com grãos de amido (ga); C6 - porções de elementos de vaso com espessamento reticulado, em secção longitudinal. **D** - fragmentos de fibras; D1 - fragmento de fibras (fb), em secção longitudinal associados a células parenquimáticas do xilema (px) pontoadas (pto); D2 - fragmento de feixes de fibras, em secção longitudinal, contendo grãos de amido (ga); D3 - fragmentos de feixe de fibras (fb), em secção longitudinal, associados a células do raio parenquimático (crp) contendo grãos de amido (ga); D4 - fibras ou porções destas, isoladas ou agrupadas, em secção longitudinal; grão de amido (ga); D5 - fragmento de agrupamento de fibras, em secção transversal. **E** - grãos de amido, em vista frontal, simples ou compostos (gac), isolados ou agrupados em pequeno número. **F** - agrupamentos formando grumos de grãos de amido, em vista frontal. **G** - mucilagem desprendida das células. **H** - células isoladas contendo mucilagem. **I** - cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, isolados.

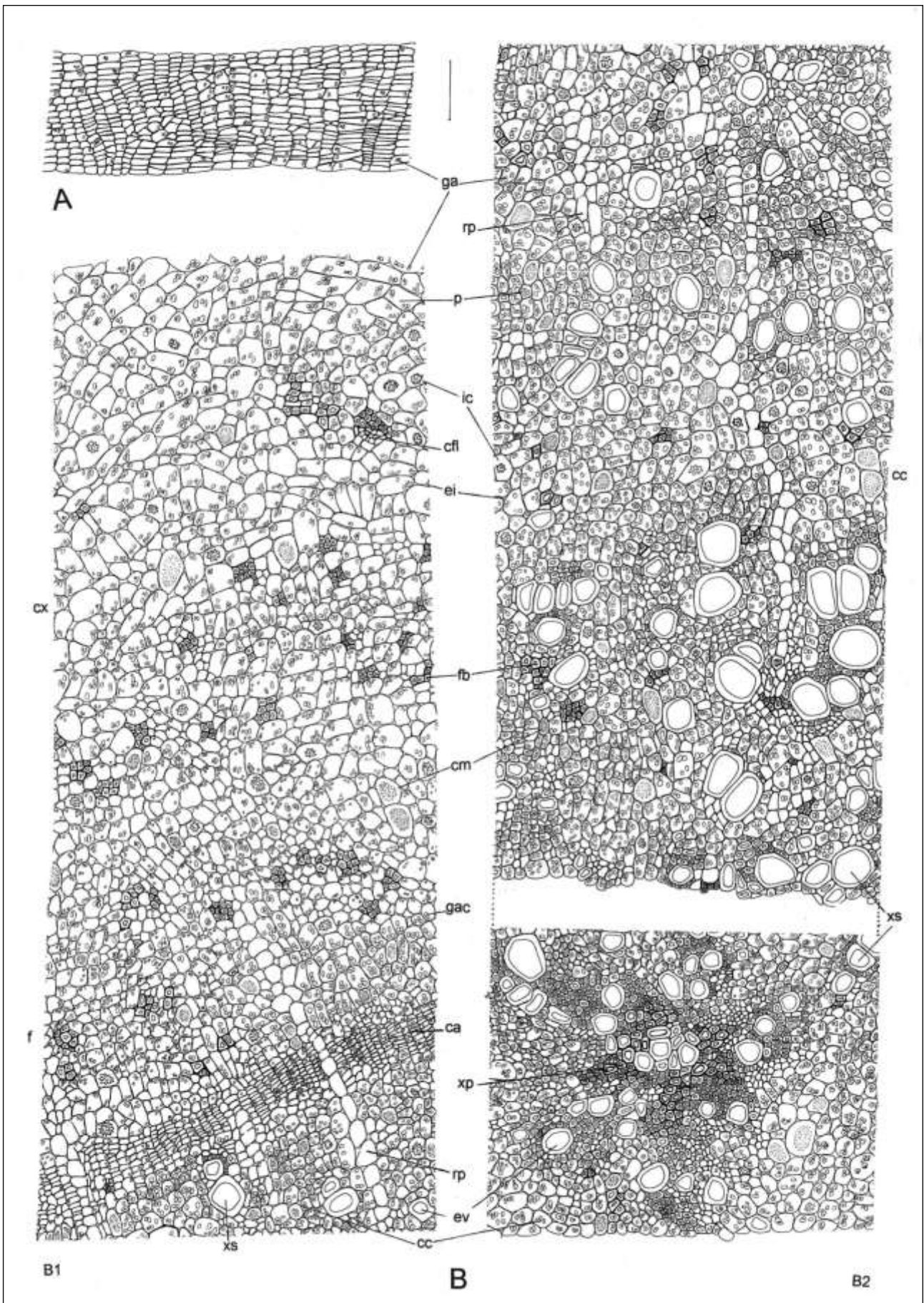


Figura 3 – Aspectos microscópicos em *Althaea officinalis* L.

A escala corresponde a 100 μm.

A - detalhe parcial do súber, em secção transversal, de uma raiz não mondada; grão de amido (ga). **B** - detalhe parcial de uma raiz mondada, em secção transversal; B1 detalhe parcial do córtex, câmbio e porção externa do cilindro central; câmbio (ca); cilindro central (cc); células condutoras do floema (cfl); célula contendo mucilagem (cm); córtex (cx); espaço intercelular (ei); elemento de vaso (ev); floema (f); fibra (fb); idioblasto cristalífero (ic); grão de amido (ga); grão de amido composto (gac); raio parenquimático (rp); parênquima (p); xilema secundário (xs); B2 continuidade do detalhe parcial de B1, mostrando porção interna do cilindro central; cilindro central (cc); célula contendo mucilagem (cm); espaço intercelular (ei); elemento de vaso (ev); fibra (fb); idioblasto cristalífero (ic); grão de amido (ga); raio parenquimático (rp); parênquima (p); xilema primário (xp); xilema secundário (xs).

ANIS-DOCE, fruto

Anisi fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Pimpinella anisum* L., contendo, no mínimo, 2,0% de óleo volátil, com, no mínimo, 87% de anetol.

NOMES POPULARES

Erva-doce.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor agradável e anisado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O fruto é um diaquênio piriforme, constituído de dois mericarpos comprimidos lateralmente, alargado na base e estreitado no ápice, de 0,3 a 0,7 cm de comprimento e 0,2 a 0,3 cm de largura; de coloração castanho-amarelada ou castanho-esverdeada, sendo o ápice coroadado por um estilopódio espesso, com dois estiletos curtos, divergentes e reflexos, e a porção basal provida de um pequeno fragmento do pedicelo, delgado, rígido e um tanto arqueado, que se prolonga entre os mericarpos (aquênios) de cada fruto, pelo carpóforo (filamento central), filiforme e bifendido. Os mericarpos (aquênios), unidos pelo ápice na extremidade do carpóforo, apresentam uma face comissural plana e uma face dorsal convexa, essa última recoberta de tricomas simples e curtos, visíveis com lente. Cada mericarpo é percorrido longitudinalmente por cinco arestas primárias filiformes, retilíneas e lisas, três dorsais e duas comissurais pouco salientes e de tom mais claro. Em secção transversal, os dois mericarpos mostram-se quase sempre unidos pelas suas faces comissurais, deixando visível uma linha contínua de canais secretores na porção dorsal, além de dois canais secretores maiores na face comissural ou ventral. Em cada aresta dorsal ocorrem feixes vasculares. O endosperma é oleoso e levemente ondulado na face comissural.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, cada mericarpo mostra um epicarpo de uma camada de células, onde se encontram numerosos tricomas tectores curtos, geralmente unicelulares, cônicos, com paredes

espessas e cutícula verrucosa. Em vista frontal, observam-se esparsos estômatos e uma cutícula fortemente estriada. O mesocarpo é formado por algumas camadas de parênquima, no qual se distingue, ao longo da face dorsal, uma série quase contínua de canais secretores esquizógenos; na face comissural ocorrem dois canais secretores amplos. Na face comissural são encontrados também esclereídes estreitos, alongados longitudinalmente e com numerosas pontoações. Cada aresta contém um estreito feixe vascular circundado por fibras. O endocarpo é composto de uma camada de células, alongadas tangencialmente e de paredes finas, aderida à testa; esta é formada por uma camada de células de paredes internas mais espessas, amarelas ou amarelo-esverdeadas. O endosperma apresenta células poligonais de paredes espessas, contendo gotículas de óleo, grãos de aleurona e microcristais de oxalato de cálcio do tipo drusa. O carpóforo e pedicelo são caracterizados pela presença de vasos e fibras estreitas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-amarelada ou castanho-esverdeada; fragmentos irregulares do pericarpo, que mostram porções de canais secretores; fragmentos castanhos contendo canais secretores; tricomas inteiros ou fragmentados, unicelulares, de paredes espessas às vezes curvados, com pontas atenuadas e cutícula verrucosa; fragmentos do epicarpo com cutícula estriada e escassos estômatos; fragmentos de tecido vascular com elementos de vaso espiralados ou anelares; células da testa de paredes finas; fragmentos de endosperma contendo grãos de aleurona e cristais de oxalato de cálcio; esclereídes quadrangulares, retangulares ou alongados de paredes espessadas, pontoadas; cordões de fibras do carpóforo e do pedicelo. O pó não contém grãos de amido.

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

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

Fase móvel: tolueno.

Solução amostra: utilizar 0,1 g de frutos secos pulverizados (1400 µm), adicionar 2 mL de cloreto de metileno. Agitar durante 15 minutos. Filtrar. Concentrar o filtrado à secura, em banho-maria, a temperatura inferior a 60 °C. Dissolver o resíduo em 0,5 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 3 µL de anetol e 40 µL de óleo de oliva em 1 mL de tolueno.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 2 µL e 3 µL da *Solução amostra* e 1 µL, 2 µL e 3 µL da *Solução referência*, com intervalo de 2 cm entre cada aplicação. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com anisaldeído SR e aquecer entre 100 °C a 105 °C, durante 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<i>trans</i> Anetol: zona de coloração violeta-claro	Zona de coloração violeta-claro
Triacilglicerídeos: 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%.

Água (5.4.1.4). No máximo 7%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 12%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2,5%.

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 de anis a pó grosseiro. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga em pó. Destilar por 4 horas.

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, hidrogênio e ar sintético (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna capilar de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com polietilenoglicol, com espessura do filme de 0,25 µm. Utilizar hélio purificado como gás de arraste; fluxo do gás de arraste de 1 mL/minuto.

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 5	60
	5 – 80	60 → 210
	80 – 100	210
Injetor		200
Detector		220

Solução amostra: óleo volátil de anis-doce obtido em xileno, conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*, sem diluição. Armazenar em recipiente hermeticamente fechado, sob refrigeração e ao abrigo da luz.

Solução referência: dissolver 60 µL de anetol em 1 mL de hexano. Armazenar em recipiente hermeticamente fechado, sob refrigeração e ao abrigo da luz.

Procedimento: injetar volume de 1 µL da *Solução amostra* e da *Solução referência* no cromatógrafo a gás, utilizando divisão de fluxo de 1:100. Determinar as concentrações relativas por integração eletrônica pelo método de normalização.

Examinar o cromatograma da *Solução amostra*. Os picos característicos no cromatograma com a *Solução amostra* deverão ter tempos de retenção similares àqueles obtidos com o cromatograma da *Solução referência* ou a identificação confirmada com a cromatografia a gás, acoplada a detector seletivo de massas, operando nas mesmas condições que a cromatografia a gás com detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

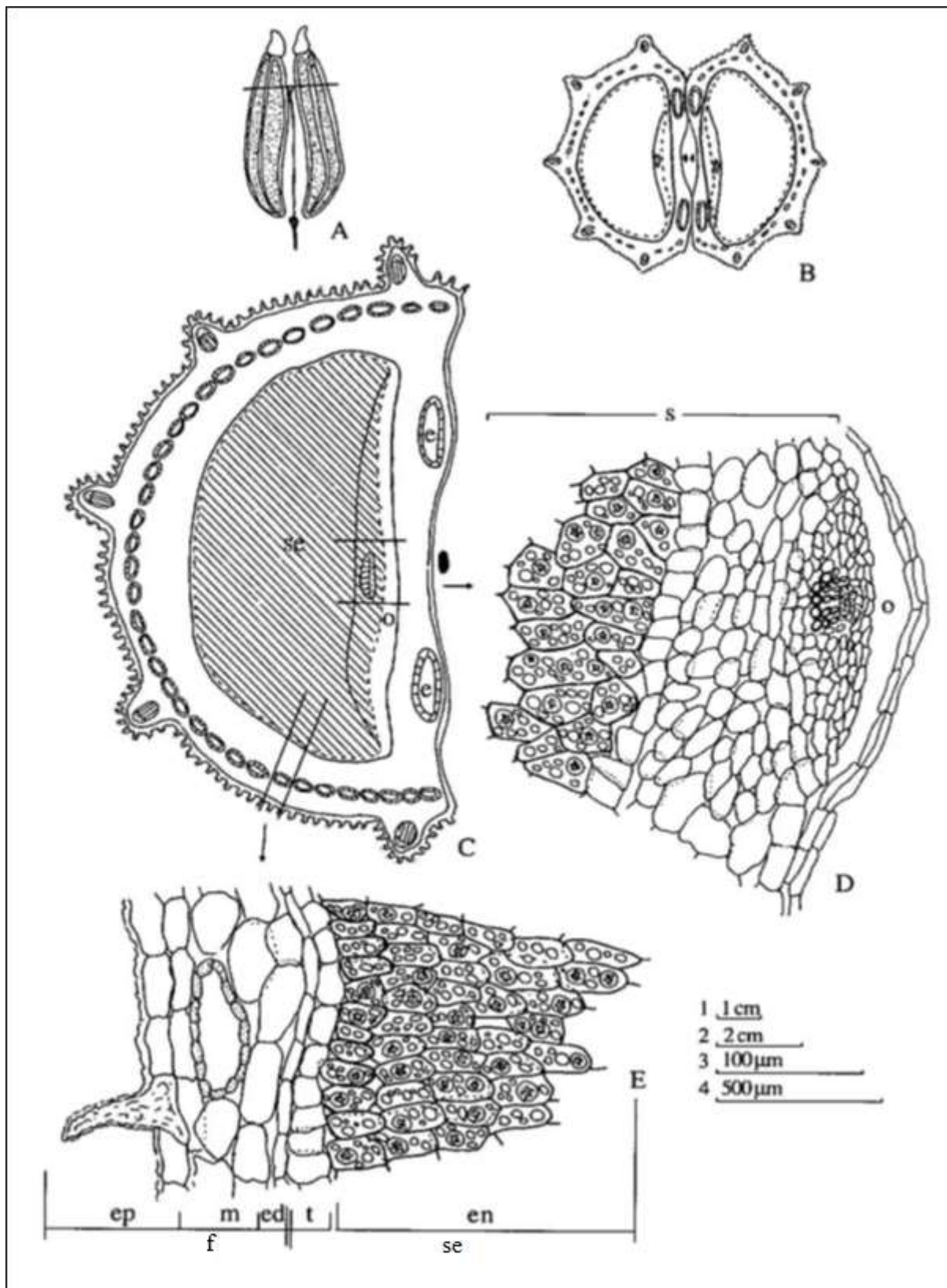


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Pimpinella anisum* L.

As escalas correspondem em A a 1 cm (régua 1); em B a 2 cm (régua 2); em C a 500 μm (régua 4); em D e E a 100 μm (régua 3).

A – aspecto do diaquênio (fruto). B – esquema da secção transversal do diaquênio segundo assinalado em A. C – esquema da secção transversal em um dos mericarpos: canal esquizógeno (e); oco (o); semente (se). D – detalhe da região comissural segundo assinalado em C; oco (o); porção da semente (s). E – detalhe de porção do fruto e semente segundo assinalado em C; secção do pericarpo do fruto (f); endocarpo (ed); epicarpo (ep); mesocarpo (m); secção da porção externa da semente (se); endosperma (en); tegumento (t).

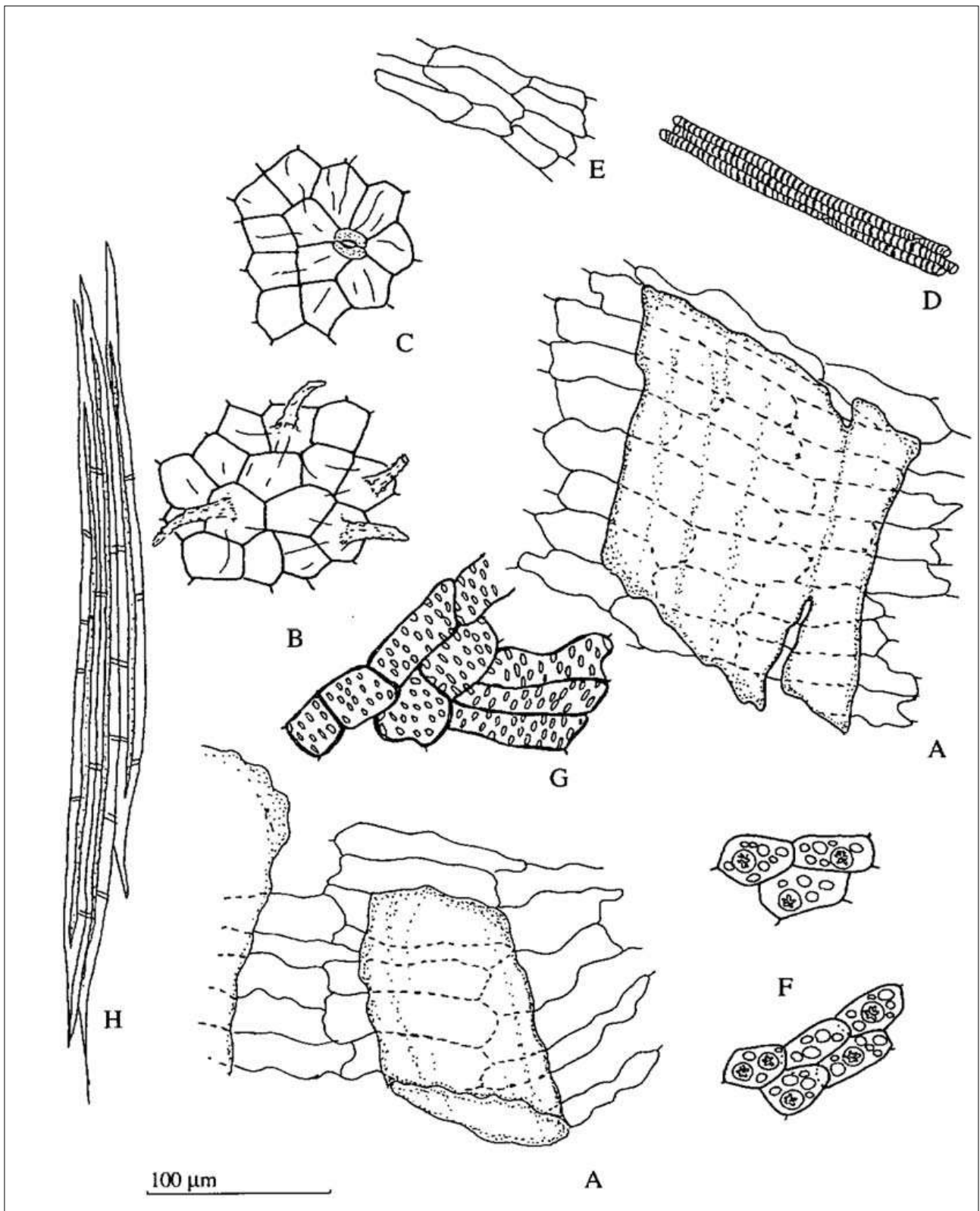


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Pimpinella anisum* L.

A escala corresponde a 100 μm .

A – porções irregulares do mesocarpo com canais secretores ramificados e não ramificados de coloração castanha. **B** – porção do epicarpo com tricomas inteiros e fragmentados e cutícula estriada. **C** – o mesmo, mostrando cutícula estriada e estômato anomocítico. **D** – fragmentos de elementos de vaso com espessamento helicoidal. **E** – células da testa com paredes delgadas. **F** – fragmentos do endosperma com células poligonais contendo gotas de óleo e grãos de aleurona com 1-2 drusas de oxalato de cálcio. **G** – esclereídes da face comissural. **H** – cordões de fibras do carpóforo e do pedicelo.

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 anetol.

NOMES POPULARES

Badiana, badiana-da-china.

CARACTERÍSTICAS

O pericarpo da droga possui odor aromático agradável e sabor doce e anisado; a semente é inodora e tem um sabor desagradável.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O fruto é múltiplo, composto de 7 ou 8 folículos, algumas vezes até 11, dispostos horizontalmente em forma de estrela, ao redor de um eixo central denominado columela. Os folículos têm de 1,0 a 2,0 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 2-3 camadas de células, seguido por um estrato de osteoesclereídes, com células alongadas radialmente, de paredes espessadas e pontoadas; seguem-se várias camadas de células de paredes lignificadas, espessadas e pontoadas, denominadas macrosclereídes, 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

O pó atende 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 (osteoesclereídes, macrosclereídes 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 esta apresentar folículos menores e mais ovalados, sutura ventral mais larga e columela reta, não claviforme e microscopicamente raros astroesclereídes, sendo estes 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: ácido fórmico anidro, ácido acético glacial, água e acetato de etila (11:11:26:100)

Solução amostra: aquecer, sob refluxo, 2 g de folículos moídos (355 µm), sem sementes, com 10 mL de metanol, em banho-maria, a 60 °C durante 5 minutos. Deixar esfriar e filtrar.

Solução referência: dissolver 1 mg de ácido cafeico R, 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 metanol.

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 metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes. 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.

Parte superior da placa	
<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>
Solução referência	Solução amostra

TESTES

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

Água (5.4.1.4). 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 2 horas.

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. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica. O anetol apresenta tempo de retenção linear (Índice de Retenção Relativo) de 1277.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

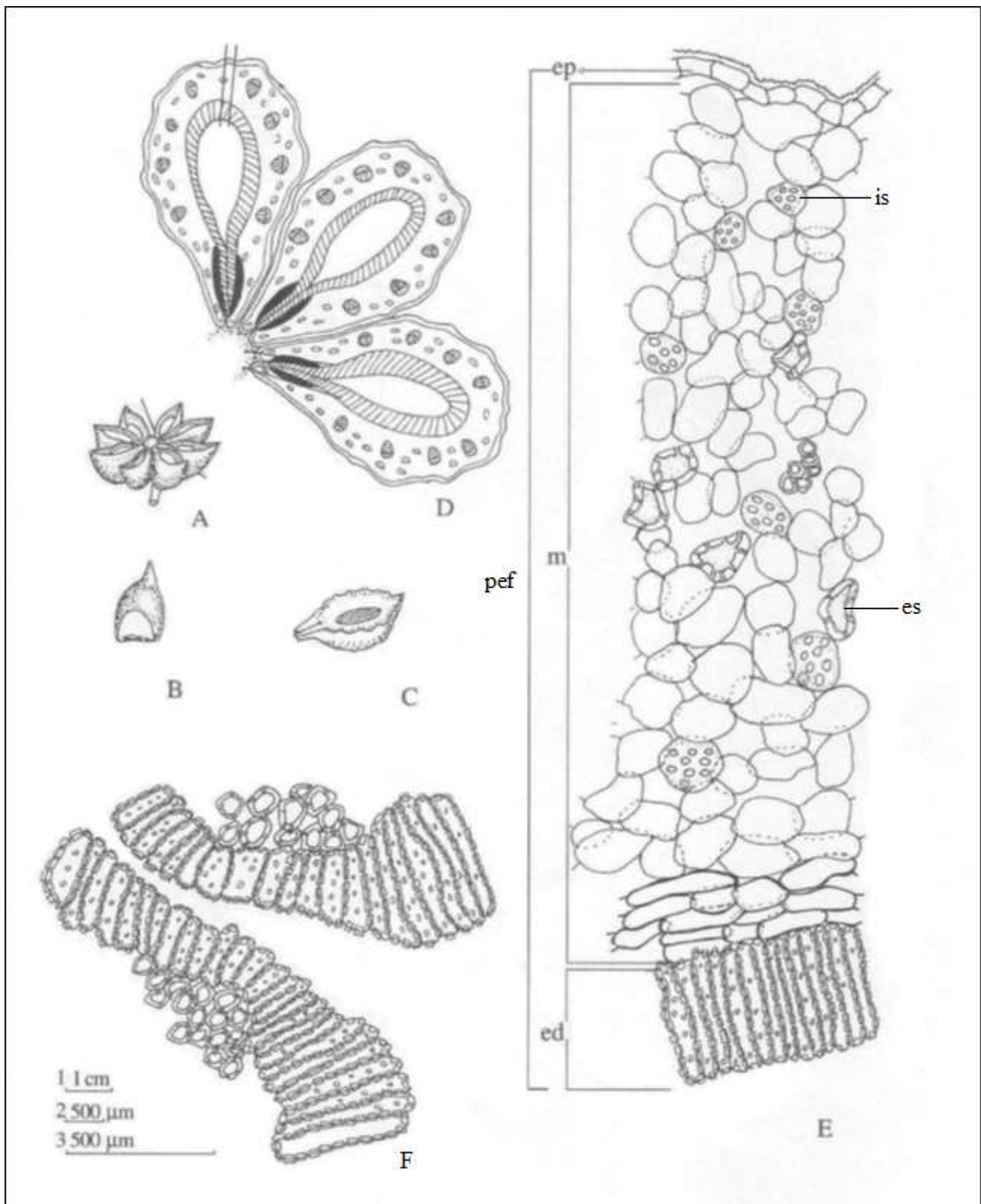


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Illicium verum* Hook. f.

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.** secção 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.

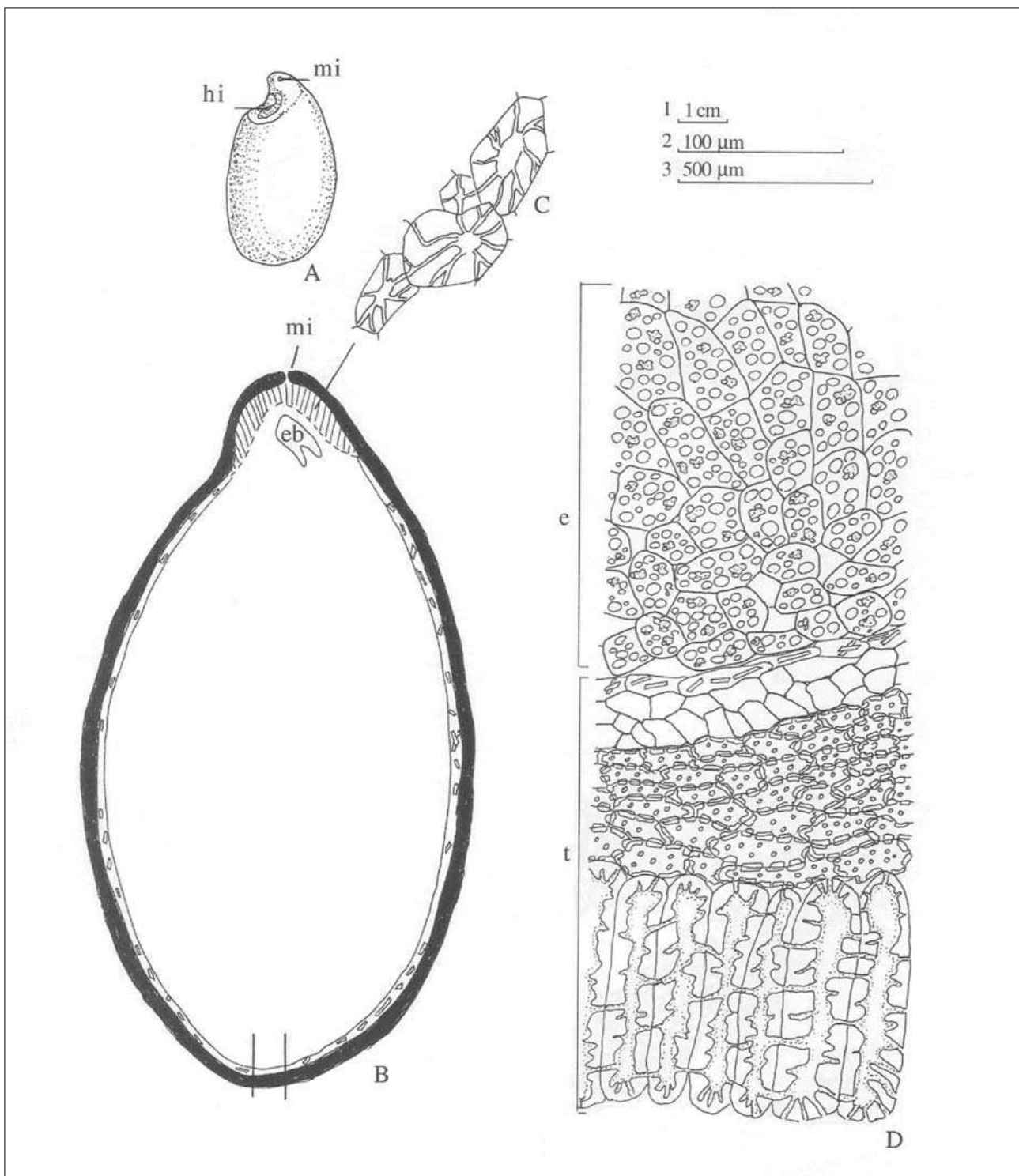


Figura 2 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Illicium verum* Hook. f.

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).

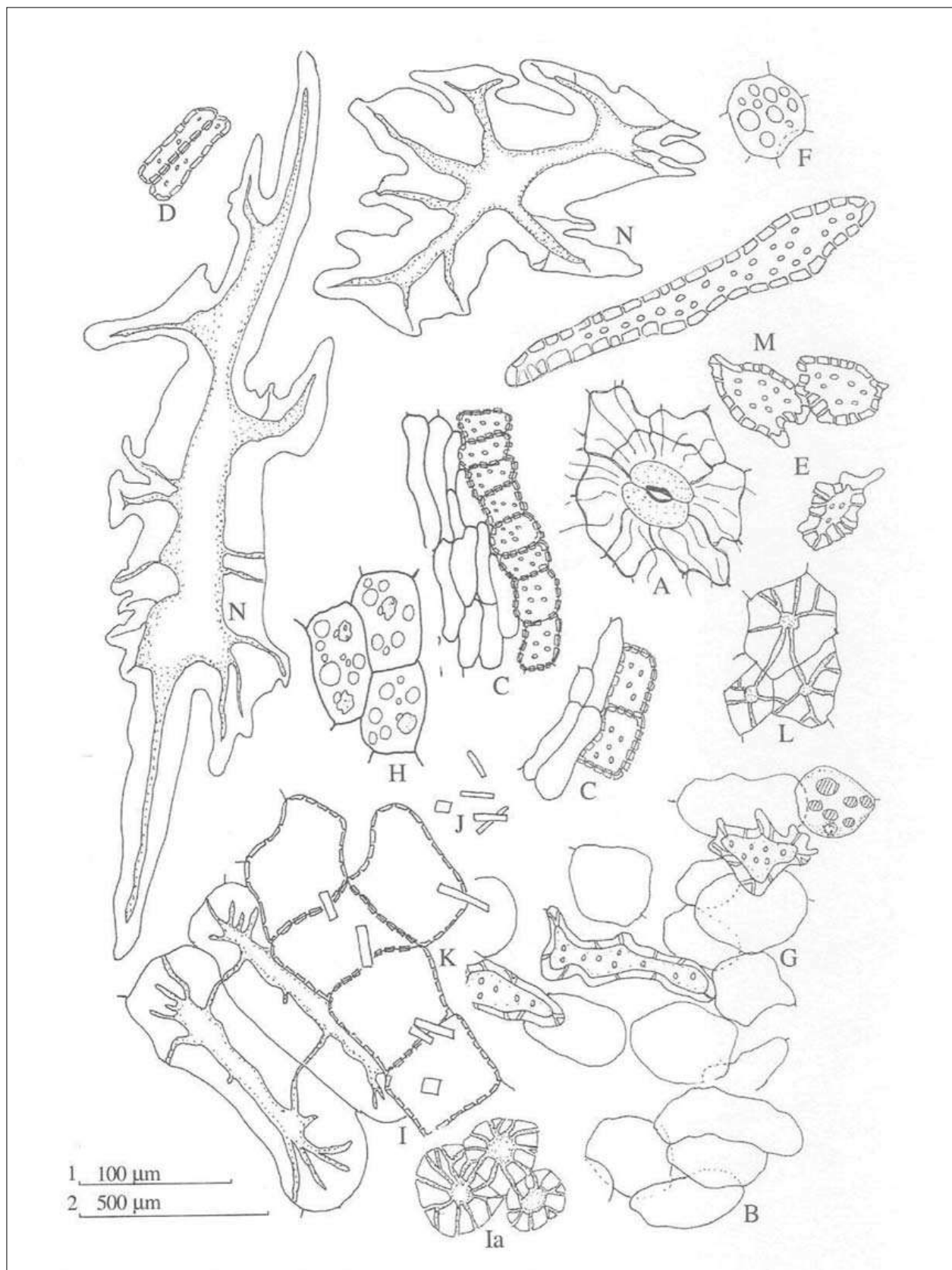


Figura 3 - Aspectos microscópicos do pó em *Illicium verum* Hook. f.

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.

ARNICA, flor

Arnicae flos

A droga vegetal consiste de inflorescências secas, inteiras ou parcialmente fragmentadas de *Arnica montana* L., contendo, no mínimo, 0,4 % p/p de sesquiterpenos lactônicos totais expressos em tiglato de diidrohelenalina (C₂₀H₂₆O₅, 346,42).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As flores estão agrupadas em inflorescências do tipo capítulo heteromorfo, de coloração amarelo-alaranjada. O capítulo é constituído por um pedúnculo, um receptáculo, flores radiais liguladas e flores do disco tubulosas. O capítulo fechado mede cerca de 2 cm de diâmetro e quando com as flores radiais distendidas, mede de 5 a 6 cm de diâmetro. O pedúnculo, quando presente, mede de 2 a 3 cm de comprimento. O receptáculo, quando privado das flores, tem um diâmetro entre 6 e 10 mm e uma profundidade de 15 mm e é levemente convexo, alveolado e recoberto de tricomas brancos, curtos e duros. O receptáculo é envolvido por 18 a 24 brácteas ovalado-lanceoladas. Cada bráctea involucral apresenta ápice agudo e bordo inteiro, ciliado, medindo de 8 a 10 mm, mais raramente até 15 mm de comprimento; as brácteas internas têm coloração verde-parda e são mais curtas; as brácteas externas são verdes. As flores liguladas radiais são zigomorfas e femininas, em número de 14 a 20, e medem de 20 a 30 mm de comprimento. Cada flor ligulada apresenta um cálice reduzido, denominado papus, o qual é formado por uma série de cerdas esbranquiçado-amareladas grossas, rígidas, medindo de 4 a 8 mm de comprimento; o limbo da corola é oblongo, de coloração amarelo-alaranjada e apresenta de 7 a 10 nervuras paralelas, culminando em 3 lóbulos pequenos e desiguais; os estames não são completamente desenvolvidos e apresentam anteras livres e o ovário é ínfero, estreito, de coloração parda, medindo de 4 a 5 mm de comprimento. As flores tubulosas do disco são actinomorfas e perfeitas, em número muito maior do que as flores liguladas e medem até 15 mm de comprimento; cada uma apresenta um cálice reduzido, denominado papus, o qual é formado por uma série de cerdas esbranquiçado-amareladas rígidas, com até 8 mm de comprimento; a corola é curta, de coloração amarelo-alaranjada, mede cerca de 8 mm de comprimento e tem 5 lobos triangulares reflexos; os estames são 5, férteis e estão soldados pelas anteras formando um tubo; as tecas são elipsoidais e o conetivo prolonga-se numa escama triangular e o ovário é ínfero, estreito, de coloração parda, medindo de 4 a 8 mm de comprimento e apresenta 4 ou 5 arestas longitudinais visíveis. Os frutos, quando presentes, são aquênios pardos, coroados ou não pelo papus.

B. Descrição microscópica

As brácteas involucrais e flores apresentam em suas faces abaxiais, ou raramente nas adaxiais, tricomas tectores e glandulares. Os tricomas tectores são unicelulares ou bicelulares, com célula apical mais longa, aguda, ou ainda pluricelulares, unisseriados, com 3 a 10 células, das quais uma ou algumas células distais são mais longas, sendo as células proximais às vezes de paredes espessas. Os tricomas glandulares apresentam pedicelo pluricelular, uni ou bisseriado, com cabeça glandular globosa, ovoide ou claviforme, unisseriada ou bisseriada, unicelular ou pluricelular. Brácteas

involucrais e flores apresentam em suas faces abaxiais estômatos anomocíticos. As brácteas involucrais, em vista frontal, apresentam a face abaxial da epiderme com células de paredes anticlinais onduladas e a face adaxial com células de paredes anticlinais poligonais a pouco onduladas e, em secção transversal, um parênquima fundamental frouxo, com feixes vasculares correspondentes às nervuras de cada bráctea. As cerdas do cálice, na forma de papus, são compostas cada uma por 2 a 3 fileiras de células alongadas, agudas na porção distal, e por um maior número de fileiras de células na porção proximal. A corola da flor ligulada, em vista frontal, apresenta epiderme da face adaxial com células de paredes anticlinais poligonais, papilosas, sendo visíveis estrias epicuticulares e gotas lipídicas; a epiderme da face abaxial apresenta células de paredes anticlinais alongadas, quase retas, mas visivelmente onduladas na porção distal. A corola da flor tubulosa, em vista frontal, apresenta epiderme com células de paredes anticlinais levemente onduladas nas duas faces da porção distal das pétalas, e mais poligonais na porção mediana, as células da região do tubo têm paredes anticlinais poligonais; na porção distal e triangular de cada pétala ocorrem papilas digitiformes; gotas lipídicas podem estar presentes. As anteras, em secção transversal, mostram um endotécio espessado nas paredes laterais. Os grãos de pólen são triporados, arredondados, com exina equinada, e medem cerca de 30 µm. O ovário, em vista frontal, apresenta epiderme com células alongadas, com placas reticuladas de coloração escura, pela presença de fitomelanina. Os ramos estigmáticos do estilete apresentam em sua porção distal tricomas unicelulares cônicos e pontiagudos e sob o tapete formado por estes tricomas observam-se papilas arredondadas. O fruto, quando presente, tem as mesmas características epidérmicas do ovário, principalmente os tricomas glandulares e as placas de fitomelanina evidentes.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. Examinar ao microscópio utilizando solução de hidrato de cloral SR. São características: porções de epiderme das brácteas involucrais com estômatos e tricomas como os descritos, mais abundantes na face abaxial; tricomas ou seus fragmentos, conforme descritos; fragmentos de corolas liguladas, com tricomas conforme descritos; fragmentos da porção distal da corola ligulada cobertos de papilas arredondadas; fragmentos de corolas tubulosas com tricomas conforme descritos; fragmentos da porção distal da corola tubulosa cobertos de papilas digitiformes; fragmentos de ovário com os dois tipos de tricomas característicos, como descritos e às vezes com placas de fitomelanina; porções do papus ou fragmentos de cerdas do papus conforme descritos; grãos de pólen triporados, arredondados, com exina equinada.

D. 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, metil-etil-cetona, ácido fórmico anidro e água(50:30:10:10).

Solução amostra: a 2 g da amostra pulverizada, adicionar 10 mL de metanol e aquecer, em banho-maria, a 60 °C, sob agitação, durante 5 minutos. Resfriar a solução e, em seguida, filtrar.

Solução referência: dissolver 2 mg de ácido cafeico, 2 mg de ácido clorogênico e 5 mg de rutina em metanol e ajustar o volume para 30 mL com metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de bandas de 20 mm, a 1 cm de distância, 15 µL da *Solução amostra* e 15 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, a seguir, com solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 5 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes. O cromatograma obtido com a *Solução amostra* não deve apresentar zona de coloração amarelo-alaranjada correspondente à rutina e, abaixo desta, não deve ser observada outra zona.

Parte superior da placa	
<p>Ácido cafeico: zona de fluorescência azul-clara</p>	<p>Zona de fluorescência azul-esverdeada</p> <p>Zona de fluorescência-castanho amarelada a amarelo-alaranjado</p> <p>Zona de fluorescência-castanho amarelada a amarelo-alaranjado</p> <p>Zona de fluorescência-castanho amarelada a amarelo-alaranja</p> <p>Zona de fluorescência-castanho amarelada a amarelo-alaranjado</p>
<p>Ácido clorogênico: zona de fluorescência azulada</p>	<p>Zona de fluorescência azulada</p>
<p>Rutina: zona de fluorescência amarelo-alaranjada</p>	<p>Zona de fluorescência azul-esverdeada</p>
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Água (5.2.9). No máximo 10,0%.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 5,0% de caules com um diâmetro superior a 5 mm.

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

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

Sesquiterpenos lactônicos totais

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 225 nm; coluna de 0,12 m de comprimento e 4 mm

de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (4 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,2 mL/minuto.

Fase móvel (1): água.

Fase móvel (2): metanol.

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir:

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0-3	62	38	isocrático
3-20	62→55	38→45	gradiente linear
20-30	55	45	isocrático
30-55	55→45	45→55	gradiente linear
55-57	45→0	55→100	gradiente linear
57-70	0→62	100→38	gradiente linear
70-90	62	38	isocrático

Solução de padrão interno: dissolver, imediatamente antes do uso, 0,01 g de santonina exatamente pesado em 10 mL de metanol.

Solução amostra: em balão de fundo redondo de 250 mL, introduzir 1 g da amostra pulverizada. Adicionar 50 mL de uma mistura de volumes iguais de metanol e água e aquecer, sob refluxo, em banho-maria entre 50 °C e 60 °C, durante 30 minutos agitando frequentemente. Deixar esfriar e em seguida, filtrar utilizando filtro de papel. Transferir o filtro cortado em pedaços grandes e o resíduo para o balão de fundo redondo, adicionar 50 mL de uma mistura de volumes iguais de metanol e água e aquecer, sob refluxo, em banho-maria entre 50 °C e 60 °C, durante 30 minutos, agitando frequentemente. Repetir a operação duas vezes. Reunir os filtrados, adicionar 3 mL da *Solução de padrão interno* e evaporar, a pressão reduzida, até a obtenção de um volume de 18 mL. Lavar o balão de fundo redondo com água e completar 20 mL com as águas de lavagem. Transferir a solução para uma coluna cromatográfica com cerca de 0,15 m de comprimento e cerca de 30 mm de diâmetro interno, contendo 15 g de sílica para cromatografia. Deixar em repouso durante 15 minutos e, a seguir, eluir com 200 mL de uma mistura de volumes iguais de acetato de etila e cloreto de metileno. Evaporar o eluato à secura, num balão de fundo redondo de 250 mL. Dissolver o resíduo em 10 mL de metanol, adicionar 10 mL de água e, em seguida, 7 g de óxido de alumínio neutro. Agitar durante 2 minutos, centrifugar durante 10 min a 6.000 × g e filtrar utilizando filtro de papel. Evaporar à secura 10 mL do filtrado. Dissolver o resíduo em 3 mL de uma mistura de iguais volumes de metanol e água e filtrar.

Procedimento: injetar separadamente, 20 µL da *Solução de padrão interno* e 20 µL da *Solução amostra*. Calcular o teor de sesquiterpenos lactônicos totais, expressos em tiglato de helenalina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TSLT} = \frac{\text{FLS} \times C \times V \times 1,187}{\text{FS} \times m \times 10}$$

em que,

TSLT = teor de sesquiterpenos lactônicos totais %;

FLS = área total sob os picos correspondentes aos sesquiterpenos lactônicos que aparecem depois do pico da santonina na *Solução amostra*;

FS = área sob o pico correspondente à santonina na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da tomada de ensaio, considerando a determinação de água;
 C = concentração da santonina na *Solução de padrão interno* em mg/mL;
 V = volume em mililitros da *Solução de padrão interno* utilizado na *Solução amostra*; e
1,187 = fator de correção entre o tiglato de diidrohelenalina e a santonina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

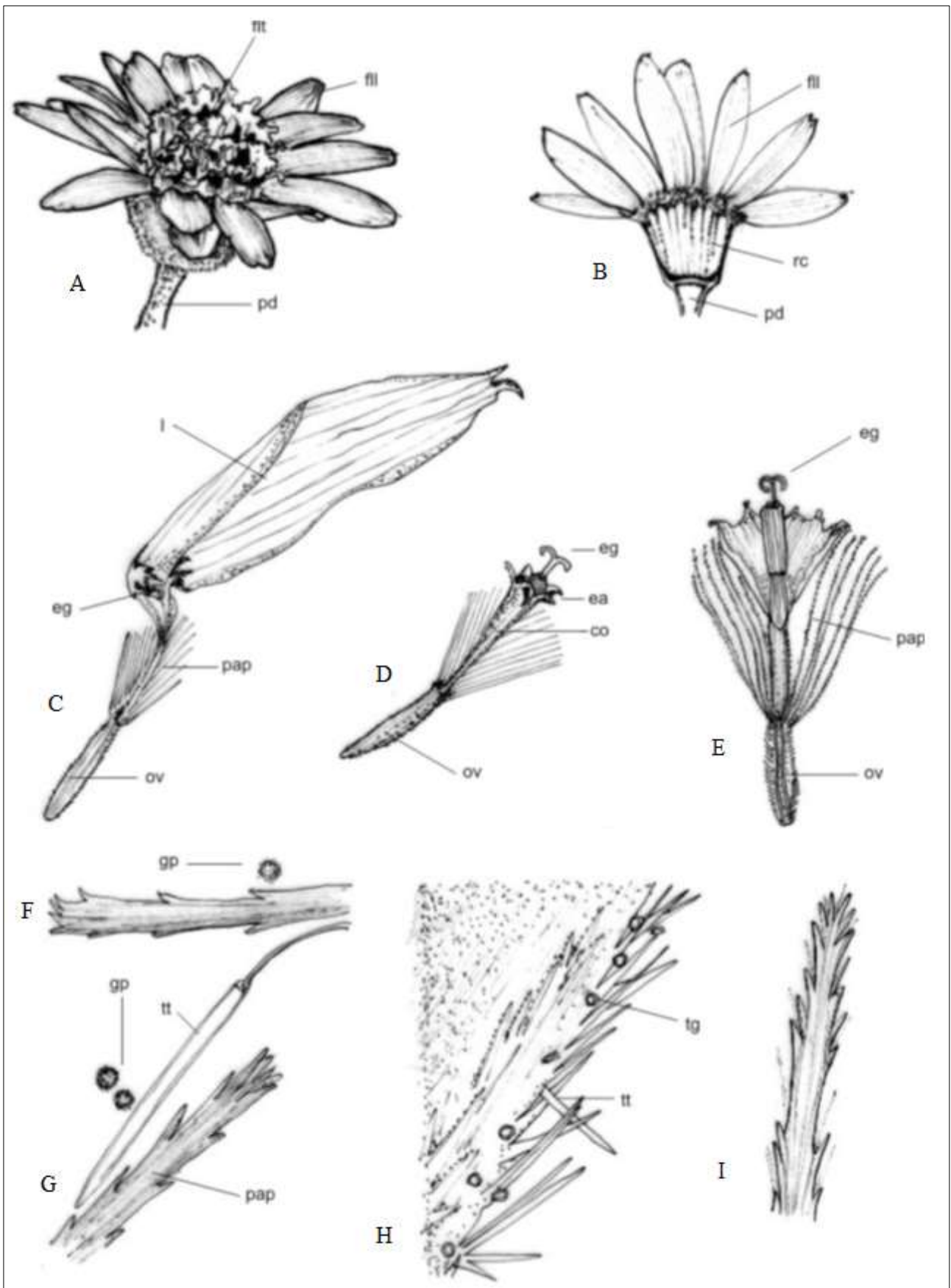


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Arnica montana* L.

A. capítulo floral; flor tubular (flt); flor ligulada (fl); pedúnculo (pd). **B.** capítulo floral com flores tubulosas retiradas, para observação do receptáculo; flor ligulada (fl); receptáculo (rc); pedúnculo (pd). **C.** flor ligulada; ovário (ov); papus

(pap); estigma bifido (eg); lígula (l). **D.** flor tubulosa; ovário (ov); estame com antera soldada (ea); estigma bifido (eg); corola (co). **E.** flor tubulosa; ovário (ov); papus (pap); estigma bifido (eg). **F.** detalhe de uma cerda do papus: grão de pólen (gp). **G.** detalhe de uma cerda do papus; grão de pólen (gp); papus (pap); tricoma tector (tt). **H.** superfície externa do ovário; tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **I.** fragmento do papus.

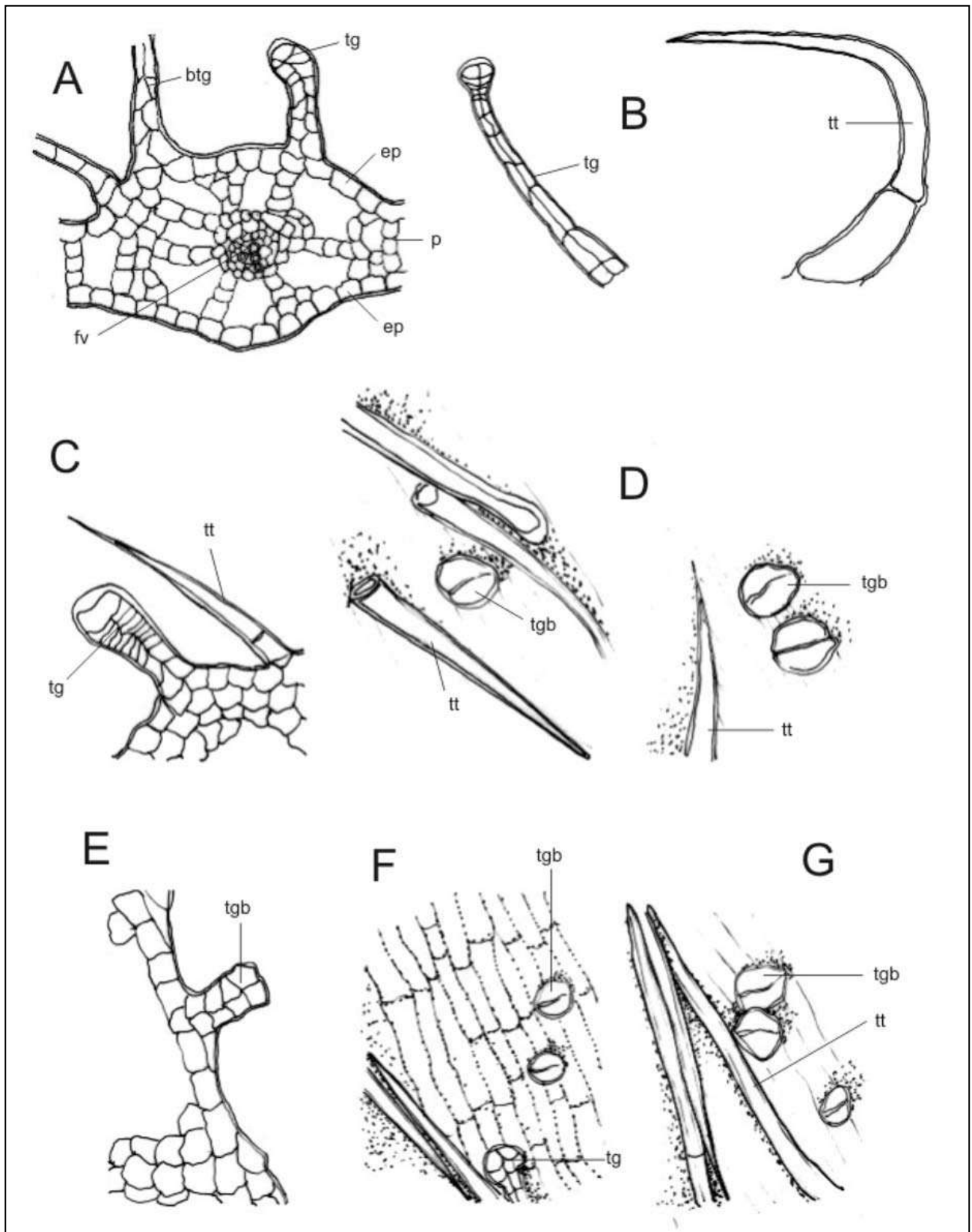


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Arnica montana* L.

A – corte transversal da bráctea: epiderme (ep); parênquima (p); feixe vascular (fv); tricoma glandular (tg); base do tricoma glandular (btg). **B e C** – detalhes dos tricomas glandular e tector: tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **D** –

superfície externa do ovário vista de cima: tricoma glandular com cabeça bicelular (tgb), com corpo bisseriado. **E** – aspectos dos tricomas glandulares. **F** e **G** – fragmento da epiderme inferior: tricoma glandular (tg); tricoma glandular com cabeça bicelular (tgb).

BABOSA, folha

Aloe vera folium

A droga vegetal consiste do gel incolor, mucilaginoso, obtido das células parenquimáticas de folhas frescas de *Aloe vera* (L.) Burm.f. contendo, no mínimo, 0,3% de carboidratos totais.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta sabor ligeiramente amargo, sendo incolor e inodora.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas suculentas, lanceoladas, agudas, verde-glaucas, com manchas esbranquiçadas quando jovens, medindo de 15 a 60 cm de comprimento e cerca de 7 cm de largura na base na face adaxial e 10 cm na face abaxial, quando adultas. A face adaxial, vista em secção transversal, é côncava e a face abaxial convexa. Os bordos foliares são dentado-espinhosos, apresentando acúleos esbranquiçados pequenos, perpendiculares à lâmina.

B. Descrição microscópica

A folha, em secção transversal, mostra estrutura isobilateral e é anfiestomática, com estômatos numerosos, do tipo tetracítico. Apresenta uma única camada epidérmica, recoberta por espessa cutícula ondulada. A secção transversal da lâmina foliar mostra duas zonas distintas, a mais externa verde, correspondente ao clorênquima e a mais interna incolor e mucilaginoso, correspondente ao parênquima aquífero. Abaixo da epiderme pode ocorrer uma primeira camada distinta de células clorenquimáticas, em paliçada, seguida de 10 a 18 camadas de células clorenquimáticas, ricas em amido, além de idioblastos contendo feixes de ráfides de oxalato de cálcio. Na zona de contato entre o clorênquima e o parênquima aquífero ocorrem feixes vasculares do tipo colateral, em linha paralela à epiderme, alternados com 3 a 5 células de clorênquima. A porção superior de cada feixe encontra-se em contato com o clorênquima e as porções mediana e inferior penetram no parênquima aquífero. Os feixes vasculares são envolvidos por uma bainha parenquimática contendo amido. Internamente a esta camada e próximo ao floema, encontra-se um agrupamento de 3 a 5 células muito grandes, além de outras menores, poliédricas, um pouco alongadas em direção ao eixo da folha, e de paredes finas, chamadas células aloéticas, repletas de látex amarelo, viscoso, denominado de líquido aloético ou suco de aloe. No momento em que a folha é seccionada transversalmente há o extravasamento do líquido aloético proveniente de cada feixe. O floema é externo e pouco desenvolvido, e o xilema é formado por 2 a 4 elementos traqueais com algumas fibras. O parênquima aquífero ocupa geralmente 75% da espessura da lâmina, sendo formado por células muito grandes em relação às do clorênquima,

incolores, de paredes finas, cheias de mucilagem, dispostas perpendicularmente à epiderme. Idioblastos contendo ráfides de oxalato de cálcio também ocorrem neste parênquima.

C. 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 (90:10).

Solução amostra: transferir 2 mL de gel líquido de aloe para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com metanol e aquecer em banho-maria a 60 °C sob agitação durante 10 minutos.

Solução referência: dissolver 2 mg de β -sitosterol em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de barra, 20 μ L da *Solução amostra* e 10 μ L da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 a 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra* e a *Solução referência*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
b-Sitosterol: zona de coloração azulada	Zona de coloração azulada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

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

Carboidratos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: transferir 3 mL de gel líquido de aloe para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água. Homogeneizar por turbolização durante 5 minutos.

Solução amostra: transferir 0,2 mL da *Solução estoque* para tubo de ensaio, completar o volume para 0,5 mL com água e deixar em banho de gelo. Adicionar 0,5 mL de solução de fenol a 5% (p/v) e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Agitar bem e deixar em repouso a temperatura ambiente por 30 minutos.

Solução branco: transferir 0,5 mL de água para tubo de ensaio e deixar em banho de gelo. Adicionar 0,5 mL de solução de fenol a 5% (p/v) e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Agitar bem e deixar em repouso a temperatura ambiente por 30 minutos.

Soluções para curva analítica: preparar solução de glicose a 0,2 mg/mL. Transferir alíquotas de 25 µL, 50 µL, 100 µL, 150 µL, 200 µL e 250 µL dessa solução para tubos de ensaio e completar o volume para 0,5 mL com água, obtendo-se as concentrações 10 µg/mL, 20 µg/mL, 40 µg/mL, 60 µg/mL, 80 µg/mL e 100 µg/mL, e deixar em banho de gelo. Adicionar 0,5 mL de solução de fenol a 5% (p/v) e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Agitar bem e deixar em repouso a temperatura ambiente por 30 minutos.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* e das *Soluções para curva analítica* em 490 nm, 30 minutos após o seu preparo, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de carboidratos totais da amostra a partir da curva analítica obtida com as *Soluções para curva analítica*. O resultado é expresso em porcentagem de carboidratos totais, expressos como glicose, por 100 mL de droga.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

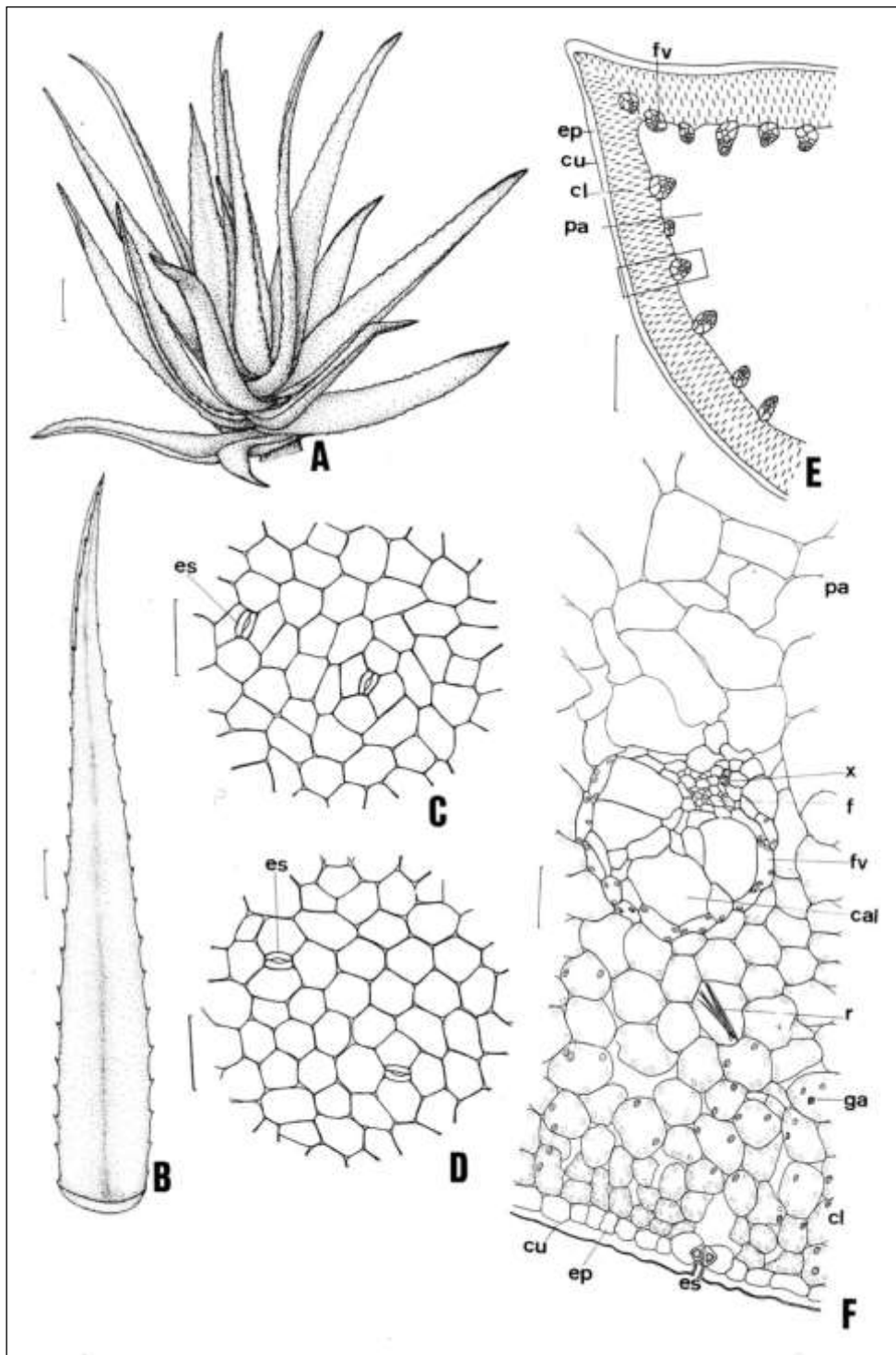


Figura 1 - Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Aloe vera* L.

As escalas correspondem em **A** a 6 cm, em **B** a 2 cm; em **C**, **D** e **F** a 100 μ m e em **E** 1 mm.

A - aspecto geral da planta sem a inflorescência. **B** - aspecto geral de uma folha. **C** - vista frontal da epiderme voltada para a face adaxial; estômatos (es). **D** - vista frontal da epiderme voltada para a face abaxial; estômatos (es). **E** - aspecto geral da folha em secção transversal; clorênquima (cl); cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima aquífero (pa); feixe vascular (fv). **F** - detalhe da porção assinalada em **E**; célula aloética (cal); clorênquima (cl); cutícula (cu); epiderme (ep); estômato (es); floema (f); feixe vascular (fv); grão de amido (ga); parênquima aquífero (pa); ráfides (r); xilema (x).

BÁLSAMO-DE-TOLU

Balsamum toluatanum

O bálsamo-de-tolu consiste de oleoresina obtido de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms e de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms var. *pereirae* (Royle) Harms. Contém, no mínimo, 25% e, no máximo, 50% de ácidos livres ou combinados, expressos em ácido cinâmico (C₉H₈O₂, M 148,16).

CARACTERÍSTICAS

Massa acastanhada a castanho-avermelhada, dura, friável e cujos fragmentos finos apresentam cor amarelo-acastanhada por transparência. Odor semelhante ao da baunilha.

IDENTIFICAÇÃO

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

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

Fase móvel: tolueno e éter de petróleo (95:5).

Solução amostra: agitar 0,4 g da amostra fragmentada com 10 mL de cloreto de metileno durante 5 minutos. Filtrar em papel de filtro pregueado.

Solução referência: dissolver 50 mg de cinamato de benzila em 1 mL de cloreto de metileno, adicionar 50 µL de benzoato de benzila, completar o volume para 10 mL com cloreto de metileno e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. A seguir, nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Benzoato de benzila: zona de coloração azul Cinamato de benzila: zona de coloração azul	Zona de coloração violeta Zona de coloração violeta Zona de coloração azul Zona de coloração azul Zona de coloração azul Zona de coloração violeta Zona de coloração amarela
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e éter de petróleo, muito solúvel em etanol, solúvel em acetona e clorofórmio.

Índice de acidez (5.2.29.7). 100 a 160. Dissolver 1 g da amostra fragmentada em 50 mL de etanol neutralizado. Adicionar 1 mL de fenolftaleína SI e titular com hidróxido de potássio etanólico 0,5 M SV.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 154 a 220.

Limite de substâncias insolúveis em álcool. No máximo, 5,0%. Aquecer à ebulição 2 g da amostra fragmentada com 25 mL de etanol a 90% (v/v). Filtrar em filtro de vidro poroso, previamente tarado. Lavar o recipiente e o resíduo contido no funil com etanol a 90% (v/v) a quente, até a extração completa. Aquecer o funil de vidro e o seu conteúdo em estufa a 105 °C, durante 2 horas. Resfriar em dessecador e pesar.

Colofônia. Triturar 1 g da amostra com 10 mL de éter de petróleo durante 1 a 2 minutos. Filtrar para tubo de ensaio e adicionar 10 mL de solução de acetato de cobre a 0,5% (p/v) recentemente preparada. Agitar, energicamente, e deixar separar as fases. A camada etérea não deve apresentar coloração verde.

Água (5.4.1.4). No máximo 5,0%. Espalhar 2 g da amostra fragmentada na superfície de um cristalizador plano de 9 cm de diâmetro e deixar secar à pressão reduzida, durante 4 horas.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 0,3%.

DOSEAMENTO

Ácidos livres ou combinados expressos em ácido cinâmico

Aquecer, sob refluxo, em banho-maria, 1,5 g da amostra com 25 mL de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol SV, durante 1 hora. Evaporar o etanol e aquecer o resíduo com 50 mL de água até que a solução fique homogênea. Após o resfriamento à temperatura ambiente, adicionar 80 mL de água e 50 mL da solução de sulfato de magnésio a 30 mg/mL. Misturar e deixar em repouso durante 10 minutos. Filtrar, em papel filtro, e lavar o resíduo com 20 mL de água. Reunir o filtrado e a água de lavagem, acidificar com ácido clorídrico concentrado e extrair quatro vezes com 40 mL de éter etílico. Desprezar a fase aquosa. Reunir os extratos orgânicos e extrair duas vezes com 20 mL, cada, e três vezes com 10 mL, cada, de solução de bicarbonato de sódio a 5% (p/v). Desprezar a fase etérea. Reunir os extratos aquosos, acidificar com ácido clorídrico concentrado e extrair uma vez com 30 mL, duas vezes com 20 mL, cada, e uma vez com 10 mL de cloreto de metileno. Reunir os extratos de cloreto de metileno e dessecar com 10 g de sulfato de sódio anidro. Filtrar, em papel filtro, e lavar o resíduo com 10 mL de cloreto de metileno. Concentrar os extratos reunidos, sob pressão reduzida, até 10 mL e eliminar o restante do cloreto de metileno, em corrente de ar, na capela. Dissolver, à quente, o resíduo com 10 mL de etanol neutralizado previamente em presença de solução de vermelho de fenol SI. Após resfriamento, titular com hidróxido de sódio 0,1 M SV, utilizando o mesmo indicador. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 14,816 mg de ácido cinâmico (C₉H₈O₂).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e do calor, não conservar na forma de pó.

BÁLSAMO-DO-PERU

Balsamum peruvianum

A droga vegetal consiste do bálsamo obtido a partir do tronco escarificado à quente de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms var. *pereirae* (Royle) Harms, contendo, no mínimo, 45% e, no máximo, 70% de ésteres, principalmente benzoato de benzila e cinamato de benzila.

CARACTERÍSTICAS

Líquido viscoso, límpido, castanho-escuro a castanho-avermelhado. Quando examinado em camada fina apresenta cor castanho-amarelada. Possui odor característico, aromático, que lembra o da baunilha. Não se solidifica em exposição ao ar, nem por tempo prolongado ou por aquecimento, e não produz filamentos.

IDENTIFICAÇÃO

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

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

Fase móvel: hexano, acetato de etila e ácido acético glacial (90:10:0,5).

Solução amostra: dissolver 0,5 g da amostra em 10 mL de acetato de etila.

Solução referência: dissolver 4 mg de timol, 30 mg de cinamato de benzila e 80 µL de benzoato de benzila em 5 mL de acetato de etila.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com solução recém preparada de ácido fosfomolibdico a 20% (p/v) em etanol, utilizando 10 mL para uma placa com dimensões 20 mm x 20 mm, aquecer entre 100 °C e 105 °C, durante 5 a 10 minutos. Examinar o cromatograma à luz do dia. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração azul
Benzoato de benzila: zona de coloração azul	Zona de coloração azul
Cinamato de benzila: zona de coloração azul	Zona de coloração azul
Timol: zona de coloração cinza-violeta	
	Zona de coloração azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, muito solúvel em etanol, solúvel em clorofórmio e ácido acético, pouco solúvel em éter etílico e éter de petróleo, imiscível nos óleos graxos, exceto em óleo de rícino.

Densidade relativa (5.2.5). 1,14 a 1,17.

Índice de acidez (5.2.29.7). 56 a 84. Dissolver 1 g da amostra em 100 mL de etanol neutralizado, adicionar 1 mL de fenolftaleína SI e titular com hidróxido de potássio 0,5 M em etanol SV.

Índice de saponificação (5.2.29.8). 230 a 255. Determinar no resíduo obtido em *Doseamento*.

Bálsamos artificiais. Agitar, vigorosamente, 0,2 g da amostra com 6 mL de éter de petróleo. A solução de éter de petróleo deverá permanecer transparente e incolor e todas as partes insolúveis do bálsamo estarão aderidas nas paredes do tubo de ensaio.

Terebintina. Evaporar 4 mL da solução obtida em *Bálsamos artificiais*. O resíduo não apresenta odor de terebintina.

Óleos graxos. Agitar 1 g da amostra com 3 mL de uma solução de hidrato de cloral a 1000 g/L. A solução obtida é transparente assim como a solução de hidrato de cloral a 1000 g/L.

DOSEAMENTO

Ésteres

Em funil de decantação, adicionar 2,5 g da amostra, 7,5 mL de solução de hidróxido de sódio a 8,5% (p/v) e 40 mL de éter etílico isento de peróxidos. Agitar, vigorosamente, durante 10 minutos. Separar a fase etérea e agitar a fase básica por 1 minuto com três porções de 15 mL de éter etílico isento de peróxidos. Reunir as fases etéreas, dessecar com 10 g de sulfato de sódio anidro e filtrar. Lavar o resíduo de sulfato de sódio duas vezes com 10 mL de éter etílico isento de peróxidos. Reunir as fases etéreas e evaporar à secura. Dessecar o resíduo (ésteres) entre 100 °C e 105 °C, durante 30 minutos, resfriar em dessecador e pesar.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BARBATIMÃO, casca *Barbadetimani cortex*

A droga vegetal consiste de cascas caulinares secas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (syn. *Stryphnodendron barbatimam* Mart.), contendo, no mínimo, 8% de taninos totais, expressos em pirogalol ($C_6H_6O_3$; 126,11), dos quais, no mínimo, 0,2 mg/g equivalem a ácido gálico ($C_7H_6O_5$; 170,12) e 0,3 mg/g correspondem a galocatequina ($C_{15}H_{14}O_7$; 306,27), em relação à droga seca. Entende-se por casca do caule todos os tecidos situados externamente ao câmbio vascular desse órgão.

CARACTERÍSTICAS

Cascas secas inodoras.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As cascas caulinares, quando secas, apresentam-se em fragmentos arqueados, com dimensões e formatos muito variados. Em secção transversal apresentam, em média, 6 mm de espessura quando secas, e 10 mm a 12 mm de espessura quando hidratadas, tendo a região floemática, mais interna, coloração marrom mais clara, quando comparada à região do súber, mais externa e de intensa coloração marrom-avermelhada. Nos caules jovens o súber apresenta-se, em vista frontal, de coloração escura e aspecto granuloso, homogêneo, portando fissuras estreitas e profundas no sentido transversal. Nas porções caulinares mais velhas, apresenta coloração marrom-escura ou marrom-acinzentada, quando da presença de líquens, sempre com profundas fendas, predominantes no sentido transversal, ou com cinturas consecutivas, desprendendo-se em placas de dimensões e formatos variados, irregulares, deixando depressões profundas no local. A fratura da casca é do tipo granulosa em relação à região do súber e fibrosa, estriada longitudinalmente na região floemática.

B. Descrição microscópica

A porção externa da casca apresenta súber com 20 a 30 estratos de células tabulares enfileirados radialmente, com paredes delgadas e conteúdo marrom, seguidos por muitos estratos de células parenquimáticas de formato isodiamétrico ou pouco alongado periclinalmente, também com paredes delgadas. A maioria destas células possui conteúdo marrom-avermelhado, que não se descora facilmente com hipoclorito de sódio a 30% (p/v) e não altera a cor na presença do cloreto férrico SR. Nesta porção parenquimática ocorrem células pétreas (maioria) e macroesclereídes, posicionados em diversos planos, em grupos de vários elementos ou isolados, com paredes muito espessadas com lignina, apresentando lamelações evidentes e pontoações simples, por vezes ramificadas. Nas porções mais externas do súber, tanto as células parenquimáticas quanto os esclereídes podem ser visualizados, compactados e deformados pela ação mecânica nos tecidos internos. Na região do floema ocorrem conjuntos de poucos elementos de fibras gelatinosas, relativamente estreitas, sempre com idioblastos adjuntos, contendo um grande cristal de oxalato de cálcio, prismático, com variado número de lados, inteiro ou superficialmente erodido. Os conjuntos de fibras, quando observados em secções longitudinais, acompanham os raios parenquimáticos do floema, os quais são, em geral, unisseriados, mas tornam-se bi-multisseriados nas porções mais externas. Os elementos de tubo crivado apresentam placas crivadas compostas, estando colapsados nas regiões mais externas do floema. Células pétreas isoladas, semelhantes às do súber, e grãos de amido esféricos são abundantes no tecido parenquimático do floema. As células ao redor dos raios parenquimáticos reagem positivamente à presença do cloreto férrico SR, adquirindo coloração verde-escura. Ainda na região floemática podem ser encontradas células volumosas de conteúdo hialino, dispostas em conjuntos de 5 a 7 elementos.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos do súber com células tabulares; grupos de células parenquimáticas com conteúdo marrom-avermelhado, justapostas com células pétreas ou macroesclereídes, em grupos ou isolados, de paredes fortemente lignificadas, com pontoações simples, por vezes ramificadas; conjuntos de fibras com idioblastos cristalíferos adjuntos, delimitando fragmentos de raios parenquimáticos do floema; células parenquimáticas com grãos de amido esféricos.

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

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

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (75:5:5).

Solução amostra: extrair, por turbólise, cerca de 10 g da droga vegetal moída, pesada com exatidão, em 90 mL de mistura acetona e água (7:3) durante 15 minutos, com intervalos de 5 minutos para que a temperatura não exceda 40 °C. Filtrar, eliminar a acetona em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 20 mL de acetato de etila em funil de separação (125 mL). Deixar em repouso à temperatura de -18 °C durante 15 minutos, para total separação das fases. Reunir e filtrar as frações orgânicas com 5 g de sulfato de sódio anidro. Evaporar a fração orgânica em evaporador rotatório sob pressão reduzida até resíduo, suspendendo-o em 1 mL de metanol.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de epigalocatequina e dissolver em 1 mL de metanol.

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra*, 3 µL da *Solução referência (1)* e 3 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar em capela de exaustão. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. A seguir, nebulizar a placa com cloreto férrico a 1% (p/v) em metanol.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
4'- <i>O</i> -metilgalocatequina: zona de extinção de fluorescência Epigalocatequina: zona de extinção de fluorescência	Zona de extinção de fluorescência Zona de extinção de fluorescência
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 14,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 2,0%.

Cinzas sulfatadas (5.4.1.5.2). No máximo 3,0%.

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,750 g da droga pulverizada (250 µm) e transferir para um erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria durante 30 minutos, à temperatura de 60 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o erlenmeyer e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo de droga vegetal para o mesmo balão volumétrico. Completar o volume com água. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1), após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL do filtrado adicionar 0,1 g de pó de pele SQR e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir, volumetricamente, 5 mL desse filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2), após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3), após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero. Calcular o teor de taninos, expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = taninos totais % (p/p);

A₁ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A₂ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A₃ = absorvância medida para a *Solução referência*;

m₁ = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio, considerando a determinação de água; e

m₂ = massa em gramas de pirogalol, em gramas.

Ácido gálico e galocatequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta ajustado em comprimento de onda de 210 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05% (v/v) em água.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% (v/v) em acetonitrila.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	Sistema de eluição
0 - 10	95 → 80,7	5 → 19,3	gradiente linear
10 - 13,5	80,7 → 75	19,3 → 25	gradiente linear
13,5 - 23	75 → 62	25 → 38	gradiente linear
23 - 25	62 → 25	38 → 75	gradiente linear
25 - 28	25 → 95	75 → 5	gradiente linear
28 - 32	95	5	isocrático

Solução amostra: extrair, por turbólise, 10 g da droga vegetal pulverizada (250 µm) em 90 mL da mistura acetona e água (7:3) durante 15 minutos, com intervalos de 5 minutos para que a temperatura não exceda a 40 °C. Filtrar em algodão e eliminar a acetona em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 20 mL de acetato de etila em funil de separação (125 mL). Deixar em repouso em temperatura de -18 °C durante 15 minutos, para total separação das fases. Reunir as fases orgânicas e filtrar em papel de filtro com 5 g de sulfato de sódio anidro. Evaporar a fração orgânica obtida em evaporador rotatório sob pressão reduzida até resíduo. Retomar o resíduo com 5 mL da mistura metanol e água (2:8). Extrair em cartucho de extração em fase sólida, empacotado com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (55 mm, 70 Å), previamente acondicionado com 10 mL da mistura de metanol e água (2:8), em balão de 100 mL. Eluir, em seguida, 10 mL da mistura metanol e água (2:8) para o mesmo balão e completar o volume (S₁) com a mistura metanol e água (2:8). Transferir volumetricamente 5 mL da S₁ para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com a mistura metanol e água (1:1) e homogeneizar (S₂). Filtrar a solução S₂ em unidade filtrante 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

Solução referência (1): dissolver quantidade exatamente pesada de galocatequina SQR em mistura de metanol e água (1:1), para obter solução a 0,152 mg/mL.

Solução referência (2): dissolver quantidade exatamente pesada de ácido gálico SQR em mistura de metanol e água (1:1), para obter solução a 0,100 mg/mL.

Soluções para curva analítica (1): diluir uma alíquota de 600 µL da *Solução referência (1)* em balão volumétrico de 5 mL, com a mistura metanol e água (1:1). Proceder a diluições para obter concentrações de 1,14 mg/mL, 2,28 mg/mL, 4,56 mg/mL, 9,12 mg/mL e 18,24 mg/mL.

Soluções para curva analítica (2): diluir uma alíquota de 800 µL da *Solução referência (2)* em balão volumétrico de 5 mL, com a mistura metanol e água (1:1). Proceder a diluições para obter concentrações de 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8 µg/mL, 14 µg/mL e 16 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções para curva analítica (1)*, 20 µL das *Soluções para curva analítica (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção relativo para ácido gálico e galocatequina é cerca de 8,4 e 10,8 minutos, respectivamente. Calcular os teores de ácido gálico e de galocatequina, em mg/g, segundo a expressão:

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

em que,

T = teor de ácido gálico ou de galocatequina em mg/g;

C = concentração de ácido gálico ou de galocatequina em µg/mL em S₂, determinada a partir das equações das retas obtidas;

500 = fator de diluição;

1000 = valor de conversão de µg para mg; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

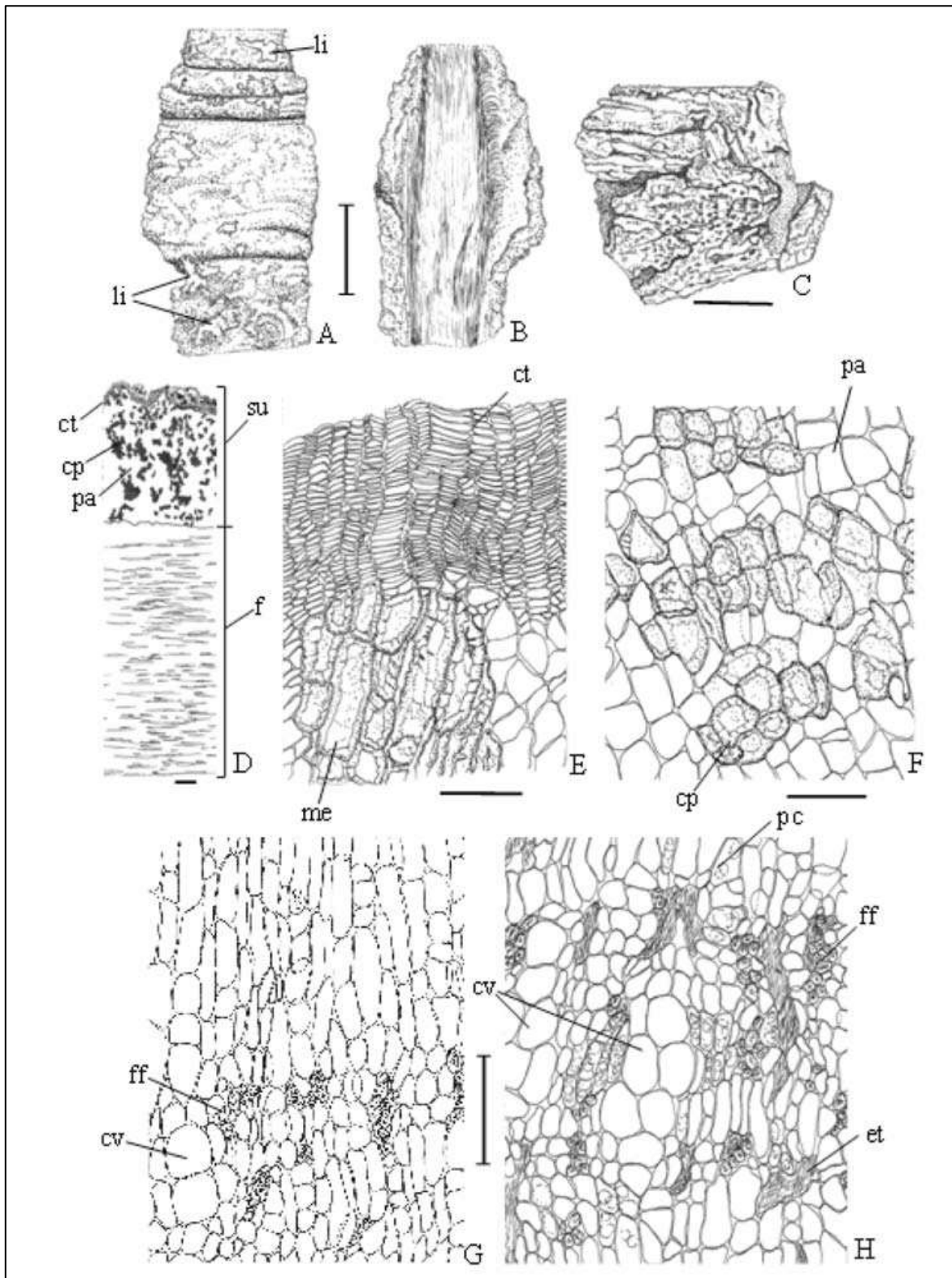


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

As escalas correspondem em **A**, **B** e **C** a 1 cm; em **D** a 2 mm e em **E**, **F**, **G** e **H** a 100 μ m.

A e **B** – aspecto parcial da superfície externa e interna da casca de ramo mais novo, respectivamente: líquens (li). **C** – aspecto parcial da superfície externa de ramo mais velho. **D** – diagrama da distribuição dos tecidos da casca: células tabulares (ct), célula pétreia (cp); parênquima (pa); súber (su); floema (f). **E** e **F** – detalhes parciais da região do súber, em secções transversais: células tabulares (ct); macroesclereídes (me); parênquima (pa); célula pétreia (cp). **G** e **H** – detalhes parciais da região do floema, em secções transversais: fibras do floema (ff); células volumosas (cv); placa crivada (pc); elemento de tubo crivado obliterado (et).

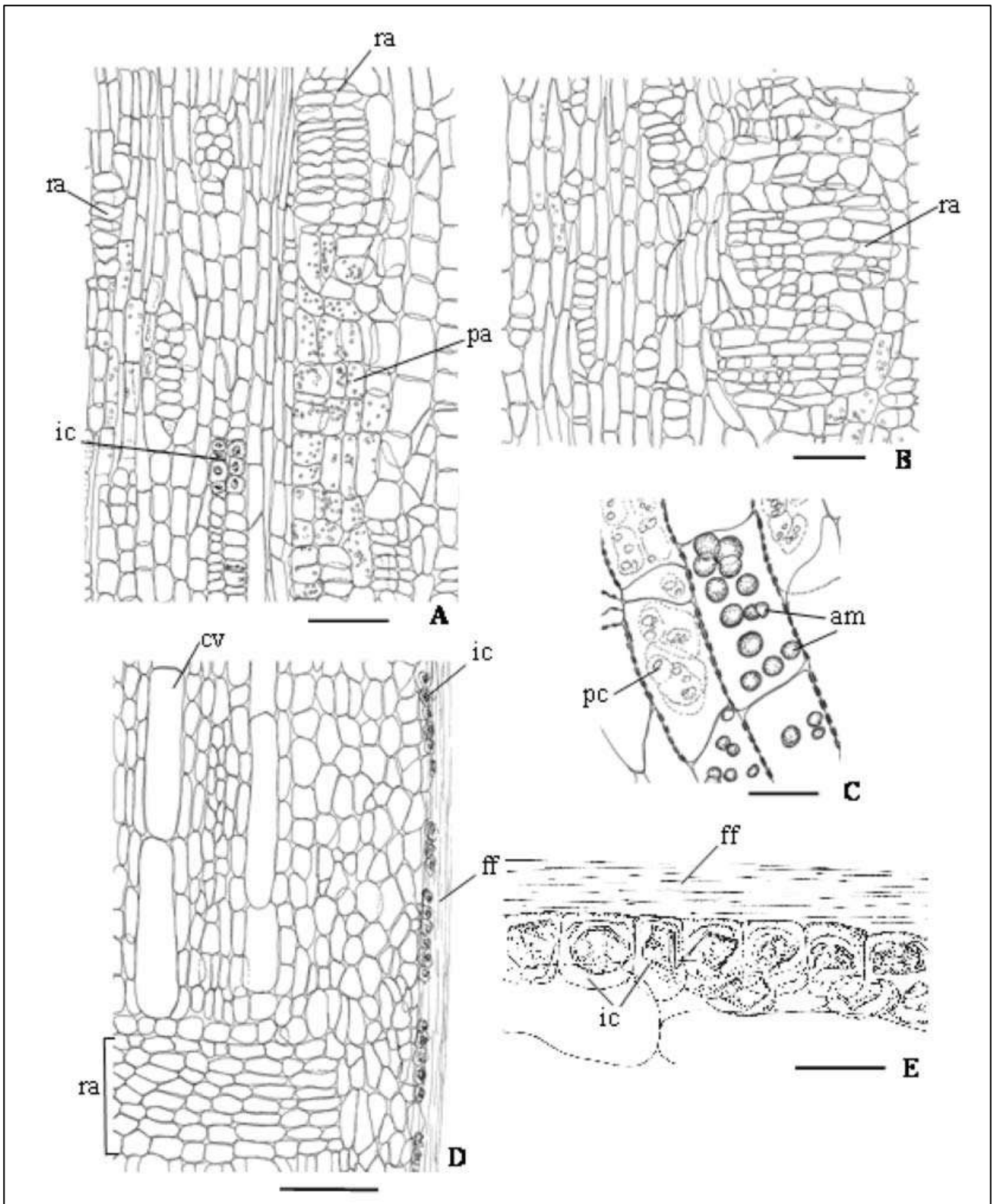


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

As escalas correspondem em **A**, **B** e **D** a 100 μm ; em **C** e **E** a 25 μm .

A e **B** – detalhes parciais de floema, em secções longitudinais tangenciais: raio parenquimático (ra); célula parenquimática (pa); idioblasto cristalífero (ic). **C** – detalhe parcial do parênquima floemático com grãos de amido: grãos de amido (am); placa crivada (pc). **D** – detalhe parcial do floema em secção longitudinal radial: célula volumosa (cv); idioblasto cristalífero (ic); fibras do floema (ff); raio parenquimático (ra). **E** – detalhe dos idioblastos cristalíferos do floema: fibras do floema (ff); idioblasto cristalífero (ic).

BAUNILHA, fruto

Vanillae fructus

A droga vegetal consiste de frutos imaturos e secos de *Vanilla planifolia* Andrews, contendo, no mínimo, 12% de extrato hidroalcoólico seco.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor agradável e floral que lembra a vanilina que, no entanto, é bem mais sutil e encorpado que a substância isolada.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Os frutos são cápsulas plurispérmicas, derivadas de ovário súpero, tricarpelar e unilocular. O formato do fruto, em secção transversal, é variável em função do modo de armazenamento; o fruto não comprimido possui contorno triangular, em secção transversal, é castanho escuro, apresenta estrias longitudinais, é flexível e mede de 20 a 25 cm de comprimento e 1 a 1,5 cm de diâmetro em sua região mediana.

B. Descrição microscópica

O pericarpo, de maneira geral, possui exocarpo com uma única camada celular, mesocarpo multicelular e endocarpo com uma única camada celular especializada. Idioblastos com ráfides orientadas longitudinalmente ao pericarpo são comuns; cristais prismáticos também são observados. O exocarpo possui células alongadas tangencialmente, cujas paredes periclinais externas e internas são espessas, sendo as externas cutinizadas; as células geralmente acumulam compostos fenólicos. O exocarpo é estomatífero e glabro. O mesocarpo externo apresenta duas a quatro camadas similares a um colênquima anguloso; o mesocarpo médio possui células volumosas, com grande acúmulo de compostos fenólicos. Neste tecido ocorrem feixes vasculares colaterais em grupos de dois ou três, usualmente mais calibrosos do que os feixes individuais de pequeno calibre e feixes envoltos por uma bainha esclerenquimática com duas a cinco camadas celulares de espessura; o esclerenquima é composto por células volumosas de paredes lignificadas e pouco espessadas; o mesocarpo interno possui células achatadas, contendo compostos fenólicos. O endocarpo é diferenciado em um estrato densamente piloso; as células possuem paredes delgadas e pécticas, com citoplasma denso e com aspecto secretor. Em secção transversal é possível distinguir três regiões placentárias, com placenta profusamente ramificada, onde em suas terminações se inserem as sementes. As sementes, de coloração negra ou castanho-escura possuem testa esclerenquimática; a testa seminal é composta por uma única camada de braquiesclereídes. O tegumento interno é comprimido e o endosperma possui células volumosas com reservas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos na forma de grumos; cristais prismáticos e esclereídes; fragmentos com células do exocarpo; fibras em grupos de dois ou três elementos ou isoladas; elementos de vaso agrupados ou isolados; reforços de lignina e pontoações são observados. As sementes permanecem praticamente intactas.

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

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

Fase móvel: cloreto de metileno e acetona (95:5).

Solução amostra: utilizar o extrato hidroalcoólico obtido em *Doseamento*.

Solução referência: dissolver 1 mg de vanilina em 10 mL de etanol.

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

Resultados: no esquema abaixo estão representas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Vanilina: zona de fluorescência azul-violeta	Zona de fluorescência azul-violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Cinzas sulfatadas (5.4.1.5.2). 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

Substâncias extraíveis

Determinar o teor de substâncias extraíveis por meio do cálculo do rendimento do extrato hidroalcoólico. Pesar, com exatidão, cerca de 2 g de baunilha, previamente cortada em pequenos fragmentos ou triturada a pó grosso. Transferir o pó para um erlenmeyer, com tampa esmerilhada, e adicionar 70 mL de etanol diluído (solução preparada com 263 mL de etanol em 250 mL de água destilada), tampar bem o recipiente e agitar por 2 horas em agitador mecânico, ou deixar em contato, durante uma noite, e agitar, frequentemente, por mais 8 horas. Decantar a camada líquida e filtrar, recolhendo o filtrado em um balão volumétrico de 100 mL. Lavar o frasco e o resíduo quatro vezes, sucessivamente, com porções de 8 mL da solução de etanol diluído. Filtrar os líquidos de lavagem, no mesmo filtro, e juntar ao filtrado obtido anteriormente. Com quantidade suficiente de etanol diluído, completar o volume para 100 mL, homogeneizar e evaporar em banho-maria 50 mL, exatamente medidos, em uma cápsula de porcelana tarada. Dessecar o resíduo em estufa a 105 °C por 4 horas. Resfriar a cápsula em dessecador e pesar. O peso do resíduo representa o extrato hidroalcoólico seco de 1 g da droga.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

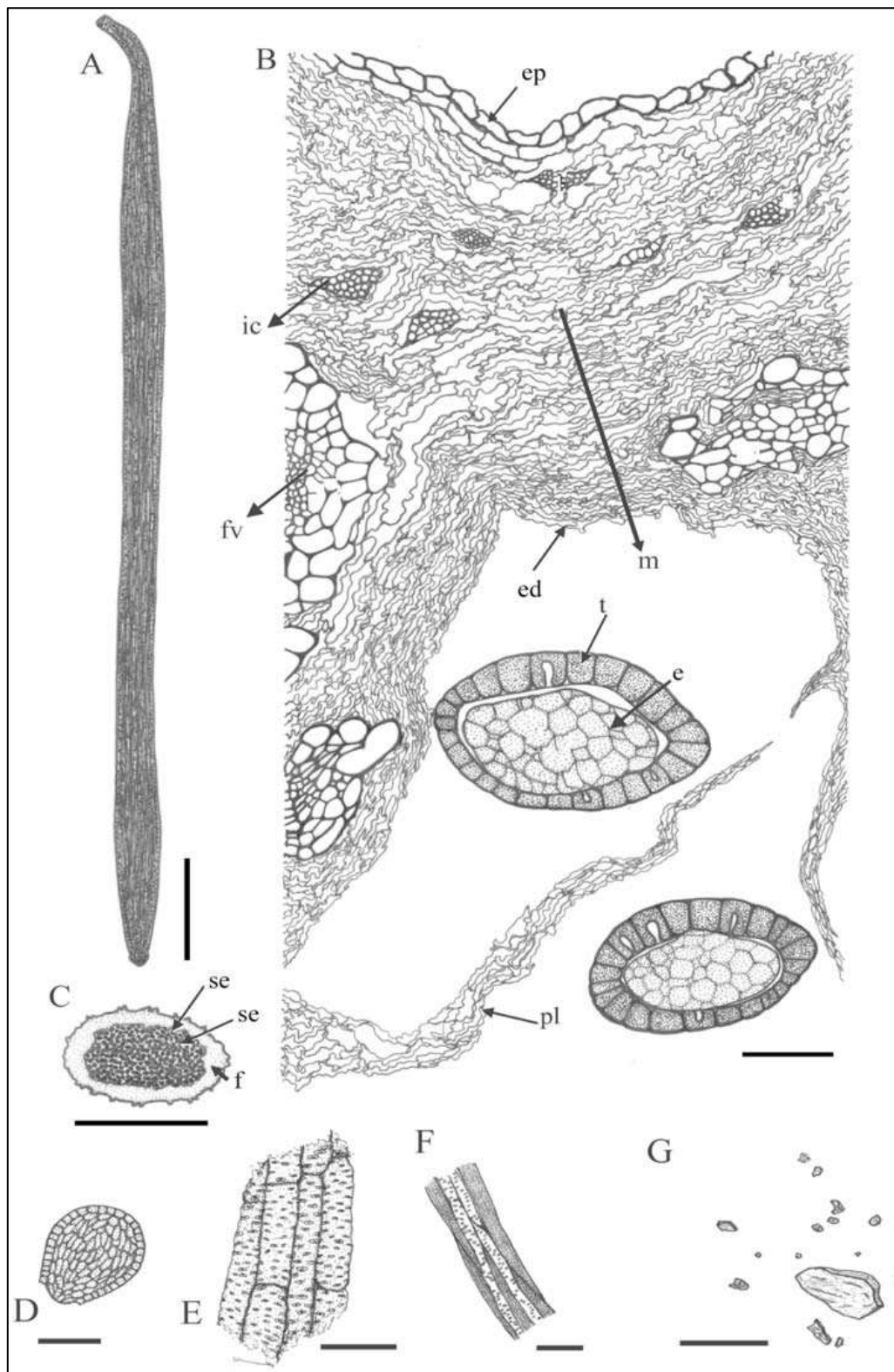


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Vanilla planifolia* Andrews

As escalas correspondem em: **A** a 20 mm; em **B** a 5 mm; em **C** a 100 μm ; em **D** a 160 μm ; em **E** a 74 μm ; em **F** a 9 μm ; em **G** a 37 μm .

A – representação esquemática da cápsula, em vista lateral. **B** – representação da histologia do pericarpo e sementes, em secção transversal: endocarpo (ed); endosperma (e); exocarpo (ep); idioblastos cristalíferos com ráfides (ic); feixe vascular (fv); mesocarpo (m); tecido placentário (pl); tegumento da semente (t). **C** – representação esquemática da cápsula em secção transversal: pericarpo (f); semente (se). **D** – semente em vista lateral. **E** – fragmento de elementos de vaso do xilema. **F** – fragmento de grupo de fibras da bainha vascular. **G** – cristais de oxalato de cálcio.

BELADONA, folha *Belladonnae folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Atropa belladonna* L., contendo, no mínimo, 0,3% de alcaloides totais, expressos em hiosciamina ($C_{17}H_{23}NO_3$, 289,37).

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor fracamente nauseoso, lembrando o do fumo.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As folhas são elípticas, oval-lanceoladas a largamente ovaladas, inteiras, de ápice acuminado, base atenuada, simétrica e algo decurrente, e bordo inteiro. Medem 5 a 25 cm de comprimento e 3 a 12 cm de largura, com pecíolos de 0,5 a 4,0 cm de comprimento. A coloração é verde a castanho-esverdeado, sendo mais escura na face adaxial. As folhas secas são enrugadas, friáveis e delgadas. As folhas jovens são mais pubescentes que as adultas ao longo das nervuras e do pecíolo. A nervação é penínervia, sendo que as nervuras secundárias partem da nervura principal em um ângulo de cerca de 60° e se anastomosam próximo ao bordo. A superfície da lâmina é seca e áspera ao tato, devido à presença de células com conteúdo microcristalino de oxalato de cálcio no mesofilo. Estas células aparecem como minúsculos pontos brilhantes quando a superfície é iluminada e escuros por transparência.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar é anfiestomática e de simetria dorsiventral. A epiderme, em vista frontal, mostra células de paredes anticliniais ondeadas e com cutícula finamente estriada, em ambas as faces. Tricomas tectores e glandulares são numerosos por toda a lâmina. Os tricomas tectores têm de duas a cinco células, são unisseriados e cônicos, de paredes lisas e delgadas; os tricomas glandulares possuem pedicelo pluricelular, composto por duas a quatro células, com célula terminal claviforme, ou possuem pedicelo pluricelular e cabeça pluricelular, formada por quatro a sete células, de aspecto ovoide a piriforme. Estômatos anisocíticos são mais frequentes na epiderme abaxial. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada e a cutícula é delgada. O mesofilo é composto por parênquima paliçádico uniestratificado e parênquima esponjoso com grandes idioblastos contendo cristais prismáticos de oxalato de cálcio e areia microcristalina. A nervura principal é proeminente em ambas as faces e apresenta feixes vasculares bicolaterais em arco aberto, sendo o floema intra-axilar descontínuo. Colênquima angular ocorre abaixo da epiderme, em ambas as faces.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde escura; fragmentos de epiderme com células de paredes anticliniais ondeadas e cutícula com estrias; fragmentos do mesofilo com parênquima paliçádico uniestratificado; fragmentos da epiderme abaxial, mostrando estômatos anisocíticos e raros tricomas tectores e glandulares; fragmentos do parênquima, contendo idioblastos cristalíferos; cristais prismáticos isolados como os descritos; tricomas glandulares, como os descritos, isolados, fragmentados ou com restos de epiderme; tricomas tectores isolados ou seus fragmentos.

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

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

Fase móvel: tolueno, acetato de etila e dietilamina (7:2:1).

Solução amostra: agitar 3 g de droga pulverizada com 30 mL de ácido sulfúrico 0,05 M durante 2 minutos e filtrar. Alcalinizar o filtrado com 3 mL de hidróxido de amônio e adicionar através do filtro 15 mL de água. Transferir a solução alcalina para funil de separação e extrair sucessivamente com três alíquotas de 15 mL de clorofórmio. Reunir as fases clorofórmicas e adicionar sulfato de sódio anidro. Filtrar e evaporar até a secura em banho-maria. Dissolver o resíduo em 0,5 mL de metanol.

Solução referência: dissolver 24 mg de sulfato de atropina em 9 mL de metanol e 7,5 mg de bromidrato de escopolamina em 10 mL de metanol. Misturar 9 mL da solução de sulfato de atropina e 1 mL da solução de bromidrato de escopolamina.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 15 minutos. Deixar esfriar e nebulizar sucessivamente com iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR e solução etanólica de ácido sulfúrico a 5% (p/v) (ou solução aquosa de nitrito de sódio a 5% (p/v)) até o aparecimento de manchas vermelhas ou vermelho alaranjadas sobre fundo amarelo cinzento.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Escopolamina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
Atropina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3,0% de caules da espécie com um diâmetro superior a 5 mm. Não deve conter fragmentos de folhas com ráfides no mesofilo (*Phytolacca americana* L.), nem apresentar camadas de células com maclas de oxalato de cálcio ao longo das nervuras (*Ailanthus altissima* Swingle).

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

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 4,0%.

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

Alcaloides totais

Pesar cerca de 10 g da amostra pulverizada (180 µm) e umedecer com 5 mL de hidróxido de amônio. Adicionar 10 mL de etanol e 30 mL de éter etílico isento de peróxido, misturados cuidadosamente. Transferir a mistura para um percolador, se necessário, com auxílio da solução extratora. Macerar durante quatro horas e percolar a mistura com mistura de clorofórmio e éter etílico isento de peróxidos (1:3) até extração completa dos alcaloides. Evaporar à secura 1 mL do percolado e dissolver o resíduo em ácido sulfúrico 0,25 M e verificar a ausência de alcaloides com iodeto de potássio mercúrio SR. Reduzir o volume do percolado até 50 mL e transferir para um funil de separação com auxílio de éter etílico, isento de peróxidos. Ao líquido obtido, adicionar éter etílico isento de peróxidos, 2,5 vezes o volume do percolador até a obtenção de um líquido de densidade inferior a da água. Extrair a solução, no mínimo três vezes, utilizando 20 mL de solução de ácido sulfúrico 0,25 M em cada uma das vezes. Separar as fases, por centrifugação, se necessário, e transferir a fase ácida para outro funil de separação. Alcalinizar a fase ácida com hidróxido de amônio até pH entre 8,0 e 9,0 e extrair três vezes com clorofórmio, com alíquotas de 30 mL. Juntar as fases clorofórmicas e retirar a água residual, adicionando 4 g de sulfato de sódio anidro, deixando em repouso por 30 minutos, com agitação ocasional. Retirar a fase clorofórmica e lavar o sulfato de sódio restante com três alíquotas de 10 mL de clorofórmio. Reunir os extratos clorofórmicos e evaporar à secura em banho-maria. Aquecer o resíduo em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 15 minutos. Dissolver o resíduo em 5 mL de clorofórmio, adicionar 20 mL de solução de ácido sulfúrico 0,01 M SV e remover o clorofórmio por evaporação em banho-maria. Titular o excesso de ácido com solução de hidróxido de sódio 0,02 M SV utilizando vermelho de metila como indicador. Calcular o teor de alcaloides totais expressos em hiosciamina, em percentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{57,88 \times (20 - n)}{(100 - d) \times m}$$

em que,

TA = teor de alcaloides % (p/p);

d = perda por dessecação %;

n = volume em mililitros da solução de hidróxido de sódio 0,02 *M* utilizado; e

m = massa em gramas da amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

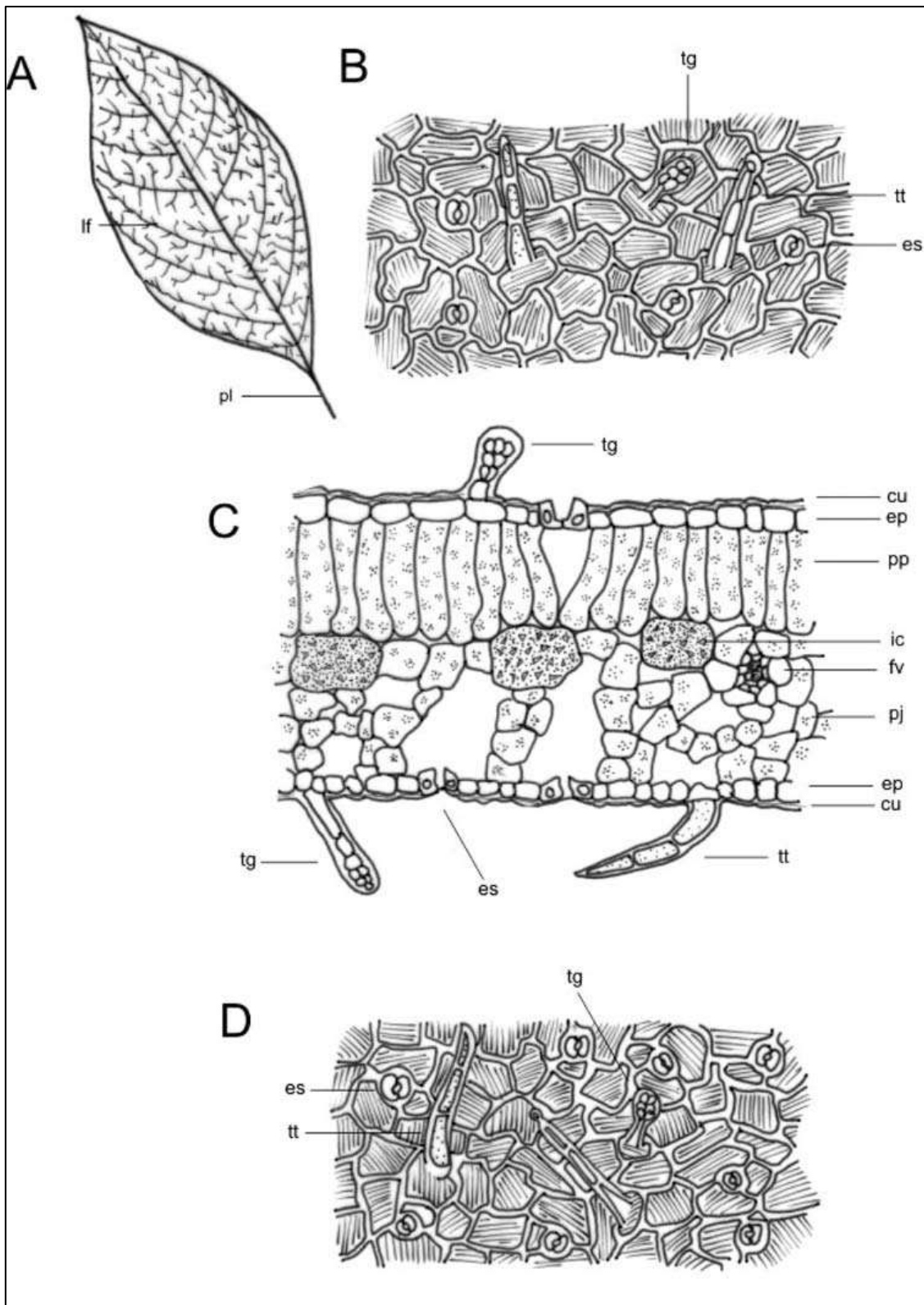


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Atropa belladonna* L.

A escala corresponde em A 5 mm; e em B, C e D a 20 μ m.

A – Representação esquemática da folha: lâmina foliar (lf); pecíolo (pl). **B** – detalhe de porção da epiderme voltada para a face adaxial em vista frontal: tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt); estômato (es). **C** – detalhe da porção do mesofilo, em secção transversal: tricoma glandular (tg); cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima paliádico (pp); idioblasto contendo microcristais de oxalato de cálcio (ic); feixe vascular (fv); parênquima esponjoso (pj); epiderme (ep); tricoma tector (tt); estômato (es). **D** – detalhe de porção da epiderme voltada para a face abaxial, em vista frontal: tricoma glandular (tg); estômato (es); tricoma tector (tt).

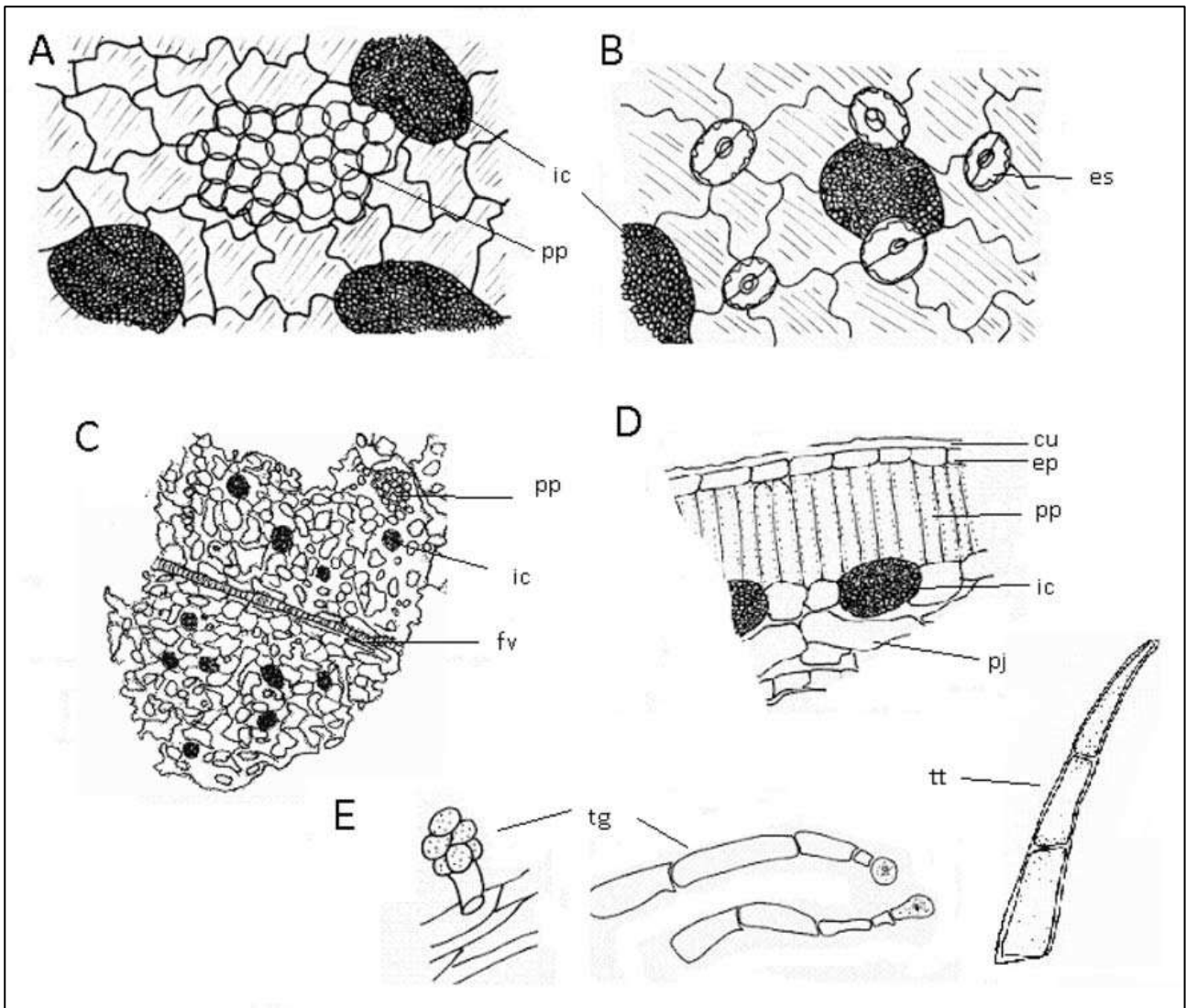


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Atropa belladonna* L.

A escala corresponde em A, B e D a 30 µm; em C a 100 µm; e em E a 20 µm.

A e C – fragmentos da epiderme voltada para a face adaxial, em vista frontal, mostrando idioblastos cristalíferos por transparência: idioblasto cristalífero (ic); parênquima paliçádico (pp); feixe vascular (fv). **B** – fragmento da epiderme voltada para a face abaxial, em vista frontal, mostrando idioblastos cristalíferos por transparência: idioblasto cristalífero (ic); estômato (es). **D** – fragmento da lâmina foliar, em secção transversal: cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); idioblasto cristalífero (ic); parênquima esponjoso (pj). **E** – tricomas ou suas partes, isolados: tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt).

BENJOIM

Benzoe sumatranus

O benjoim consiste de uma resina balsâmica, obtida por incisões no tronco de *Styrax benzoin* Dryand. ou *Styrax paralleloneuron* Perkins, contendo, no mínimo, 25% e no máximo, 50% de ácidos totais, calculados como ácido benzoico ($C_7H_6O_2$, 122,12).

CARACTERÍSTICAS

Apresenta-se sob a forma de fragmentos arredondados ou ovoides, irregulares, de coloração creme-esbranquiçada, que podem estar revestidos de um material resinoso de coloração castanho-acinzentada ou castanho-avermelhada. Os fragmentos são duros e quebradiços, sendo a superfície de fratura rugosa e irregular. Odor suave e balsâmico.

IDENTIFICAÇÃO

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

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

Fase móvel: hexano, éter isopropílico e ácido acético glacial (60:40:10).

Solução amostra: transferir 0,2 g da amostra, finamente pulverizada, adicionar 5 mL de etanol e levar ao banho de ultrassom durante 2 minutos. Centrifugar e utilizar a solução sobrenadante.

Solução referência: dissolver 20 mg de ácido benzoico, 10 mg de ácido cinâmico, 4 mg de vanilina e 20 mg de cinamato de metila em 10 mL de etanol.

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<p>Cinamato de metila: zona de extinção de fluorescência</p> <p>Ácido benzoico: zona de extinção de fluorescência</p> <p>Ácido cinâmico: zona de extinção de fluorescência</p>	<p>Zona de extinção de fluorescência</p> <p>Zona de extinção de fluorescência fraca</p> <p>Zona de extinção de fluorescência intensa</p>
<p>Vanilina: zona de extinção de fluorescência</p>	<p>Zona de extinção de fluorescência</p> <p>Zona de extinção de fluorescência intensa</p> <p>Zona de extinção de fluorescência</p> <p>Zona de extinção de fluorescência fraca</p> <p>Série de zonas de extinção de fluorescência</p>
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em etanol, dissulfeto de carbono e xileno.

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

Fase estacionária: óxido de alumínio G (0,25 mm).

Fase móvel: éter etílico e éter de petróleo (60:40).

Solução amostra: aquecer 0,2 g da amostra moída com 10 mL de etanol a 90% (v/v). Centrifugar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 µL da *Solução amostra*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar com anisaldeído SR1 e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C durante 5 minutos.

Resultados: o cromatograma não deve apresentar nenhuma mancha nítida com Rf entre 0,4 e 1,0.

Styrax tonkinensis. Proceder conforme descrito no teste **E.** de *Identificação*. A *Solução amostra* apresenta duas manchas de fraca intensidade e não apresenta manchas intensas, respectivamente na mesma posição das manchas escuras correspondentes ao ácido benzoico e à vanilina no cromatograma obtido com a *Solução referência*.

Colofônia. Transferir 1 g da amostra, adicionar 10 mL de xileno e colocar em ultrassom durante 1 minuto. Filtrar. Adicionar ao filtrado 10 mL de acetato de cobre 1% (p/v). Agitar bem e deixar separar as fases. A camada de xileno não deve apresentar coloração verde.

Limite de substâncias insolúveis em etanol. Pesar 2 g da amostra pulverizada e adicionar 25 mL de etanol a 90% (v/v). Aquecer à ebulição até dissolução quase completa. Filtrar em filtro de vidro poroso, previamente tarado, lavar três vezes com 5 mL de etanol a 90% (v/v) a quente. Aquecer o funil de vidro e seu conteúdo em estufa entre 100 °C e 105 °C durante 2 horas. Resfriar em dessecador e pesar. No máximo 25,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 5,0%. Determinar em 2 g da amostra grosseiramente pulverizada, a pressão reduzida, durante 4 horas.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 2,0%.

DOSEAMENTO

Em balão de boca esmerilhada de 250 mL, introduzir 0,75 g da amostra finamente pulverizada e 15 mL de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol SV. Aquecer sob refluxo, em banho-maria, durante 30 minutos. Deixar esfriar, lavar o condensador com 20 mL de etanol. Titular o excesso de hidróxido de potássio com ácido clorídrico 0,5 M SV. Determinar o ponto final potenciométricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de potássio 0,5 M em etanol SV equivale a 61,050 mg de ácido benzoico (C₇H₆O₂).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BOLDO, folha
Boldus folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Peumus boldus* Molina, contendo, no mínimo, 0,1% de alcaloides totais expressos em boldina (C₁₉H₂₁NO₄ 327,37).

NOMES POPULARES

Boldo-do-chile.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor aromático característico, canforáceo e levemente acre, que se acentua com o esmagamento.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folha simples, inteira, elíptica, elíptico-ovalada, elíptico-obovada ou obovada, de ápice obtuso, retuso ou agudo e base arredondada, obtusa ou cuneada, ápice e base simétricos ou assimétricos, margem ligeiramente revoluta, lâmina coriácea, quebradiça, verde-acinzentada a cinzento-prateada, pontuações levemente translúcidas, correspondentes a cavidades secretoras, visíveis a olho nu ou com lente de aumento de seis vezes, de 1,2 a 7,0 cm de comprimento e 0,6 a 5,0 cm de largura; lâmina pilosa, com tricomas estrelados visíveis com lente de aumento, comumente caducos na face adaxial, sendo essa face áspera ao tato devido às proeminências da base dos tricomas; venação camptódromabroquidódroma. Pecíolo curto, piloso, medindo de 1 a 5 mm de comprimento e de 1 a 2 mm de largura, côncavo na face adaxial, com duas pequenas costelas laterais, e convexo na face abaxial, com maior densidade de tricomas nessa face.

B. Descrição microscópica

Lâmina foliar de simetria dorsiventral, hipoestomática, com estômatos anomocíticos. Em vista frontal apresenta cutícula lisa e epiderme com células poligonais de paredes espessas, ondeadas e com tricomas estrelados; por transparência, são visíveis células secretoras. Em secção transversal, na face adaxial, se observa cutícula espessa, epiderme uniestratificada, com células alongadas e de paredes espessas, seguida de hipoderme, também de paredes espessas, uniestratificada, raramente biestratificada; segue o parênquima paliçádico uniestratificado ou biestratificado, de células colunares, com segunda camada mais frouxa, de células menores e maior concentração de grãos de amido, seguido de um parênquima esponjoso com várias camadas de células e grandes espaços intercelulares; feixes colaterais secundários distribuem-se no mesofilo. Nervura principal, em secção transversal, com cutícula mais espessa, principalmente na face abaxial, onde as células epidérmicas são pequenas e a hipoderme geralmente apresenta duas camadas de células em ambas as faces; o

colênquima é angular e mais desenvolvido junto à face abaxial; o sistema vascular é formado por um único feixe colateral, envolvido por endoderme e bainha de fibras muito esclerificadas; podem ocorrer outros dois feixes menores, voltados para a face adaxial, sendo o conjunto envolvido por bainha de fibras. Em toda a lâmina, na hipoderme, colênquima e parênquimas ocorrem células contendo compostos fenólicos; no parênquima há maior concentração de grãos de amido e são frequentes as células secretoras esféricas, unicelulares, de grande volume e de paredes suberizadas; cristais prismáticos de oxalato de cálcio isolados são encontrados na epiderme e bastonetes pequenos, finos e agrupados nos parênquimas; gotas lipídicas ocorrem em todos os tecidos. O pecíolo, em vista frontal, apresenta cutícula levemente ondulada, epiderme formada por células pequenas, quadrangulares e de paredes anticlinais espessas, muitas contendo compostos fenólicos, e muitos tricomas estrelados, iguais aos da lâmina; várias células secretoras esféricas, de grande volume e com paredes suberizadas são visíveis por transparência. Em secção transversal, o pecíolo possui duas costelas laterais, voltadas para a face adaxial; o sistema vascular está representado por um feixe colateral aberto e central.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. A observação microscópica do pó exige utilização de hidrato de cloral SR. São características: coloração amarelo-esverdeada a amarelo-pardacenta; tricomas estrelados íntegros e isolados ou parte destes, em vista frontal e/ou em vista lateral; porções de epiderme da região do mesofilo, com células de paredes espessas e com campos de pontuação visíveis, em vista frontal; porções de epiderme com estômatos, em vista frontal; porções de epiderme com células de paredes espessas, mostrando a base de tricoma estrelado, em vista frontal; fragmentos de epiderme com porções de nervuras, em vista frontal; porções da epiderme do pecíolo, com células secretoras visíveis por transparência, em vista frontal; porções do mesofilo com células secretoras, em vista frontal; porções do mesofilo com idioblasto cristalífero e célula com compostos fenólicos, em vista frontal; agrupamentos de fibras, em secção longitudinal; fragmentos do sistema vascular com porções de fibras, elementos traqueais, parênquima com porções de fibras, em secção longitudinal; fragmentos da lâmina com porções de epiderme, de hipoderme e de parênquima paliçádico, em secção transversal; fragmentos de epiderme e de hipoderme, em secção transversal; porções de parênquima paliçádico com células secretoras e com células contendo cristais em forma de bastonete, em secção transversal; fragmentos da região do mesofilo, em secção transversal.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno, metanol e dietilamina (80:10:10).

Solução amostra: transferir 0,5 g da droga pulverizada para balão de 50 mL, adicionar uma mistura de 1 mL de ácido clorídrico 2 M e 20 mL de água. Homogeneizar. Aquecer em banho de água, sob refluxo, durante 10 minutos. Resfriar e filtrar. Adicionar ao filtrado 2 mL de hidróxido de amônio 6 M. Extrair o filtrado duas vezes em funil de separação com 20 mL de éter etílico em cada vez, com agitação moderada para evitar a formação de emulsão. Reunir as fases orgânicas e evaporar o solvente sob pressão reduzida. Dissolver o resíduo em 1 mL de metanol.

Solução referência: dissolver 2 mg de boldina em 5 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 40 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com iodobismutato

de potássio aquoacético e deixar secar ao ar durante cinco minutos. Nebulizar a placa com nitrito de sódio SR. Examinar sob à luz visível após 30 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração marron-amarelado
	Zona de coloração castanha Zona de coloração castanha Zona de coloração castanha
Boldina: zona de coloração castanha	Zona de coloração castanha
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Água (5.2.20.2). No máximo 10,0%.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3,0%.

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

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). 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

Alcaloides totais

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 304 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; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura da *Solução A* e *Solução B* (16:84), preparadas como descrito a seguir.

Solução A: mistura de 0,2 mL de dietilamina e 99,8 mL de acetonitrila.

Solução B: mistura de 0,2 mL de dietilamina e 99,8 mL de água, ajustar o pH para 3,0 utilizando ácido fórmico anidro.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga pulverizada (355 µm) em erlenmeyer, adicionar 50 mL de ácido clorídrico 2 M e aquecer em banho-maria a 80 °C durante 30 minutos, com agitação. Filtrar e suspender o resíduo com 50 mL de ácido clorídrico 2 M e aquecer em banho-maria a 80 °C por 30 minutos, com agitação. Filtrar e repetir mais uma vez a operação com o resíduo obtido. Filtrar. Combinar os filtrados resfriados em funil de separação e agitar com 100 mL de uma mistura de hexano e acetato de etila (1:1). Descartar a fase orgânica. Ajustar o pH da fase aquosa para 9,0 com hidróxido de amônio 6 M. Extrair a fase aquosa com uma porção de 100 mL, e duas porções de 50 mL de cloreto de metileno. Combinar as fases orgânicas e evaporar em evaporador rotatório até a secura. Transferir o resíduo para balão volumétrico de 10 mL utilizando a *Fase móvel* como diluente. Completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução referência: pesar, com exatidão, cerca de 12 mg de boldina SQR. Dissolver a quantidade pesada em balão volumétrico de 100 mL utilizando a *Fase móvel* como diluente. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1 mL da solução obtida, utilizando pipeta volumétrica, para balão volumétrico de 10 mL. Completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução amostra*, mínimo de 1,2 entre os picos referentes a isoboldina e a boldina.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes a boldina e aos seis alcaloides descritos a seguir. Os tempos de retenção relativos à boldina, cujo tempo de retenção é de cerca de seis minutos, são, aproximadamente, 0,9 para isoboldina, 1,8 para *N*-óxido de isocoridina, 2,2 para laurotetanina, 2,8 para isocoridina e 3,2 para *N*-metil laurotetanina. Calcular o teor de alcaloides totais, expresso em boldina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{(\sum A_1) \times m_2 \times P}{A_2 \times m_1 \times 100}$$

em que,

TA = teor de alcaloides totais expressos em boldina % (p/p);

m_1 = massa em gramas utilizada na preparação da *Solução amostra*;

m_2 = massa em gramas de boldina utilizada na preparação da *Solução referência*;

$\sum A_1$ = soma das áreas sob os picos correspondentes aos seis alcaloides identificados no cromatograma obtido com a *Solução amostra*;

A_2 = área sob o pico correspondente à boldina na *Solução referência*; e

P = pureza declarada, em porcentagem, da substância de referência.

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. Utilizar 0,5 mL de xileno. A droga previamente triturada deve ser turbolizada com 100 mL de água. Transferir imediatamente para o balão e proceder a hidrodestilação a partir de 50 g da droga. Destilar durante 4 horas. Deve conter, no mínimo, 1,5% de óleo volátil.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

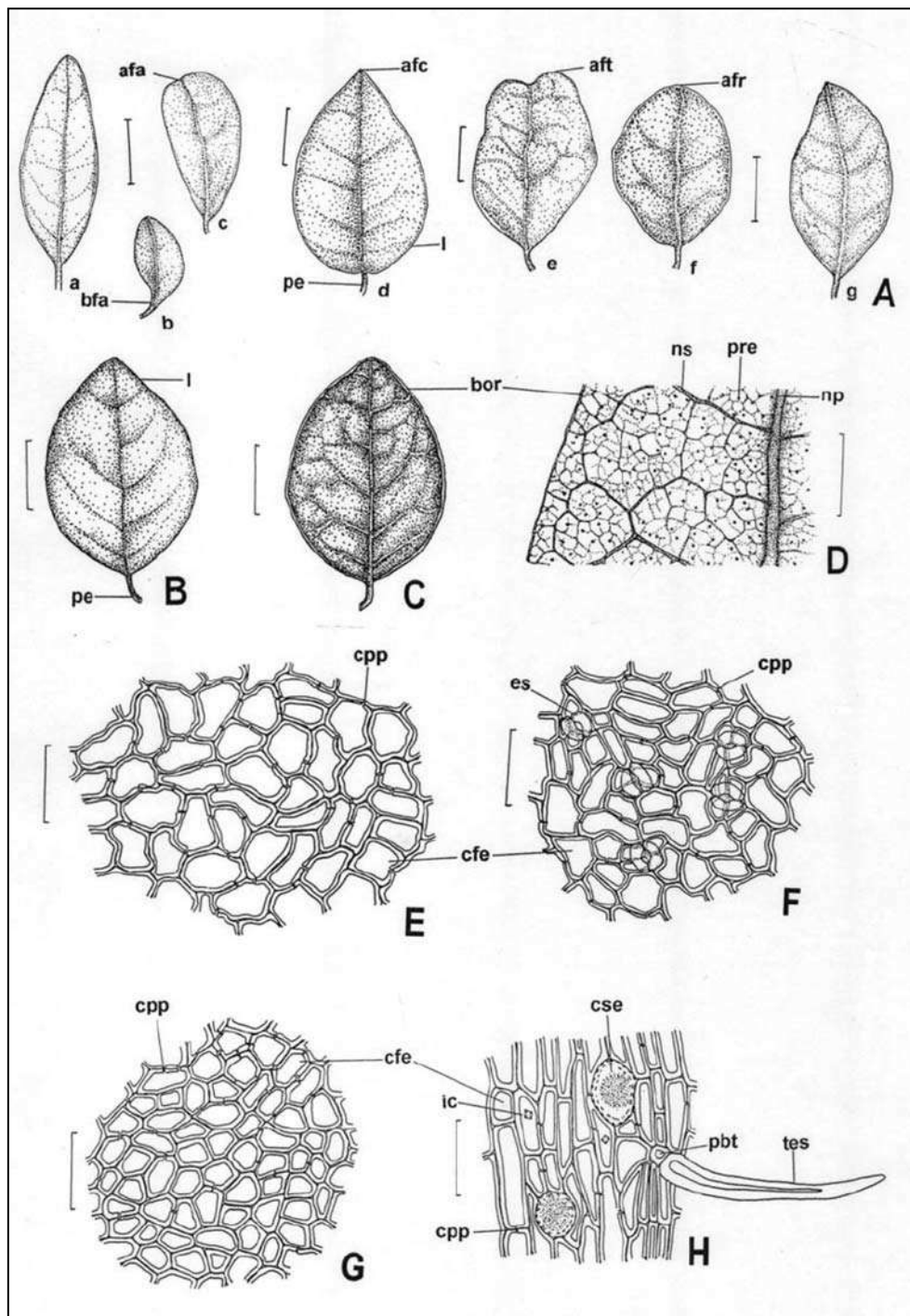


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Peumus boldus* Molina

As escalas correspondem em A (a, b, c, e, f e g) a 10 mm, em A (d) a 15 mm, em B e C a 14 mm, em D a 5 mm; em E, F, G e H a 100 µm. A – aspecto geral de diferentes formas foliares: base foliar assimétrica (bfa); ápice foliar assimétrico (afa); ápice foliar acuminado (afc); pecíolo (pe); lâmina (l); ápice foliar retuso (aft); ápice foliar arredondado (afr). B – aspecto geral da face adaxial foliar: pedículo (pe); lâmina (l). C – aspecto geral da face abaxial foliar: bordo (bor). D – detalhe de porção da face abaxial da lâmina foliar, em vista frontal, mostrando parte da nervação da região da nervura principal até o bordo: bordo (bor); nervura secundária (ns); proeminência formada pela região basal do tricoma estrelado (pre); nervura principal (np). E – detalhe de porção da epiderme voltada para a face adaxial, na região do mesofilo, em vista frontal: campo primário de pontoação (cpp); célula fundamental da epiderme (cfe). F – detalhe de porção da epiderme voltada para a face abaxial, na região do mesofilo, em vista frontal: estômato (es); campo primário de pontoação (cpp); célula fundamental da epiderme (cfe). G – detalhe de porção da epiderme na região da nervura principal, voltada para a face adaxial, em vista frontal: campo primário de pontoação (cpp); célula fundamental da epiderme (cfe). H – detalhe de porção da epiderme na região da nervura principal, voltada para a face abaxial, em vista frontal: célula

fundamental da epiderme (cfe); célula secretora (cse); idioblasto cristalífero (ic); campo primário de pontoação (cpp); porção basal de célula do tricoma partido (pbt); tricoma estrelado (tes).

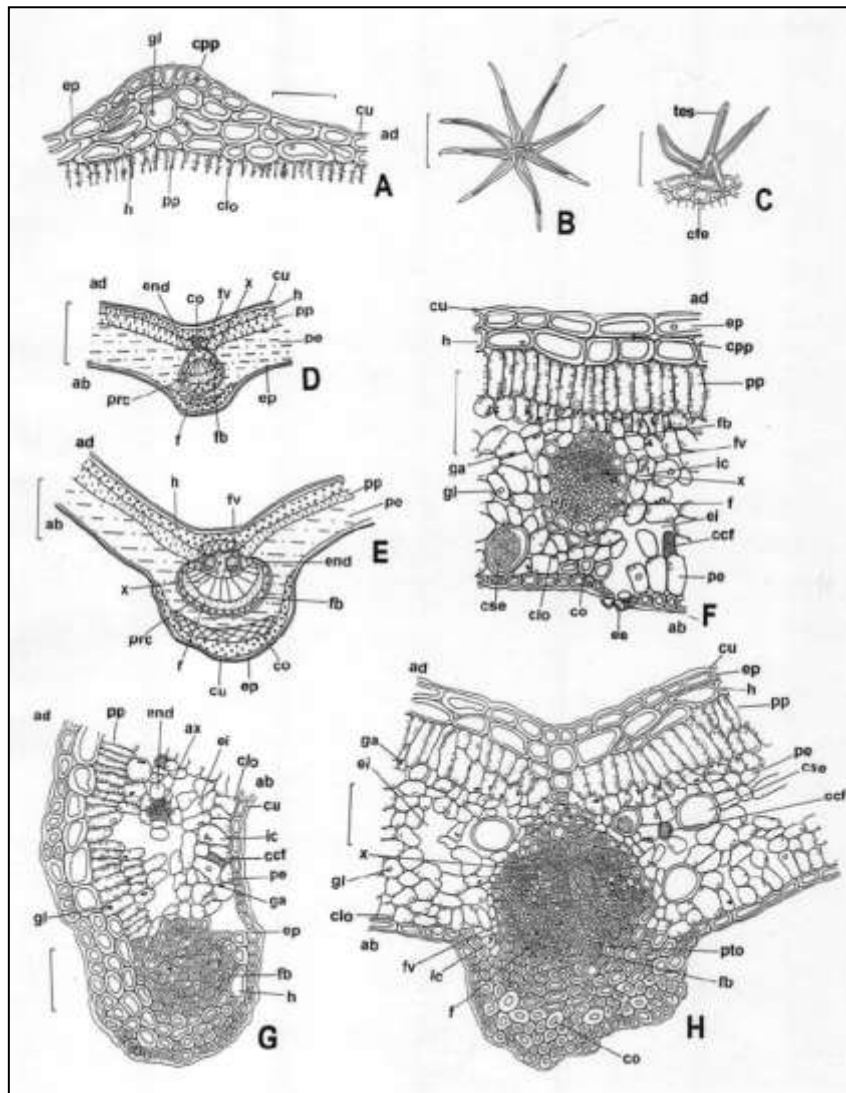


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Peumus boldus* Molina

As escalas correspondem em **A, C, F, G e E** a 100 μm , em **B** a 400 μm ; em **D e H** a 400 μm .

A – detalhe de porção da lâmina foliar em secção transversal, junto à face adaxial, mostrando proeminência da região basal do tricoma estrelado: cloroplastídeo (clo); gota lipídica (gl); campo primário de pontoação (cpp); cutícula (cu); face adaxial (ad); hipoderme (h); parênquima paliçádico (pp); epiderme (ep). **B** – detalhe de porção de tricoma estrelado em vista frontal. **C** – detalhe de tricoma estrelado em vista lateral: tricoma estrelado (tes); célula fundamental da epiderme (cfe). **D** – esquema parcial da região da nervura principal da lâmina foliar, em secção transversal, mostrando um único feixe vascular: face adaxial (ad); face abaxial (ab); endoderme (end); colênquima (co); feixe vascular (fv); xilema (x); cutícula (cu); hipoderme (h); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pe); epiderme (ep); fibras (fb); floema (f); procâmbio (prc). **E** – esquema parcial da região da nervura principal da lâmina foliar, em secção transversal, mostrando três feixes vasculares: face adaxial (ad); face abaxial (ab); hipoderme (h); feixe vascular (fv); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pe); endoderme (end); fibras (fb); colênquima (co); epiderme (ep); cutícula (cu); floema (f); procâmbio (prc); xilema (x). **F** – detalhe de porção da lâmina foliar, na região do mesófilo, em secção transversal, mostrando feixe vascular secundário: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); campo primário de pontoação (cpp); hipoderme (h); parênquima paliçádico (pp); fibras (fb); feixe vascular (fv); idioblasto cristalífero (ic); xilema (x); floema (f); grão de amido (ga); gota lipídica (gl); espaço intercelular (ei); célula com compostos fenólicos (ccf); parênquima esponjoso (pe); estômato (es); colênquima (co); cloroplastídeo (clo); célula secretora (cse). **G** – detalhe do bordo na região mediana da lâmina foliar, em secção transversal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); parênquima paliçádico (pp); agrupamento xilemático (ax); espaço intercelular (ei); cloroplastídeo (clo); cutícula (cu); idioblasto cristalífero (ic); célula com compostos fenólicos (ccf); parênquima esponjoso (pe); grão de amido (ga); gota lipídica (gl); epiderme (ep); fibras (fb); hipoderme (h). **H** – detalhe de porção da região mediana da lâmina foliar, em secção transversal, na região da nervura principal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); grão de amido (ga);

espaço intercelular (ei); xilema (x); gota lipídica (gl); cloroplastídio (clo); feixe vascular (fv); idioblasto cristalífero (ic); floema (f); colênquima (co); fibras (fb); pontoação (pto); célula com compostos fenólicos (ccf); célula secretora (cse); parênquima esponjoso (pe); parênquima paliçádico (pp); hipoderme (h); epiderme (ep); cutícula (cu).

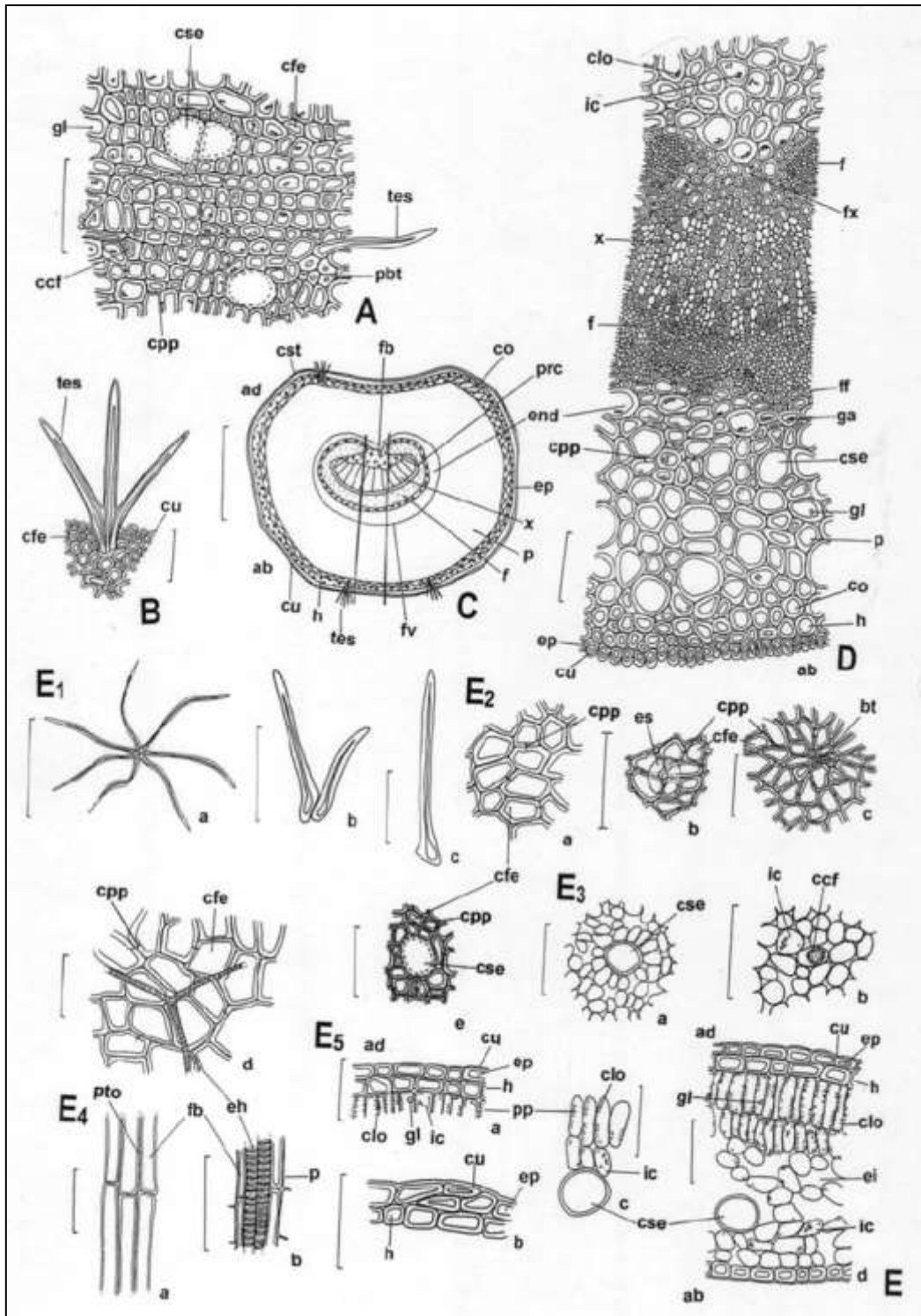


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Peumus boldus* Molina

As escalas correspondem em **A, B, D e E (E2 até E5)** a 100 µm, em **C** a 400 µm e em **E (E1)** a 400 µm.
A – detalhe de porção da epiderme do pecíolo, em vista frontal: gota lipídica (gl); célula com compostos fenólicos (ccf); célula secretora (cse); campo primário de pontoação (cpp); célula fundamental da epiderme (cfe); tricoma estrelado (tes); porção basal de células do tricoma estrelado (pbt). **B** – detalhe de porção da epiderme do pecíolo, em vista lateral: tricoma estrelado (tes); célula fundamental da epiderme (cfe); cutícula (cu). **C** – esquema geral do pecíolo, em secção transversal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); costela (cst); fibras (fb); colênquima (co); procâmbio (prc); endoderme (end); epiderme (ep); xilema (x); floema (f); parênquima (p); feixe vascular (fv); tricoma estrelado (tes); hipoderme (h); cutícula (cu). **D** – detalhe de porção do pecíolo, em secção transversal, conforme destacado em **C**: face abaxial (ab); hipoderme (h); epiderme (ep); cutícula (cu); parênquima paliçádico (pp); cloroplastídio (clo); gota lipídica (gl); idioblasto cristalífero (ic); espaço intercelular (ei); célula com compostos fenólicos (ccf); célula secretora (cse); parênquima esponjoso (pe); parênquima paliçádico (pp); hipoderme (h); epiderme (ep); cutícula (cu).

(h); cutícula (cu); epiderme (ep); colênquima (co); parênquima (p); gota lipídica (gl); célula secretora (cse); campo primário de pontuação (cpp); grão de amido (ga); endoderme (end); xilema (x); floema (f); fibras do xilema (fx); floema (F); idioblasto cristalífero (ic); cloroplastídio (clo). **E** – detalhes do pó: célula fundamental da epiderme (cfe); campo primário de pontuação (cpp); estômato (es); base do tricoma (bt); célula secretora (cse); célula com compostos fenólicos (ccf); idioblasto cristalífero (ic); pontuação (pto); fibras (fb); elemento de vaso com espessamento helicoidal (eh); parênquima (p); face adaxial (ad); face abaxial (ab); cloroplastídio (clo); gota lipídica (gl); cutícula (cu); epiderme (ep); hipoderme (h); parênquima paliçádico (pp); espaço intercelular (ei). **E1** – detalhes de tricomas: tricoma estrelado em vista frontal (a), porção de tricoma estrelado em vista lateral (b), célula isolada de tricoma estrelado, em vista lateral (c). **E2** – detalhes da epiderme: porção da epiderme na região do mesofilo, em vista frontal (a), porção da epiderme com estômato, em vista frontal (b), porção da epiderme com células de paredes espessas, mostrando a base de tricoma estrelado, em vista frontal (c), fragmento da epiderme com porção de nervura, em vista frontal (d), porção da epiderme do pecíolo, em vista frontal (e). **E3** – detalhes do mesofilo, em secção transversal: porção do mesofilo com célula secretora (a), porção do mesofilo com cristais de oxalato de cálcio e com célula contendo compostos fenólicos (b). **E4** – detalhes de porções do sistema vascular, em secção longitudinal: agrupamento de fibras (a), fragmento do sistema vascular com porções de fibras, de elementos traqueais e de parênquima (b). **E5** – detalhes de tecidos da lâmina foliar, em secção transversal: fragmento da lâmina com porção de epiderme, de hipoderme e de parênquima paliçádico (a), fragmento da epiderme e da hipoderme (b); porção de parênquima paliçádico com célula secretora e célula contendo cristais (c), fragmento da região do mesofilo (d).

BOLDO, tintura

Boldus tinctura

A tintura é obtida a partir de folhas secas de *Peumus boldus* Molina, contendo, no mínimo, 0,01% de alcaloides totais expressos em boldina.

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10,0% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando etanol a 60,0% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, castanho-esverdeado escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno, metanol e dietilamina (10:10:80).

Solução amostra: evaporar 25 mL da tintura em banho-maria até a consistência de extrato mole. Extrair, com auxílio de bastão de vidro, o resíduo ainda quente, duas vezes, com 10 mL de ácido clorídrico 2 M em cada vez. Filtrar e alcalinizar o filtrado em pH 9,0 com hidróxido de amônio 6 M. Extrair o filtrado duas vezes, em funil de separação, com 20 mL de éter etílico em cada vez, com agitação moderada para evitar a formação de emulsão. Reunir as fases orgânicas e evaporar o solvente em banho-maria. Dissolver o resíduo em 0,5 mL de metanol.

Solução referência: dissolver 2 mg de boldina SQR em 5 mL de metanol.

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com iodobismutato de potássio aquoacético. Deixar secar ao ar durante cinco minutos. Nebulizar a placa com nitrito de sódio SR. Examinar sob a luz visível após 30 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração marron-amarelado
	Zona de coloração amarelo-alaranjado
	Zona de coloração laranja
	Zona de coloração laranja
Boldina: zona de coloração castanha	Zona de coloração castanha
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Etanol (5.3.3.8.1). Método por destilação, Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool. $60 \pm 5\%$ (p/v).

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 2,0%.

DOSEAMENTO

Alcaloides totais

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 304 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; fluxo da *Fase móvel* de 1,5 mL/minuto.

Fase móvel: mistura da *Solução A* e *Solução B* (16:84), preparadas como descrito a seguir.

Solução A: mistura de 0,2 mL de dietilamina e 99,8 mL de acetonitrila.

Solução B: mistura de 0,2 mL de dietilamina e 99,8 mL de água, ajustar o pH para 3,0 utilizando ácido fórmico anidro.

Solução amostra: pipetar uma alíquota de 10 mL da tintura, que equivale a 1 g da droga vegetal, evaporar, em banho-maria, a 80 °C até a consistência de extrato mole. Extrair, com auxílio de bastão de vidro, o resíduo ainda quente com 50 mL de ácido clorídrico 2 M durante cinco minutos. Filtrar e repetir o procedimento mais uma vez com o resíduo obtido. Filtrar. Combinar os filtrados resfriados em funil de separação e agitar com 100 mL de uma mistura de hexano e acetato de etila (1:1). Descartar a fase orgânica. Ajustar o pH da fase aquosa para 9,0 utilizando hidróxido de amônio 6 M. Extrair a fase aquosa com porções de 100 mL, 50 mL e 50 mL de cloreto de metileno. Combinar as fases orgânicas e evaporar em evaporador rotatório até a secura. Transferir o resíduo para balão volumétrico de 10 mL utilizando *Fase móvel* como diluente. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Solução referência: pesar, com exatidão, cerca de 12 mg de boldina SQR. Dissolver essa quantidade em balão volumétrico de 100 mL utilizando *Fase móvel* como dissolvente. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1 mL da solução obtida, utilizando pipeta volumétrica, para balão volumétrico de 10 mL. Completar o volume com *Fase móvel* e homogeneizar.

Adequabilidade do sistema

Resolução entre picos: *Solução amostra*, mínimo 1,0 entre os picos referentes a isoboldina e a boldina.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos referentes a boldina e aos seis alcaloides descritos a seguir. Os tempos de retenção relativos à boldina, cujo tempo de retenção é de cerca de seis minutos, são, aproximadamente, 0,9 para isoboldina, 1,0 para boldina, 1,8 para *N*-óxido de isocoridina, 2,2 para laurotetanina, 2,8 para isocoridina e 3,2 para *N*-metil laurotetanina. Calcular o teor de alcaloides totais, expresso em boldina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{(\sum A_1) \times m_2 \times P}{A_2}$$

em que,

TA = teor de alcaloides totais expressos em boldina % (p/p);

$\sum A_1$ = soma das áreas sob os picos correspondentes aos seis alcaloides identificados no cromatograma obtido com a *Solução amostra*;

m_2 = massa em gramas de boldina SQR na *Solução referência*;

A_2 = área sob o pico correspondente à boldina na *Solução referência*; e

P = pureza declarada, em porcentagem, da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CALÊNDULA, flor

Calendulae flos

A droga consiste de flores liguladas completamente abertas, separadas do receptáculo, dessecadas, inteiras ou fragmentadas, obtidas de capítulos simples ou semiduplicados de *Calendula officinalis* L., acompanhadas de escassas flores tubulosas, brácteas involucrais e raros frutos. Não deve conter menos que 0,4% de flavonoides totais, calculados como hiperosídeo (C₂₁H₂₀O₁₂, 464,38), em relação ao material dessecado.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Flores liguladas, femininas, de 15 a 30 mm de comprimento e 5 a 7 mm de largura na porção mediana da lígula, amareladas, amarelo-alaranjadas a pardo-alaranjadas, com o tubo curto externamente piloso e com a lígula tridentada no ápice, apresentando 4 ou 5 nervuras paralelas; flores ocasionalmente acompanhadas de um estilete filiforme e um estigma bifido; ovário de coloração pardo-amarelada a pardo-alaranjada; frutos, quando presentes, aquênios curvos, naviculares, com o dorso coberto de espinhos curtos e de coloração pardo-esverdeada. Flores tubulosas hermafroditas, escassas, com corola de aproximadamente 5 mm de comprimento, pentalobuladas, de coloração amarela, vermelho-alaranjada ou vermelho-violácea, tubo externamente piloso na porção inferior. Pappus ausente.

B. Descrição microscópica

Em material diafanizado, em vista frontal, a epiderme da corola ligulada mostra cutícula estriada sobre células retangulares e alongadas de contorno levemente sinuoso, ausência de estômatos na face superior (adaxial) e presença de escassos estômatos anomocíticos na face inferior (abaxial). Na região basal da face inferior (abaxial) ocorrem tricomas tectores longos, multicelulares, bisseriados, cônicos, de ápice arredondado e tricomas glandulares multicelulares, de pedicelo unisseriado, com 3 a 5 células, ou bisseriado, com 3 ou 4 células em cada fileira, ambos com cabeça ovalada, multicelular, geralmente bisseriada. No parênquima, por transparência, são visíveis prismas e pequenos aglomerados de cristais e numerosas gotas de óleo de coloração amarelo-alaranjada a amarelo-clara. O parênquima da lígula é atravessado longitudinalmente por 4 ou 5 feixes vasculares, com elementos de vaso apresentando espessamentos anelados e helicoidais. Junto às células parenquimáticas das corolas tubulosas são encontrados 5 feixes vasculares bifurcados abaixo da zona de soldadura das pétalas. No ovário ocorrem tricomas glandulares iguais aos das corolas liguladas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. Examinar ao microscópio, utilizando solução de hidrato de cloral R. São características: coloração pardo-amarelada; fragmentos de corolas contendo gotas de óleo de coloração amarelo-clara, alguns com estômatos anomocíticos grandes, outros com prismas e drusas de oxalato de cálcio; tricomas glandulares com pedicelo unisseriado ou bisseriado (pluricelulares); grãos de pólen esféricos, de 40-45 µm de diâmetro, com exina fortemente equinada e com três poros germinativos; ocasionalmente podem ocorrer fragmentos dos estigmas com papilas curtas e bulbosas.

D. 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, ácido fórmico anidro e água(80:10:10).

Solução amostra: ferver, sob refluxo, 1 g da droga pulverizada com 10 mL de metanol durante 10 minutos e filtrar.

Solução referência: dissolver 2,5 mg de rutina, 1 mg de ácido cafeico e 1 mg de ácido clorogênico em metanol, completar o volume para 10 mL utilizando o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça, deixar secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C e, ainda morna, nebulizar com uma solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em metanol, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol. Deixar a placa secar ao ar livre por 30 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de fluorescência azul	Zona de fluorescência azul intenso
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul-claro	Zona de fluorescência azul claro
Rutina: zona de fluorescência marron-amarelada	Zona de fluorescência marron-amarelada Zona de fluorescência azul claro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%.

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

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

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g de droga pulverizada (800 µm), e transferir para balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 1 mL de solução aquosa de metenamina a 0,5% (p/v), 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar a mistura em algodão para um balão volumétrico de 100 mL, retornar o resíduo da droga e o algodão ao mesmo balão de fundo redondo, adicionar 20 mL de acetona. Colocar em refluxo, por 10 minutos. Após resfriamento até temperatura ambiente, filtrar a solução para o balão volumétrico de 100 mL. Repetir a operação. Em seguida, completar o volume do balão volumétrico com acetona e homogeneizar. Em funil de separação, adicionar 20 mL dessa solução e 20 mL de água e, a seguir, extrair com 15 mL de acetato de etila. Repetir três vezes a extração, com porções de 10 mL de acetato de etila cada vez. Reunir as fases de acetato de etila e lavá-las em funil de separação, com duas porções de 50 mL de água. Transferir a fase de acetato de etila para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com acetato de etila e homogeneizar.

Solução amostra: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 1 mL de solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em solução de ácido acético glacial a 5% (v/v) em metanol. Diluir em balão volumétrico de 25 mL com solução de ácido acético glacial a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de ácido acético glacial a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* a 425 nm, em cubeta de 1 cm, após exatamente 30 minutos, utilizando *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TFT} = \frac{A \times 1,25}{(m - \text{PD})}$$

em que,

TFT = teor de flavonoides totais expresso em hiperosídeo % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra; e

PD = perda por dessecação % (p/p).

Alternativamente, realizar os cálculos considerando $A(1\%, 1\text{cm}) = 500$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

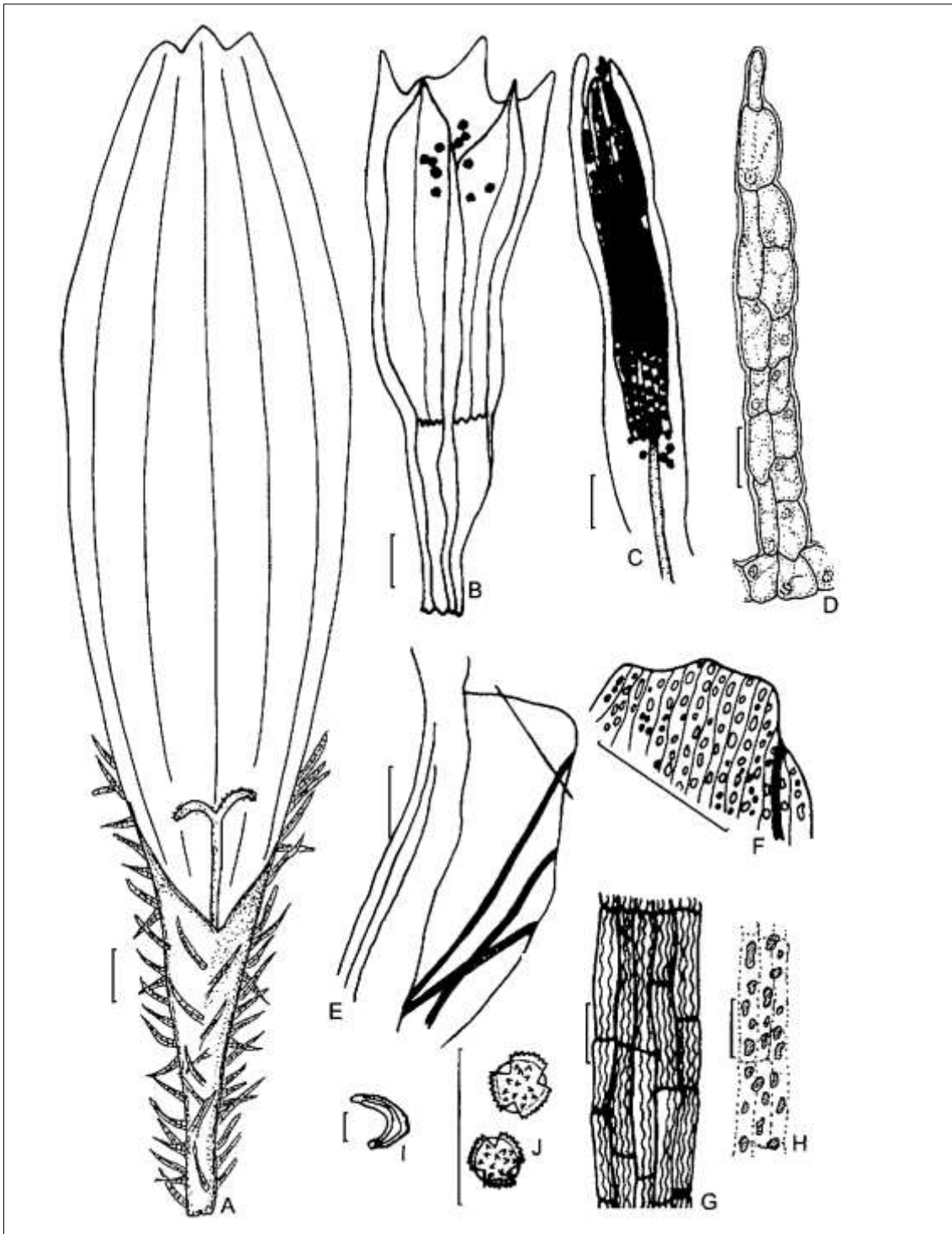


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Calendula officinalis* L.

As escalas correspondem em A a 1 mm; em B e C a 0,5 mm; em D a H a 100 μ m e em I a 1 mm.

A - flor pistilada ligulada. **B** - flor tubulosa do disco. **C** - anteras da flor tubulosa, com grãos de pólen. **D** - tricoma multicelular bisseriado do tubo da corola da flor ligulada. **E** - fragmento da lígula. **F** - detalhe da extremidade do fragmento da lígula como mostrado em E, com gotas de óleo no parênquima. **G** - fragmento de epiderme da lígula com cutícula estriada. **H** - fragmento de parênquima da lígula contendo gotas de óleo. **I** - aspecto do fruto. **J** - grãos de pólen tricolpados.

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

O pó atende 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 cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar durante 5 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 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

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

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. Utilizar 50 g da droga moída e destilar a velocidade de 3 mL a 4 mL por minuto, durante 4 horas.

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 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 purificado a 80 kPa de pressão como gás de arraste (1 mL/minuto).

Temperatura:

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

Solução amostra: diluir o óleo volátil 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 *trans*-cinamaldeído e o *cis*-cinamaldeído apresentam tempos de retenção linear (Índice de Retenção Relativo) de 1270 e 1219, respectivamente. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica. Calcular o Índice de Retenção Relativo (IRR), segundo a expressão:

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

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativo;

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

tr_x = tempo de retenção do composto “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano com “n” carbonos; e

tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n + 1” carbonos.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

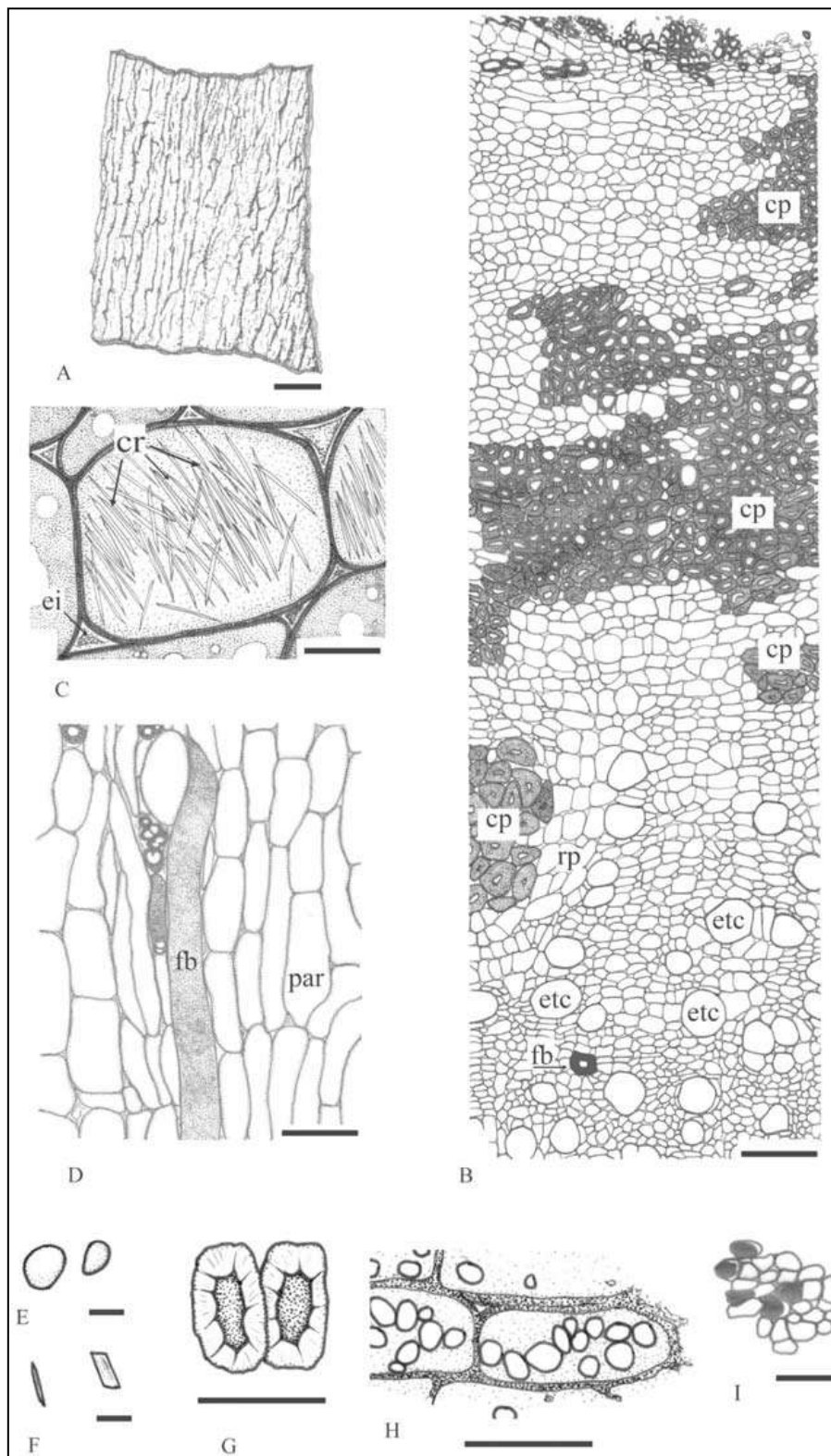


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Cinnamomum cassia* (L.) J.Presl

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** – células parenquimáticas com inclusão lipídica.

CANELA-DO-CEILÃO, casca *Cinnamomi zeylanici cortex*

A droga vegetal consiste de cascas secas de *Cinnamomum verum* J.Presl (syn. *Cinnamomum zeylanicum* Blume), isentas da periderme e do parênquima cortical externo, provenientes do caule principal e de ramificações desse, contendo, no mínimo, 1,2% de óleo volátil contendo, no mínimo, 60,0% de *trans*-cinamaldeído.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta aroma característico de aldeído cinâmico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Porções de cascas apresentam-se enroladas para dentro nas duas margens, formando tubos, com em média 30 cm de comprimento e 0,2 a 0,4 mm de espessura. Externamente a superfície é lisa ou com estrias longitudinais levemente mais escuras, podendo ou não ser paralelas e com ondulações que podem ser regulares. A coloração externa é castanho-pardacenta, enquanto a interna é castanho-escura a quase vinácea.

B. Descrição microscópica

A porção de casca é restrita ao floema e tecidos adjacentes. A região externa, em secção transversal, possui células pétreas que ocorrem em grupos numerosos em faixas descontínuas no parênquima. Nas células parenquimáticas ocorrem, simultaneamente, cristais de oxalato de cálcio, prismáticos, aciculares pequenos, de ápices agudos ou truncados, romboédricos, além de idioblastos oleíferos e fenólicos. Idioblastos mucilaginosos e oleíferos ocorrem junto ao floema. Os raios parenquimáticos do floema possuem uma a duas células de largura e seis a 14 células de altura e apresentam cristais aciculares em grande quantidade.. Grãos de amido simples ocorrem em todos os tecidos. Longitudinalmente, são observadas fibras libriformes, esparsas e usualmente isoladas. Esclereídes colunares ramificados podem ser observados.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha; abundantes grãos de amido, isolados e/ou agrupados; células parenquimáticas isodiamétricas, contendo abundantes grãos de amido, assim como gotas lipídicas; grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio de forma prismática, romboédrica e/ou acicular, de ápices truncados ou agudos; numerosas fibras de 600 µm de comprimento, em média, e 35 µm de largura, em média, com paredes espessadas, lúmen estreito, isoladas ou associadas a fragmentos de parênquima; esclereídes colunares ramificados e abundantes células pétreas, isoladas e/ou agrupadas, dissociadas ou no interior de fragmentos de tecido parenquimático.

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 securo em banho-maria. Dissolver o resíduo com 0,4 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 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 5 minutos. Visualizar sob luz ultravioleta as zonas de extinção de fluorescência a 254 nm e zona de fluorescência a 365 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e colocar em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas ocasionalmente estar presentes.

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

TESTES

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

Cinzas totais (5.4.1.5.1). 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 um balão de 1000 mL, contendo 500 mL de água como líquido de destilação. Reduzir a amostra a pó grosseiro e proceder, imediatamente, à determinação do óleo volátil a partir de 50 g da droga em pó (710 µm). Destilar durante 4 horas.

trans-cinamaldeído

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo a gás 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 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 (1,0 mL/minuto).

Temperatura:

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

Solução amostra: diluir o óleo volátil 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 aldeído cinâmico apresenta tempo de retenção linear relativo de 1266 (Z) e 1214 (E). Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica. Calcular o Índice de retenção relativo (IRR), segundo a expressão:

$$\text{IRR} = 100 \times n + \frac{100 \times (\text{tr}_x - \text{tr}_z)}{(\text{tr}_{z+1} - \text{tr}_z)}$$

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativo;

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

tr_x = tempo de retenção do composto “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano com “n” carbonos; e

tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n + 1” carbonos.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

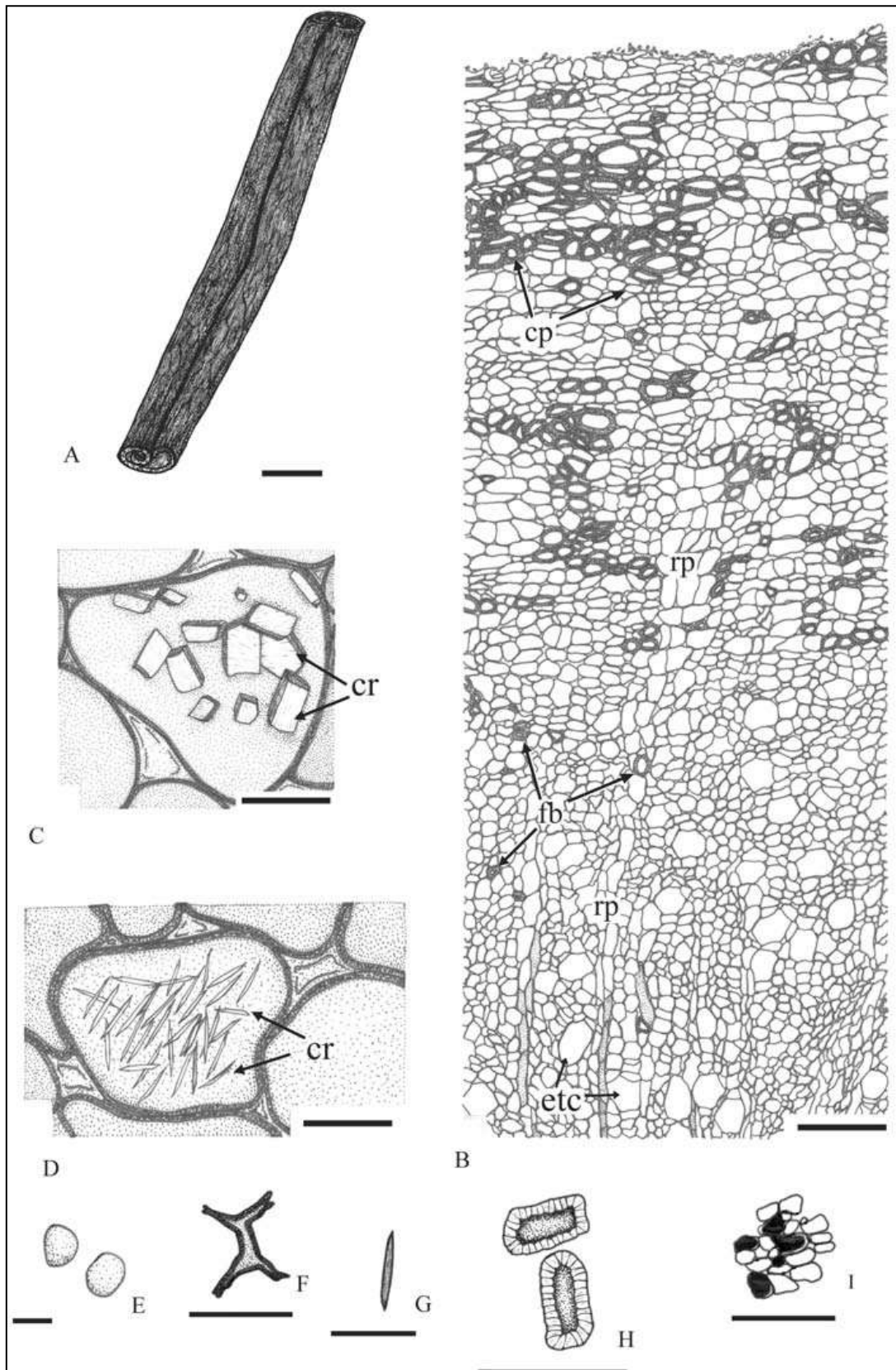


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Cinnamomum verum* J.Presl

As escalas correspondem em **A** a 15 mm; em **B** a 80 μm ; em **C** e **D** a 10 μm ; em **E** a 12,5 μm ; em **F** e **I** a 37,5 μm ; em **G** a 17,5 μm ; em **H** a 125,0 μm .

A – aspecto geral de porção da casca; **B** – aspecto histológico da casca através de secção transversal: células pétreas; elemento de tubo crivado (etc); fibra (fb); raio parenquimático (rp); **C** – idioblasto contendo cristais prismáticos de oxalato de cálcio: cristal (cr); **D** – idioblasto contendo cristais tipo ráfi de oxalato de cálcio: cristal (cr); **E** – **H** – detalhes do pó; **I** – detalhe de células pétreas.

E – grãos de amido; **F** – esclereíde colunar ramificado; **G** – cristal acicular; **H** – células pétreas; **I** – células parenquimáticas com inclusão lipídica.

CAPIM-LIMÃO, folha *Cymbopogon folium*

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

NOMES POPULARES

Capim-cidrô, 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 que 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 nesta, por dois minutos. A lâmina, para observação, deve ser montada em etanol e os cortes não devem ser passados em água.

D. Descrição microscópica do pó

O pó atende 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 (0,250 mm).

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

Solução amostra (1): agitar cerca de 0,5 g da droga moída 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 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 em 365 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e deixar em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração azul clara
Citral: zona de coloração azul escura	Zona de coloração azul escura
	Zona de coloração azul clara
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 1%.

Água (5.4.1.4). No máximo 11%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 9%.

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. Utilizar planta seca rasurada. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 50 g da droga rasurada. Destilar durante 4 horas.

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	60 → 300
Injetor		220
Detector		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 citral A (*trans*-citral) apresenta tempo de retenção linear (Índice de Kóvats) de 1263 e o citral B (*cis*-citral) de 1233. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica.

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_x = tempo de retenção do composto “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano com “n” carbonos; e

tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n + 1” carbonos.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

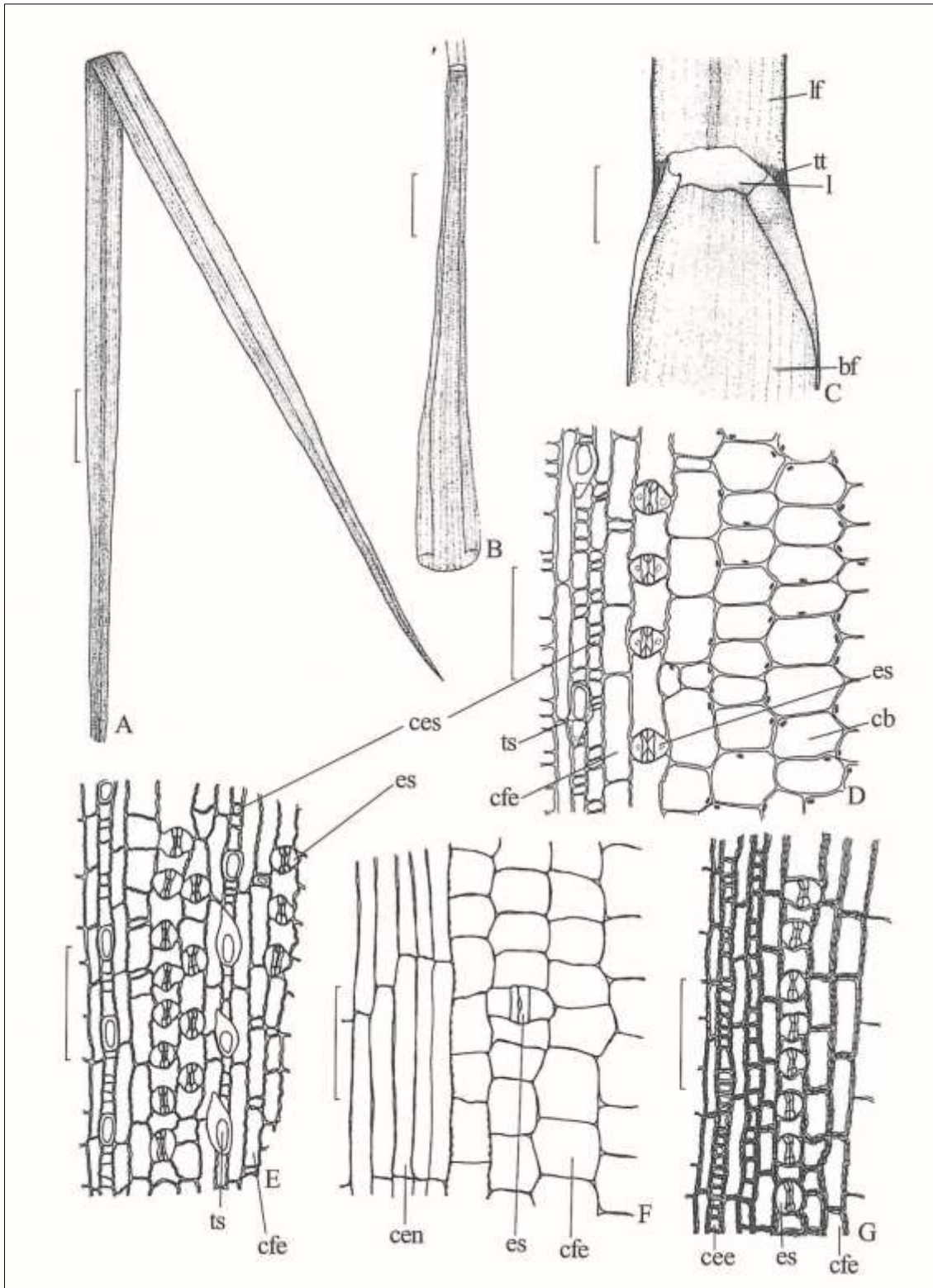


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf

As escalas correspondem em A e B a 3 cm; em C a 0,5 cm; em D até G a 100 μ 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).

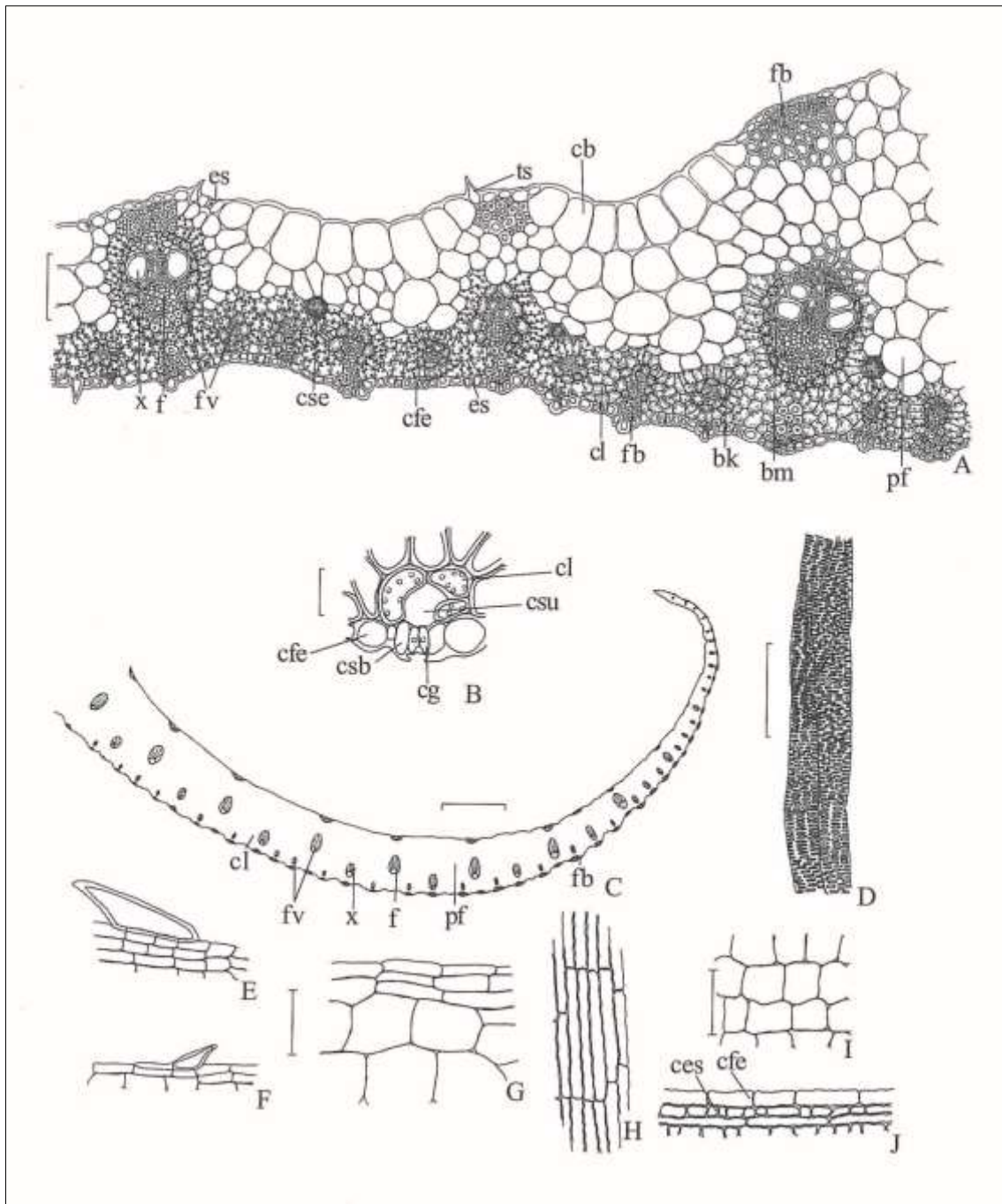


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf

As escalas correspondem em A a 100 μm ; em B a 20 μm ; em C a 1 mm; em D até J a 100 μm .

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).

CARDAMOMO, semente

Cardamomi semen

A droga vegetal consiste de sementes de *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, comercializadas ainda dentro dos frutos. As sementes devem ser utilizadas imediatamente após a quebra dos frutos. Contém, no mínimo, 5% de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

As sementes, quando trituradas, têm forte odor

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica do fruto

Fruto cápsula trilocular deiscente, com 10 a 25 mm de comprimento e 5 a 10 mm de largura, de coloração amarelo-clara, amarelo-esverdeada a amarelo-acinzentada, ovoide ou oblonga em vista lateral, trígona ou arredondada em secção transversal, com porção apical estreitado-tubulosa em cerca de 1 a 2 mm, com ou sem cicatriz dos órgãos florais visível e com cicatriz ou restos de pedicelo na porção basal. Pericarpo delgado, coriáceo. Epicarpo, em vista frontal, com numerosas estrias longitudinais salientes. Em secção transversal, cápsula trilocular, cada lóculo com 2 a 7 sementes de placentação axial, aderidas entre si, formando 3 fileiras duplas, separadas pelas paredes carpelares delgadas, membranosas e pálidas. As sementes são comercializadas dentro do fruto, o qual é coletado imaturo e amadurecido artificialmente, ao sol ou em estufas.

B. Descrição macroscópica da semente

Sementes de placentação parietal, anátropas, duras, ovoides, triangulares ou subcilíndricas, irregularmente angulosas e enrugadas transversalmente, com uma das faces convexa e a outra escavada, com 2 a 4 mm de comprimento e 2 a 3 mm de largura, pretas, cinzento-pardas ou avermelhadas, recobertas por um arilo delgado, tênue e incolor a esbranquiçado. Geralmente as sementes estão aglutinadas em massas, correspondentes às fileiras limitadas pelos carpelos. Com auxílio de lente, em secção transversal, em cada semente são visíveis arilo, tegumento, perisperma, endosperma e embrião.

C. Descrição microscópica da semente

Em vista frontal, o arilo apresenta células retangulares estreitas, alongadas longitudinalmente e irregularmente fusiformes, de paredes delgadas, dispostas em fileiras, com gotas lipídicas. A epiderme possui células alongadas tangencialmente, fusiformes, de paredes anticlinais espessas e pontoadas, dispostas em ângulo oblíquo em relação ao arilo, com gotas lipídicas. Por transparência, o parênquima de reserva é visível, formado por células parenquimáticas volumosas, de diferentes formas, de paredes delgadas e onduladas, ricas em gotas lipídicas. Em secção transversal, o arilo apresenta células achatadas, de paredes finas. A epiderme é formada por células quadrangulares, de paredes espessas e apresenta algumas gotas lipídicas. A hipoderme possui células geralmente retangulares, achatadas tangencialmente, de paredes delgadas, geralmente irregulares quanto ao número de células. O parênquima de reserva possui algumas camadas de células volumosas, de diferentes formas, poligonais a retangulares, de paredes delgadas, contendo gotas lipídicas. Pode ocorrer internamente ao parênquima de reserva uma camada regular ou não, de células

parenquimáticas de menor volume. Segue uma ou mais camadas de células esclerenquimáticas colunares, com as paredes periclinais interna e anticlinais muito espessadas e alaranjadas, com lúmen em forma de cuia e com ou sem cristais de sílica. O perisperma é esbranquiçado e apresenta as primeiras camadas de células parenquimáticas achatadas tangencialmente, de paredes delgadas, repletas de grãos de amido, seguidas por muitas camadas de células de forma irregular, colunares ou poligonais, volumosas, com paredes delgadas e as anticlinais onduladas, contendo grande quantidade de grãos de amido, gotas lipídicas e cristais de oxalato de cálcio. O endosperma possui células parenquimáticas alongadas, de variadas formas, de paredes delgadas, distribuídas em várias camadas paralelas, envolvendo completamente o embrião e apresentando gotas lipídicas e grãos de aleurona. O embrião é ovoide e de coloração escura e suas células são arredondadas a ovoides, de paredes delgadas, apresentando grãos de aleurona e gotas lipídicas.

D. Descrição microscópica do pó da semente

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos, não devendo conter elementos do pericarpo. São característicos, com a adição de hidrato de cloral SR: coloração cinzento-pardacenta; fragmentos do arilo, em vista frontal; fragmentos da epiderme, em vista frontal; fragmentos do arilo com células de parênquima de reserva, visualizadas por transparência, em vista frontal; fragmentos do arilo, da epiderme e do parênquima de reserva, visualizados por transparência, em vista frontal; fragmentos da epiderme e do parênquima de reserva, visualizado por transparência, em vista frontal; fragmentos da epiderme, em secção transversal; fragmentos da hipoderme, em vista frontal; fragmentos do parênquima de reserva, em vista frontal; fragmentos do parênquima de reserva, em secção transversal; fragmentos de esclerênquima em vista frontal; fragmentos da camada esclerenquimática, em secção transversal; fragmentos da camada esclerenquimática e do perisperma em secção transversal; fragmentos do perisperma, em vista frontal ou em secção transversal; fragmentos do endosperma, em secção transversal; células parenquimáticas isoladas; fibras isoladas em vista longitudinal; grãos de amido isolados e/ou agrupados; cristais de oxalato de cálcio isolados.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

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

Solução amostra: a 0,1 g da droga moída, adicionar 2 mL de cloreto de metileno. Agitar por 15 minutos, filtrar e concentrar até secura em banho-maria a, aproximadamente, 60 °C. Suspender em 2 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 10 µg de acetato de terpenila, 10 µg de 1,8-cineol e 10 µL de linalol em 1 mL de tolueno.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa, em seguida, com solução de vanilina sulfúrica SR e deixar em estufa entre 100 °C e 105 °C durante, aproximadamente, 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração violácea Zona de coloração violácea
Acetato de terpenila: zona de coloração azul	Zona de coloração azul
Cineol: zona de coloração azul	Zona de colocação azul
Linalol: zona de coloração azul	Zona de colocação azul
	Zona de colocação violácea Zona de colocação azul Zona de colocação verde
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 4,0%.

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 500 mL contendo 200 mL de água como líquido de destilação. Adicionar 0,5 mL de xileno pela abertura lateral k. Utilizar a semente imediatamente após ser removida do fruto, sem triturar. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga. Destilar durante 5 horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

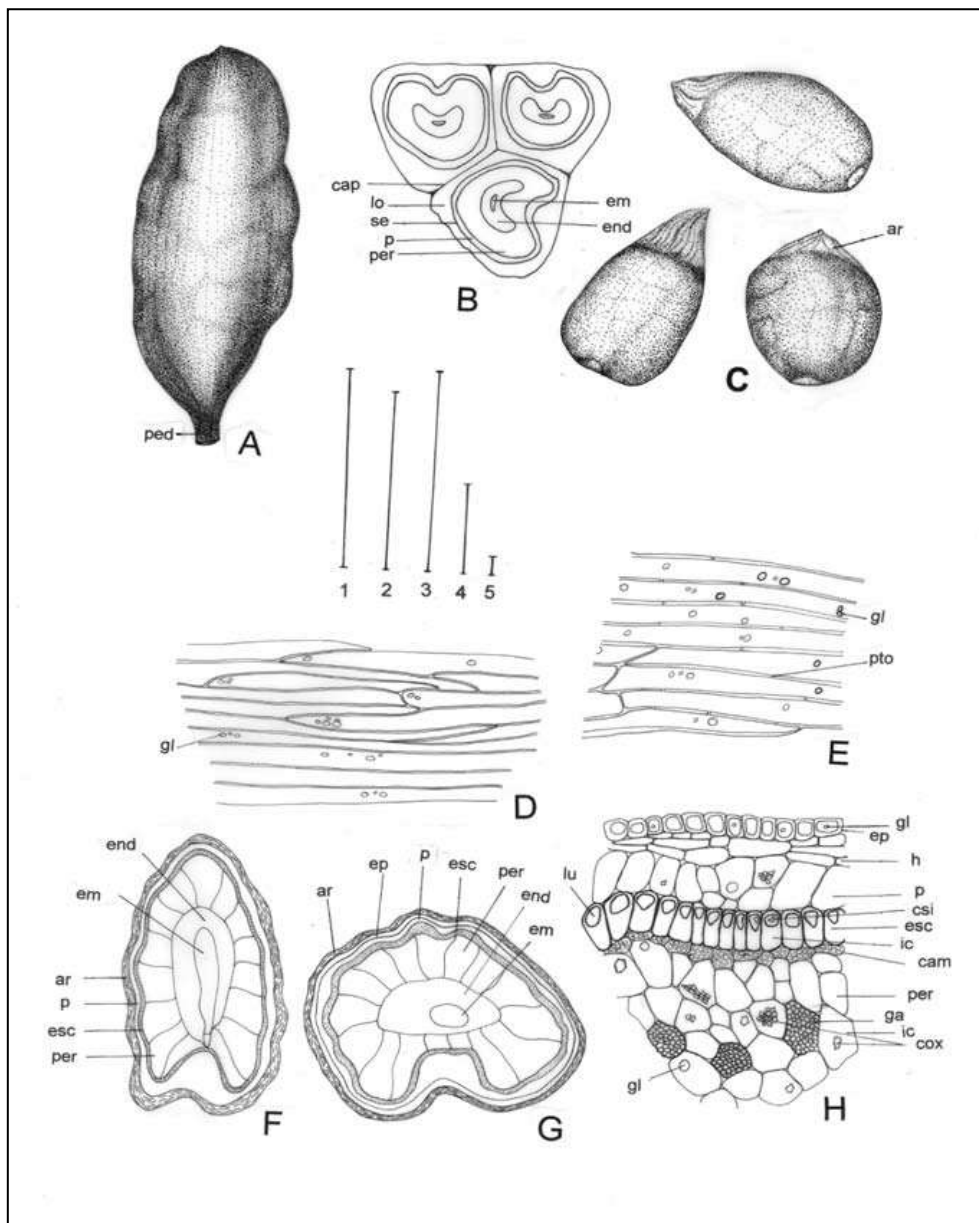


Figura 1 – Aspectos macroscópicos do fruto e da semente e microscópicos da semente em *Elettaria cardamomum* (L.) Maton

As escalas correspondem em **A** a 1cm (régua 1); em **B** a 0,5 cm (régua 2); em **C** a 0,5 cm (régua 3); em **D**, **E** e **H** a 100 μm (régua 4); em **F** e **G** a 100 μm (régua 5).

A – aspecto geral do fruto, em vista lateral: pedicelo (ped). **B** – representação esquemática do fruto, em secção transversal: carpelo (cap); embrião (em); endosperma (end); lóculo (lo); parênquima (p); perisperma (per); semente (se). **C** – aspecto geral de sementes, em vista lateral: arilo (ar). **D** – detalhe de porção do arilo, em vista frontal: gota lipídica (gl). **E** – detalhe de porção da epiderme, em vista frontal: gota lipídica (gl); pontoação (pto). **F** – representação esquemática da semente em secção longitudinal: arilo (ar); embrião (em); endosperma (end); esclerênquima (esc); parênquima (p); perisperma (per). **G** – representação esquemática da semente em secção transversal: arilo (ar); embrião (em); endosperma (end); epiderme (ep); esclerênquima (esc); parênquima (p); perisperma (per). **H** – detalhe parcial de porção da semente, em secção transversal: camada amilífera (cam); cristal de oxalato de cálcio (cox); cristal de sílica (csi); epiderme (ep); esclerênquima (esc); idioblasto cristalífero (ic); grãos de amido (ga); gota lipídica (gl); hipoderme (h); lúmen (lu); parênquima (p); perisperma (per).

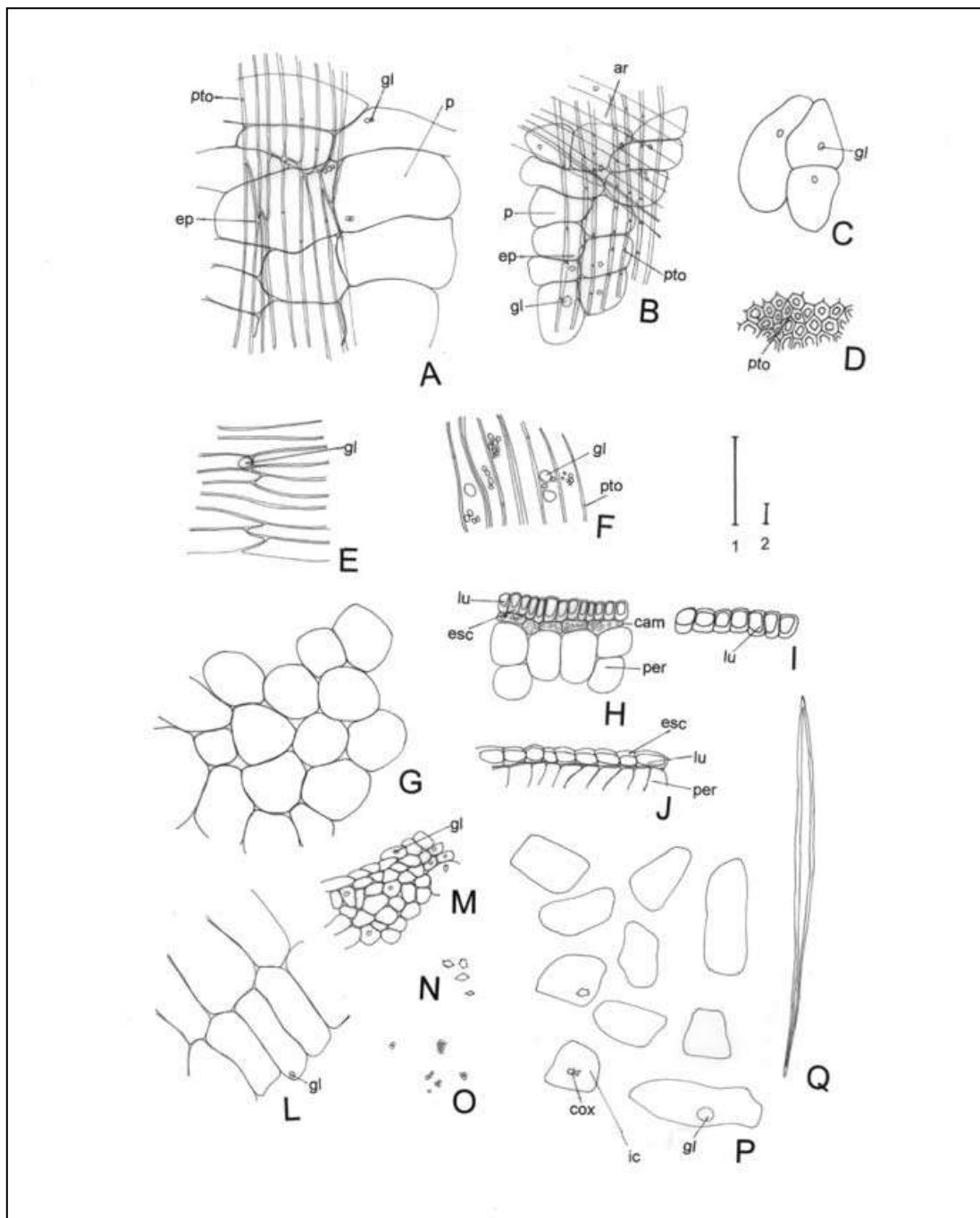


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó da semente em *Elettaria cardamomum* (L.) Maton

As escalas correspondem em **A** até **P** a 100 µm (régua 1); em **Q** a 100 µm (régua 2).

A – fragmento da epiderme e do parênquima de reserva, observado por transparência, em vista frontal: epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima (p); pontoação (pto). **B** – fragmento do arilo, da epiderme e do parênquima, em vista frontal: arilo (ar); epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima (p); pontoação (pto). **C** – fragmento do endosperma, em secção transversal: gota lipídica (gl). **D** – fragmento do esclerênquima, em vista frontal: pontoação (pto). **E** – fragmento do arilo, em vista frontal: gota lipídica (gl). **F** – fragmento da epiderme, em vista frontal: gota lipídica (gl); pontoação (pto). **G** – fragmento do parênquima, em vista frontal. **H** – fragmento da camada esclerenquimática e do perisperma, em secção transversal: camada amilífera (cam); esclerênquima (esc); lúmen (lu); perisperma (per). **I** – fragmento da camada esclerenquimática, em secção transversal: lúmen (lu). **J** – fragmento da camada esclerenquimática com restos do perisperma, em secção transversal: esclerênquima (esc); lúmen (lu); perisperma (per). **L** – fragmento do parênquima, em secção transversal: gota lipídica (gl). **M** – fragmento da hipoderme, em vista frontal: gota lipídica (gl). **N** – cristais de oxalato de cálcio isolados. **O** – grãos de amido isolados e/ou agrupados. **P** – células parenquimáticas e idioblastos cristalíferos isolados: cristal de oxalato de cálcio (cox); gota lipídica (gl); idioblasto cristalífero (ic). **Q** – fibra isolada, em vista longitudinal.

CARQUEJA, caule alado *Baccharis trimerae herbae*

A droga vegetal consiste de caules alados, dessecados e fragmentados de *Baccharis trimera* (Less.) DC., contendo, no mínimo, 1,7% de ácidos cafeicos totais, expressos como ácido clorogênico (C₁₆H₁₈O₉, 354,31).

NOMES POPULARES

Carqueja-amarga.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Ramos cilíndricos, trialados, de até 1 m de comprimento, áfilos ou com raras folhas sésseis e reduzidas nos nós. Alas verdes, membranosas, com 0,5 a 1,5 cm de largura; alas dos ramos floríferos mais estreitas do que as demais. Planta dioica, portanto, quando presentes ramos floridos, estes devem ser somente pistilados ou somente estaminados. Inflorescências, quando presentes, do tipo capítulo, branco-amareladas, numerosas, sésseis, dispostas ao longo dos ramos superiores, formando espigas interrompidas, com receptáculo plano, não paleáceo; flores com papus presente, piloso e branco.

B. Descrição microscópica

O caule apresenta 3 alas divergentes, com costelas pronunciadas entre cada ala. O eixo caulinar, em secção transversal, apresenta epiderme uniestratificada, coberta por cutícula estriada. Ocorrem poucos estômatos e tricomas glandulares, bisseriados formados por 2 células basais e a cabeça com 2 séries de 4 células cada uma. O clorênquima é formado por 3 ou 4 camadas de células interrompidas na região do colênquima. Os canais secretores, de epitélio formado de 3 a 14 células e acompanhados de colênquima angular, situam-se externamente à endoderme. Internamente ao clorênquima há uma camada contínua de endoderme com estrias de Caspary. O sistema vascular é colateral. Os cordões de fibras do floema são formados por até 7 camadas de células. Internamente ao xilema ocorre uma faixa de fibras quase contínua localizada junto ao parênquima medular. A medula é formada por células esféricas ou elípticas, contendo cristais de oxalato de cálcio, prismáticos e piramidais, dispostos principalmente na zona perimedular. Em secção transversal, as alas exibem estrutura isobilateral. A epiderme é uniestratificada e coberta por cutícula estriada. Ocorrem estômatos anomocíticos e anisocíticos, distribuídos em ambas as superfícies. Os tricomas tectores e glandulares ocorrem predominantemente na região dos bordos das alas e na junção destas com o eixo caulinar. Os tricomas tectores ocorrem raramente e são multicelulares e unisseriados com cerca de 6 células que se alargam em direção ao ápice e com célula apical afilada, em forma de T. Os tricomas glandulares são similares aos do eixo caulinar. Feixes vasculares colaterais estão dispostos linearmente no parênquima esponjoso, acompanhados de poucas fibras e rodeados por uma bainha parenquimática. Cada feixe está acompanhado por 1 ou 2 canais secretores com epitélio de 4 a 14 células. O colênquima está restrito a apenas uma camada subepidérmica junto à nervura do bordo da ala; abaixo dele ocorre um grupo de fibras de paredes fortemente espessadas, que envolve 1 a 3 canais secretores de diferentes tamanhos.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos de epiderme com cutícula estriada e estômatos anomocíticos e anisocíticos, além dos tricomas descritos; porções de parênquima medular com cristais de oxalato de cálcio; porções de fibras acompanhadas de canais secretores; fragmentos de colênquima angular. Podem ocorrer, dependendo do grau de fragmentação, porções de ramos trialados com e sem capítulos.

D. Falsificações e adulterantes

Baccharis trimera é comumente adulterada com outras espécies de carquejas, a exemplo de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. e *Baccharis crispa* Spreng. Em *Baccharis articulata* ocorrem duas alas caulinares e um tricoma glandular multicelular e unisseriado, formado por 5 células, sendo a célula apical globosa, enquanto *Baccharis crispa* apresenta três alas caulinares e tricoma tector multicelular, unisseriado, formado por duas células basais, sendo a célula apical alongada e afilada.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (70:30).

Solução amostra: agitar 2 g da amostra com 10 mL de cloreto de metileno durante 10 minutos. Filtrar e desprezar a solução de cloreto de metileno. Extrair o resíduo com 10 mL de metanol sob agitação magnética em temperatura de 40 °C. Filtrar e concentrar até resíduo em evaporador rotatório (40 °C). Suspender o resíduo em 2 mL de metanol.

Solução referência: dissolver 1 mg de quercetina e 1 mg de 3-*O*-metilquercetina em 1 mL de metanol.

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. A seguir, nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em metanol. Examinar sob a luz do dia.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<p>Quercetina: zona de fluorescência laranja</p> <p>3-O-Metil-quercetina: zona de fluorescência laranja</p>	<p>Zona de fluorescência laranja</p> <p>Zona de fluorescência laranja</p>
Solução referência	Solução amostra

TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%.

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

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

Ácidos cafeicos totais

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 325 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 75 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto.

Fase móvel (1): água, acetonitrila e ácido trifluoracético (95:5:0,05).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 – 30	100 → 57	0 → 43	gradiente linear
30 – 35	57 → 0	43 → 100	gradiente linear
35 – 36	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
36 – 42	100	0	Isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da droga seca e moída (250 µm) em béquer de 50 mL. Adicionar 10 mL de mistura de etanol e água (50:50) e levar ao banho-maria (40 °C) durante 10 minutos. Esfriar o extrato à temperatura ambiente. Filtrar o extrato em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Extrair novamente o resíduo da droga retida no algodão com 10 mL de mistura de etanol e água (50:50), levar ao banho-maria (40 °C), durante 10 minutos. Esfriar e filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com mistura de etanol e água (50:50) e homogeneizar. Diluir 0,12 mL da solução resultante em 1 mL de mistura de água, acetonitrila e ácido trifluoracético (95:5:0,05).

Solução estoque: dissolver 5,6 mg de ácido clorogênico em 5 mL de metanol.

Soluções para curva analítica: diluir com mistura de água e acetonitrila (95:5) uma alíquota de 0,2 mL da *Solução estoque* para 0,4 mL, de modo a obter solução a 0,56 mg/mL. Realizar diluições sucessivas da solução anterior, em mistura de água e acetonitrila (95:5), de modo a obter concentrações de 0,28 mg/mL, 0,14 mg/mL, 0,07 mg/mL, 0,035 mg/mL, 0,017 mg/mL e 0,0085 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções para curva analítica* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Os tempos de retenção relativos aproximados em relação ao ácido clorogênico são 1,69 para o ácido 3,4-dicafeoilquínico, 1,76 para o ácido 3,5-dicafeoilquínico, e 1,84 para o ácido 4,5-dicafeoilquínico. Calcular o teor de ácido clorogênico na amostra, em porcentagem (p/p), considerando a determinação de água, a partir da equação da reta obtida com as *Soluções para curva analítica*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

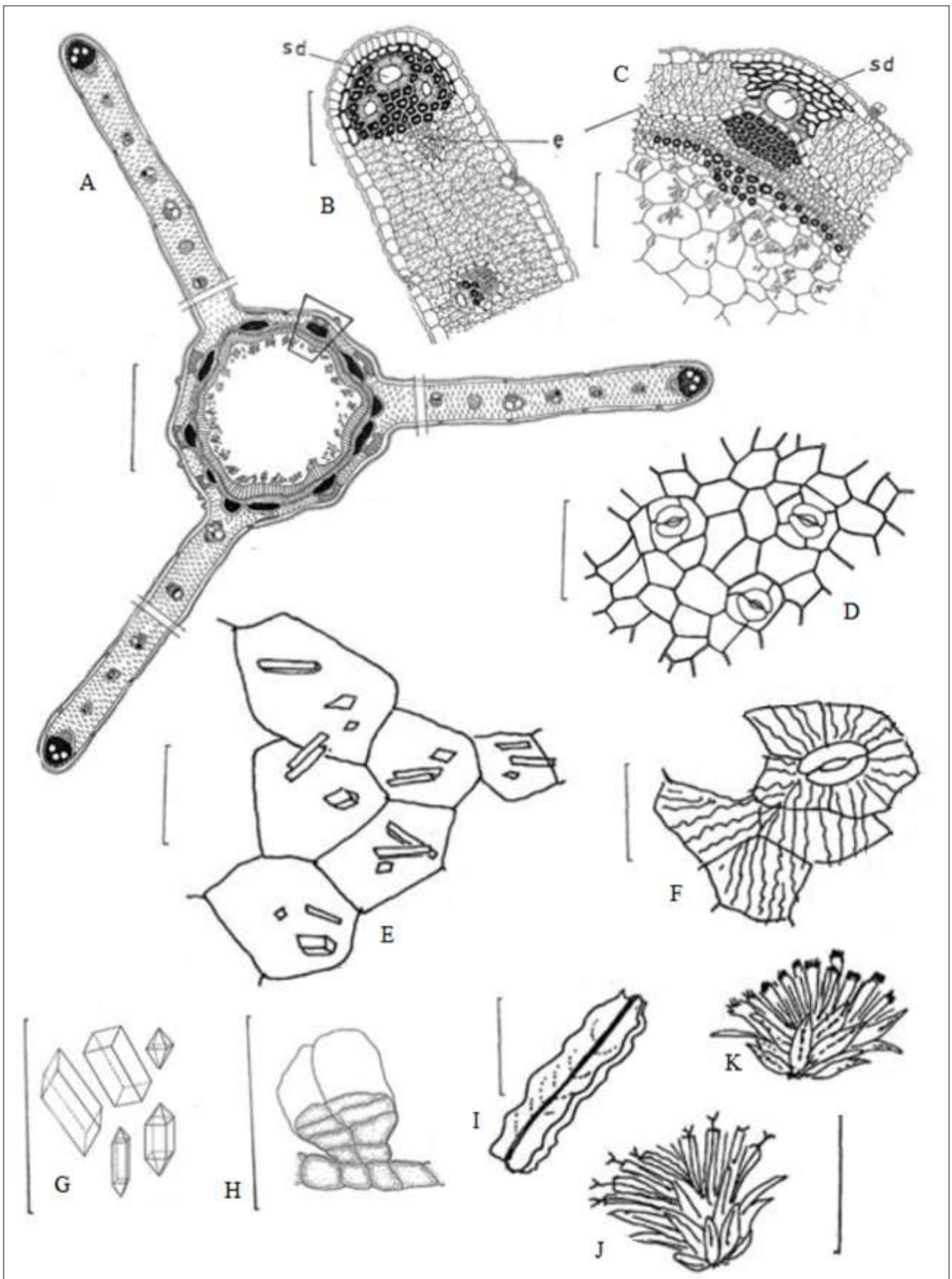


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Baccharis trimera* (Less.) DC.

As escalas correspondem: em A a 500 µm; em B, C, D e E a 100 µm ; em F, G e H a 50 µm; em I a 5 cm; em J e K a 3 mm.

A. esquema representativo do caule com três alas, em secção transversal. B. detalhe da margem da ala; endoderme (e); canal secretor (sd). C. detalhe de uma porção do caule em secção transversal, indicado em A; endoderme (e); canal

secretor (sd). **D.** detalhe da epiderme da ala com estômatos anomocíticos e anisocíticos. **E.** porção de parênquima medular com cristais. **F.** fragmento de epiderme da ala em vista frontal, com cutícula estriada. **G.** cristais de oxalato de cálcio prismáticos e piramidais. **H.** tricoma glandular. **I.** fragmento de caule alado. **J.** capítulo com flores pistiladas. **K.** capítulo com flores estaminadas.

CASTANHA-DA-ÍNDIA, semente *Hippocastani semen*

A droga vegetal consiste de sementes maduras e secas de *Aesculus hippocastanum* L., contendo, no mínimo, 3,0% de glicosídeos triterpênicos, calculados como escina anidra.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As sementes são duras, irregularmente ovoides ou subesféricas, de 2,5 a 4,0 cm de diâmetro, achatadas em ambos os pólos ou somente no do hilo, ou ainda achatadas de forma irregular pela dessecação. A semente fraturada apresenta um tegumento com 1,0 a 2,0 mm de espessura, liso, coriáceo, quebradiço, de coloração castanho-avermelhada ou castanho-clara, geralmente lustroso, raro opaco e com grande mancha clara correspondente ao hilo em um dos pólos. O embrião possui uma pequena radícula e dois grandes cotilédones córneos e amiláceos, de coloração castanho-clara externamente e quase branca na fratura.

B. Descrição microscópica

O tegumento da semente apresenta externamente uma cutícula espessa e lisa e uma epiderme uniestratificada de coloração castanho-amarelada, com células de paredes espessas, poligonais em vista frontal e colunares e compactas, orientadas radialmente, formando uma paliçada, em secção transversal. Abaixo se observam até quatro zonas distintas: a primeira, mais externa, é formada por algumas camadas de células colenquimáticas de coloração amarelo-acastanhada; a segunda é formada por dez ou mais camadas de células esclerenquimáticas, achatadas tangencialmente e de coloração castanho-amarelada; a terceira é formada por quatro a dez camadas de células parenquimáticas, incolores, de forma mais poliédrica e de paredes mais delgadas do que as das regiões anteriores, apresentando espaços intercelulares; a quarta região, que pode estar ausente, é formada por algumas camadas de células achatadas tangencialmente e de paredes espessadas. Delicados feixes vasculares ocorrem neste parênquima; os elementos de vaso são estreitos e têm espessamento de parede helicoidal. Os grãos de amido são simples, esféricos, ovalados ou piriformes, medindo de 2 µm a 80 µm de diâmetro. Os grãos menores têm hilo geralmente em forma de ponto; os outros, maiores e mais numerosos, apresentam hilo em forma de cruz, ramificado ou estrelado. Ocorrem poucos grãos compostos de 2 a 4 unidades.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos da testa irregulares, amarelo-dourados, com células de contornos irregulares, fortemente interligadas, cujos limites não são reconhecíveis, com prolongamentos da parede celular parecendo tubiformes, de lume estreito, semelhante ao de fibras em secção transversal; fragmentos da testa mostrando células de paredes espessadas; fragmentos da epiderme da testa, em

vista frontal, com paredes periclinais uniformemente espessadas, e, quando em secção transversal, com paredes radiais e periclinial externa fortemente espessadas, lembrando uma paliçada estreita, com células castanho-avermelhadas; fragmentos de parênquima de reserva, com células achatadas a elípticas, contendo grãos de amido e gotas lipídicas; fragmentos de parênquima de reserva com porções de feixes vasculares; abundantes grãos de amido, isolados ou agrupados, de diferentes tamanhos e formas, conforme descrito. Quando submetido ao hidrato de cloral frio, o amido incha imediatamente. Nos fragmentos de tecidos cotiledonares, submetidos a longo cozimento, o amido não perde o caráter pegajoso característico. Nestes tecidos, gotas lipídicas incolores são observadas tanto no interior das células quanto espalhadas ao redor dos fragmentos.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: camada superior da mistura de 1- butanol, água e ácido acético glacial(50:40:10).

Solução amostra: aquecer 1 g da droga pulverizada com 10 mL de etanol a 70% (v/v), sob refluxo, por 15 minutos. Esfriar e filtrar.

Solução referência: dissolver 10 mg de escina em 1 mL de etanol a 70% (v/v).

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C durante 5 a 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração rosa
	Zona de coloração amarela
Escina: zona de colocação violeta-azulada	Zona de colocação violeta-azulada
	Zona de coloração cinza-acastanhada
	Zona de coloração castanha
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Água (5.4.1.4). No máximo 10%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 4%.

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Escina

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: transferir 1 g de droga pulverizada para balão de 250 mL, e adicionar 100 mL de metanol a 65% (v/v). Pesar o conjunto, com exatidão, e aquecê-lo, sob refluxo, em banho-maria por 30 minutos. Esfriar, completar até o peso inicial com metanol a 65% (v/v). Filtrar. Evaporar 30 mL do filtrado até secar em balão de 100 mL, sob pressão reduzida. Dissolver o resíduo em 20 mL de ácido clorídrico 0,1 M, transferir para funil de separação de 250 mL e lavar o balão com duas porções de 5 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Reunir as fases ácidas. Extrair com mistura de 20 mL de álcool *n*-propílico e 50 mL de clorofórmio, agitar, energicamente, durante 2 minutos. Separar a fase orgânica inferior. Adicionar à fase remanescente no funil, 30 mL de ácido clorídrico 0,1 M, e extrair com mistura de 20 mL de álcool *n*-propílico e 50 mL de clorofórmio. Agitar, energicamente, durante 2 minutos. Separar a fase inferior e reuni-la à fase inferior da extração anterior. Evaporar as soluções reunidas, sob pressão reduzida, até secar. Lavar o resíduo com quatro porções de 10 mL de éter etílico isento de peróxidos. Filtrar a fase etérea. Lavar o filtro com 10 mL de éter etílico isento de peróxidos. Descartar o filtrado. Eliminar o éter etílico remanescente no filtro e no balão. Lavar o filtro e o balão contendo o resíduo, com ácido acético glacial transferindo para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com ácido acético glacial e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 2 mL da *Solução estoque* para tubo de ensaio e adicionar 4 mL de cloreto férrico ácido SR. Homogeneizar.

Solução branco: transferir 2 mL de ácido acético glacial para tubo de ensaio e adicionar 4 mL de cloreto férrico ácido SR. Homogeneizar.

Procedimento: aquecer os tubos de ensaio, em banho-maria, a 60 °C durante 25 minutos. Resfriar à temperatura ambiente e medir a absorvância em 540 nm utilizando o branco para ajuste do zero. Calcular teor de escina, considerando $A(1\%, 1 \text{ cm}) = 60$, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TE = \frac{8,333 \times A}{m}$$

em que,

TE = teor de escina %;

A = absorvância medida; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

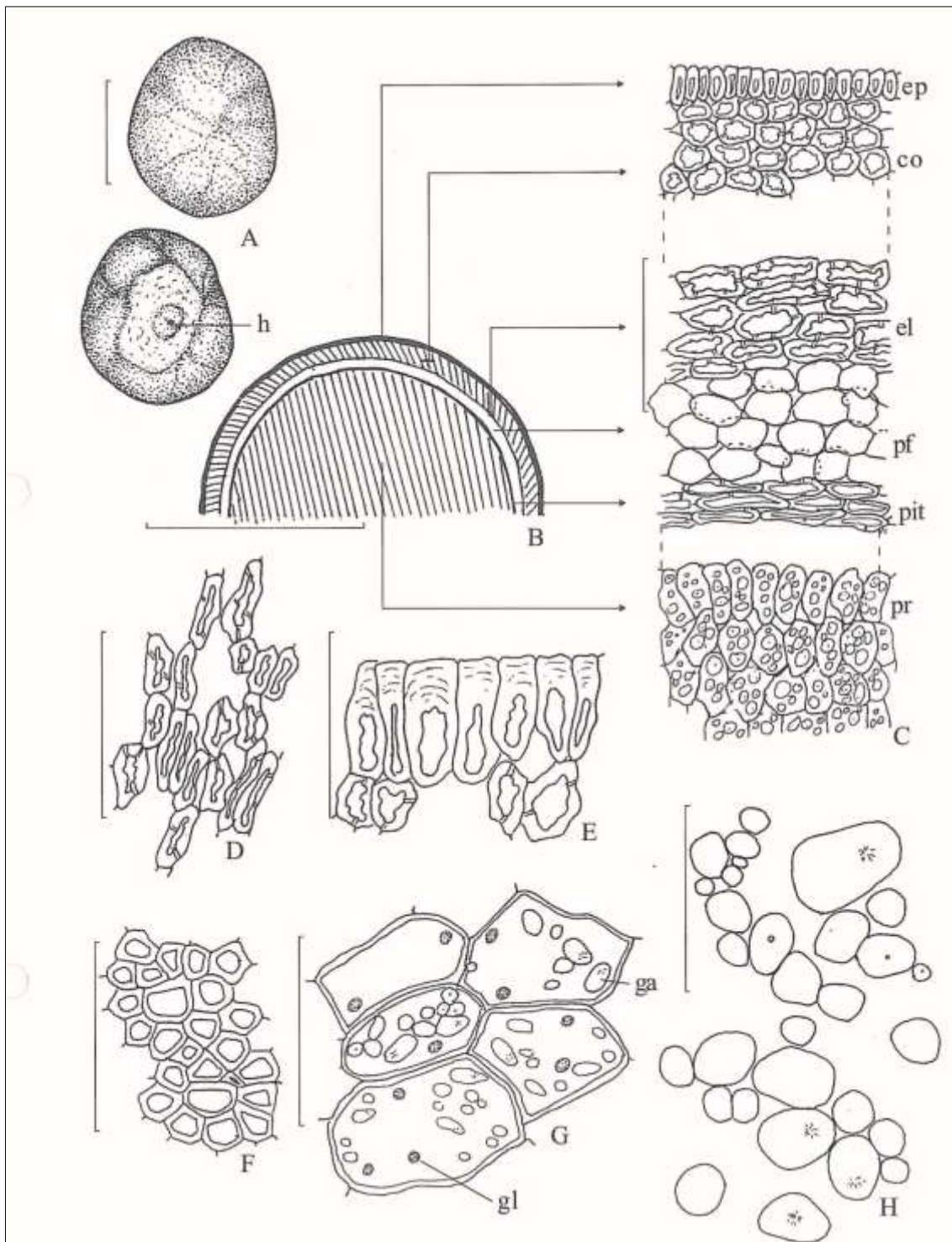


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Aesculus hippocastanum* L.

As escalas correspondem em A e B a 0,5 cm, em C a 300 μ m, em D a G a 100 μ m e em H a 50 μ m.

A. representações esquemáticas da semente, em vista abaxial e em vista adaxial, mostrando a região do hilo; hilo (h). **B.** representação esquemática da semente, em secção transversal. **C.** detalhes da semente, em secção transversal, conforme mostrado em **B**; colênquima (co); esclerênquima (el); epiderme (ep); parênquima fundamental (pf); parênquima interno da testa, com paredes celulares espessadas (pit); parênquima de reserva do cotilédone (pr). **D.** detalhe da epiderme do tegumento da semente em vista frontal. **E.** detalhe da epiderme da testa, em secção transversal. **F.** células esclerenquimáticas, em secção transversal. **G.** células do parênquima de reserva cotiledonar; grão de amido (ga); gota lipídica (gl). **H.** grãos de amido.

CENTELA, folha *Centellae folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Centella asiatica* (L.) Urb., contendo, no mínimo, 2,0% de asiaticosídeo, em relação ao material dessecado. (C₄₈H₇₈O₁₉, 959,12)

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As lâminas foliares são membranáceas, raramente papiráceas, verde-acinzentadas na face adaxial e verde-pálidas na face abaxial, glabras a tomentosas em ambas as faces, cobertas de tricomas hialinos de até 2 mm, pluricelulares, unisseriados, formados por duas a cinco células. A célula inferior é oriunda de uma só célula basal. Lâmina ovalada a orbicular-reniforme, palminérvea, com cinco a nove nervuras, base cordada a truncada, ápice arredondado, obtuso a truncado, margem levemente sinuada a crenado-dentada, medindo 1,5 a 7 cm de comprimento e 1 a 6 cm de largura. A venação é pouco densa, actinódroma. As nervuras de primeira ordem são, longitudinalmente, retilíneas. As nervuras de segunda ordem apresentam ângulo de divergência moderada. As ramificações das nervuras secundárias e terciárias terminam no epitema dos hidatódios. As aréolas são pentagonais ou poligonais, com vênula simples, curvada ou ramificada só uma vez e disposta ao acaso. Pecíolo de até 15 cm de comprimento, alargado na porção basal e canaliculado na face adaxial, viloso-tomentoso, castanho-esverdeado a castanho-avermelhado.

B. Descrição microscópica

Em vista frontal, as epidermes mostram células poligonais de paredes retas a curvas, estômatos projetados, paracíticos, raros anisocíticos, cutícula estriada, tricomas simples, unisseriados, retorcidos, formados por duas a cinco células, geralmente três, escassos na face adaxial. Hidatódios ocorrem na margem foliar. Em secção transversal, as epidermes mostram células retangulares achatadas, alternadas com células quadrangulares papilosas; a projeção dos estômatos é mais evidente e a cutícula é fina. O mesofilo é dorsiventral, com uma a três camadas de parênquima paliçádico frouxo e parênquima esponjoso ocupando mais da metade do mesofilo, formado por células oblongas no sentido horizontal; nestes parênquimas ocorrem drusas de oxalato de cálcio. Na nervura mediana, observam-se, cerca de dois canais secretores, dispostos na região do parênquima fundamental, um voltado para a face adaxial e outro para a abaxial, próximos ao sistema vascular; o colênquima é lacunar e formado por uma a três camadas mais evidentes na face adaxial. O sistema vascular é colateral, em arco aberto. O pecíolo é fistuloso e, em secção transversal, mostra contorno circular, com duas arestas opostas na face adaxial, separadas por uma pequena região levemente côncava. A epiderme é formada por células quadrangulares, algo papilosas, com estômatos paracíticos e tricomas simples, iguais aos da lâmina foliar; a cutícula é fina e estriada. O colênquima é angular, contínuo, seguido de um clorênquima, contendo sete feixes vasculares colaterais, dispostos em círculo, separados por largas faixas de parênquima fundamental. O floema pode apresentar células amilíferas, sendo sempre acompanhado de uma calota de fibras. Canais secretores ocorrem internamente ao colênquima, outros aproximadamente equidistantes dos feixes vasculares e da epiderme, dois opostos entre si, em um mesmo feixe vascular. No parênquima fundamental encontram-se drusas de oxalato de cálcio.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos de epiderme com tricomas unisseriados ou porções deles; fragmentos de parênquima com drusas de oxalato de cálcio; drusas de oxalato de cálcio isoladas; fragmentos de epiderme com cutícula estriada; fragmentos de epiderme com estômatos paracíticos e cutícula estriada; raros fragmentos de células epidérmicas com estômatos anisocíticos; fragmentos com aréolas e mais raro com hidatódios; fragmentos de lâmina, em secção transversal, mostrando estômatos projetados; fragmentos de parênquima frouxo; fragmentos com canal secretor; fragmentos de parênquima do pecíolo com porções de colênquima.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: clorofórmio, ácido acético glacial, metanol e água (60:32:12:8).

Solução amostra: ferver 3 g da amostra (355 µm) em 30 mL de mistura de etanol e água (1:1). Filtrar e concentrar até *secura*. Retomar em 0,5 mL de metanol.

Solução referência: dissolver 1 mg de asiaticosídeo em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e secar em capela por 5 minutos. Nebulizar com anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C a 105 °C durante 10 minutos. A seguir, Nebulizar novamente com anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C a 105 °C por 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Asiaticosídeo: zona de coloração acastanhada	Zona de coloração violeta
	Zona de coloração acastanhada
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Água (5.4.1.4). No máximo 12%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 11%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2%.

Índice de espuma (5.4.1.8). Determinar em 1 g da droga pulverizada, transferir para tubo de ensaio e ferver por 2 minutos. Utilizar 100 mL de água destilada. No máximo 100.

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

Asiaticosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 200 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 µm a 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Fase móvel (1): acetonitrila.

Fase móvel (2): ácido fosfórico a 0,5% (v/v).

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir:

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> (%)	<i>Fase móvel (2)</i> (%)	<i>Sistema de eluição</i>
0 – 40	25 → 50	75 → 50	gradiente linear

Solução amostra: extrair 5 g da droga seca em pó com 150 mL de metanol em aparelho de Soxhlet durante 4 horas. Evaporar o solvente em banho-maria até cerca de 50 mL. Filtrar em funil de vidro sinterizado (G4). Transferir o filtrado para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar.

Solução referência (1): dissolver 30 mg de asiaticosídeo em 5 mL de metanol.

Solução referência (2): diluir a *Solução referência (1)* em metanol de modo a obter solução a 80% (v/v).

Solução referência (3): diluir a *Solução referência (1)* em metanol de modo a obter solução a 60% (v/v).

Solução referência (4): diluir a *Solução referência (1)* em metanol de modo a obter solução a 40% (v/v).

Solução referência (5): diluir a *Solução referência (1)* em metanol de modo a obter solução a 20% (v/v).

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência (1)*; 10 µL da *Solução referência (2)*; 10 µL da *Solução referência (3)*; 10 µL da *Solução referência (4)* e 10 µL da *Solução referência (5)*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção correspondente ao asiaticosídeo é de 30 a 40 minutos. Determinar a equação da curva analítica a partir dos valores obtidos com a *Solução referência (1)*; a *Solução referência (2)*; a *Solução referência (3)*; a *Solução referência (4)* e a *Solução referência (5)*. Calcular o teor de asiaticosídeo na amostra, a partir da determinação, por meio da equação da curva analítica, da concentração da *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

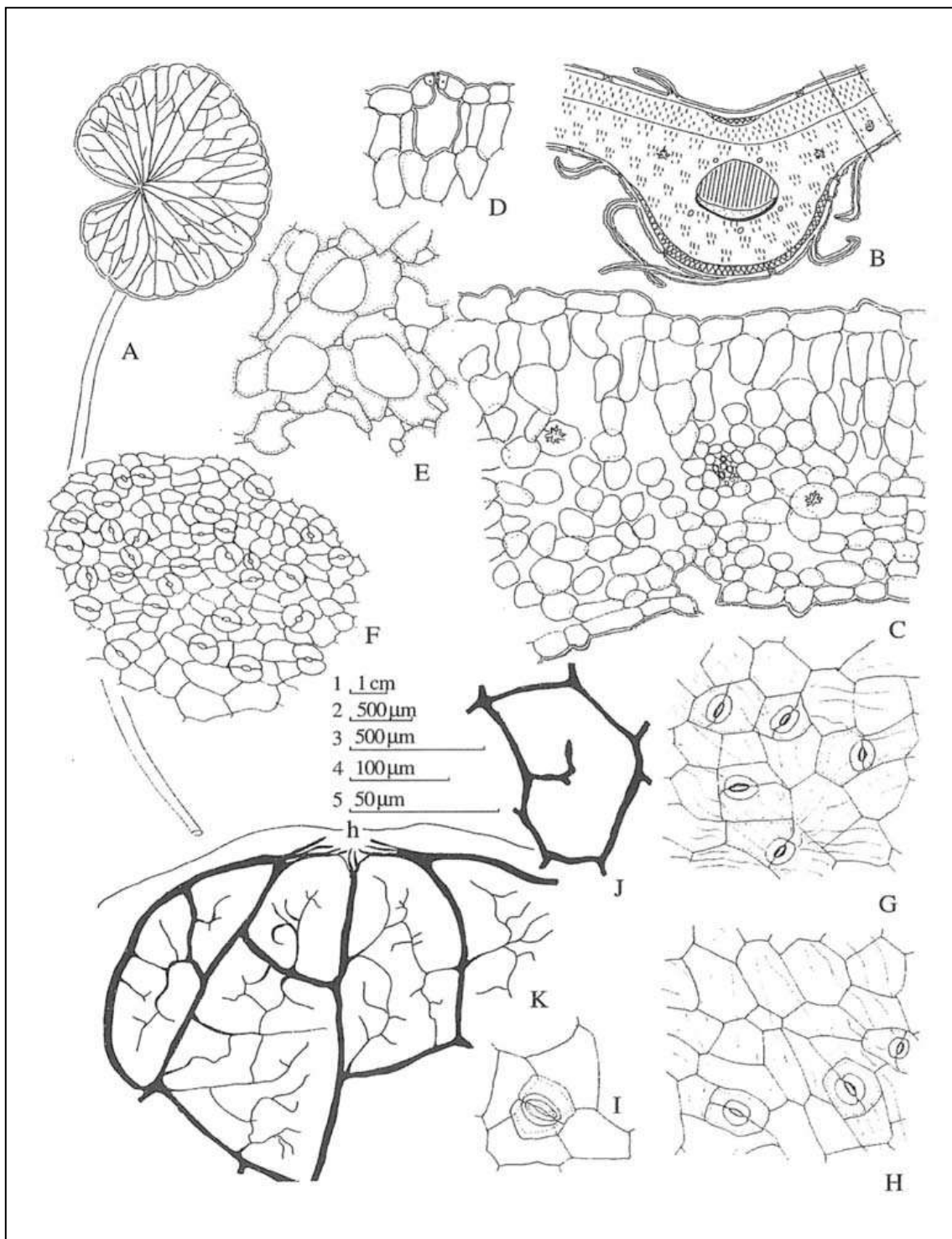


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Centella asiatica* (L.) Urb.

As escalas correspondem em A a 1 cm (régua 1); K a 500 μm (régua 2); B, F e J a 500 μm (régua 3); C, D, E, G e H a 100 μm (régua 4); I a 50 μm (régua 5).

A – aspecto da folha. B – esquema da secção transversal da folha na nervura mediana. C – secção transversal da folha na região do limbo na porção indicada em B. D – detalhe de secção transversal da folha com estômato e câmara subestomática. E – aspecto do parênquima. F – hidatódio na epiderme adaxial. G – epiderme adaxial mostrando cutícula estriada. H – epiderme abaxial mostrando cutícula estriada. I – detalhe de estômato paracítico. J – arquitetura foliar: aréola. K – arquitetura foliar: margem e hidatódio.

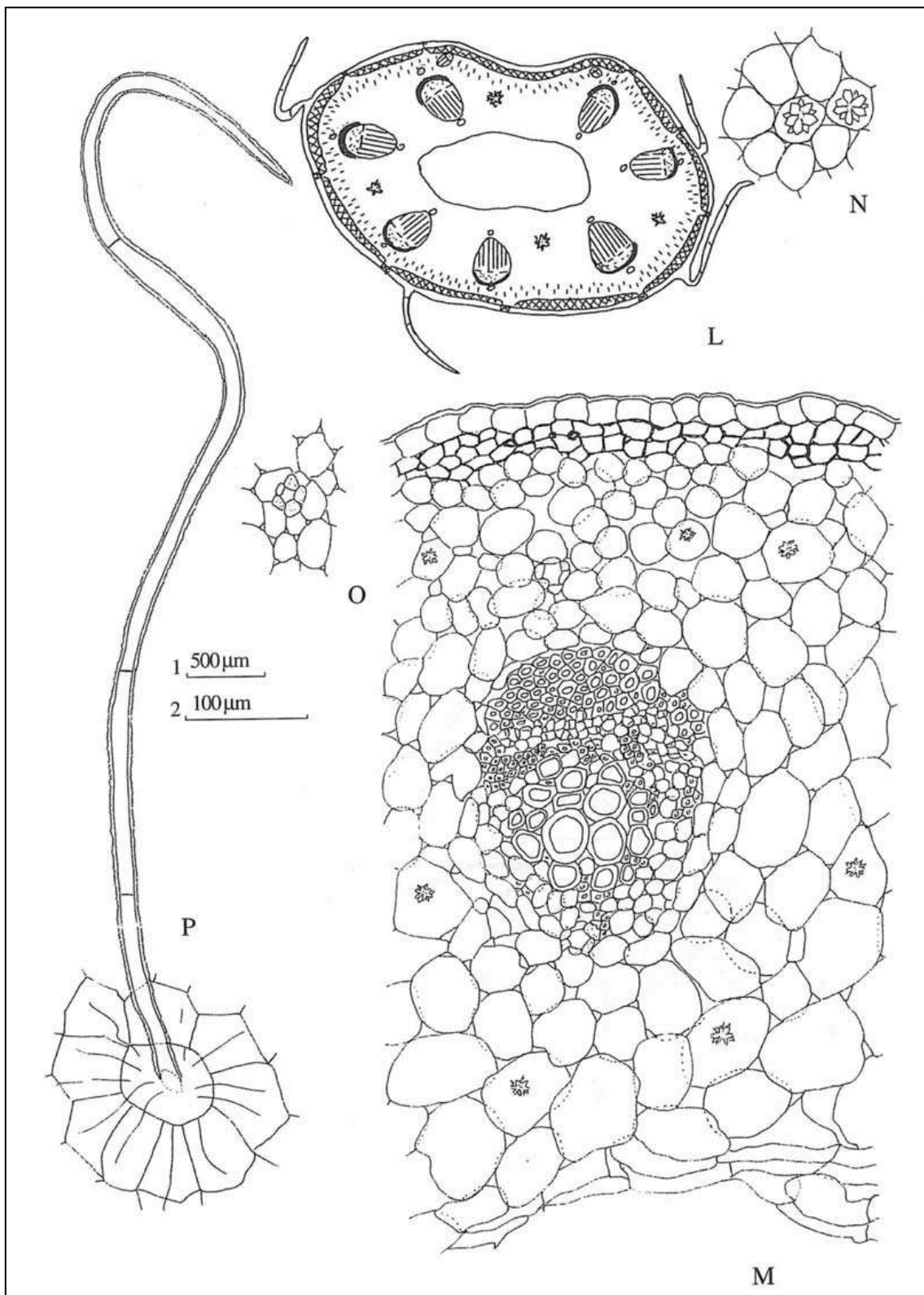


Figura 2 – Aspectos microscópicos e macroscópicos do pó em *Centella asiatica* (L.) Urb.

As escalas correspondem em **L** a 500 μm (régua 1); **M** a **P** a 100 μm (régua 2).

L – esquema do pecíolo em secção transversal. **M** – detalhe de uma porção transversal do pecíolo, mostrando um feixe vascular e diversas células contendo cristais do tipo drusa. **N** – drusas de oxalato de cálcio no interior de porção de células parenquimáticas. **O** – canal secretor. **P** – tricoma simples pluricelular e unisseriado.

CHAPÉU-DE-COURO, folha

Echinodorus folium

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

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

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

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar apresenta simetria dorsiventral e é anfiestomática, com estômatos paralelocíticos. Em vista frontal, as paredes anticlinais das células epidérmicas são retas a sinuosas. Sobre as nervuras ocorrem tricomas tectores pluricelulares estrelados. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada e coberta por cutícula delgada, com papilas pouco evidentes. O mesofilo é formado por uma camada de parênquima paliçádico e várias de parênquima esponjoso com expansões braciiformes. No aerênquima ocorrem trabéculas de células braciiformes com reentrâncias espessadas, permitindo a formação de espaços intercelulares triangulares. Dutos secretores estão distribuídos por todo o aerênquima. Nos feixes vasculares do mesofilo ocorrem calotas polares esclerenquimáticas e externamente uma bainha parenquimática. Na nervura principal ocorrem entre 8 e 11 feixes vasculares, acompanhados de fibras e de bainha parenquimática. O parênquima fundamental é braciiforme. O pecíolo, em vista frontal, apresenta células epidérmicas poliédricas, alongadas longitudinalmente. Em secção transversal, ocorrem feixes vasculares nas duas alas. O aerênquima é similar ao descrito para a nervura principal, entretanto diversas células são repletas de grãos de amido. Os feixes vasculares mais calibrosos (de um a dois) estão dispostos na região central do pecíolo, e são menos calibrosos em direção à periferia, semelhantes ao da nervura principal, mas contando com uma lacuna de protoxilema de grandes dimensões. Os feixes de menor calibre apresentam esclerênquima apenas junto ao polo floemático, enquanto que os de maior calibre mostram um anel contínuo.

C. Descrição microscópica do pó

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

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

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

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

Solução amostra: turbolisar cerca de 10 g da droga vegetal moída pesada, com exatidão, em 100 mL de etanol a 70% (v/v) durante 15 minutos, com intervalos de 5 minutos, em temperatura não superior a 40 °C. Filtrar, eliminar o etanol em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 25 mL de acetato de etila em funil de separação (125 mL). Deixar em repouso em freezer (-18 °C) por 15 minutos, para total separação das fases. Reunir as frações orgânicas e lavar com 50 mL de água. Evaporar a fração obtida em evaporador rotatório sob pressão reduzida até resíduo. Retomar o resíduo com 1 mL de metanol.

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

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

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

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de coloração acastanhada	Zona de coloração acastanhada Zona de coloração esverdeada
Isoorientina: zona de coloração amarela Swertia-japonina: zona de coloração amarela	Zona de coloração amarela Zona de coloração amarela
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 9,0%.

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

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

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da droga pulverizada (210 µm) e adicionar 90 mL de etanol a 50% (v/v) em balão de fundo redondo de 250 mL. Levar a refluxo por 30 minutos. Esfriar e filtrar para balão volumétrico de 100 mL. Lavar o balão de fundo redondo e o filtro com 10 mL de etanol a 50% (v/v) para o mesmo balão volumétrico. Completar o volume com etanol 50% (v/v) e homogeneizar.

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

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

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra*, imediatamente após o seu preparo, no comprimento de onda de 525 nm, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Considerar a absorvância específica do verbascosídeo igual a 185. Calcular o teor de derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico, expresso em verbascosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TA = teor de derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico, expresso em verbascosídeo (%);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio, considerando a determinação de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

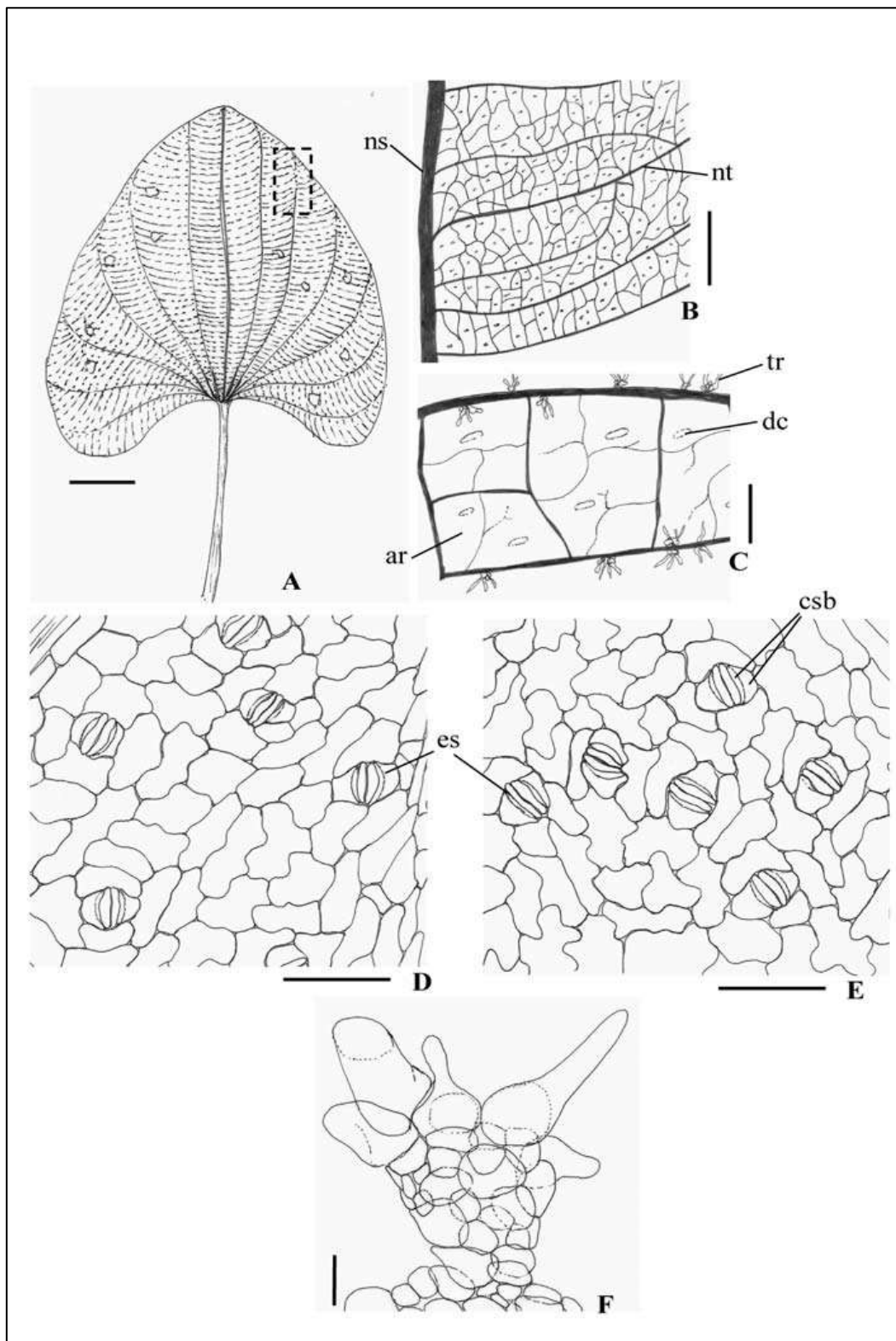


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Echinodoros grandiflorus* (Cham. & Schltdl.) Micheli

As escalas correspondem em **A** a 8 cm, em **B** a 5 mm, em **C** a 1 mm, em **D** e **E** a 100 μ m, em **F** a 50 μ m.

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

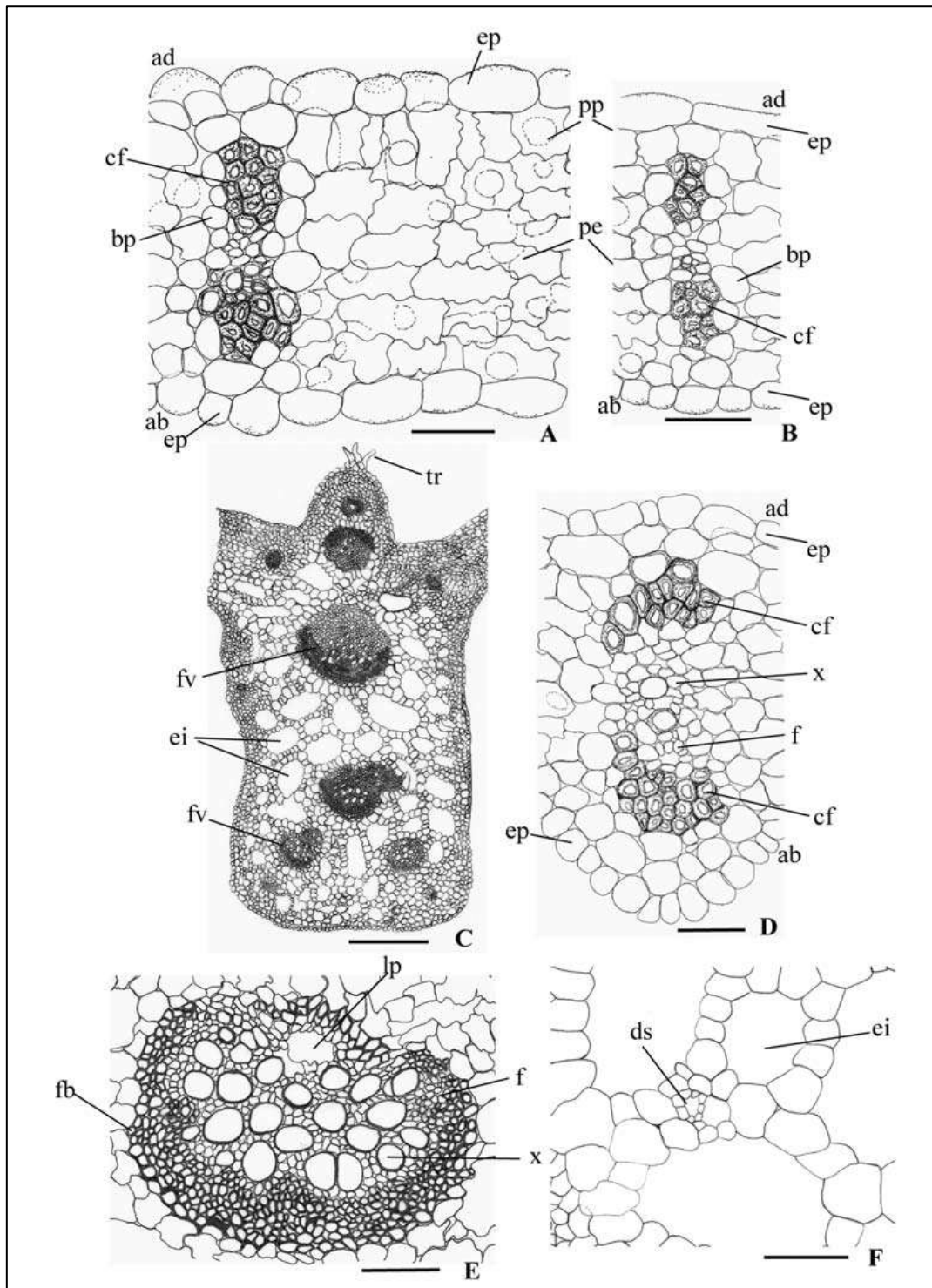


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Echinodorus grandiflorus* (Cham. &Schltdl.) Micheli

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

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

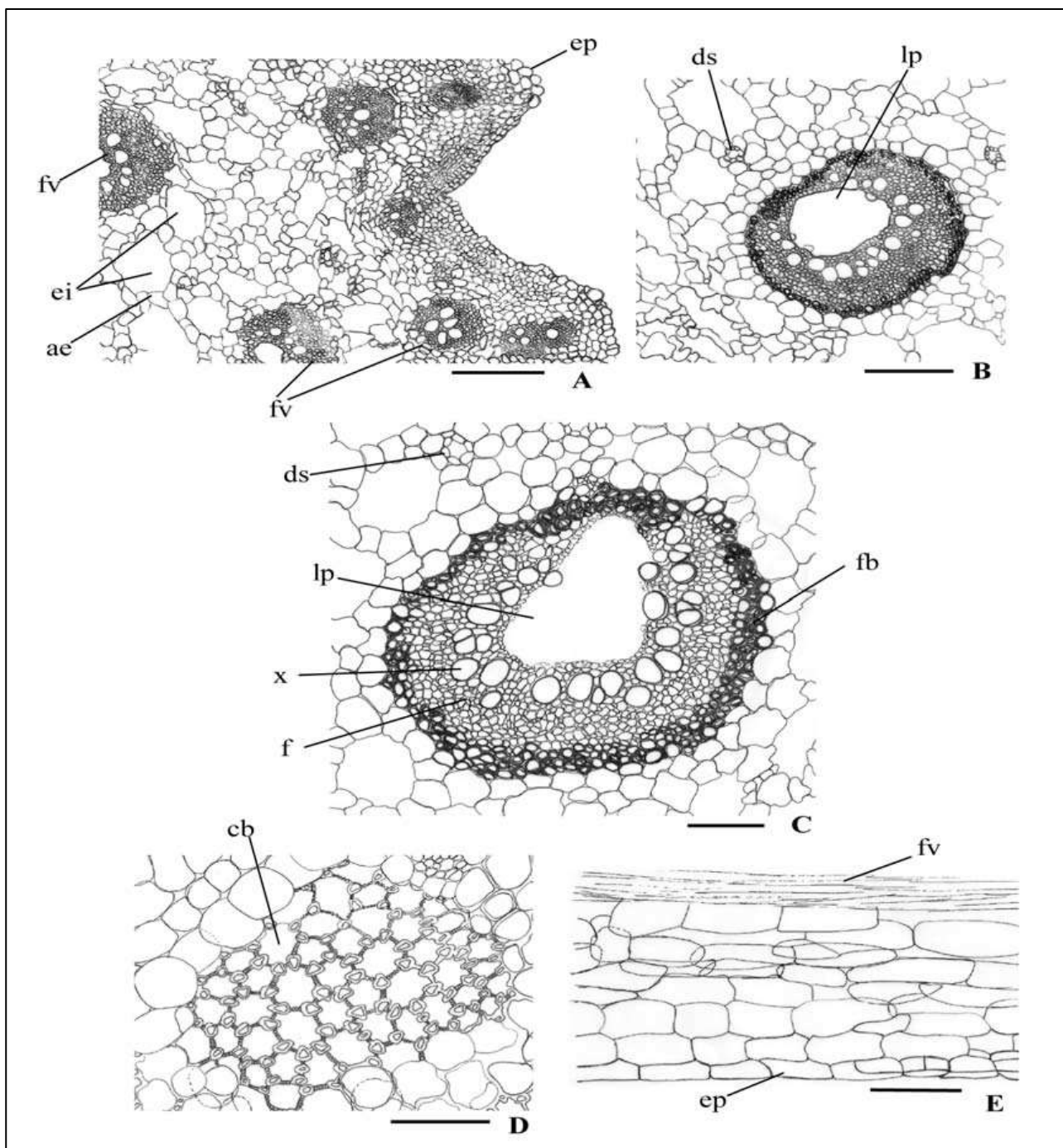


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Echinodorus grandiflorus* (Cham. &Schltdl.) Micheli

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

A a **D** – secções transversais do pecíolo. **A** – detalhe de porção do pecíolo: aerênquima (ae); espaço intercelular (ei); epiderme (ep); feixe vascular (fv). **B** – detalhe de porção do pecíolo, na região do aerênquima, evidenciando um feixe vascular: duto secretor (ds); lacuna do protoxilema (lp). **C** – detalhe de um feixe vascular, na região central do pecíolo: duto secretor (ds); floema (f); fibroesclereíde (fb); lacuna do protoxilema (lp); xilema (x). **D** – detalhe das trabéculas do pecíolo: célula braciiforme (cb). **E** – detalhe parcial do aerênquima em secção longitudinal: epiderme (ep); feixe vascular (fv).

CRATEGO, folha e flor

Crataegi folium cum flore

A droga vegetal consiste das sumidades floridas secas, inteiras ou rasuradas de *Crataegus monogyna* Jacq., *Crataegus rhipidophylla* Gand. (syn. *C. oxyacantha* L., nom. rej.), *Crataegus laevigata* (Poir.) DC., *Crataegus pentagyna* Waldst. & Kit. ex Willd., *Crataegus nigra* Waldst. & Kit. e *Crataegus azarolus* L., ou de híbridos entre elas, contendo, no mínimo, 1,5% de flavonoides totais expressos como hiperosídeo (C₂₁H₂₀O₁₂; 464,38), em relação à droga seca.

CARACTERÍSTICAS

As folhas secas possuem odor característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, partidas a lobadas, com três ou mais lóbulos, alternas, pilosas e com pecíolo longo. Lâmina com base e ápice agudos, bordo serrilhado irregularmente, penínérvea, com nervuras secundárias partindo em ângulo agudo em relação à principal e terminando no bordo do limbo; nervuras de ordens superiores formando aréolas fechadas com poucas ramificações terminais. Flores pentâmeras, pequenas, longamente pedunculadas. Cálice com sépalas de ápice triangular a agudo, formando com o hipanto uma estrutura geralmente pilosa e de coloração pardo-esverdeada; sépalas com aproximadamente 2 mm de comprimento e 1 mm de largura. Corola com pétalas levemente pardas, livres entre si, de contorno arredondado e unha curta; pétalas com cerca de 4 mm comprimento e 5 mm de largura. Estames 15 a 20, com filetes e anteras expostos.

B. Descrição microscópica

Folhas hipostomáticas, de mesofilo dorsiventral. Em vista frontal, as células epidérmicas apresentam-se com dimensões variadas e paredes anticlinais de ondeadas a sinuosas. Os estômatos são ciclocíticos, com células-guarda reniformes e pronunciado espessamento na parede anticlinal interna; sobre as células subsidiárias a cutícula é estriada concentricamente em direção às células-guarda. Em ambas as faces ocorrem tricomas unicelulares, pontiagudos, longos e de paredes espessas; em sua base ocorrem sete ou oito células epidérmicas dispostas em roseta, recobertas por pronunciado acúmulo de cutícula. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada e o mesofilo apresenta dois a três estratos de parênquima paliçádico; o parênquima esponjoso apresenta células alongadas com braços curtos. Drusas são comuns em todo o clorênquima, enquanto que cristais prismáticos, cúbicos e rômnicos, de tamanhos variados, ocorrem nas proximidades dos feixes vasculares. A nervura principal apresenta três ou quatro estratos de colênquima anelar na face abaxial e um aglomerado de células colenquimáticas na face adaxial. O feixe vascular é colateral em arco aberto, com fibras floemáticas e xilemáticas em ambos os polos, estando o conjunto envolto por uma bainha parenquimática. Este feixe pode ser único, ou em número de dois ou três. O pecíolo, em secção transversal, apresenta cutícula espessa e epiderme uniestratificada, seguida de cinco ou seis estratos de colênquima anelar e tecidos condutores organizados em um único feixe vascular em arco aberto. As pétalas apresentam epiderme papilosa, recoberta por cutícula ornamentada com pequenas projeções, também presentes nas sépalas e anteras. O mesofilo das pétalas é homogêneo, composto por 10 a 12 estratos de células na região central-mediana e dois ou três estratos nos bordos e terço superior. Nas anteras, o endotécio apresenta espessamentos anticlinais paralelos entre si, às vezes

entrelaçados na diagonal. Os grãos de pólen são tricolpados e ornamentados com pequenas papilas esféricas. Na face interna da base das sépalas está o nectário floral, formado por células com conteúdo denso, típicas de estruturas secretoras.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração pardacenta; fragmentos de lâminas foliares mostrando as aréolas; fragmentos de epiderme foliar com células de paredes sinuosas e sem estômatos; fragmentos de epiderme foliar com células de paredes pouco sinuosas e estômatos ciclocíticos com células subsidiárias e cutícula estriada; tricomas unicelulares com paredes espessas, fragmentados ou íntegros; fragmentos de epiderme foliar com células dispostas em roseta na base dos tricomas; fragmentos de parênquima e epiderme, em secção transversal, com bases de tricomas; fragmentos de mesofilo dorsiventral com drusas disformes e/ou cristais prismáticos acompanhando os feixes vasculares; fragmentos de pétalas com epiderme papilosa e de sépalas com tecido secretor; fragmentos de anteras com células espessadas (endotécio) e grãos de pólen ornamentados; cristais isolados.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metil-etil-cetona, ácido fórmico anidro e água (50:30:10:10).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga moída (355 µm), acrescentar 10 mL de metanol, aquecer sob refluxo por cinco minutos, à temperatura de 65 °C. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida em papel filtro.

Solução referência (1): dissolver 1 mg de ácido clorogênico em 10 mL de metanol.

Solução referência (2): dissolver 1 mg de hiperosídeo em 5 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e aquecer em estufa a temperatura entre 100 °C a 105 °C por 15 minutos, e, ainda morna, nebulizar com difenilborato de aminoetanol SR, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol. Deixar a placa secar ao ar durante 30 minutos e examinar a placa sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução amostra*, *Solução referência (1)* e *Solução referência (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de fluorescência verde-amarelada
Hiperosídeo: zona de fluorescência amarelo	Zona de fluorescência amarelo-alaranjada
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul-claro	Zona de fluorescência azul claro
	Zona de fluorescência verde-amarelada
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 8,0% de ramos lignificados e 2,0% de outros materiais estanhos.

Água (5.4.1.4). No máximo 11,0%.

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

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

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g da droga pulverizada (250 µm), transferir para erlenmeyer de 200 mL e adicionar 40 mL de etanol a 60% (v/v). Aquecer em banho-maria à 60 °C durante 10 minutos com agitação frequente. Resfriar e filtrar em algodão para balão volumétrico de 100 mL. Retornar o resíduo insolúvel e o algodão para o mesmo erlenmeyer, adicionar 40 mL de

etanol a 60% (v/v) e levar, novamente ao banho-maria por 10 minutos com agitação frequente. Filtrar a solução em algodão para o balão volumétrico como previamente descrito. Completar o volume com etanol a 60% (v/v) e homogeneizar.

Solução amostra: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão de fundo redondo de 100 mL e evaporar até *secura* em evaporador rotatório. Solubilizar o resíduo em 8 mL de mistura de solução metanol com ácido acético glacial (10:100) e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Lavar o balão de fundo redondo com 3 mL da mistura de solução metanol com ácido acético glacial (10:100) e transferir para o balão volumétrico como previamente descrito. Adicionar 10 mL da *Solução reagente*. Levar ao banho de gelo para resfriar, por 10 minutos. Não permitir o congelamento. Completar o volume com ácido acético anidro. Colocar imediatamente em banho de gelo. Retirar 10 minutos antes da leitura em espectrofotômetro.

Solução branco: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão de fundo redondo de 100 mL e evaporar até *secura* em evaporador rotatório. Solubilizar o resíduo em 8 mL da mistura de solução metanol com ácido acético glacial (10:100) e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Lavar o balão de fundo redondo com 3 mL da mistura de solução metanol com ácido acético glacial (10:100) e transferir para o balão volumétrico como previamente descrito. Adicionar 10 mL de ácido fórmico anidro. Levar ao banho de gelo para resfriar por 10 minutos. Não permitir o congelamento. Completar o volume com ácido acético anidro. Colocar imediatamente em banho de gelo. Retirar 10 minutos antes da leitura em espectrofotômetro.

Solução reagente: ácido bórico a 2,5% (p/v) e ácido oxálico a 2% (p/v) em ácido fórmico anidro. Solubilizar com aquecimento, em capela de exaustão.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* após 30 minutos, no comprimento de onda de 410 nm. Considerar, a absorvidade específica do hiperosídeo igual a 405. Calcular o teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$H = \frac{A \times 1,235}{m}$$

em que,

H = teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeos;

A = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

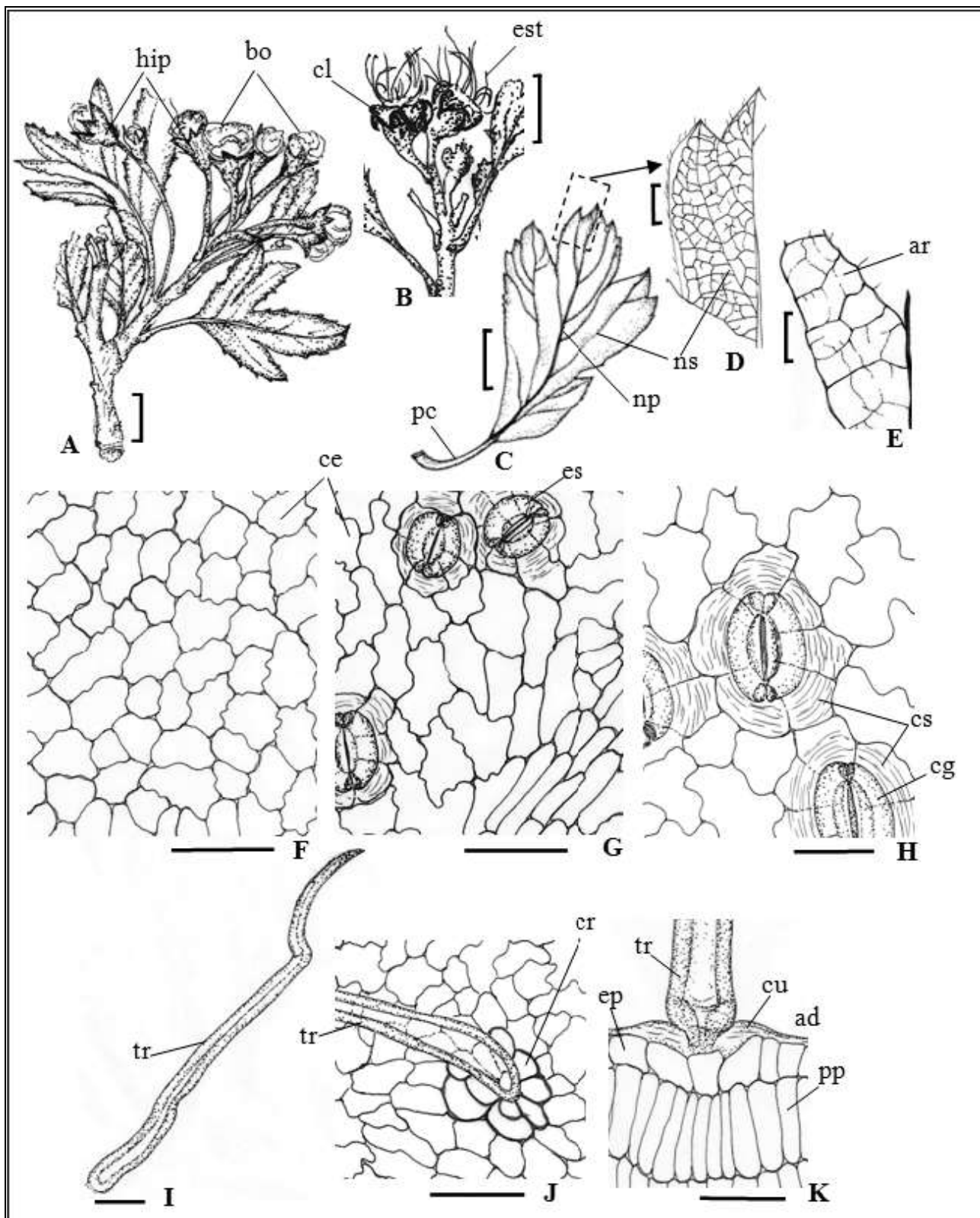


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em espécies de *Crataegus*

As escalas correspondem em **A, B, C** a 0,5 cm; em **D** a 1 mm; em **E** a 0,5 mm; em **F, G, I e J** a 50 μ m; em **H e K** a 25 μ m.

A – aspecto geral de um ramo na fase de pré-antesse: hipanto (hip); botão floral (bo). **B** – detalhe parcial de um ramo após a queda das corolas: cálice (cl); estames (est). **C** – aspecto geral de uma folha: pecíolo (pc); nervura principal (np); nervura secundária (ns). **D** – detalhe parcial da nervação foliar em destaque em **C**: nervura secundária (ns). **E** – detalhe parcial das aréolas e terminações vasculares: aréola (ar). **F e G** – vista frontal das faces adaxial e abaxial foliar, respectivamente: célula epidérmica comum (ce); estômato (es). **H** – detalhe dos estômatos: célula-guarda (cg); célula subsidiária (cs). **I** –

tricoma tector foliar: tricoma (tr). **J e K** - detalhes da inserção do tricoma em vista frontal e transversal, respectivamente: tricoma (tr); células em roseta (cr); epiderme (ep); cutícula (cu); face adaxial (ad); parênquima paliçádico (pp).

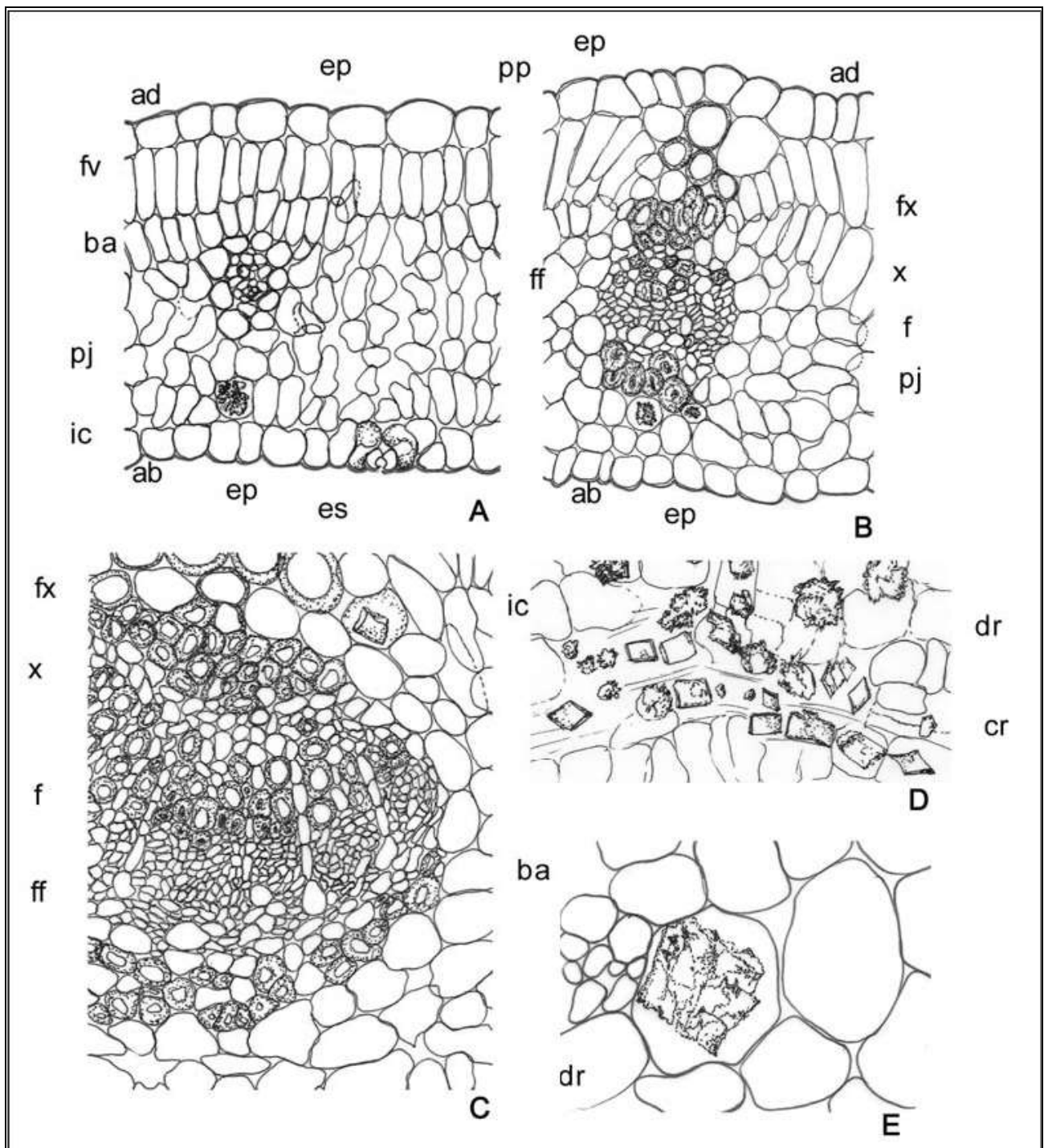


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em espécies de *Crataegus*

As escalas correspondem em **A, B, C e D** a 50 μm ; em **E** a 25 μm .

A – detalhe do mesófilo mediano com um feixe vascular terciário: face abaxial (ab); face adaxial (ad); feixe vascular (fv); bainha do feixe vascular (ba); parênquima esponjoso (pj); idioblasto cristalífero (ic); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); estômato (es). **B** – detalhe de um feixe vascular secundário nas proximidades do bordo foliar: face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); fibras do floema (ff); fibra do xilema (fx); xilema (x); floema (f); parênquima esponjoso (pj); epiderme (ep). **C** – detalhe parcial do feixe vascular da nervura principal: fibra do xilema (fx); xilema (x); floema (f); fibras do floema (ff); idioblasto cristalífero (ic); bainha do feixe vascular (ba). **D** – fragmento do pó mostrando cristais próximos aos feixes vasculares: idioblasto cristalífero (ic); drusa (dr); cristal prismático (cr). **E** – detalhe de uma drusa em um fragmento do pó: drusa (dr).

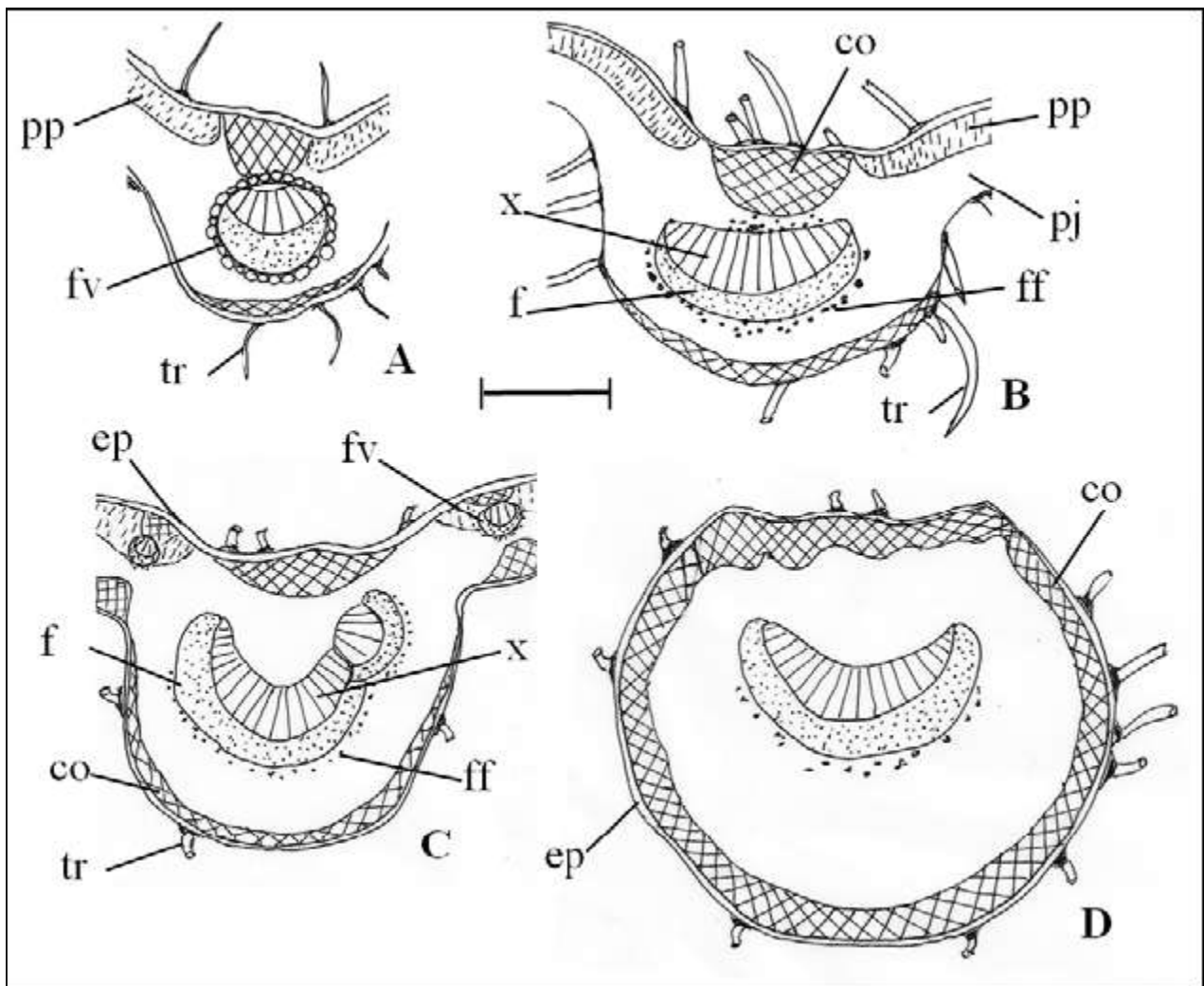


Figura 3 – Esquemas da distribuição dos tecidos na folha e no pecíolo em espécies de *Crataegus*

As escalas correspondem em **A, B, C e D** a 250 μm .

A – região apical da nervura principal: parênquima paliçádico (pp); feixe vascular (fv); tricoma (tr). **B** – região mediana da nervura principal: xilema (x); floema (f); colênquima (co); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); fibras do floema (ff); tricoma (tr). **C** – região basal da nervura principal: epiderme (ep); feixe vascular (fv); xilema (x); floema (f); colênquima (co); fibras do floema (ff); tricoma (tr). **D** – região mediana do pecíolo: colênquima (co); epiderme (ep).

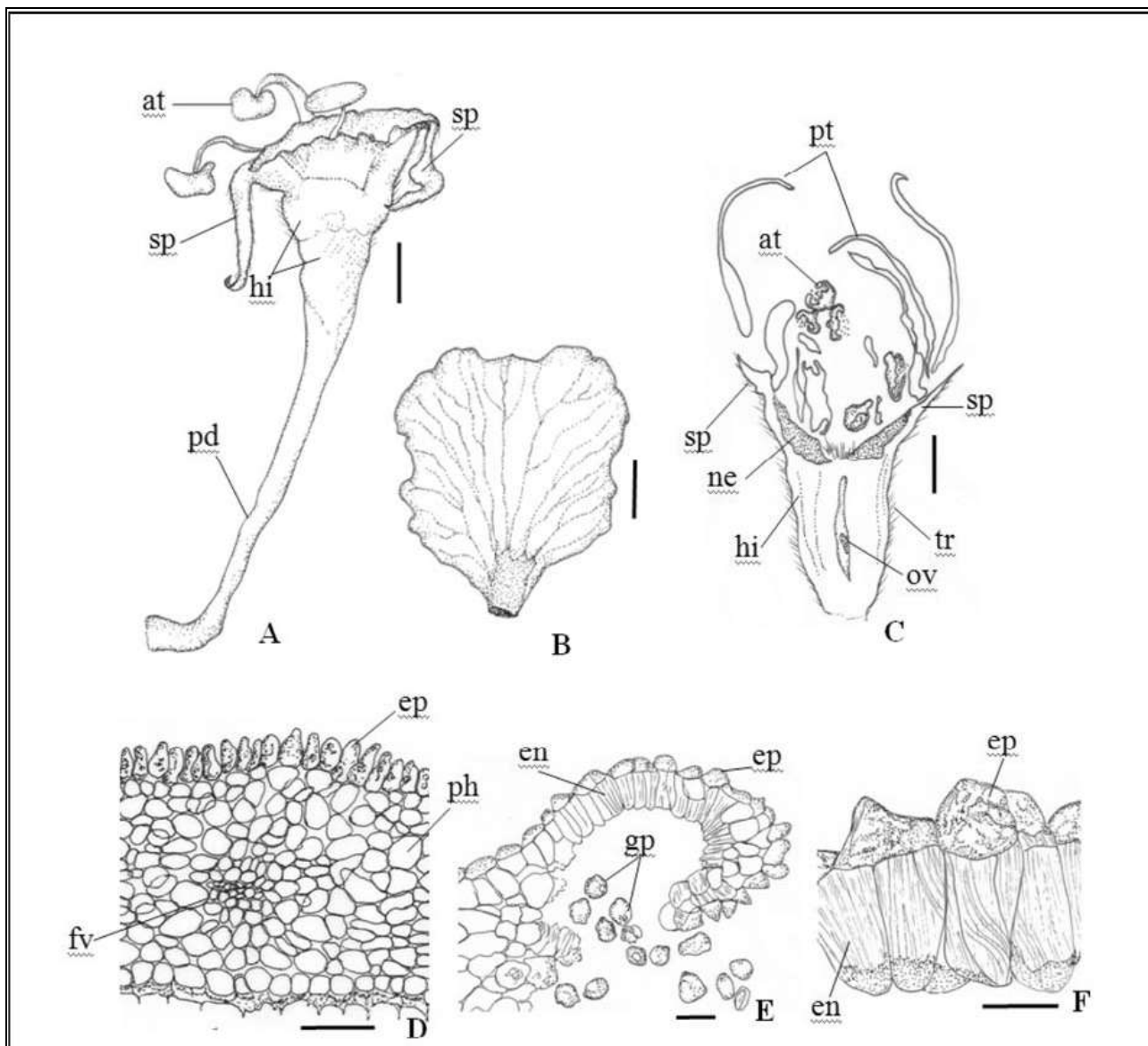


Figura 4 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó das flores em espécies de *Crataegus*

As escalas correspondem em **A**, **B** e **C** a 1 mm; em **D** e **E** a 50 µm; em **F** a 25 µm.

A – aspecto geral do hipanto, pedúnculo floral, algumas sépalas e anteras: antera (at); sépala (sp); hipanto (hi); pedúnculo floral (pd). **B** – aspecto geral de uma pétala. **C** – aspecto geral de uma flor em secção longitudinal mediana: antera (at); pétala (pt); sépala (sp); nectário (ne); hipanto (hi); óvulo (ov); tricoma (tr). **D** – detalhe parcial da base da pétala em secção transversal: epiderme (ep); parênquima homogêneo (ph); feixe vascular (fv). **E** e **F** – detalhes parciais da antera e parede da teca, respectivamente, em secções transversais: endotécio (en); epiderme (ep); grão de pólen (gp).

CÚRCUMA, rizoma **Curcumae longae rhizoma**

A droga vegetal consiste de rizomas secos de *Curcuma longa* L. (*syn. Curcuma domestica* Valetton), contendo, no mínimo, 2,5% de óleo volátil e, no mínimo, 2,5% de derivados do dicinamoilmetano expressos em curcumina ($C_{21}H_{20}O_6$, 368,4).

CARACTERÍSTICAS

A droga tem odor fracamente aromático, lembrando o do gengibre.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Rizomas principais ovalados, oblongos ou arredondados, medindo até 12,0 cm de comprimento e até 5,0 cm de diâmetro; rizomas laterais cilíndricos e alongados, arredondados nas extremidades, medindo de 6,0 a 15,0 cm de comprimento e de 1,0 a 4,0 cm de diâmetro, geralmente portando pequenas ramificações. Os rizomas possuem coloração amarelo-parda a amarelo-acastanhada, superfície lisa, com cicatrizes anelares provenientes das bases das bainhas foliares, cicatrizes irregulares provenientes das ramificações laterais e pequenas cicatrizes arredondadas, de raízes. Raízes laterais, quando presentes, amarronzadas, paleáceas e estriadas; pelos longos são visíveis com auxílio de lente nos rizomas e raízes; bainhas fibrosas podem acompanhar o rizoma principal. A fratura é lisa, nítida e gelatinosa, amarelo-alaranjada a alaranjada, com pontos mais claros dispersos, correspondentes aos feixes vasculares. Em secção transversal são visíveis duas zonas: uma região cortical estreita e mais clara e o cilindro central, cuja medula é bem desenvolvida e alaranjada.

B. Descrição microscópica

Em vista frontal, a epiderme apresenta células de variadas formas e de paredes retilíneas e espessas, com algumas gotas lipídicas. Os estômatos são anomocíticos. Os pelos são simples, uni a tricelulares, longos, de paredes espessas, muitas vezes caducos e de base nítida, arredondada e espessa. O súber, visualizado por transparência, apresenta células quadrangulares a retangulares, de paredes espessas, com gotas lipídicas. Em secção transversal, a cutícula é delgada e lisa. A epiderme é formada por células achatadas tangencialmente, a maioria tabular, de paredes finas e os estômatos localizam-se um pouco acima das demais células epidérmicas. O súber é constituído por poucas camadas de células retangulares, muito maiores do que as da epiderme, compactas, de paredes suberizadas, enfileiradas radialmente e com gotas lipídicas. As últimas camadas do súber podem se apresentar colapsadas. O parênquima cortical é constituído por células de várias formas e tamanhos, geralmente poligonais, volumosas, com espaços intercelulares evidentes. Grãos de amido grandes, de variadas formas, com lamelação bem definida e hilo excêntrico ocorrem no parênquima cortical em grande quantidade. Dispersos no córtex ocorrem idioblastos secretores de óleo, cada um deles comumente constituído por uma célula secretora geralmente circular, com uma grande gota amarela, e com células parenquimáticas dispostas radialmente em torno desta célula. Pequenos feixes vasculares colaterais, células contendo compostos fenólicos e pequenas gotas lipídicas também são comuns nesta região. A endoderme é praticamente contínua e é formada por células pequenas e achatadas, com paredes delgadas. O cilindro central é bastante desenvolvido, formado por células parenquimáticas e idioblastos secretores, contendo compostos fenólicos e gotas lipídicas; grãos de amido são mais raros. Pequenos feixes vasculares de distribuição anelar ocorrem junto à endoderme e feixes de maior desenvolvimento, de distribuição aleatória e em grande número, ocorrem mais internamente.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende 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. São características: coloração amarelo-escura; fragmentos da epiderme com pelos, em vista frontal; pelos isolados ou parte destes; fragmentos da epiderme com estômatos, em vista frontal; fragmentos da

epiderme com células mostrando gotas lipídicas; fragmentos da epiderme mostrando a cicatriz de pelos, em vista frontal; fragmentos da epiderme e do córtex, visualizado por transparência, em vista frontal; fragmentos de epiderme e de súber, em secção transversal; fragmentos de súber, em vista oblíqua; fragmentos de súber, em secção transversal; fragmentos de súber e de parênquima cortical, em secção transversal; células parenquimáticas isoladas ou agrupadas; fragmentos de parênquima, em secção transversal; fragmentos de parênquima de reserva com células repletas de grãos de amido, em secção transversal; células parenquimáticas isoladas, repletas de grãos de amido, em secção transversal; massas de grãos de amido; grãos de amido isolados e/ou agrupados; porções de elementos de vaso agrupados, com espessamento escalariforme, em secção longitudinal; porções de elementos de vaso isolados, com espessamento reticulado, em secção longitudinal; porções de elementos de vaso com espessamento reticulado, em secção longitudinal, associado a células parenquimáticas, em secção transversal; porções de elementos de vaso com espessamento reticulado e com espessamento helicoidal, em secção longitudinal; porções de elementos de vaso isolados, com espessamento helicoidal, em secção longitudinal; gotas lipídicas isoladas.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: clorofórmio, etanol e ácido acético glacial (95:5:0,5).

Solução amostra: agitar 0,5 g da amostra recentemente pulverizada com 5 mL de metanol, por 30 minutos, centrifugar durante 10 minutos a 2500 rpm. Filtrar.

Solução referência: dissolver 5 mg de curcumina SQR, demetoxicurcumina SQR e bisdemetoxicurcumina SQR em 5 mL de metanol.

Procedimento: aplicar à 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. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Curcumina: zona de fluorescência verde	Zona de fluorescência verde
Demetoxicurcumina: zona de fluorescência verde	Zona de fluorescência verde
Bisdemetoxicurcumina: zona de fluorescência verde-clara	Zona de fluorescência verde
Solução referência	Solução amostra

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (97:3).

Solução referência: dissolver 10 mg de timol em 10 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* descrita no teste **D.** de *Identificação* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Na *Solução amostra* não deve ser observada zona em posição correspondente ao verificado para a *Solução referência*, característica de outra espécie de cúrcuma. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Timol: zona de coloração avermelhada	Zona de coloração violacea
	Zona de coloração violacea Zona de coloração vermelha
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%. Determinar em 15 g de droga vegetal pulverizada (500).

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

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 teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Aflatoxinas (5.4.4). 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 500 mL contendo 200 mL de água como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno (que devem ser inseridos no tubo graduado). Reduzir a amostra a pó (500 µm) e proceder imediatamente à determinação em 5 g da droga em pó. Destilar por 4 horas.

Derivados do dicinamoilmetano

Solução amostra: introduzir 10 mg da amostra em béquer de 50 mL, adicionar 6 mL de ácido acético glacial e aquecer em banho-maria a 90 °C durante 60 minutos. Adicionar 0,2 g de ácido bórico e 0,2 g de ácido oxálico, aquecer em banho-maria a 90 °C durante 10 minutos. Esfriar e diluir com ácido acético glacial em balão volumétrico de 10 mL. Transferir 1 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com ácido acético glacial e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância em 530 nm, logo após o seu preparo utilizando ácido acético glacial para ajuste do zero. Utilizar como valor de absorvância específica da curcumina 2350. Calcular o teor de derivados de dicinamoilmetano, expresso como curcumina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TDC} = \frac{0,0426 \times A}{m}$$

em que.

TDC = teor de derivados de dicinamoilmetano % (p/p);

A = absorvância medida; e

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

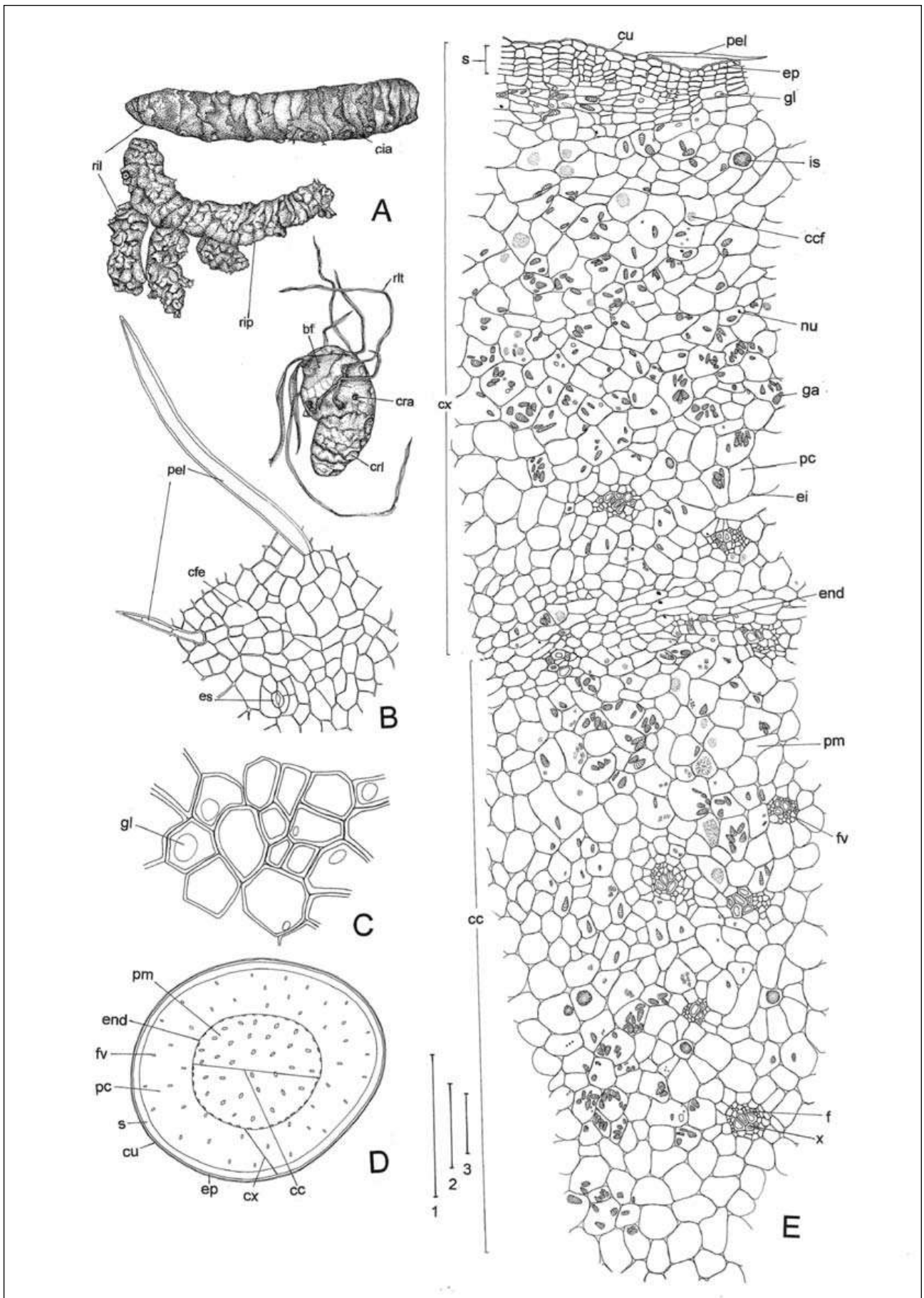


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Curcuma longa* L.

As escalas correspondem em **A** a 5 cm (régua 1); em **B**, **C** e **E** a 100 μ m (régua 2); em **D** a 1,0 mm (régua 3).

A – aspectos gerais de rizomas: bainha foliar (bf); cicatriz anelar proveniente da base da bainha foliar (cia); cicatriz de ramificação lateral (crl); cicatriz de raiz (cra); rizoma lateral (ril); rizoma principal (rip); raiz lateral (rlt). **B** – detalhe de porção da epiderme, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); pelo (pel). **C** – detalhe de porção do súber, em vista frontal: gota lipídica (gl). **D** – esquema do rizoma em secção transversal: cilindro central (cc); cutícula (cu); córtex (cx); endoderme (end); epiderme (ep); feixe vascular (fv); parênquima cortical (pc); parênquima medular (pm); súber (s). **E** – detalhe de porção do rizoma em secção transversal: cilindro central (cc); célula contendo composto fenólico (ccf); cutícula (cu); córtex (cx); espaço intercelular (ei); endoderme (end); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); grão de amido (ga); gota lipídica (gl); idioblasto secretor (is); núcleo (nu); pelo (pel); parênquima cortical (pc); parênquima medular (pm); súber (s); xilema (x).

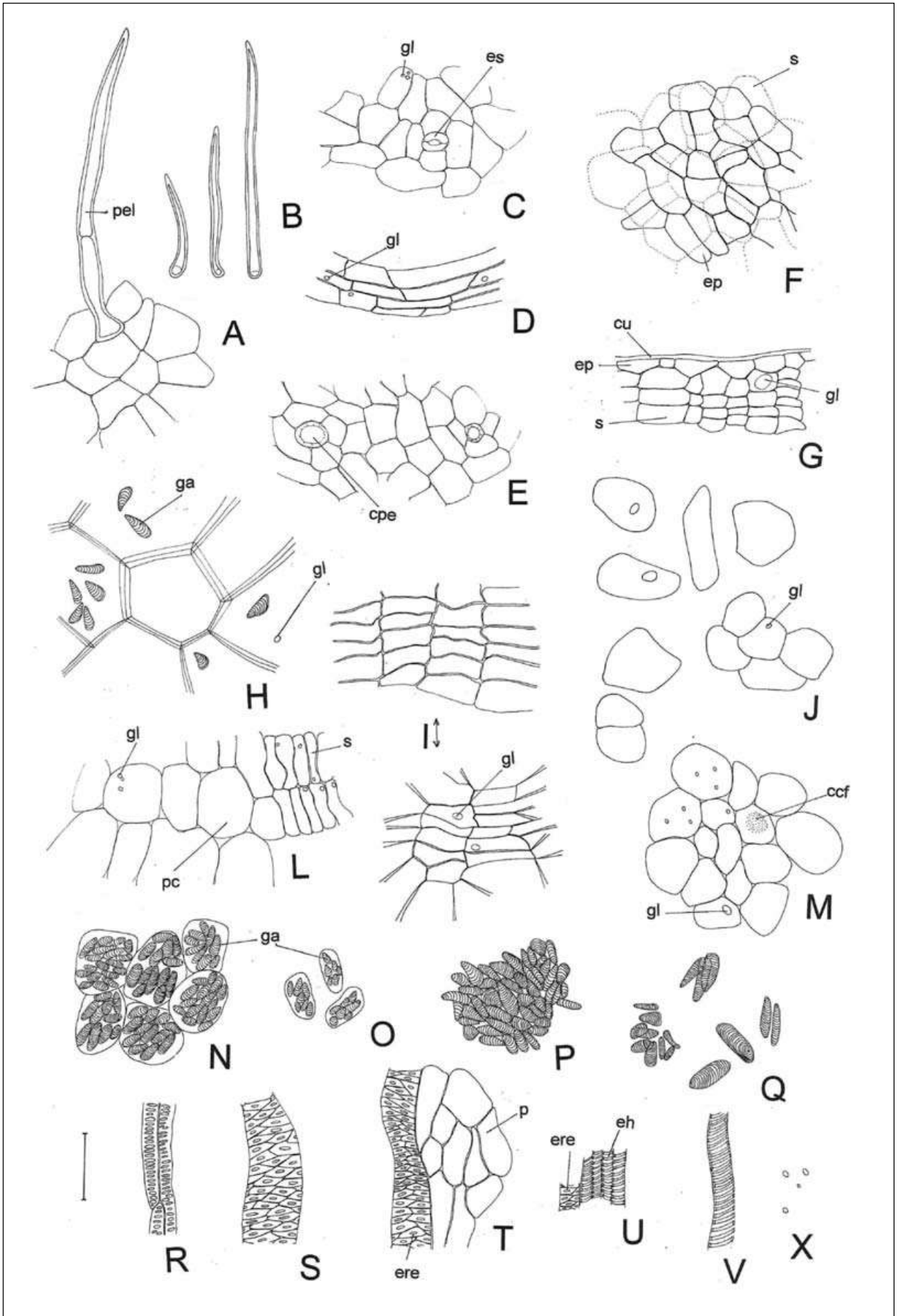


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Curcuma longa* L.

A escala corresponde a 100 µm.

A – fragmento de epiderme, com pelo, em vista frontal: pelo (pel). **B** – pelos isolados. **C** – fragmento de epiderme com estômato, em vista frontal: estômato (es); gota lipídica (gl). **D** – fragmento de epiderme, em vista frontal: gota lipídica (gl). **E** – fragmento de epiderme com cicatrizes de pelos, em vista frontal: cicatriz de pelo (cpe). **F** – fragmento de epiderme e do córtex, visto por transparência, em vista frontal: epiderme (ep); súber (s). **G** – fragmento de epiderme e de súber, em secção transversal: cutícula (cu); epiderme (ep); gota lipídica (gl); súber (s). **H** – fragmento de súber, em vista oblíqua: grão de amido (ga); gota lipídica (gl). **I** – fragmentos de súber, em secção transversal: gota lipídica (gl). **J** – células parenquimáticas isoladas ou agrupadas: gota lipídica (gl). **L** – fragmento de súber e de parênquima cortical, em secção transversal: gota lipídica (gl); parênquima cortical (pc); súber (s). **M** – fragmento de parênquima, em secção transversal: célula contendo composto fenólico (ccf); gota lipídica (gl). **N** – fragmento de parênquima de reserva com células repletas de grãos de amido, em secção transversal: grão de amido (ga). **O** – células parenquimáticas isoladas, repletas de grãos de amido, em secção transversal: grão de amido (ga). **P** – massa de grãos de amido. **Q** – grãos de amido isolados e/ou agrupados. **R** – porções de elementos de vaso agrupados, com espessamento escalariforme, em secção longitudinal. **S** – porção de elemento de vaso isolado, com espessamento reticulado, em secção longitudinal. **T** – porção de elemento de vaso com espessamento reticulado em secção longitudinal, associado a células parenquimáticas, em secção transversal: elemento de vaso com espessamento reticulado (ere); parênquima (p). **U** – porções de elementos de vaso com espessamento reticulado e com espessamento helicoidal, em secção longitudinal: elemento de vaso com espessamento helicoidal (eh); elemento de vaso com espessamento reticulado (ere). **V** – porção de elemento de vaso isolado, com espessamento helicoidal, em secção longitudinal. **X** – gotas lipídicas isoladas.

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, dividido em 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-claro, com dois estilopódios e ápice dos estiletos retróscos. Na dessecação, os mericarpos estão usualmente separados e, 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

O pó atende 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 pontoações 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 destes, com células do epitélio secretor.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 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 abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência*, *Solução amostra (1)* e a *Solução amostra (2)*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	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 pesais (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. 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 4 horas.

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. A carvona e o dilapiol apresentam tempos de retenção linear de 1236 e 1615, respectivamente. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica.

Calcular o Índice de Retenção Relativa (IRR), segundo a expressão:

$$\text{IRR} = 100 \times n + \frac{100 \times (\text{tr}_x - \text{tr}_z)}{(\text{tr}_{z+1} - \text{tr}_z)}$$

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativa;

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

tr_x = tempo de retenção do composto “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano com “n” carbonos; e

tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n + 1” carbonos.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

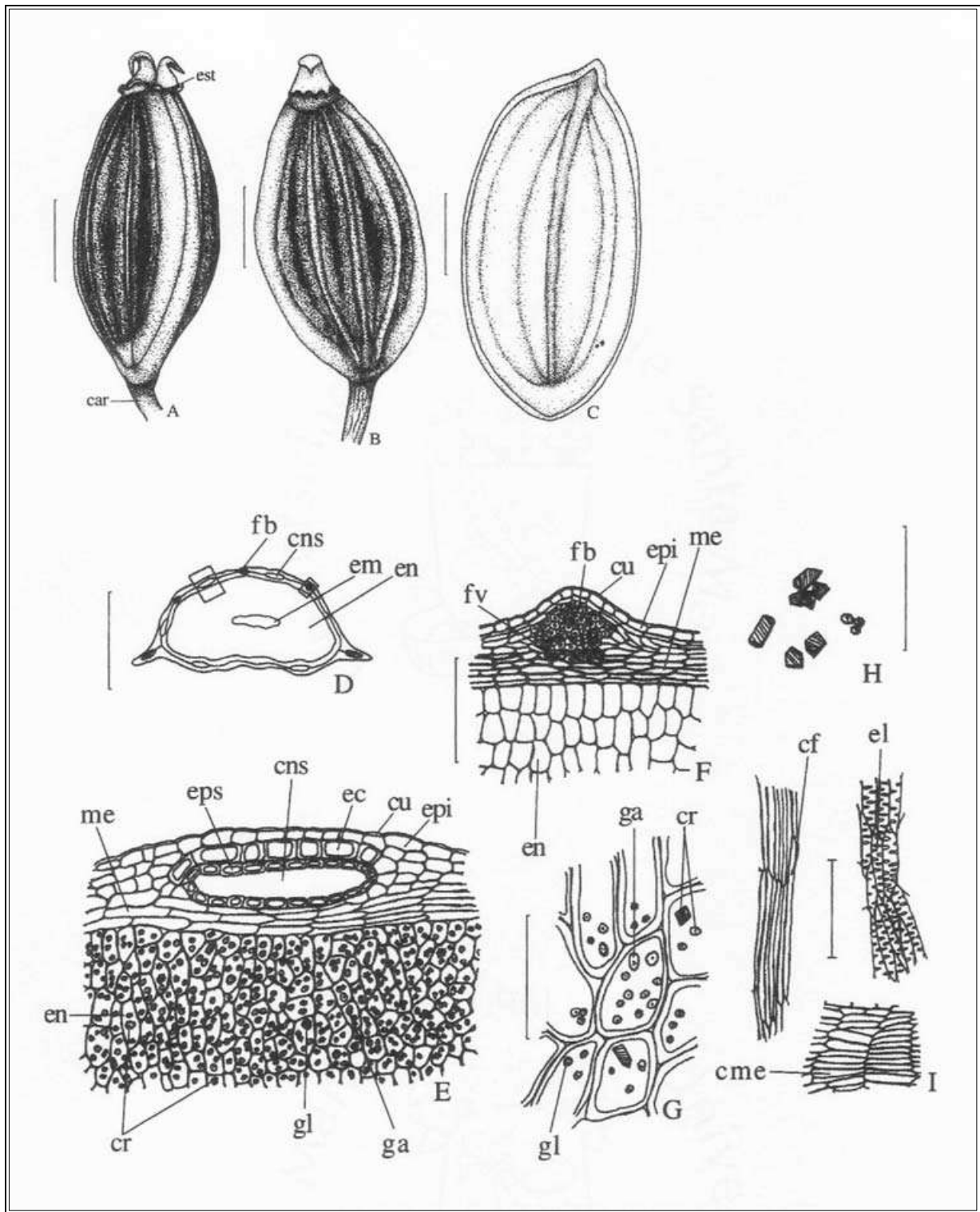


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Anethum graveolens* L.

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); esclereide (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).

ESPINHEIRA-SANTA, folha

Mayteni folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, contendo no mínimo, 2,0% de taninos totais, expressos em pirogalol ($C_6H_6O_3$ 126,11), dos quais, no mínimo, 2,8 mg/g equivalem a epicatequina ($C_{15}H_{14}O_6$, 290,27).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Ramos jovens, quando presentes, glabros, angulosos, com estrias longitudinais. Pecíolo curto, com 0,2 a 0,5 cm de comprimento. Folhas simples, inteiras, ovalado-oblongas à elípticas ou elíptico-lanceoladas; lâmina com 2,1 a 9,0 cm de comprimento, e 1,0 a 3,1 cm de largura, coriáceas a subcoriáceas, glabras, de coloração verde-acinzentada, mais clara na face abaxial; ápice mucronado, base aguda a obtusa. A nervação é penínérvea, craspedódroma mista, com nervuras secundárias partindo em ângulo agudo em relação à principal, terminando na margem da lâmina, ou ramificando-se nas proximidades dela, ou ainda seguindo em direção à margem, onde se reúnem com a superior subsequente, formando arcos. Na margem foliar, tanto as nervuras secundárias quanto as que delas partem, unem-se com a nervura marginal, formando projeções pontiagudas, de 5 a 15 unidades por folha, distribuídas em um ou nos dois lados da lâmina, mais frequentemente, em sua metade apical, sendo sempre uma delas terminal. Aréolas predominantemente retangulares, com terminações ramificadas; margem foliar espessada e amarelada.

B. Descrição microscópica

A folha apresenta mesofilo dorsiventral e é hipoestomática, com estômatos laterocíticos, de 1 a 3 células subsidiárias para cada célula-guarda. A epiderme é uniestratificada e recoberta por cutícula espessa que se projeta entre as células, sempre mais proeminente na região da nervura principal, onde ocorrem ornamentações cuticulares na forma de estrias e papilas. As células epidérmicas comuns, em ambas as faces da lâmina, são poligonais, de dimensões variadas, com paredes anticlinais retas, maiores na face adaxial. Nelas estão presentes cristais de oxalato de cálcio, prismáticos retangulares e estiloides pequenos. O parênquima paliçádico é formado por 2 estratos de células longas e finas, em paliçada típica, ou ainda, por 2 a 3 estratos de células cúbicas. O parênquima esponjoso apresenta 6 a 9 estratos de células com expansões braciiformes curtas, mais compactado na face abaxial. No mesofilo são comuns idioblastos fenólicos, isolados ou em grupos, além de cristais estiloides e prismáticos de pequenas dimensões. Na nervura principal, biconvexa em secção transversal, ocorrem 3 a 4 camadas de colênquima angular junto à face adaxial e 2 a 3 na face oposta. O feixe vascular é único, colateral, em arco aberto, circundado por bainha parenquimática, e com calotas de fibras sobre ambos os polos de tecidos condutores. A distribuição dos tecidos nos feixes vasculares pode variar de acordo com a porção da lâmina e o grau de amadurecimento do órgão. O floema apresenta cristais rômnicos de oxalato de cálcio, esclereídes e idioblastos fenólicos. As fibras que o acompanham apresentam parede celular espessada, com pontoações simples. Folhas maduras podem apresentar feixe vascular bicolateral ou concêntrico (anfícrival), sempre circundado por esclerênquima. Na margem foliar, o feixe vascular está envolto por 250 a 280 fibras. O pecíolo é circular a plano-convexo, em secção transversal e, em direção à porção distal da folha, ocorrem aletas laterais e uma leve convexidade na porção adaxial. A epiderme é uniestratificada e coberta por cutícula espessa. Nas células epidérmicas e nos estratos subjacentes ocorrem pequenos cristais de oxalato de cálcio ser idioblastos fenólicos. O parênquima colenquimatoso pode conter cristais estiloides prismáticos de pequenas dimensões. Braquiesclereídes isolados ocorrem ao acaso no parênquima fundamental do

pecíolo. O feixe vascular é concêntrico, cilíndrico a levemente côncavo-convexo, circundado por uma bainha esclerenquimática composta por fibras isoladas ou em grupos de 2 a muitos elementos.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-amarelada; fragmentos de epiderme com paredes periclinais retas, recobertas por cutícula espessa e contendo pequenos cristais estiloides ou prismáticos pequenos; fragmentos de epiderme com estômatos laterocíticos; fragmentos de epiderme, em secção transversal, com estômato evidenciando o átrio; fragmentos de parênquima paliçádico com 2 ou 3 camadas; fragmentos de bordos foliares com porções de fibras; fragmentos de fibras de grosso calibre com pontoações simples; fragmentos de parênquima com braquiesclereides; fragmentos de parênquima contendo idioblastos fenólicos; fibras isoladas ou conjunto de fibras em vista longitudinal; cristais estiloides ou prismáticos ou rômnicos, isolados; braquiesclereides isolados.

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

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

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 5 g da droga moída, acrescentar 50 mL de água e aquecer, sob refluxo, durante 15 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida em algodão, sob pressão reduzida, para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de epicatequina e dissolver em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 3 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar em capela de exaustão. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. A seguir, nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e aquecer em estufa a 110 °C, durante 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Epicatequina: zona de coloração bordô	Zona de coloração bordô Zona de coloração bordô
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Água (5.4.1.4). No máximo 12%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 8%.

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Índice de espuma. Transferir, quantitativamente, cerca de 1 g da droga vegetal moída (180 µm), pesada, com exatidão, para erlenmeyer contendo 50 mL de água fervente. Manter sob fervura moderada durante 15 minutos. Resfriar, filtrar em algodão para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume, através do filtro, e homogeneizar. Distribuir o decocto obtido em 10 tubos de ensaio com tampa (16 mm de diâmetro por 16 cm de altura), em uma série sucessiva de 1 mL, 2 mL, 3 mL, até 10 mL, e ajustar o volume do líquido em cada tubo a 10 mL com água. Tampar os tubos e agitá-los vigorosamente com movimentos verticais durante 15 segundos, com duas agitações por segundo. Deixar em repouso por 15 minutos e medir a altura da espuma. Após, adicionar em cada tubo 1 mL de ácido clorídrico 2 M, se a altura da espuma de todos os tubos for inferior a 1 cm, o índice de espuma é menor que 100. Se, em qualquer um dos tubos, a altura da espuma medida permanecer igual ou superior a 1 cm, a diluição do material vegetal nesse tubo (A) é o índice observado. Calcular o índice de espuma segundo a expressão:

$$IE = \frac{1000}{A}$$

em que,

IE = índice de espuma; e

A = volume em mililitros do decocto usado para preparação da diluição no tubo no qual a espuma foi observada.

O índice de espuma é , no mínimo, 250.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar 0,750 g da droga pulverizada (250 µm) e transferir para um erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria durante 30 minutos à temperatura de 60 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o erlenmeyer e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo de droga vegetal para o mesmo balão volumétrico. Completar o volume com água e homogeneizar. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A₁) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL do filtrado, adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir 5 mL desse filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A₂) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso 50 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A₃) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = taninos totais % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio, considerando a determinação de água; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

Epicatequina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 210 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05 % (v/v).

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% (v/v) em acetonitrila.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> %	<i>Fase móvel (2)</i> %	Sistema de eluição
0 – 13	82→75	18→25	gradiente linear
13 – 16	75→66	25→34	gradiente linear
16 – 20	66→58	34→42	gradiente linear
20 – 23	58→35	42→65	gradiente linear
23 – 25	35→82	65→18	gradiente linear
25 – 28	82	18	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 5 g da droga vegetal pulverizada (250 µm) em balão de fundo redondo de 100 mL com boca esmerilhada, adicionar 50 mL de água e levar a refluxo durante 15 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida sob pressão reduzida. Extrair o filtrado com três porções de 50 mL de acetato de etila em funil de separação de 250 mL. Para total separação das fases, deixar em repouso à temperatura de -18 °C durante 5 minutos. Reunir as fases orgânicas. Filtrar em papel de filtro contendo 5 g de sulfato de sódio anidro, sob pressão reduzida. Evaporar a fase orgânica em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, até resíduo. Suspender o resíduo com 5 mL de mistura de metanol e água (2:8). Extrair em cartucho de extração em fase sólida, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (55 µm, 70 Å), previamente acondicionada com 8 mL de mistura de metanol e água (2:8), para balão de 100 mL. Eluir 10 mL de metanol e água (2:8) para o mesmo balão, completar o volume com metanol e água (2:8) e homogeneizar (S_1). Transferir, volumetricamente, 5 mL da S_1 para balão volumétrico 25 mL, completar o volume com metanol e água (1:1) e homogeneizar (S_2). Filtrar a S_2 em unidade filtrante de 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de epicatequina em metanol e água (1:1), para obter solução a 0,4 mg/mL.

Soluções para curva analítica: diluir alíquotas de 50 µL, 200 µL, 350 µL, 500 µL e 600 µL da *Solução referência* em balão volumétrico de 2 mL, com metanol e água (1:1), para obter concentrações de 10 µg/mL; 40 µg/mL; 70 µg/mL; 100 µg/mL e 120 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções para curva analítica* e 20 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção relativo é cerca de 8,0 minutos para epicatequina. Determinar o teor de epicatequina na *Solução amostra* a partir da equação linear da reta obtida com a curva analítica do padrão. Calcular o teor de epicatequina, em mg/g da amostra, segundo a expressão:

$$\text{TEC} = \frac{\text{VLR} \times 500}{1000 \times m}$$

em que,

TEC = teor de epicatequina em mg/g;

VLR = concentração em µg/mL de epicatequina/mL na *Solução amostra*, a partir da equação da reta;

500 = fator de diluição;

1000 = valor de conversão de µg para mg; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

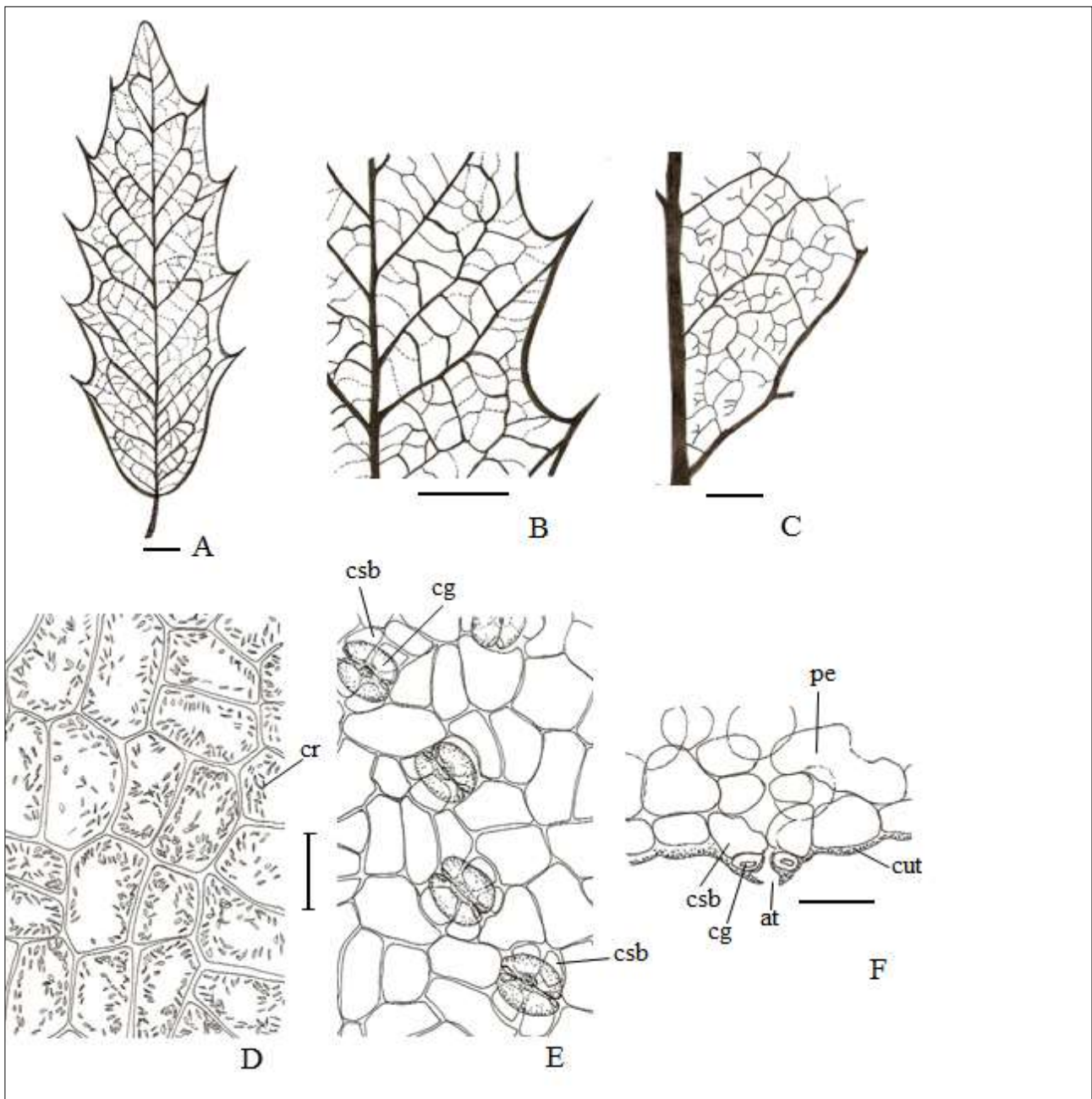


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek

As escalas correspondem em **A** e **B** a 5 mm; em **C** a 1 mm; em **D**, **E** e **F** a 30 μ m.

A – aspecto geral da lâmina foliar. **B** – detalhe da nervação foliar na face adaxial, em vista frontal. **C** – detalhe de porção da lâmina foliar, na face adaxial, em vista frontal, mostrando as aréolas e terminações xilemáticas. **D** e **E** – detalhe parcial da epiderme voltada para a face adaxial e abaxial, respectivamente, em vista frontal: idioblasto cristalífero (ic); célula subsidiária (csb); estômato (es). **F** – detalhe parcial da lâmina foliar, em secção transversal, mostrando um estômato: parênquima esponjoso (pj); cutícula (cu); átrio supra-estomático (at); célula-guarda (cg); célula subsidiária (csb); idioblasto cristalífero (ic).

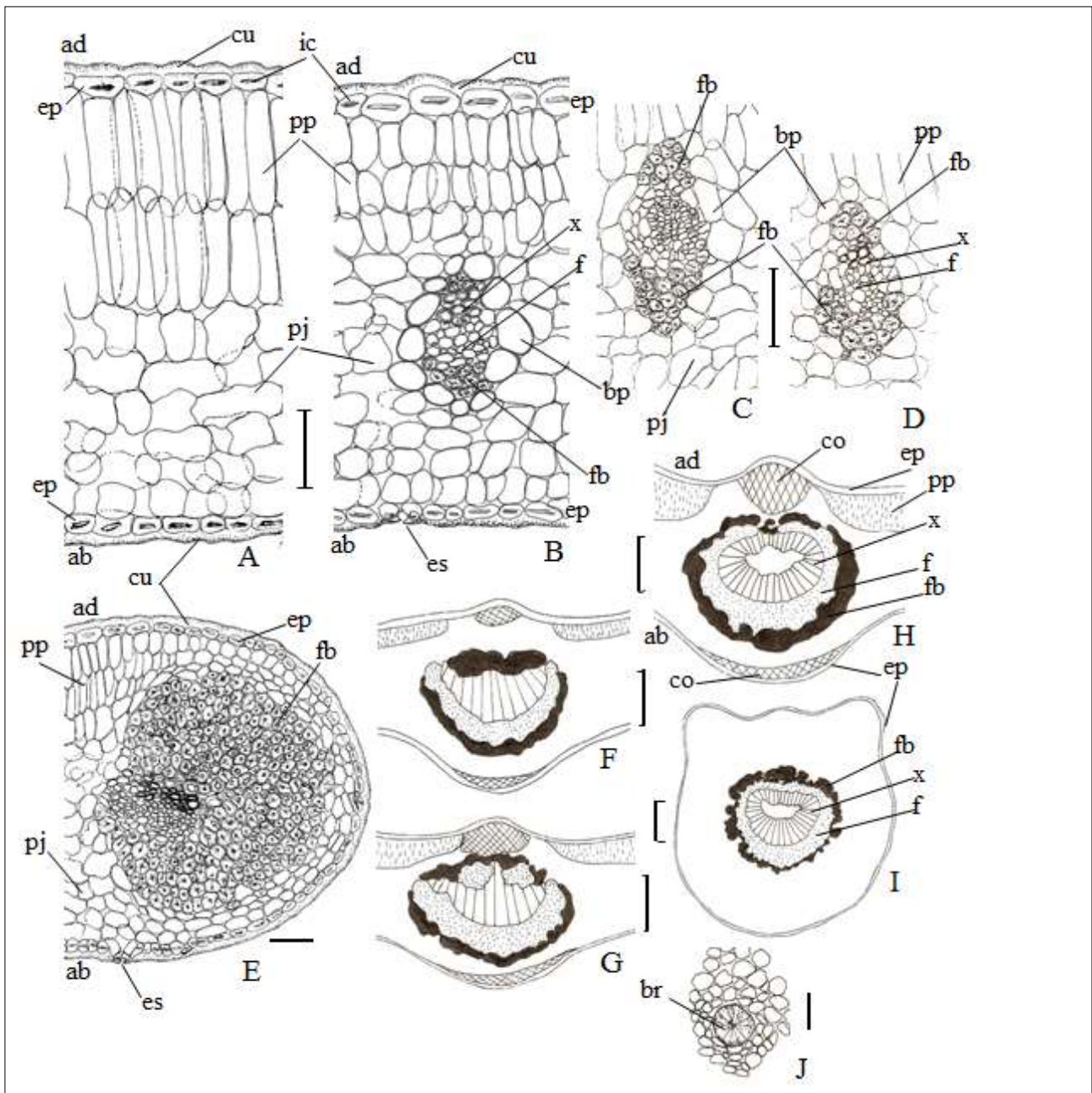


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek

As escalas correspondem em **A** e **B** a 50 μm ; em **C** e **D** a 75 μm ; em **E** a 35 μm ; em **F** a 120 μm ; em **G** a 180 μm ; em **H** e **I** a 200 μm ; em **J** a 50 μm .

A e **B** – detalhes parciais do mesófilo de amostras distintas, em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); idioblasto cristalífero (ic); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); xilema (x); floema (f); bainha parenquimática (bp); fibras (fb); estômato (es). **C** e **D** – detalhe de um feixe vascular secundário na porção basal e na porção mediana da lâmina foliar, respectivamente, em secção transversal: fibras (fb); bainha parenquimática (bp); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); xilema (x); floema (f). **E** – detalhe do bordo foliar, em secção transversal, mostrando a nervura marginal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); fibras (fb); estômato (es). **F**, **G** e **H** – esquemas do aspecto geral da porção mediana da nervura principal, em secções transversais, mostrando variações na distribuição do floema, xilema e fibras: face adaxial (ad); face abaxial (ab); colênquima (co); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); xilema (x); floema (f); fibras (fb). **I** – esquema do aspecto geral do pecíolo, em secção transversal: epiderme (ep); fibras (fb); xilema (x); floema (f). **J** – detalhe de um braquiesclereíde do pecíolo, em secção transversal: braquiesclereíde (br).

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 ($C_{38}H_{60}O_{18}$, 804,87).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, com até 6,0 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 3 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 anticliniais que delimitam o poro estomático são espessadas. O parênquima paliçádico é formado por uma ou duas camadas de células; quando duas, estas 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 desta 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

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos de epiderme com células de paredes anticliniais 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 5 ou 6 brácteas. Os capítulos são agrupados em panículas terminais corimbiformes. Fruto, quando presente, do tipo aquênio, com 4 ou 5 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 (0,250 mm).

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

Solução amostra: pesar cerca de 0,25 g de folhas moídas e colocar em balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de mistura de água e etanol (1:1). Aquecer, sob refluxo, por 1 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 etanol (1:1).

Solução referência: dissolver quantidade, exatamente pesada, de esteviosídeo em metanol, 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 5 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
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%.

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

Carboidratos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar 2 g de folha de estévia moída. Extrair, por infusão, com 80 mL de água quente, por três vezes e filtrar. Reunir os filtrados, completar o volume para 250 mL e homogeneizar. Transferir 5 mL do extrato para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com água e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 0,6 mL da *Solução estoque* para tubo de ensaio, adicionar 0,6 mL de fenol a 5% (p/v) e 3 mL de ácido sulfúrico. Deixar em repouso por 10 minutos.

Solução branco: transferir 0,6 mL de água para tubo de ensaio, adicionar 0,6 mL de fenol a 5% (p/v) e 3 mL de ácido sulfúrico. Deixar em repouso por 10 minutos.

Solução referência: transferir 0,6 mL de glicose padrão a 0,01% (p/v) em água, para tubo de ensaio, adicionar 0,6 mL de fenol a 5% (p/v) e 3 mL de ácido sulfúrico. Deixar em repouso por 10 minutos.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* e da *Solução referência* em 490 nm, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de carboidratos totais na amostra, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = 1,125 \times D \times \frac{A_a}{A_r}$$

em que,

TC = teor de carboidratos %;

D = 10;

A_a = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

A_r = absorvância medida para a *Solução referência*.

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.

Fase móvel (1): água e acetonitrila (80:20).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> %	<i>Fase móvel (2)</i> %	Sistema de eluição
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 moída para balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de mistura de água e etanol (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 etanol (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 metanol 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 metanol, 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. Injetar as seis concentrações obtidas.

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 4,6 minutos 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.

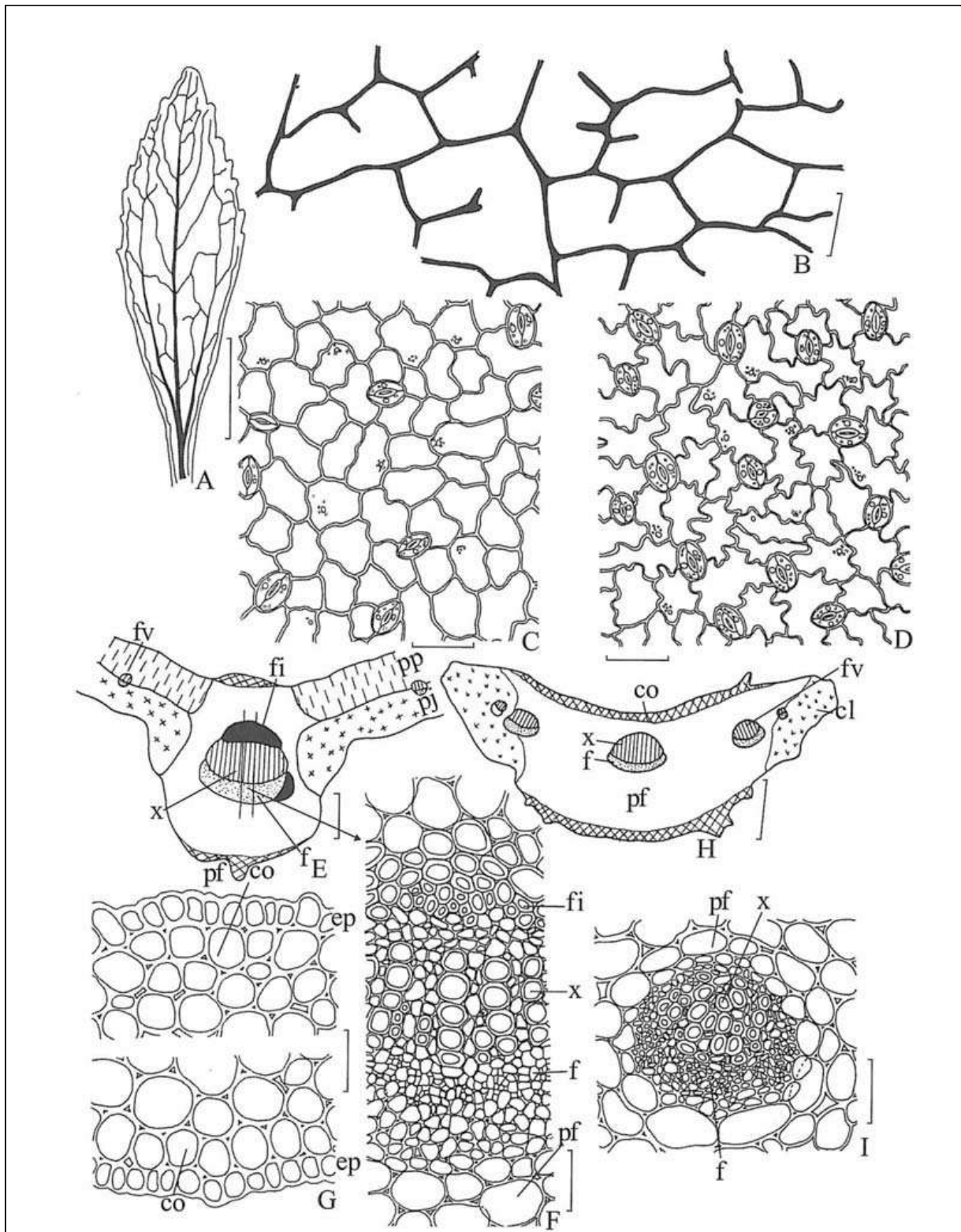


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Stevia rebaudiana* (Bertoni)
Bertoni

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

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 paliádico (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: clorênquima (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).

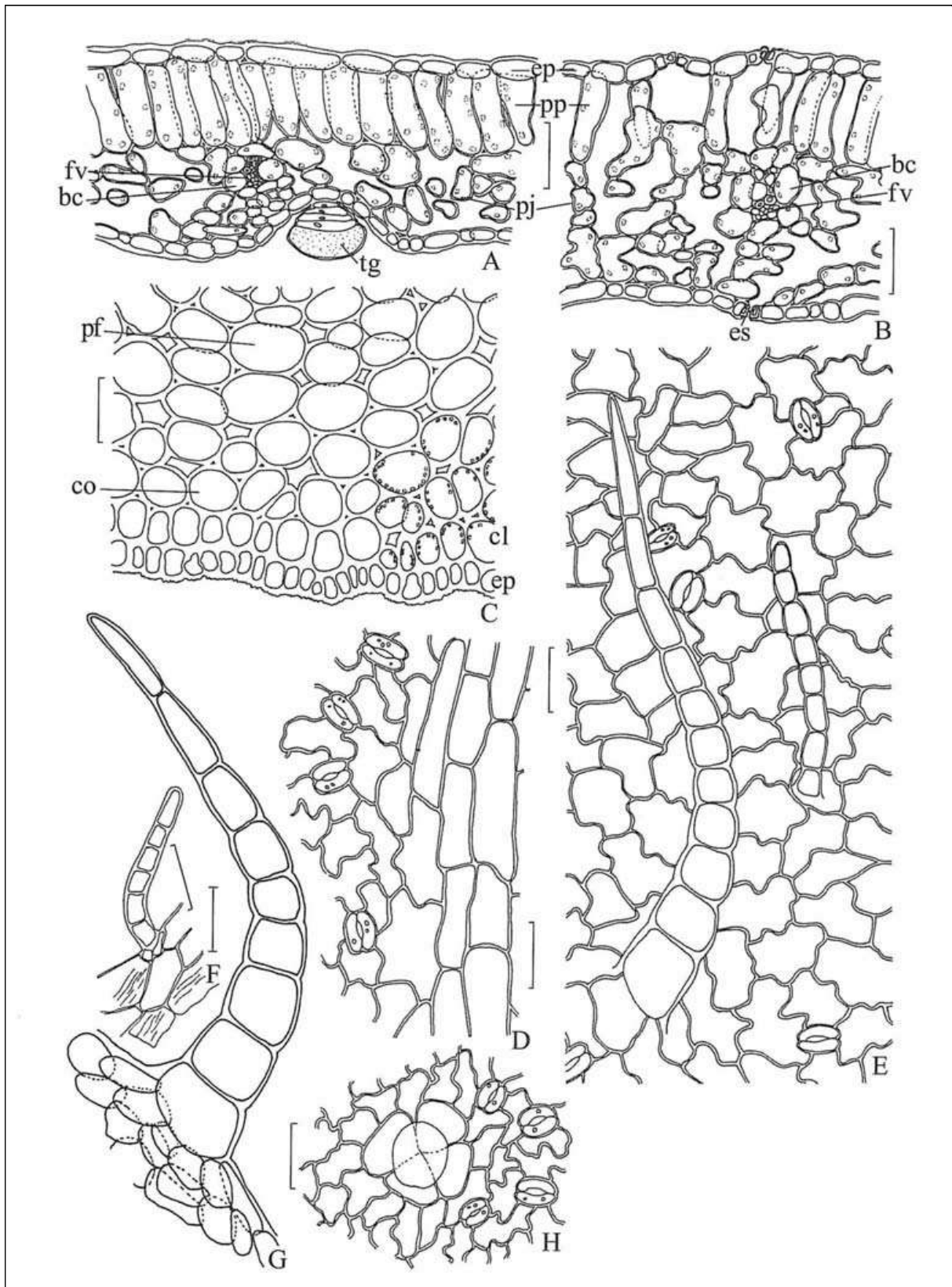


Figura 2 - Aspectos microscópicos e macroscópicos do pó em *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

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); 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.

ESTRAMÔNIO, folha *Stramonii folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Datura stramonium* L. e de suas variedades, contendo, no mínimo, 0,25% de alcaloides totais calculados em hiosciamina ($C_{17}H_{23}NO_3$, 289,37).

CARACTERÍSTICAS

A folha tem odor desagradável.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Lâmina foliar ovalada ou ovalado-triangular, lobado-sinuosa, de ápice acuminado e base assimétrica, de coloração verde-acastanhada escura a verde-acinzentada escura, torcidas e encolhidas devido à secagem, finas e frágeis, com 15 a 20 cm de comprimento e 8 a 10 cm de largura. Venação pinada, com 4-5 nervuras secundárias alternadas, côncavas na face adaxial e proeminentes na face abaxial. Pecíolo medindo até 5 cm de comprimento. Folhas jovens pubescentes sobre as nervuras.

B. Descrição microscópica

A lâmina foliar é dorsiventral e anfi-hipoestomática, com estômatos anisocíticos, raramente anomocíticos. A epiderme, em vista frontal, apresenta células poligonais, de paredes anticliniais retas a levemente ondeadas, espessas. Os tricomas tectores e glandulares são mais abundantes na face abaxial e sobre as nervuras. Os tricomas tectores são pluricelulares, unisseriados, cônicos, formados por 2-5 células alongadas de paredes finamente verrucosas; os tricomas glandulares são, em geral, curtamente pedicelados, com glândula apical ovoide ou claviforme, formada por 2-7 células. A epiderme, em secção transversal, apresenta-se uniestratificada e é recoberta por uma cutícula lisa e delgada. O mesofilo consiste de parênquima paliçádico composto de uma camada de células e de parênquima esponjoso. Entre os dois parênquimas encontram-se uma ou mais camadas de idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio. Os feixes vasculares são bicolaterais.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos de epiderme com células de paredes anticliniais retas a levemente ondeadas e com cutícula lisa; fragmentos de epiderme com estômatos anisocíticos e ou anomocíticos mais frequentes na epiderme abaxial; tricomas tectores cônicos pluricelulares unisseriados e tricomas glandulares curtos e claviformes e ou ovoides; fragmentos do parênquima paliçádico e ou esponjoso em secção transversal; fragmentos de elementos de vaso anelados e espiralados; fragmentos de parênquima com numerosos idioblastos contendo drusas.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetona, água e solução concentrada de amônia (90:7:3).

Solução amostra: a 1 g da amostra pulverizada adicionar 10 mL de ácido sulfúrico 0,05 M, agitar durante 15 minutos e filtrar. Lavar o filtro com ácido sulfúrico 0,05 M, até a obtenção de 25 mL de filtrado. Ao filtrado adicionar 1 mL de solução concentrada de amônia e agitar duas vezes com 10 mL de éter etílico isento de peróxido de cada vez. Separar por centrifugação, se necessário. Reunir as camadas etéreas, secar sobre sulfato de sódio anidro, filtrar e evaporar à secura em banho-maria. Dissolver o resíduo em 0,5 mL de metanol.

Solução referência: dissolver 50 mg de sulfato de hiosciamina em 9 mL de metanol. Dissolver 15 mg de bromidrato de escopolamina em 10 mL de metanol. Misturar 3,8 mL de solução de sulfato de hiosciamina, 4,2 mL de solução de bromidrato de escopolamina e completar com 10 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e secar em temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 15 minutos. Deixar esfriar e nebulizar a placa com iodobismutato de potássio SR2 até aparecimento de bandas alaranjadas ou castanhas sobre o fundo amarelo. Nebulizar a placa com nitrito de sódio SR até que a camada se torne transparente. Examinar após 15 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Escopolamina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
Hiosciamina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3% de caules com um diâmetro superior a 5 mm.

Água (5.2.20.2). No máximo 12,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 20%.

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

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

Alcaloides totais

Pesar cerca de 10 g da amostra pulverizada (180 µm) e umedecer com 5 mL de hidróxido de amônio. Adicionar 10 mL de etanol a 96% (v/v) e 30 mL de éter etílico isento de peróxido, misturados cuidadosamente. Transferir a mistura para um percolador, se necessário, com auxílio da solução extratora. Macerar durante 4 horas e percolar a mistura com clorofórmio e éter etílico isento de peróxidos (1:3) até extração completa dos alcaloides. Evaporar à secura 1 mL do percolado e dissolver o resíduo em ácido sulfúrico 0,25 M e verificar a ausência de alcaloides com iodeto de potássio mercúrico SR. Reduzir o volume do percolado até 50 mL e transferir para um funil de separação com auxílio de éter etílico isento de peróxidos. Ao líquido assim obtido adicionar éter etílico isento de peróxidos, 2,5 vezes o volume do percolador até a obtenção de um líquido de densidade inferior a da água. Extrair a solução, no mínimo três vezes, com 20 mL de solução de ácido sulfúrico 0,25 M, cada vez. Separar as fases, por centrifugação, se necessário, e transferir a fase ácida para outro funil de separação. Alcalinizar a fase ácida com hidróxido de amônio até pH 8,0 - 9,0 e extrair três vezes com clorofórmio, com alíquotas de 30 mL. Juntar as fases clorofórmicas e retirar a água residual, adicionando 4 g de sulfato de sódio anidro, deixar em repouso por 30 minutos, com agitação ocasional. Retirar a fase clorofórmica e lavar o sulfato de sódio restante com três alíquotas de 10 mL de clorofórmio. Reunir os extratos clorofórmicos e evaporar à secura em banho-maria. Aquecer o resíduo em estufa em temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 15 minutos. Dissolver o resíduo em 5 mL de clorofórmio, adicionar 20 mL de solução de ácido sulfúrico 0,01 M SV e remover o clorofórmio por evaporação em banho-maria. Titular o excesso de ácido com solução de hidróxido de sódio 0,02 M SV, usando vermelho de metila SI como indicador. Calcular o teor de alcaloides totais, expressos em hiosciamina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{57,88 \times (20 - n)}{(100 - d) \times m}$$

em que,

TA = teor de alcaloides totais %;

d = perda por secagem expressa em porcentagem;

n = volume em mililitros de hidróxido de sódio 0,02 *M* *SV* utilizado; e
 m = massa em gramas da tomada de ensaio.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

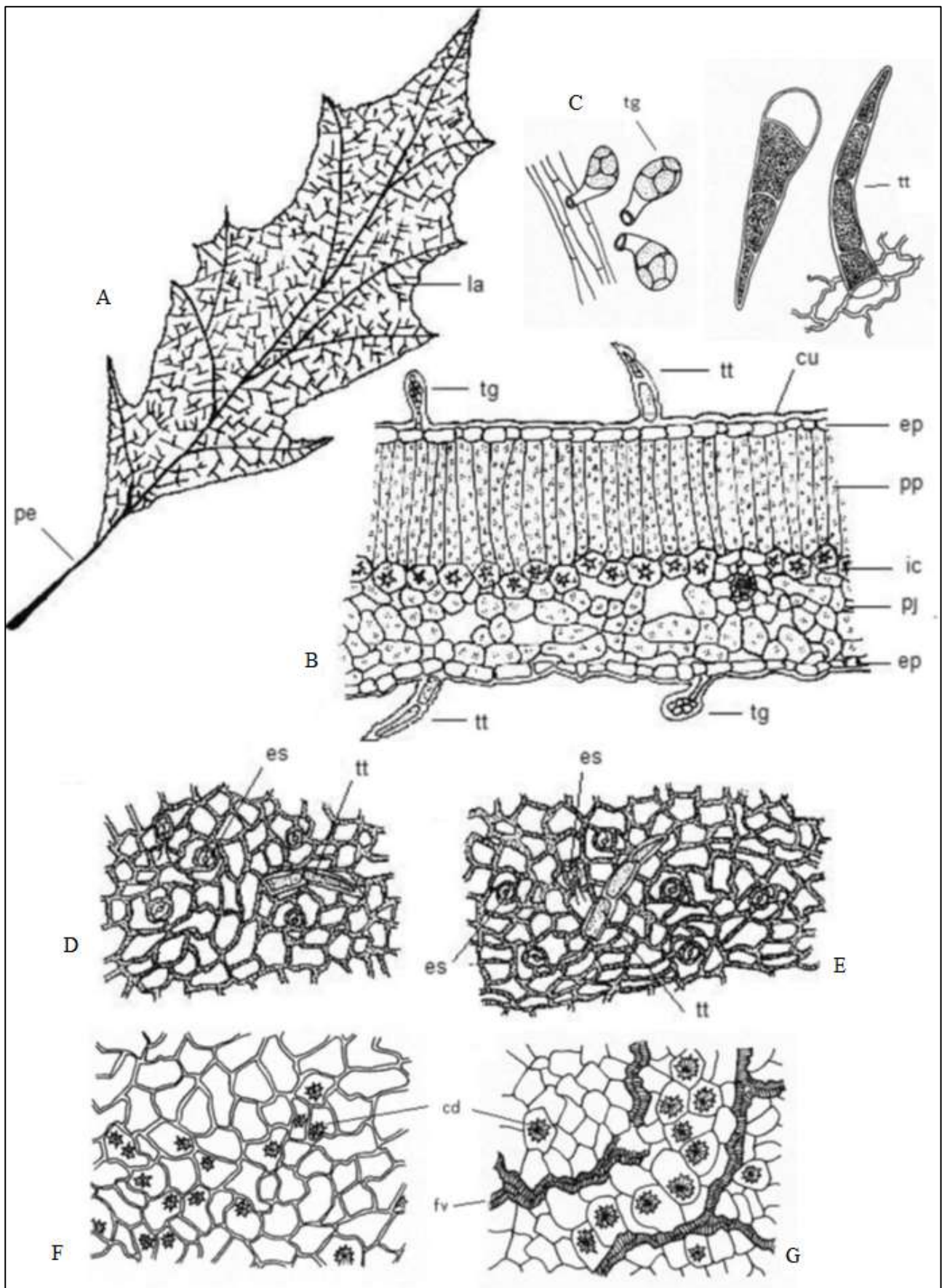


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Datura stramonium* L.

As escalas correspondências em **A** a 5 mm, em **B-D** a 20 μ m.

A. representação esquemática da folha, em vista frontal; lâmina (la); pecíolo (pe). **B.** detalhe de porção da lâmina foliar, em secção transversal; cutícula (cu); epiderme (ep); idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio (ic); parênquima

esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **C.** tricomas ou porções destes, isolados; tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **D.** detalhe de porção da epiderme voltada para a face adaxial, em vista frontal; estômato (es); tricoma tector (tt). **E.** detalhe de porção da epiderme voltada para a face abaxial, em vista frontal: estômato (es); tricoma tector (tt). **F.** fragmento da epiderme em vista frontal, na face adaxial, mostrando cristais por transparência; cristal do tipo drusa (cd). **G.** fragmento da epiderme em vista frontal, na face abaxial, mostrando cristais e porções de elementos de vaso por transparência; cristal do tipo drusa (cd); feixe vascular (fv).

GENCIANA, rizoma e raiz *Gentianae rhizoma et radix*

A droga vegetal consiste de rizomas e raízes secos e fragmentados de *Gentiana lutea* L., contendo, no mínimo, 3% de gentiopicrosídeo (C₁₆H₂₀O₉, 356,33).

CARACTERÍSTICAS

As raízes e rizomas possuem odor característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Rizomas e raízes apresentam-se em fragmentos cilíndricos de diferentes tamanhos. Em regra, os rizomas são maiores do que as raízes, atingindo até 6 cm de diâmetro. Externamente os rizomas têm cor castanho-amarelada a cinza-amarelada e apresentam fendas longitudinais e numerosos sulcos anelares, marcados por fileiras de pequenas cicatrizes. As raízes são torcidas ou arqueadas, com profundas estrias longitudinais e cicatrizes pequenas e ovais, oriundas de ramificações secundárias. Rizomas e raízes intumescem consideravelmente em contato com a umidade, tornando-se flexíveis. A fratura não é farinácea, nem fibrosa, e possui cor amarelada com manchas avermelhadas. Em secção transversal, o rizoma apresenta a zona cortical nitidamente demarcada por uma região externa suberosa, com linhas mais escuras, a qual ocupa 1/3 da secção. O cilindro central, de cor castanho-amarelada, é poroso e exhibe finas estrias radiais.

B. Descrição microscópica

As células do súber, em secção transversal, possuem paredes delgadas, castanho-amareladas e estão dispostas em quatro a oito camadas. Abaixo seguem várias camadas, externamente colênquima e internamente parênquima de células tangencialmente alongadas, contendo gotas lipídicas e cristais de oxalato de cálcio na forma de ráfides. Esta região se confunde gradualmente com o parênquima cortical. O sistema vascular é separado da zona cortical por um câmbio bem desenvolvido. No floema, destacam-se pequenos grupos de elementos de tubo crivado, além de células de parênquima. O xilema é predominantemente parenquimático e apresenta elementos de vaso dispersos, com paredes mostrando espessamentos anelado, helicoidal ou reticulado. Os elementos de vaso ocorrem isoladamente ou em pequenos grupos. A medula do rizoma é parenquimática e bem desenvolvida. Nas células do parênquima encontram-se gotas lipídicas e cristais aciculares ou prismas delgados de oxalato de cálcio. O amido é quase completamente ausente. Em estrutura secundária, a anatomia da raiz é semelhante à do rizoma. O floema secundário e o xilema secundário são separados por nítido câmbio e apresentam uma estrutura porosa com poucos raios parenquimáticos.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração amarelada a amarelo-castanho; fragmentos de células com gotas lipídicas; cristais prismáticos ou na forma de ráfides e gotas lipídicas livres; fragmentos contendo células parenquimáticas; são raramente visíveis elementos de vaso lignificados. Fibras e esclereídes ausentes.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (77:15:8).

Solução amostra: adicionar 10 mL de metanol em 1 g da droga moída (355) (5.2.11) e agitar durante 20 minutos. Filtrar e secar até resíduo em banho-maria em temperatura não superior a 50 °C. Suspender o resíduo em 2,5 mL de metanol e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): preparar uma solução a 280 µg/mL de gentiopicrosídeo em metanol.

Solução referência (2): preparar uma solução a 1200 µg/mL de amarogentina em metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução referência (1)* e 20 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 1 minuto.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Amarogentina: zona de coloração castanha	Zona de coloração castanha de fraca intensidade
Gentiopicrosídeo: zona de coloração castanha	Zona de coloração castanha
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Perda por dessecação (5.4.2.2.3). *Método gravimétrico.* No máximo 12%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 4%.

Índice de amargor (5.4.1.10). No mínimo 10 000.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Gentiopicrosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 272 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm), mantida à temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido trifluoracético (100:0,006).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 10	95 → 72	5 → 28	gradiente linear
10 - 14	72 → 80	28 → 20	gradiente linear
14 - 16	80 → 95	20 → 5	gradiente linear
16 - 20	95	5	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga vegetal seca e moída (355) (5.2.11) em tubo de centrífuga de 50 mL. Adicionar 6 mL de etanol a 70% (v/v), uma barra magnética, e agitar durante 30 minutos. Centrifugar o conjunto por 7 minutos a 2000 × g. Transferir o líquido sobrenadante, quantitativamente, para balão volumétrico de 10 mL, com auxílio de pipeta de Pasteur. Extrair novamente o resíduo da droga com 4 mL de etanol a 70% (v/v), e agitar durante 10 minutos. Centrifugar e transferir o líquido sobrenadante para o mesmo balão volumétrico de 10 mL. Completar o volume para 10 mL com etanol a 70% (v/v).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de gentiopicrosídeo em metanol para obter solução a 0,32 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 5 µL da *Solução referência* e 5 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir a área sob o pico referente ao gentiopicrosídeo. O tempo de retenção médio é de aproximadamente 8 minutos. Calcular o teor de gentiopicrosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TG = \frac{C_r \times A_a \times 10 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TG = teor de gentiopicosídeo % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* g/mL,

A_r = área sob o pico correspondente ao gentiopicosídeo na *Solução referência*;

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

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

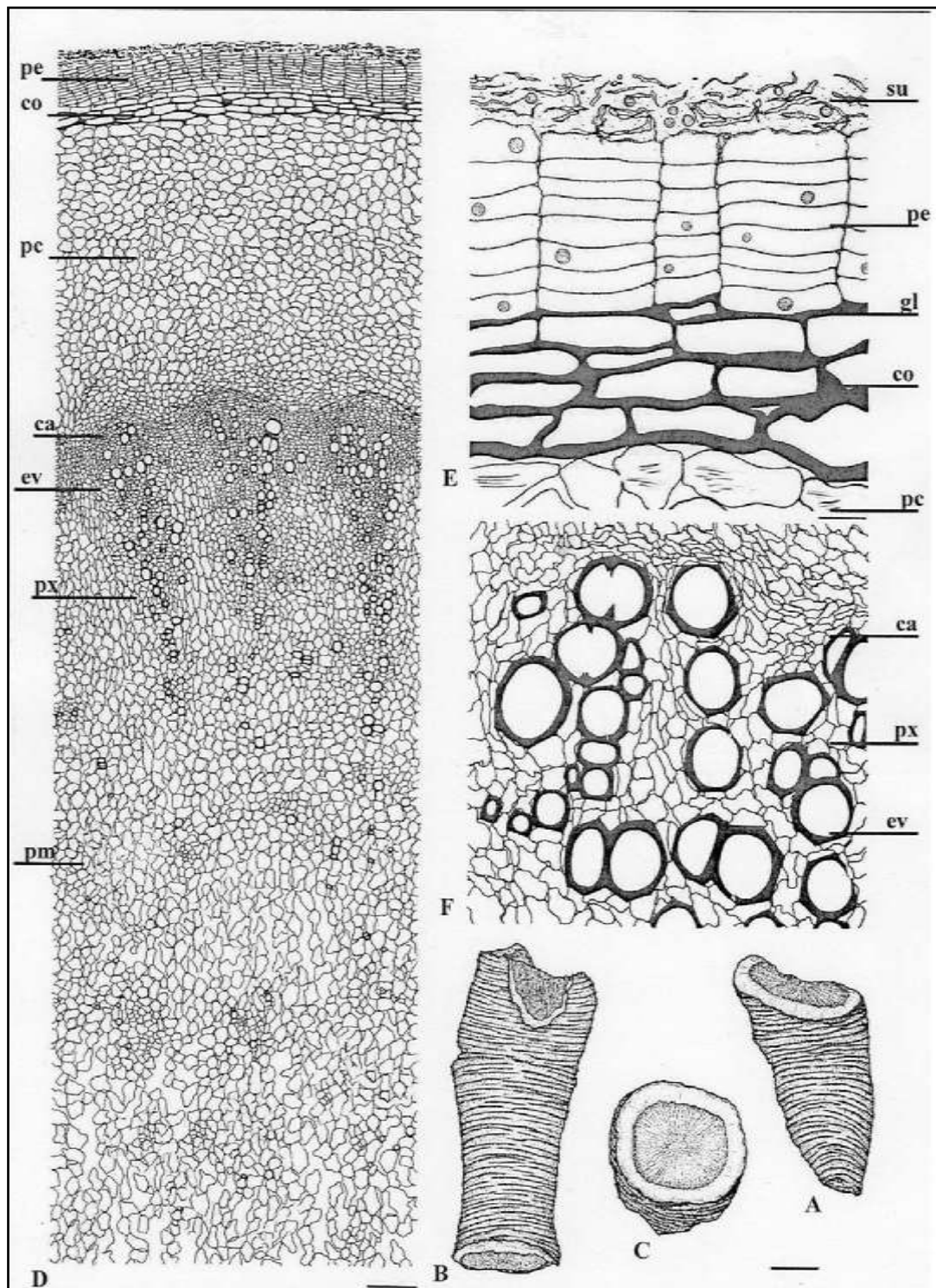


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Gentiana lutea* L.

As escalas correspondem: em A até C a 2 cm, em D a 150 μ m, em E e F a 50 μ m.

A e B - aspecto geral dos rizomas. **C** - aspecto geral do rizoma em secção transversal. **D** - detalhe de uma porção do rizoma em secção transversal; câmbio (ca); colênquima (co); elementos de vaso (ev); parênquima cortical (pc); periderme (pe); parênquima medular (pm); parênquima do xilema (px). **E** - detalhe evidenciando a região do súber com sua porção colenquimática e parenquimática; colênquima (co); gotas lipídicas (gl); parênquima cortical (pc); periderme (pe); súber (su). **F** - detalhe do xilema evidenciando vasos xilemáticos; câmbio (ca); elementos de vaso (ev); parênquima do xilema (px).

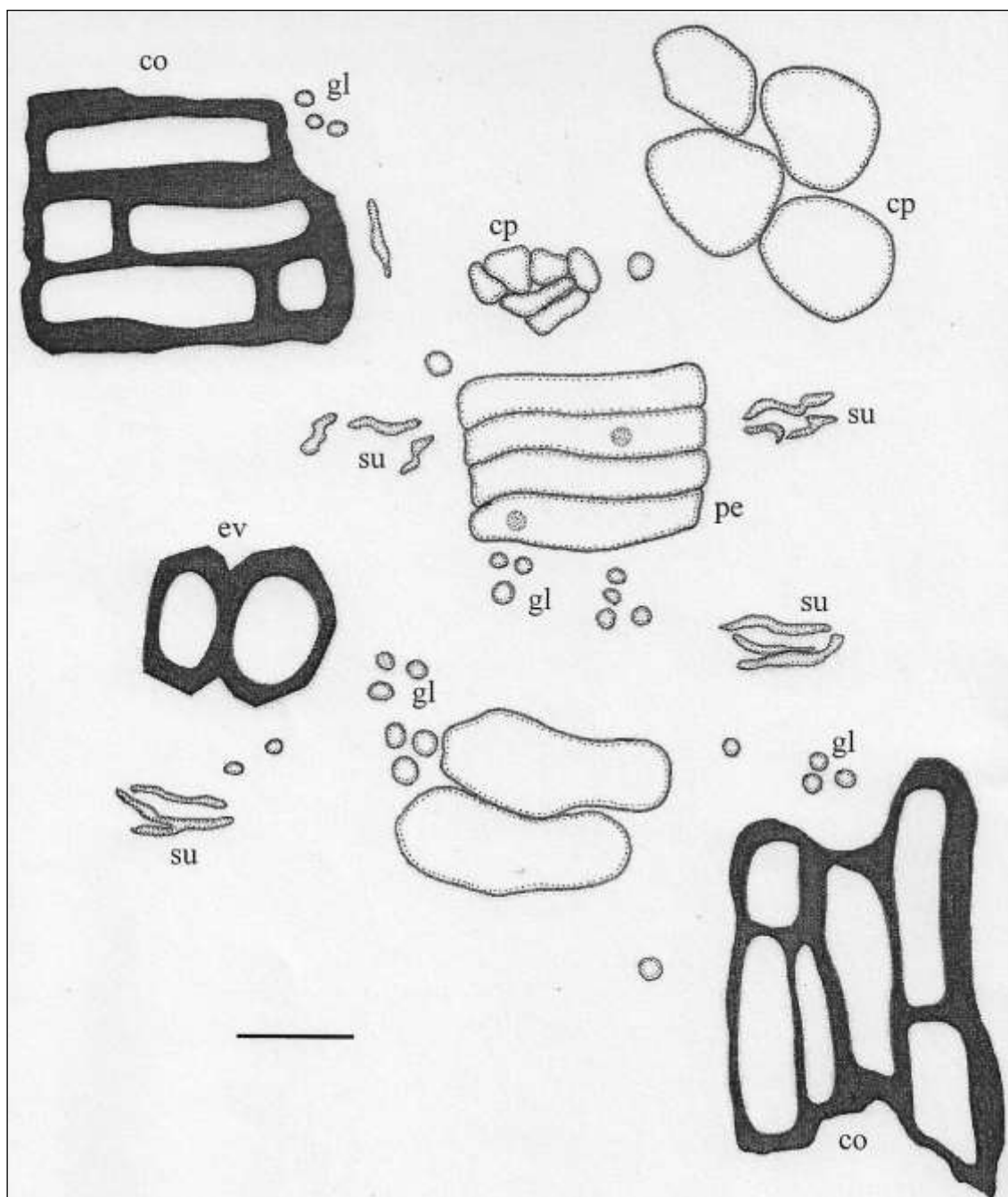


Figura 2 - Aspectos microscópicos do pó em *Gentiana lutea* L.

A escala corresponde a 50 µm.

Aspecto geral da droga em pó: colênquima (co); células de parênquima (cp); elementos de vaso (ev); gotas lipídicas (gl); porções de periderme (pe); porções de súber (su).

GUARANÁ, semente *Paulliniae semen*

A droga vegetal consiste de sementes secas, desprovidas de arilo e tegumento (casquilho) de *Paullinia cupana* Kunth, contendo, no mínimo, 4% de taninos totais, no mínimo, 5% de metilxantinas, e, no mínimo, 3,5% de cafeína (C₈H₁₀N₄O₂, 194,19).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A semente é globosa, quando única no fruto, ou subglobosa a elipsoide e levemente comprimida lateralmente, quando duas ou três no fruto, desigualmente convexas nos dois lados, geralmente apresentando uma curta projeção apical. Em regra tem 0,6 a 0,8 cm de diâmetro e é coberta por um tegumento, denominado de casquilho, que deve ser descartado. A semente sem o tegumento é exalbuminada e contém dois grandes cotilédones carnosos, espessos e firmes, desiguais, plano-convexos, de coloração castanho-escuro. A cicatriz do arilo mantém-se nos cotilédones e é enegrecida. O embrião é pouco desenvolvido e possui um curto eixo radículo-caulinar inferior.

B. Descrição microscópica

Os cotilédones apresentam externamente uma epiderme unisseriada, formada por células alongadas tangencialmente, seguida por um parênquima cotiledonar de células arredondadas ou arredondado-poliédricas, de 40 a 80 µm de diâmetro. Contém grãos de amido simples e compostos, de formas variadas, globosos, poligonais, ovalados ou elípticos, de 10 a 25 µm de diâmetro. O hilo é central e por vezes ramificado. A maioria dos grãos encontra-se aglutinada e deformada devido ao aquecimento durante a dessecação.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: coloração castanho-clara a castanho-avermelhada; porções de células do parênquima cotiledonar, em geral isodiamétricas, amareladas, com ou sem massas de grãos de amido aglutinados; grãos de amido isolados, com hilo central; massas de grãos de amido aglutinados. Fragmentos do tegumento, quando presentes até o limite permitido, formados por células em paliçada de paredes muito espessas e pouco pontoadas, sinuosas em vista frontal; células pétreas agrupadas ou isoladas.

D. Descrição macroscópica das impurezas

O tegumento, se presente como impureza, denominado de casquilho, apresenta testa brilhante, glabra, castanho-avermelhada ou pardo-negra, com um largo hilo guarnecido de um arilo carnosos, membranoso e esbranquiçado, que cobre a semente até, no máximo, sua porção mediana. Na ocasião da coleta ou dessecação, o arilo é retirado, deixando uma cicatriz de coloração pardo-creme opaca, em forma de cúpula, que ocupa até 1/3 do eixo longitudinal da semente. Na dessecação, o tegumento torna-se quebradiço e separa-se facilmente dos cotilédones.

E. Descrição microscópica das impurezas

O tegumento, se presente como impureza, apresenta, em secção transversal, uma epiderme formada por grandes células, dispostas em paliçada, de paredes espessas, com poucas pontoações. Estas apresentam paredes sinuosas, em vista frontal. Abaixo da epiderme encontram-se várias camadas de um parênquima com células irregularmente espessadas, de aparência parda. Ocorrem numerosas células pétreas, de paredes nitidamente pontoadas.

Caracterização da presença de taninos

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, tolueno e ácido fórmico (7:3:0,5).

Solução amostra: pesar 1 g da droga moída e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 20 mL de água e aquecer, sob refluxo, durante 15 minutos. Filtrar em algodão e concentrar 4 mL do filtrado à secura em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol.

Solução referência: solução a 1 mg/mL de catequina em metanol.

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. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 3 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração castanha (catequina)
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Caracterização da presença de metilxantinas

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (10:1,4:1).

Solução amostra: agitar 1 g da droga em 3 mL de hidróxido de amônio a 25% e 40 mL de diclorometano durante 15 minutos. Filtrar e levar à secura uma alíquota de 5 mL, em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de metanol e proceder a análise cromatográfica.

Solução referência: solução a 1 mg/mL de cafeína em metanol.

Revelador (1): solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em etanol.

Revelador (2): iodo SR.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 5 a 10 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em etanol, e, em seguida, com solução de iodo SR.

Resultados: no esquema abaixo estão representada a sequência de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Cafeína: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração pardo-castanha (cafeína)
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9). *Método gravimétrico.* No máximo 12%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3%, incluindo o casquilho.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 2%, incluindo o casquilho.

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.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga moída, transferir para erlenmeyer e adicionar 150 mL de água. Aquecer até fervura e manter em banho-maria à temperatura de 80 °C a 90 °C, durante 30 minutos. Resfriar em água corrente, transferir, quantitativamente, a mistura para balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Deixar decantar o sedimento e filtrar em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância em 691 nm (A_1), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: adicionar 0,2 g de pó de pele a 20 mL da *Solução estoque* e agitar mecanicamente durante 60 minutos. Filtrar. Diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância da solução em 691 nm (A_2), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver 50 mg de pirogalol em água, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água. Diluir 5 mL dessa solução em balão volumétrico de 100 mL com água. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR e diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR. Determinar a absorvância da solução em 691 nm (A_3), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente e dentro de 15 minutos da dissolução do pirogalol, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = taninos totais % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação; e

m_2 = massa em gramas, de pirogalol.

Metilxantinas

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da droga pulverizada (500) (5.2.11). Extrair com 20 mL de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v), com agitação mecânica, durante 15 minutos. Repetir a extração quatro vezes. Filtrar e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume

com o ácido sulfúrico a 2,5% (v/v). Transferir uma alíquota de 1 mL desta solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com ácido sulfúrico a 2,5% (v/v).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de cafeína em ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) para obter solução a 500 µg/mL.

Procedimento: determinar a absorvância da *Solução amostra* e da *Solução referência* em 272 nm, utilizando solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) para ajuste do zero. Calcular o teor de metilxantinas, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TM = \frac{A_a \times C_r}{A_r \times m \times 10}$$

em que,

TM = teor de metilxantinas % (p/p);

A_a = absorvância medida para a *Solução amostra*;

A_r = absorvância medida para a *Solução referência*;

C_r = concentração da *Solução referência* em µg/mL; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

Cafeína

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 272 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilfenil (4 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: água, metanol e ácido trifluoracético (70:30:0,005).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga vegetal seca e moída (500) (5.2.11) em balão de fundo redondo. Adicionar 15 mL de etanol a 70% (v/v), levar ao banho-maria a temperatura de 90 °C, sob refluxo, durante 30 minutos. Após resfriamento, filtrar a solução em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Extrair novamente o resíduo da droga retida no balão de fundo redondo e no algodão com 10 mL de etanol a 70% (v/v), sob refluxo, durante 10 minutos. Após resfriamento, filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com etanol a 70% (v/v).

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de cafeína em metanol para obter solução a 130 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e 10 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção médio para o pico da cafeína é de 8,5 minutos. Calcular o teor de cafeína, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{C_r \times A_a \times 25 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TC = teor de cafeína % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL;

A_a = área sob o pico correspondente à cafeína na *Solução amostra*;
 A_r = área sob o pico correspondente à cafeína na *Solução referência*; e
 m = massa em gramas da amostra, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

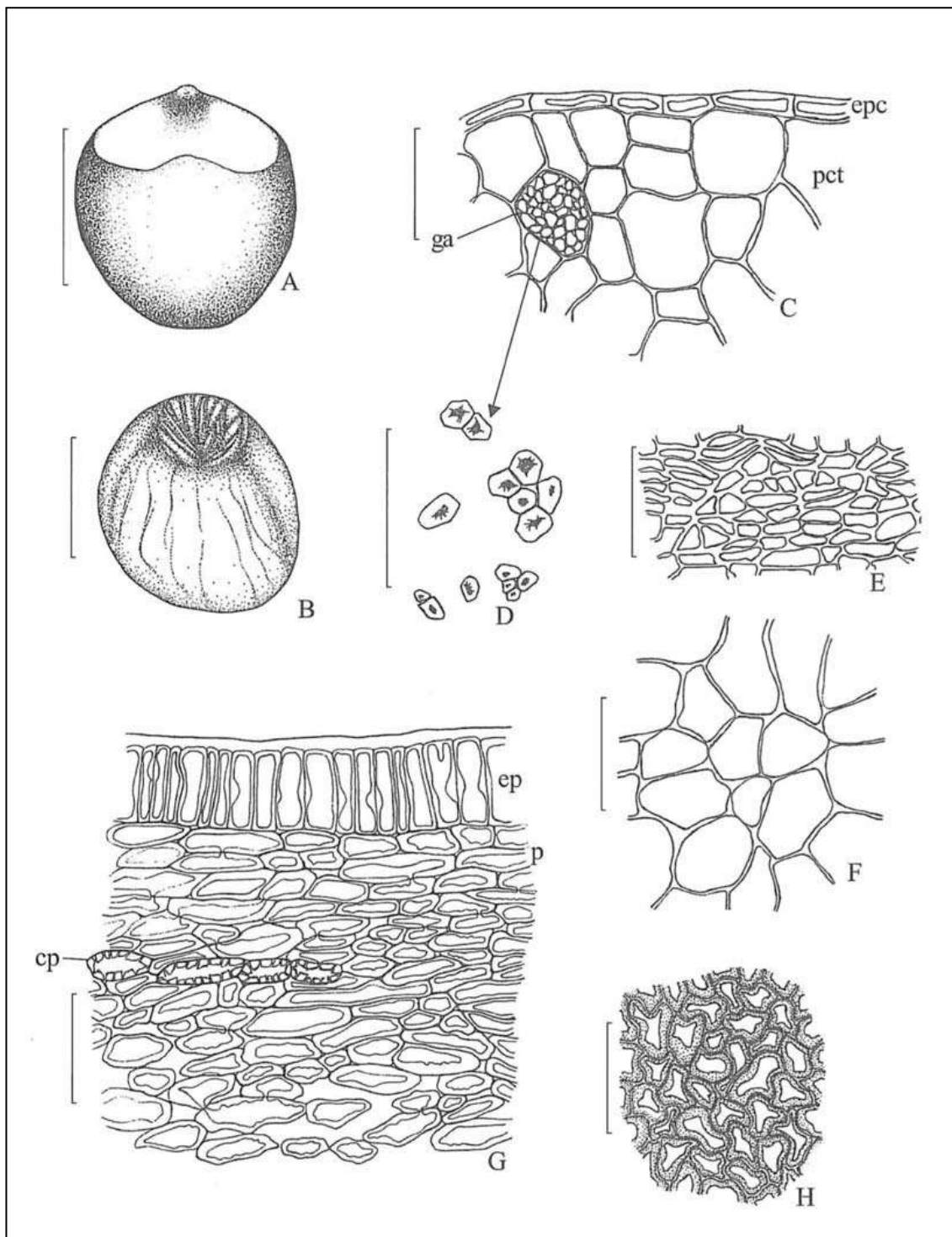


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Paullinia cupana* Kunth

As escalas correspondem: em A e B (4 mm), em C até H (100 μ m).

A – aspecto geral da semente. **B** – aspecto geral dos cotilédones. **C** – secção transversal da porção externa de um cotilédone; epiderme cotiledonar (epc); célula contendo grãos de amido (ga); parênquima cotiledonar (pct). **D** – detalhe dos grãos de amido. **E** – células epidérmicas dos cotilédones em vista frontal. **F** – células parenquimáticas dos cotilédones. **G** – detalhe da secção transversal do tegumento da semente; células pétreas (cp); epiderme do tegumento (ep); parênquima (p). **H** – células epidérmicas do tegumento em vista frontal.

HAMAMELIS, tintura

Hamamelidis tinctura

A tintura é obtida a partir das folhas de *Hamamelis virginiana* L., contendo, no mínimo, 0,6% de taninos totais, expressos em pirogalol (C₆H₆O₃, 126,11).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por maceração ou percolação, utilizando etanol a 65% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido de coloração castanho-amarelada.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄ (0,25 mm).

Fase móvel acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (60:20:15:15).

Solução amostra: reduzir 5 mL da tintura de hamamelis a resíduo seco em banho-maria. Retomar o resíduo em 10,0 mL de água. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 10 mL de acetato de etila em funil de separação de 125 mL. Deixar em repouso em freezer a -18 °C por 15 minutos, para total separação das fases. Reunir as fases orgânicas e lavar com 20 mL de água.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1,0 mL de metanol.

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 2,0 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência (1)* e 10 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar em capela de exaustão. A seguir, nebulizar a placa com cloreto férrico a 1% (p/v) em metanol.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<p>Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada Catequina: zona de coloração azul-acinzentada</p>	<p>Zona de coloração amarela Zona de coloração azul-acinzentada Zona de coloração azul-acinzentada</p> <p>Zona de coloração castanho-amarelada</p> <p>Zona de coloração castanho-amarelada</p>
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,902 a 0,914.

Etanol (5.3.3.8). 58% (v/v) a 62% (v/v).

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 1,2%.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 1,5 g de tintura de hamamelis em um balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água destilada e homogeneizar. Filtrar a mistura em papel de filtro. Rejeitar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com água. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL da *Solução estoque*, adicionar 0,100 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Diluir 5 mL do filtrado em balão volumétrico de 25 mL com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos, expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos expressos em pirogalol % (p/p);

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

HIDRASTE, rizoma e raiz *Hydrastidis rhizoma et radix*

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

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

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

B. Descrição microscópica

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

C. Descrição microscópica do pó

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

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

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

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

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

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

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Berberina: zona de fluorescência amarela Hidrastina: zona de fluorescência azul escuro	Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência azul escuro Zona de fluorescência azul-clara Zona de fluorescência azul escuro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Água (5.4.1.4). No máximo 10%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 8%.

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 235 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano e coluna de 75 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3,5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,30 mL/minuto.

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

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

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

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

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

Adequabilidade do sistema

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

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

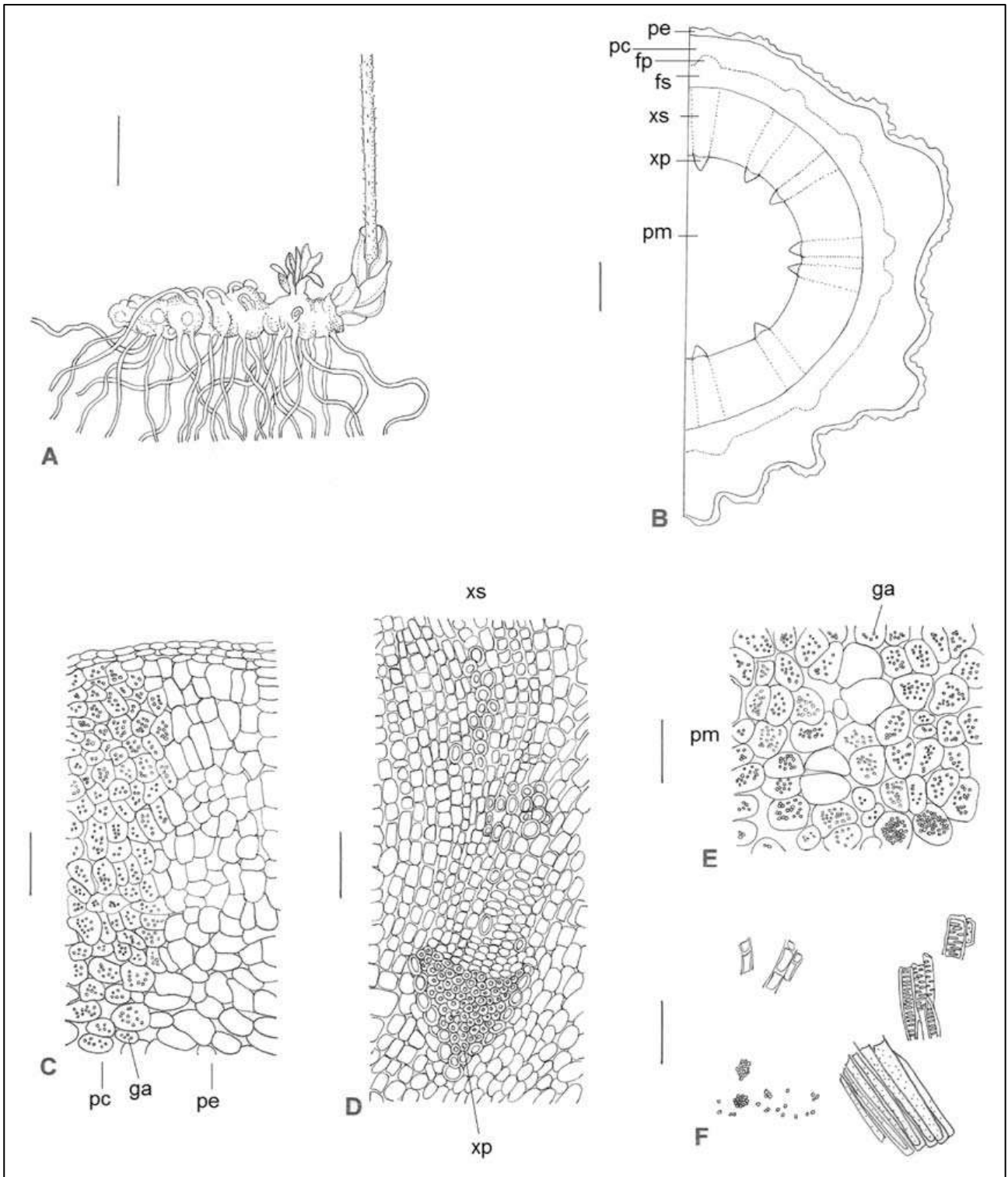


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Hydrastis canadensis* L.

As escalas correspondem em **A** a 100 mm, em **B** a **F** a 100 μ m.

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

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

HORTELÃ-PIMENTA, folha *Menthae piperitae folium*

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

CARACTERÍSTICAS

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

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

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

B. Descrição microscópica

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

C. Descrição microscópica do pó

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

D. Descrição macroscópica das impurezas

Os caules, ramos, flores, frutos e sementes da própria espécie, se presentes como impureza, caracterizam-se por apresentar: caule quadrangular com costelas bem definidas até o quarto nó, ramificado, na maioria das variedades, vinoso quando adulto, verde-claro quando jovem e esbranquiçado nos nós basais; tricomas não visíveis a olho nu; flores reunidas em inflorescências espigadas; cálice glabro, com cinco dentes; corola rosado-violácea ou branca, com quatro lobos, o superior alargado; estames quatro, didínamos, inclusos na corola; ovário súpero, tetralobado, estilete ginobásico; sementes raras, estéreis.

E. Descrição microscópica da impureza correspondente ao caule

Os caules da própria espécie, se presentes como impureza, apresentam, em estrutura secundária e em secção transversal, cutícula espessa e estriada, epiderme uniestratificada, de células poligonais, com ou sem idioblastos de areia cristalina; tricomas e estômatos raros; colênquima angular, formado por uma a muitas camadas na região das costelas; clorênquima com até dez camadas, com esclereídes isolados e com idioblastos de areia cristalina; endoderme com estrias de Caspary evidentes e sem grãos de amido; floema com ou sem fibras isoladas ou em pequenos grupos; zona cambial evidente; xilema esclerificado ou não; gotas de óleo em todos os tecidos, exceto no câmbio e no xilema; parênquima medular desenvolvido.

F. Falsificações ou adulterantes

Mentha crisper L. quando presente se diferencia pelos tricomas glandulares com cabeça de doze células e tricomas tectores de paredes finas e de uma a seis células.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (95:5).

Solução amostra: agitar 0,2 g da droga vegetal, recentemente pulverizada, com 2 mL de cloreto de metileno. Filtrar. Evaporar à secura a temperatura de 40 °C e dissolver o resíduo em 0,1 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 50 mg de mentol, 20 µL de 1,8-cineol, 10 mg de timol e 10 µL de acetato de mentila em tolueno e completar a 10 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 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 anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 a 10 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Acetato de mentila: zona de coloração azul-violeta	Zona de coloração azul-violeta
Timol: zona de coloração rósea	Zona de coloração rósea
1,8-Cineol: zona de coloração azul a violeta	Zona de coloração azul a violeta
Mentol: zona de coloração azul intenso a violeta	Zona de coloração azul intenso a violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 10% de caules quadrangulares, glabros ou com tricomas tectores; escassos fragmentos de caules reconhecidos pelas fibras, além de numerosos elementos de vaso, fragmentos de flores como os descritos.

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 15,0%.

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 1,5%.

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

Óleo volátil

Proceder conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*. Utilizar balão de 500 mL contendo 200 mL de água como líquido de destilação. Adicionar 0,5 mL de xileno

pela abertura k. Utilizar planta seca rasurada. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga. Destilar por 4 horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

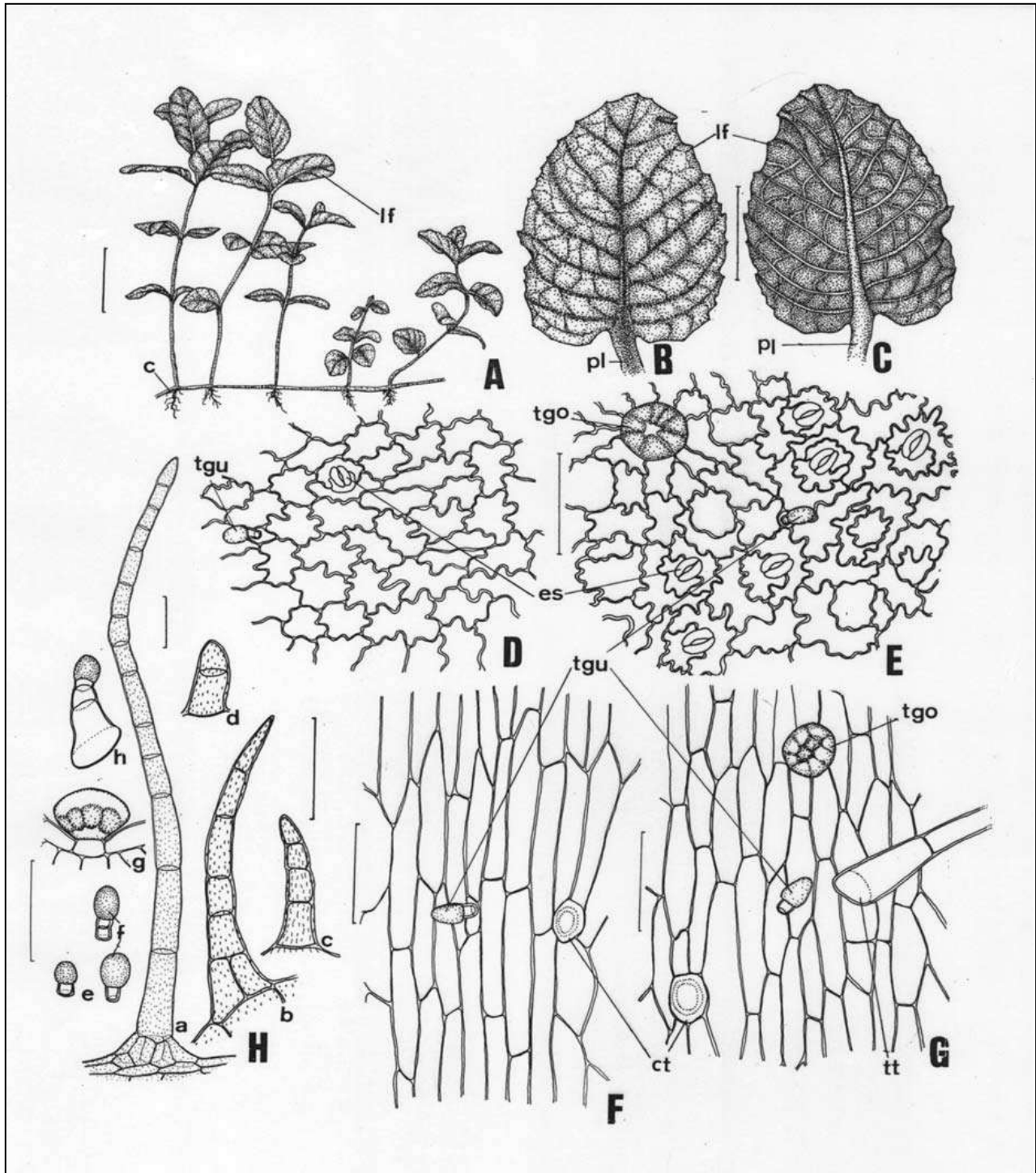


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Mentha x piperita* L.

As escalas correspondem em A a 2,5 cm; em B e C a 1 cm; em D, E, F, G e H a 100µm.

A – aspecto geral de um ramo: caule (c); lâmina foliar (lf). B – vista da face adaxial de uma folha: lâmina foliar (lf); pecíolo (pl). C – vista da face abaxial de uma folha: lâmina foliar (lf); pecíolo (pl). D – detalhe de uma porção da face

adaxial da epiderme da lâmina foliar, na região intercostal, em vista frontal: estômato (es); tricoma glandular com cabeça unicelular (tgu). **E** – detalhe de uma porção da face abaxial da epiderme da lâmina foliar, na região intercostal, em vista frontal: estômato (es); tricoma glandular com cabeça octacelular (tgo); tricoma glandular com cabeça unicelular (tgu). **F** – detalhe de uma porção da face adaxial da epiderme da lâmina foliar, sobre a nervura principal, em vista frontal: cicatriz do tricoma tector (ct); tricoma glandular com cabeça unicelular (tgu). **G** – detalhe de uma porção da face abaxial da epiderme da lâmina foliar, sobre a nervura principal, em vista frontal: cicatriz do tricoma tector (ct); tricoma glandular com cabeça octacelular (tgo); tricoma glandular com cabeça unicelular (tgu); tricoma tector (tt). **H** – tricomas: detalhe de um tricoma tector pluricelular unisseriado, com coroa de células basais, em vista lateral (a); detalhe de um tricoma tector pluricelular unisseriado, com a base bisseriada, em vista lateral (b); detalhe de um tricoma tector tetracelular unisseriado, em vista lateral (c); detalhe de um tricoma tector bicelular unisseriado, em vista lateral (d); detalhe de tricoma glandular de cabeça arredondada e pedicelo unicelular, em vista lateral (e); detalhe de tricomas glandulares de cabeça unicelular elíptica, pedicelo unicelular ou bicelular e unisseriado, em vista lateral (f); detalhe de tricoma glandular, com cabeça secretora octacelular, em vista lateral (g); detalhe de tricoma glandular de cabeça unicelular, pedicelo tricelular e unisseriado, em vista lateral (h).

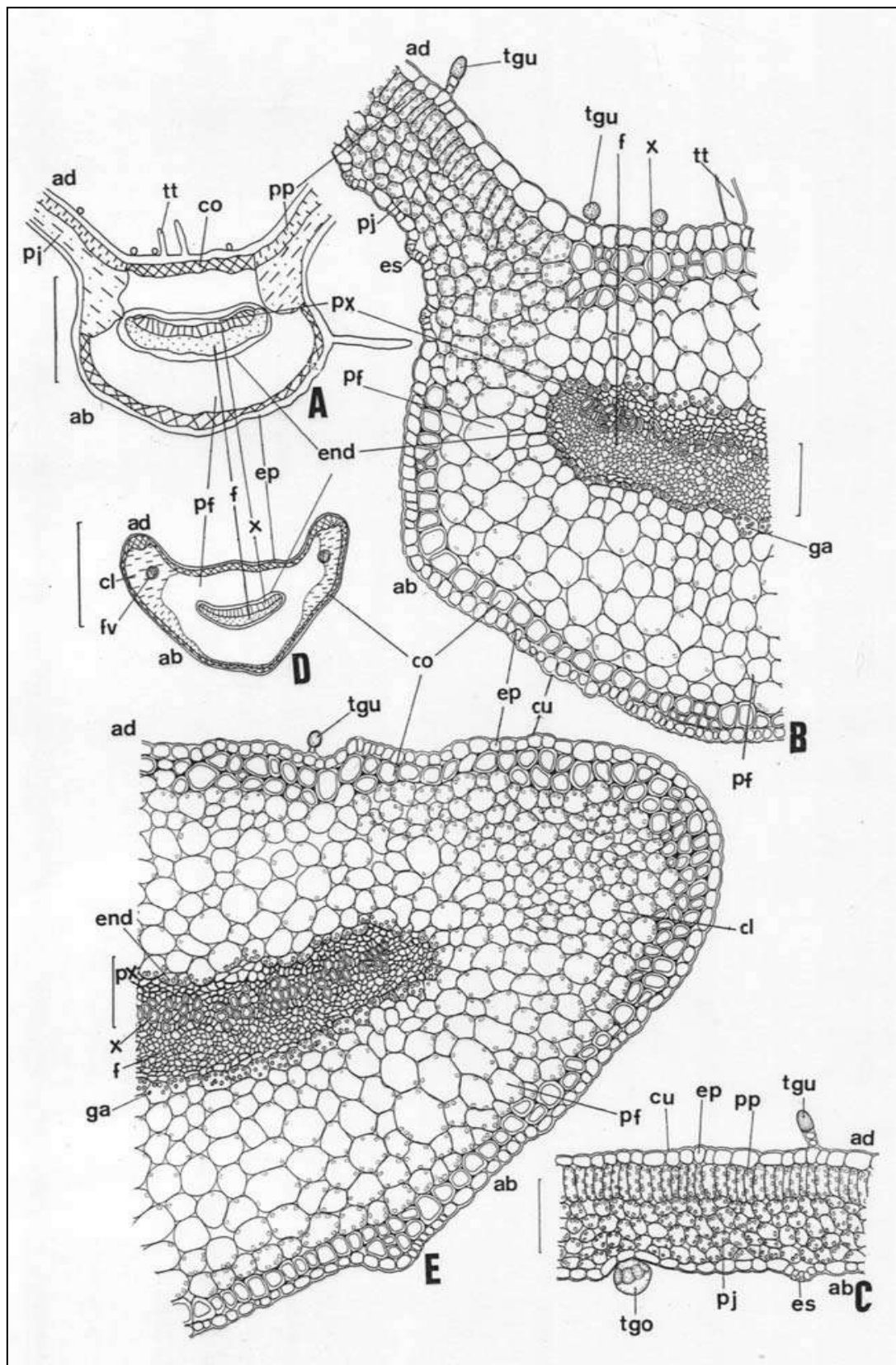


Figura 2 – Aspectos microscópicos em *Mentha x piperita* L.

As escalas correspondem em **A** a 400 μm ; em **B**, **C** e **E** a 100 μm ; em **D** a 1000 μm .

A – representação esquemática do aspecto geral da região da nervura principal e de porção da região intercostal, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); parênquima esponjoso (pj); tricoma tector (tt); colênquima (co); parênquima paliçádico (pp); parênquima do xilema (px); endoderme (end); epiderme (ep); xilema (x); floema (f); parênquima fundamental (pf). **B** – detalhe da região da nervura principal e de porção da região intercostal, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); parênquima paliçádico (pp); tricomas glandulares com cabeça unicelular (tgu); parênquima esponjoso (pj); floema (f); xilema (x); tricoma tector (tt); estômato (es); parênquima do xilema (px);

parênquima fundamental (pf); endoderme (end); colênquima (co); epiderme (ep); cutícula (cu); grão de amido (ga). **C** – detalhe da lâmina foliar na região intercostal, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); tricomas glandulares com cabeça unicelular (tgu); parênquima paliçádico (pp); epiderme (ep); cutícula (cu); estômato (es); parênquima esponjoso (pj); tricoma glandular com cabeça octacelular (tgo). **D** – representação esquemática do aspecto geral do pecíolo, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); floema (f); xilema (x); epiderme (ep); endoderme (end); colênquima (co); feixe vascular (fv); clorênquima (cl); parênquima fundamental (pf). **E** – detalhe de porção do pecíolo, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); tricomas glandulares com cabeça unicelular (tgu); colênquima (co); epiderme (ep); cutícula (cu); clorênquima (cl); parênquima fundamental (pf); grão de amido (ga); floema (f); xilema (x); parênquima do xilema (px); endoderme (end).

HORTELÃ-PIMENTA, óleo *Menthae piperitae aetheroleum*

Óleo volátil obtido, por hidrodestilação, a partir das partes aéreas, recentemente coletadas, de *Mentha x piperita* L., contendo, no mínimo, 35,0% de mentol.

CARACTERÍSTICAS

Líquido incolor, amarelo pálido ou amarelo esverdeado pálido, com odor característico semelhante ao mentol.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: tolueno e acetato de etila (95:5).

Solução amostra: diluir 0,1 mL do óleo volátil em 10 mL de tolueno.

Solução referência: dissolver 50 mg de mentol SQR, 20 µL de 1,8-cineol, 10 mg de timol e 10 µL de acetato de mentila em tolueno, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 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 anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 5 a 10 minutos. Examinar imediatamente sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Acetato de mentila: zona de coloração azul-violeta	Zona de coloração azul-violeta
Timol: zona de coloração rósea	Zona de coloração rósea
1,8-Cineol: zona de coloração azul a violeta	Zona de coloração azul a violeta
Mentol: zona de coloração azul intenso a violeta	Zona de coloração azul intenso a violeta
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,900 a 0,916.

Índice de refração (5.2.6). 1,457 a 1,467.

Poder rotatório (5.2.8). -30° a -10° .

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo, 1,4. Determinar em 5 g de óleo volátil, diluídos em 50 mL de mistura de solventes.

Perfil cromatográfico. 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 1 mL/minuto.

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
Coluna	0 – 80	60 → 300
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: diluir o óleo volátil 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. Os índices de retenção relativo dos constituintes do óleo são calculados em relação a uma série homóloga de hidrocarbonetos e comparados com amostras de referência. Determinar as concentrações relativas por normalização (integração manual ou eletrônica).

Calcular o Índice de Retenção Relativo (IRR), segundo a expressão:

$$\text{IRR} = 100 \times n + \frac{100 \times (\text{tr}_x - \text{tr}_z)}{(\text{tr}_{z+1} - \text{tr}_z)}$$

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativo;

n = número de átomos de carbono do alcano com tempo de retenção imediatamente anterior ao constituinte “x” a ser caracterizado;

tr_x = tempo de retenção do constituinte “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano imediatamente anterior ao constituinte “x”; e

tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n +1” carbonos (imediatamente posterior ao constituinte “x”).

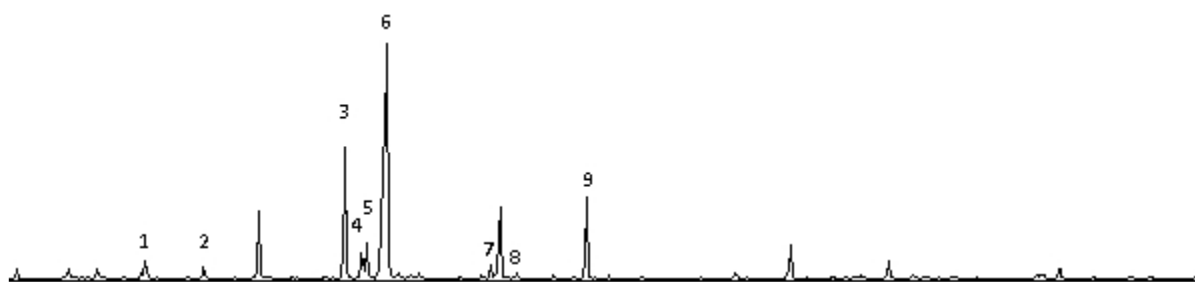


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo, obtido com o óleo volátil de *Mentha x piperita* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue:

Pico	Índice de Retenção	Constituinte	Teor (%)
1	1023	limoneno	0,5 – 5,0
2	1025	1,8-cineol	0,5 – 13,0
3	1147	mentona	6,0 – 30,0
4	1156	isomentona	2,0 – 10,0
5	1160	neo-mentol	2,0 – 3,5
6	1165	mentol	35,0 – 79,0
7	1230	pulegona	máximo 2,0
8	1237	carvona	máximo 1,0
9	1290	acetato de mentila	3,0- 10,0

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

JABORANDI, tintura

Jaborandi tinctura

A tintura é obtida a partir de folhas secas de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth, contendo, no mínimo, 0,06% de alcaloides totais expressos como pilocarpina (C₁₁H₁₆N₂O₂, 208,26).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por maceração ou percolação, utilizando etanol a 65% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

A tintura é de cor amarelo-parda esverdeada.

IDENTIFICAÇÃO

A. Evaporar 50 mL da tintura de jaborandi, tratar o resíduo com 10 mL de água e cinco gotas de ácido clorídrico. Filtrar e lavar o filtrado com éter etílico. Alcalinizar com hidróxido de amônio 6 M e agitar duas vezes com 5 mL de clorofórmio. Reunir as frações clorofórmicas com 5 mL de água destilada e adicionar uma gota de ácido nítrico. Agitar e separar as fases. Juntar à solução ácida um pequeno cristal de dicromato de potássio, 2 mL de clorofórmio e 1 mL de peróxido de hidrogênio a 3% (p/v). Desenvolve-se coloração azul arroxeado ou azul anilado na fase clorofórmica, evidenciando a presença de núcleo imidazólico ou glioxálico.

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

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

Fase móvel: cloreto de metileno, metanol e hidróxido de amônio (85:14:1).

Solução amostra: tintura de jaborandi.

Solução referência: dissolver 10 mg de cloridrato de pilocarpina em metanol, completar o volume para 2 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, 40 µL da *Solução amostra* e 2 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça, deixar secar em estufa em temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 10 minutos e deixar esfriar. Nebulizar a placa com iodobismutato de potássio aquo-acético SR e, a seguir, com solução de nitrito de sódio SR.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Pilocarpina: zona de coloração castanho-avermelhada	Zona de coloração castanho-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Etanol (5.3.3.8.1). Método por destilação, Líquidos com mais de 30% de álcool. $65 \pm 5\%$ (v/v).

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 0,8%.

DOSEAMENTO

Alcaloides totais

Evaporar, sob vácuo, 100 g da tintura de jaborandi a baixa temperatura, até reduzir à cerca de 20 g. Transferir o resíduo, quantitativamente, para um funil de separação, usando alguns mililitros de cloreto de metileno. Adicionar 10 mL de hidróxido de amônio 6 M. Extrair sucessivamente com frações de 20 mL de cloreto de metileno até que os alcaloides sejam totalmente extraídos, ou seja, quando algumas gotas da fase aquosa não apresentarem mais turvação pela adição de uma gota do solução de iodeto de potássio mercúrio SR. Juntar as camadas orgânicas e então extrair várias vezes utilizando ácido sulfúrico 0,05 M. Alcalinizar, lentamente, usando hidróxido de amônio 6 M até pH 9 e então extrair com cloreto de metileno até que os alcaloides sejam totalmente extraídos. Lavar as soluções orgânicas reunidas com 20 mL de água. Evaporar a fração orgânica até cerca de 5 mL. Dissolver o resíduo com 20 mL de ácido clorídrico 0,02 M SV e secar o restante de cloreto de metileno em banho-maria a 40 °C. Titular o excesso de ácido clorídrico com hidróxido de sódio 0,02 M SV, utilizando cinco gotas de vermelho de metila SI, até a cor mudar de rosa para amarelo. Calcular o teor de alcaloides totais expressos em pilocarpina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$AT = \frac{(V_{\text{ácido}} - n) \times 0,4166}{m}$$

em que,

AT = alcaloides totais % (p/p);

$V_{\text{ácido}}$ = volume em mililitros de ácido clorídrico 0,02 M utilizado;

n = volume em mililitros de hidróxido de sódio 0,02 M utilizado; e

m = massa em gramas da amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

LARANJA-AMARGA, exocarpo *Aurantii amari exocarpium*

A droga vegetal consiste de porções secas do exocarpo de *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium* (syn. *Citrus aurantium* L. subsp. *amara* (L.) Engler), correspondente ao flavedo do fruto maduro, isenta da maior parte do mesocarpo, correspondente ao albedo, contendo, no mínimo, 2,0% de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

A droga tem odor forte, aromático, característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

O exocarpo consiste em porções irregulares de até 8,0 cm de comprimento e até 4,0 cm de largura. A superfície externa, em vista frontal, é amarelada, pardo-amarelada a castanho-amarelada, grosseiramente ondulada e pontuada por numerosas glândulas secretoras translúcidas. A superfície interna, em vista frontal, é branco-amarelada a pardo-esbranquiçada, rugosa e esponjosa. Em vista lateral as glândulas são visíveis na forma de cavidades.

B. Descrição microscópica

O flavedo é composto pela epiderme e pelos tecidos parenquimáticos adjacentes. O albedo é formado pelo parênquima esponjoso. O flavedo, em vista frontal, apresenta epiderme com células pequenas, de diferentes formas, de paredes anticliniais retilíneas, contendo gotas lipídicas. Os estômatos são ciclocíticos e situados um pouco acima das demais células. Glândulas secretoras são visíveis por transparência. Em secção transversal, a cutícula é espessa e lisa; a epiderme é formada por células pequenas, poligonais, com protoplasto denso, contendo cromoplastos e gotas lipídicas/subepidermicamente ocorrem quatro a cinco camadas amarelo-ocre, colenquimatosas, compactas, formadas por células pequenas, com conteúdo denso, apresentando cromoplastos e gotas lipídicas; abaixo destas, ocorrem células parenquimáticas maiores, de paredes mais delgadas, com espaços intercelulares visíveis, grande quantidade de gotas lipídicas e de monocristais prismáticos de oxalato de cálcio, de diferentes formas e tamanhos. Nas primeiras camadas deste parênquima ocorrem glândulas esquizolisígenas, circulares a ovóides, com até 1,0 mm de diâmetro, em diferentes fases de

desenvolvimento e dispostas irregularmente. O parênquima localizado lateralmente às glândulas é formado por células alongadas, compactas, com grande quantidade de gotas lipídicas e cristais. Pequenos feixes vasculares colaterais estão distribuídos neste tecido. Elementos de vaso com espessamento helicoidal são visíveis longitudinalmente. O parênquima mais interno é frouxo e constituído por células hialinas de paredes delgadas e de diferentes formas e tamanhos, contendo monocristais. O parênquima próximo ao albedo apresenta células de maior volume, de paredes mais espessas e menor quantidade de cristais. Cristais de hesperidina são comuns em todos os parênquimas. O albedo é constituído por parênquima esponjoso, com células brachiformes, com amplos espaços intercelulares e com poucos cristais e gotas lipídicas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a subespécie, menos os caracteres macroscópicos. Pó de coloração pardo-clara. Com a adição de hidrato de cloral são característicos: fragmentos de epiderme do flavedo com células conforme descritas, em vista frontal; fragmentos de epiderme do flavedo com estômatos, em vista frontal; fragmentos do flavedo, em secção transversal, apresentando epiderme e parênquima colenquimatoso; fragmentos de parênquima colenquimatoso, em secção transversal; fragmentos do parênquima do flavedo, com células contendo gotas lipídicas, em secção transversal; fragmentos do parênquima do flavedo, em secção transversal, contendo gotas lipídicas, monocristais de oxalato de cálcio e cristais de hesperidina; fragmentos do parênquima do flavedo, em secção transversal, com porções de feixes vasculares, observados em vista longitudinal; fragmentos do parênquima do flavedo, em secção transversal, contendo gotas lipídicas e cristais de hesperidina; fragmentos do flavedo com porções de glândulas secretoras, em secção transversal; fragmentos do parênquima do flavedo, em secção transversal, com porção de feixe vascular, observado em vista longitudinal; fragmentos de parênquima com cristais de hesperidina; idioblastos cristalíferos do flavedo, com monocristais de oxalato de cálcio, em secção transversal; cristais de oxalato de cálcio isolados; cristais de hesperidina isolados, em forma de agulha, somente observados com adição de lugol; porções de elementos traqueais com espessamento helicoidal, em vista longitudinal; fragmentos do albedo, em pequena quantidade, em secção transversal ou longitudinal.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água, (75:15:10).

Solução amostra: adicionar a 1 g da droga moída (710 µm), 10 mL de metanol. Aquecer em banho-maria a, aproximadamente, 60 °C, por 10 minutos, agitando frequentemente. Esfriar e filtrar.

Solução referência: dissolver 1 µg de naringina e 10,0 µg de ácido cafeico em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. A seguir, nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR (Reagente Natural A) a 1% (p/v) em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de fluorescência azul claro	Zona de fluorescência azul clara Zona de fluorescência azul claro
	Zona de fluorescência azul clara Zona de fluorescência azul claro
Naringina: zona de fluorescência verde intensa	Zona de fluorescência verde intensa
	Zona de fluorescência vermelha
	Zona de fluorescência laranja
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Água (5.2.20.2). No máximo 10%. Determinar em 20,0 g da amostra pulverizada (355 µm).

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 500 mL contendo 200 mL de água como líquido de destilação. Adicionar 0,5 mL de xileno pela abertura lateral k. Utilizar droga vegetal reduzida a pó (710 µm). Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 15 g da droga em pó. Destilar durante 90 minutos.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

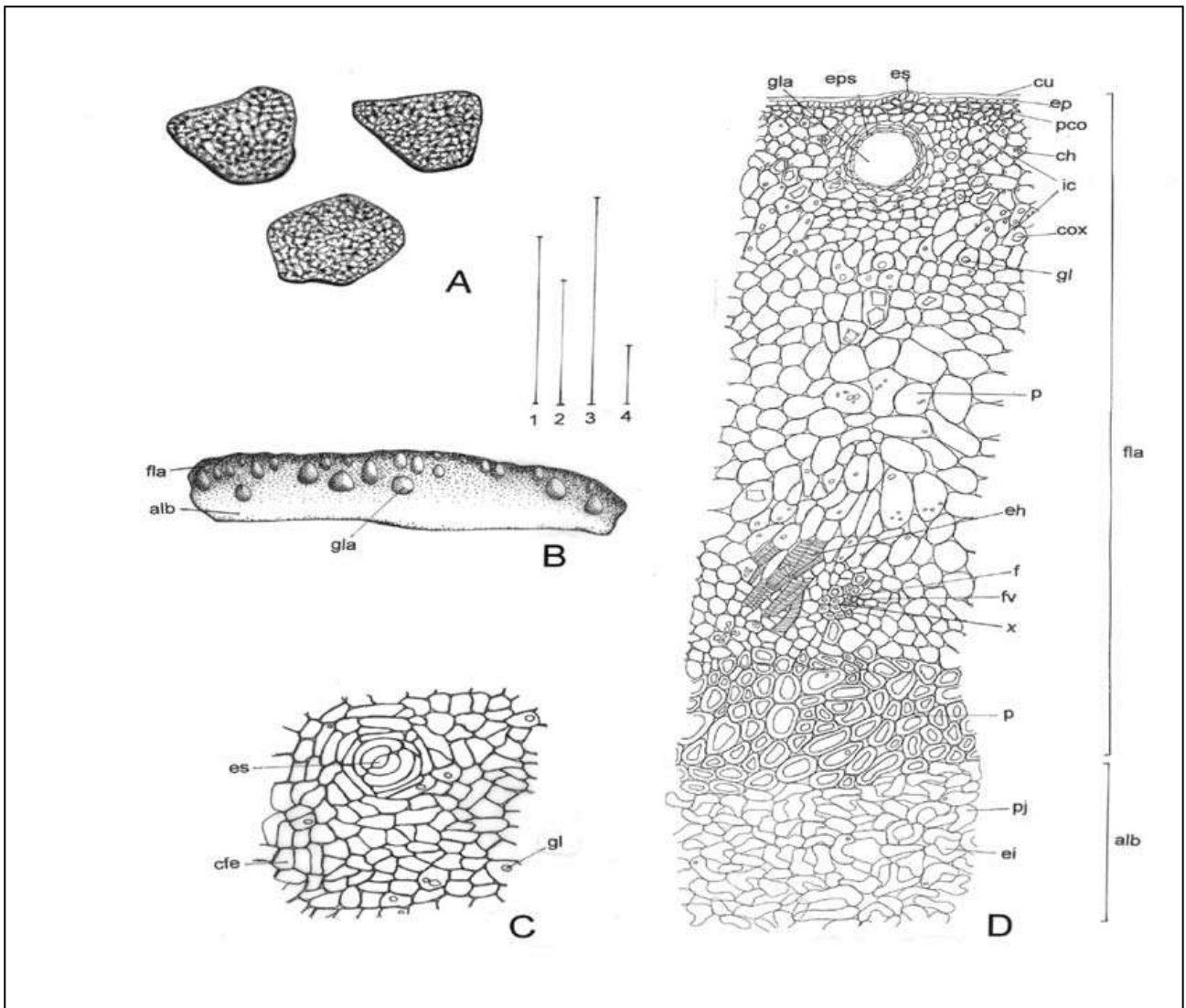


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium*

As escalas correspondem em **A** a 1 cm (régua 1); em **B** a 0,5 cm (régua 2); em **C** a 100 μm (régua 3); em **D** a 100 μm (régua 4).

A – representação esquemática da superfície externa da droga, em vista frontal. **B** – representação esquemática da droga, em secção transversal: albedo (alb); flavedo (fl a); glândula secretora (gla). **C** – detalhe de uma porção da epiderme do flavedo, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); gota lipídica (gl). **D** – detalhe de porção da droga, em secção transversal: albedo (alb); cristal de hesperidina (ch); cristal de oxalato de cálcio (cox); cutícula (cu); elemento de vaso com espessamento helicoidal (eh); espaço intercelular (ei); epiderme (ep); epitélio secretor (eps); estômato (es); floema (f); flavedo (fl a); feixe vascular (fv); gota lipídica (gl); glândula secretora (gla); idioblasto cristalífero (ic); parênquima (p); parênquima colenquimatoso (pco); parênquima esponjoso (pj); xilema (x).

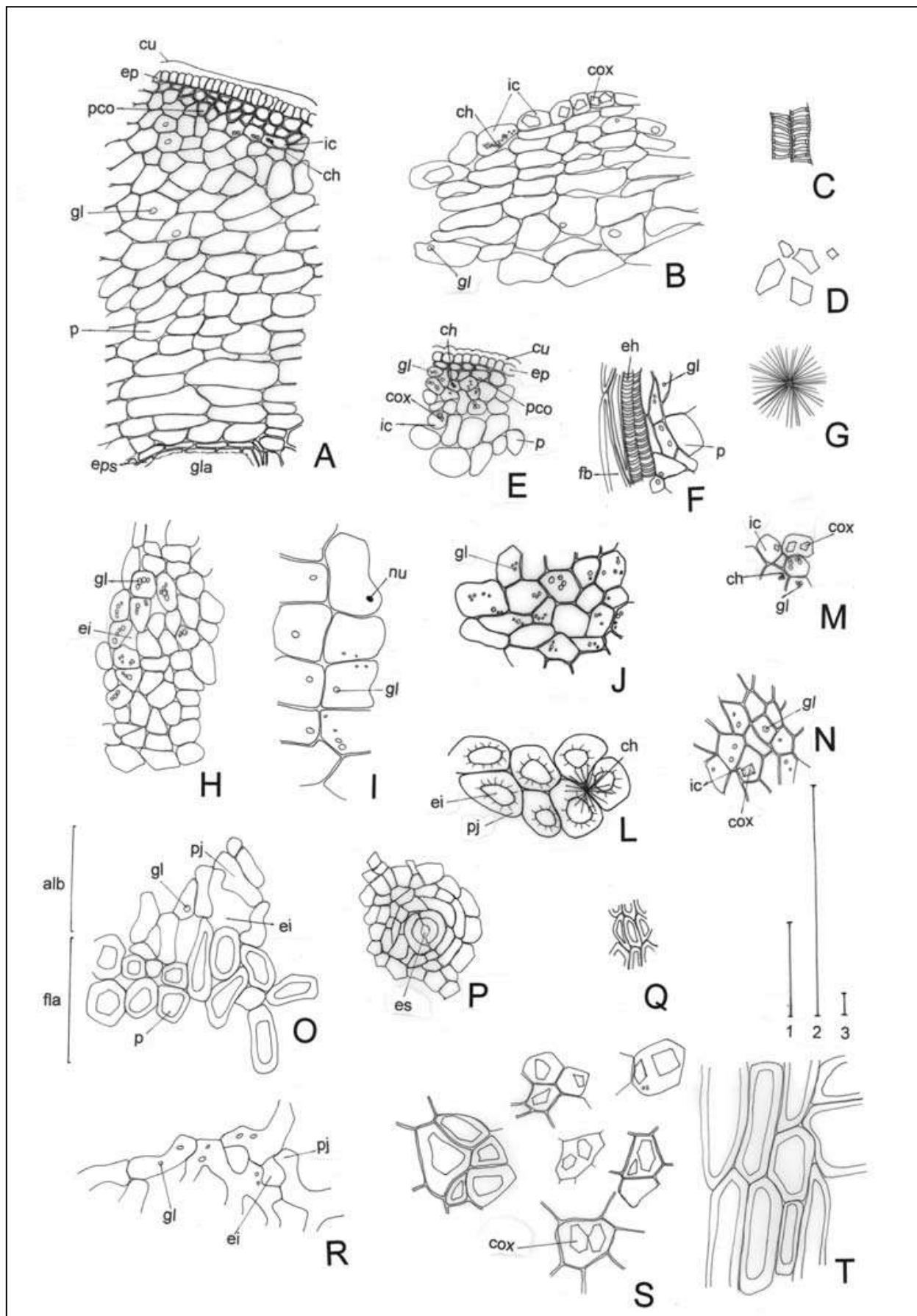


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium*

As escalas correspondem em **A** até **G**, **I** até **O** e **R** até **T** a 100 μm (régua 1); em **H** e **P** a 100 μm (régua 2); em **Q** a 100 μm (régua 3).

A – fragmento do flavedo com epiderme, parênquimas e restos de epitélio secretor, em secção transversal: cristal de hesperidina (ch); cutícula (cu); epiderme (ep); epitélio secretor (eps); gota lipídica (gl); glândula secretora (gla); idioblasto cristalífero (ic); parênquima (p); parênquima colenquimatoso (pco). **B** – fragmento de parênquima do flavedo, em secção transversal: cristal de hesperidina (ch); cristal de oxalato de cálcio (cox); gota lipídica (gl); idioblasto cristalífero (ic). **C** – porção de elementos traqueais com espessamento helicoidal, em vista longitudinal. **D** – cristais de oxalato de cálcio isolados. **E** – fragmento do flavedo, em secção transversal: cristal de hesperidina (ch); cristal de oxalato de cálcio (cox); cutícula (cu); epiderme (ep); gota lipídica (gl); idioblasto cristalífero (ic); parênquima (p); parênquima colenquimatoso (pco). **F** – fragmento de parênquima do flavedo, em secção transversal, com porção de feixe vascular, observado em vista longitudinal: elemento de vaso com espessamento helicoidal (eh); fibra (fb); gota lipídica (gl); parênquima (p). **G** – cristal de hesperidina, somente observado com adição de lugol. **H** – fragmento de parênquima do flavedo, em secção transversal: espaço intercelular (ei); gota lipídica (gl). **I** – fragmento de parênquima do flavedo em secção transversal, contendo gotas lipídicas: gota lipídica (gl); núcleo (nu). **J** – fragmento da epiderme, em vista frontal: gota lipídica (gl). **L** – fragmento do albedo, em vista frontal: cristal de hesperidina (ch); espaço intercelular (ei); parênquima esponjoso (pj). **M** – fragmento de parênquima do flavedo, em secção transversal: cristal de hesperidina (ch); cristal de oxalato de cálcio (cox); gota lipídica (gl); idioblasto cristalífero (ic). **N** – fragmento de parênquima do flavedo, em secção transversal: cristal de oxalato de cálcio (cox); gota lipídica (gl); idioblasto cristalífero (ic). **O** – fragmento do flavedo e do albedo, em secção transversal: albedo (alb); espaço intercelular (ei); flavedo (fl a); gota lipídica (gl); parênquima (p); parênquima esponjoso (pj). **P** – fragmento de epiderme do flavedo com estômato, em vista frontal: estômato (es). **Q** – fragmento do parênquima colenquimatoso, em secção transversal. **R** – fragmento do albedo, em secção transversal: espaço intercelular (ei); gota lipídica (gl); parênquima esponjoso (pj). **S** – idioblastos cristalíferos do flavedo, em secção transversal: cristal de oxalato de cálcio (cox). **T** – fragmento do flavedo, com células parenquimáticas de paredes espessadas, em secção transversal.

MARACUJÁ-AZEDO, folha *Passiflorae acetum folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Passiflora edulis* Sims contendo, no mínimo, 1,0% de flavonoides totais, expressos em apigenina (C₁₅H₁₀O₅, 270,24).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, glabras, subcoriáceas, de coloração verde clara. Lâminas profundamente divididas em três lobos, muito raramente bilobadas ou sem lobos, com 7 a 16 cm de comprimento e 6 a 20 cm de largura; base reentrante, ápice acuminado e margem serrilhada. Nervação palmatinérvea, com tricomas tectores na nervura principal da face abaxial. Pecíolo com 1 a 4 cm, canaliculado na parte superior, com um par de nectários extraflorais. É comum a ocorrência de gavinhas no pecíolo. Difere de *Passiflora alata*, pois esta apresenta folha inteira, margem lisa, nervação peninérvea, desprovida de tricomas tectores na região da nervura principal.

B. Descrição microscópica

Folhas hipoestomáticas e de simetria dorsiventral. A epiderme, em vista frontal, apresenta células de formato poliédrico, com paredes anticlinais levemente ondeadas em ambas as faces. A cutícula é lisa. Os estômatos são paracíticos, anisocíticos e anomocíticos. Tricomas tectores unicelulares ocorrem na região da nervura principal, na face abaxial. Em secção transversal, a cutícula é espessa, a epiderme é uniestratificada e o mesofilo é constituído por uma a três camadas de parênquima paliçádico e várias camadas de parênquima esponjoso. Drusas de oxalato de cálcio ocorrem nos parênquimas. Na nervura principal, em secção transversal, a face adaxial apresenta uma protuberância e a face abaxial é convexa. A epiderme, na região da protuberância, apresenta tricomas tectores unicelulares. Sob ambas as epidermes, células de colênquima interrompem o parênquima clorofiliano. O sistema

vascular compõe-se de quatro feixes vasculares dispostos centralmente. Drusas ocorrem na porção interna do floema. O pecíolo, em secção transversal, apresenta na face adaxial dois lobos pouco proeminentes, sendo a face abaxial pouco convexa na região central. Internamente à epiderme ocorre preenchimento por colênquima e o restante por parênquima. O sistema vascular é formado por um feixe vascular em cada lobo da face adaxial e por um grupo de feixes centrais, de disposição anelar. Idioblastos com drusas ocorrem internamente ao floema, em menor número, no parênquima e no colênquima.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-amarelada; fragmentos de epiderme da face adaxial com células como as descritas, sem estômatos; fragmentos de epiderme da face abaxial com células como as descritas, com estômatos, como descritos; fragmentos de epiderme sobre a nervura apresentando tricomas tectores unicelulares; fragmentos de tecido vascular em secções transversal ou longitudinal, com idioblastos contendo drusas; drusas isoladas; fragmentos de tecido paliçádico e esponjoso com raras drusas.

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

Fase estacionária: sílica-gel G.

Fase móvel: acetato de etila, acetona, ácido acético e água (6:2:1:1).

Solução amostra: agitar, em banho de ultrassom, durante 10 minutos, uma dispersão a 50 mg/mL do pó fino da droga vegetal em mistura de etanol e água (1:1). Filtrar.

Solução referência: soluções a 1 mg/mL de isovitexina, isoorientina em metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, seguido de polietilenoglicol 4000 a 5% (p/v) em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Para diferenciar da espécie da *P. alata* utilizar o mesmo sistema cromatográfico empregando solução de anisaldeído sulfúrico como revelador. Não deve apresentar manchas de coloração azul-esverdeado intensas, indicando a presença de saponinas apenas em *P. alata*.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Isovitexina: zona de fluorescência amarelo esverdeado Isoorientina: zona de fluorescência amarela	Zona de fluorescência verde
	Zona de fluorescência amarelo esverdeado
	Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência verde
	Zona de fluorescência verde
	Zona de fluorescência verde claro
	Zona de fluorescência amarela
Solução referência	Solução amostra

E. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 340 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido fosfórico a 0,05% (v/v).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> %	<i>Fase móvel (2)</i> %	Sistema de eluição
0 – 15	90→80	10→20	gradiente linear
15 – 30	80	20	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da droga seca e pulverizada (180 µm) e colocar em balão volumétrico de 50 mL. Adicionar aproximadamente 30 mL de solução de etanol e água (1:1), agitar por ultrassom por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar o extrato em papel de filtro. Concentrar o extrato sob pressão reduzida e retomar em uma mistura metanol e água (1:1) a uma concentração de 2 mg/mL.

Solução referência (1): transferir, quantitativamente, 1 mg de isovitexina, pesada, com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL e adicionar cerca de 7 mL de solução de etanol e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com a mesma solução e homogeneizar.

Solução referência (2): transferir, quantitativamente, 1 mg de isoorientina, pesada, com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL e adicionar cerca de 7 mL de solução de etanol e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com a mesma solução e homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)* e 20 µL da *Solução amostra*. O cromatograma da *solução amostra* deve apresentar três picos majoritários de intensidade semelhante, sendo identificados aqueles com tempo de retenção relativos de 1 e 1,22 para isorientina e isovitexina, respectivamente; apresenta ainda um pico adicional bastante intenso não identificado em 0,80.

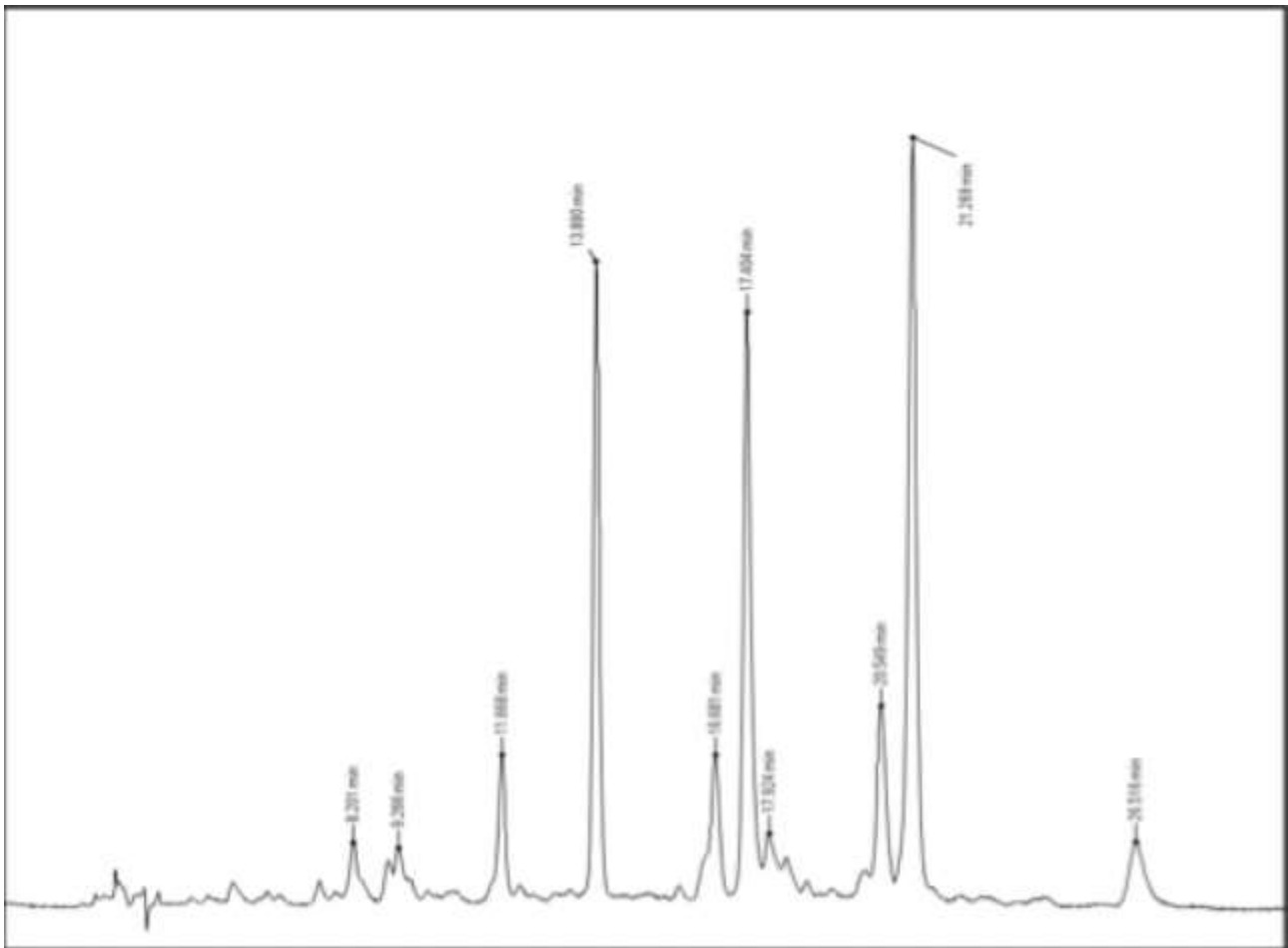


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo do perfil da *solução amostra* de *Passiflora edulis* Sims.

TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 11%.

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

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.

Índice de espuma. Proceder conforme descrito em *Determinação do índice de espuma (5.4.1.8)*. Utilizar 1 g da droga pulverizada (180 µm). Calcular o índice de espuma conforme a seguinte expressão:

$$IE = \frac{1000}{P \times V}$$

em que,

IE = índice de espuma;

P = percentual da droga vegetal utilizada no preparo do decocto; e

V = volume, em mililitros, do decocto usado para preparação da diluição no tubo de ensaio com espuma de 1 cm de altura.

O IE é, no máximo, 100.

DOSEAMENTO

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,400 g de droga pulverizada (180 µm) e colocar em balão de fundo redondo de 50 mL. Adicionar 20 mL de etanol a 50% (v/v) e aquecer, sob refluxo, por 30 minutos. Filtrar a mistura para balão volumétrico de 50 mL utilizando algodão. Retornar o algodão para o mesmo balão de refluxo e adicionar 20 mL de etanol a 50% (v/v), mantendo em refluxo por mais 30 minutos. Filtrar em papel de filtro para o balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com etanol a 50% (v/v) e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 0,8 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL. Adicionar 0,8 mL de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em etanol a 50% (v/v), completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução branco: transferir 0,8 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com etanol a 50% (v/v) e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 397 nm, em cubeta de 1 cm, 30 minutos após seu preparo, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais, expresso em apigenina, em porcentual (p/p), segundo a expressão:

$$TFT = \frac{A \times FD \times 100}{E_{LEM}^{1\%} \times m (100 - PD)}$$

em que,

TFT = teor de flavonoides totais % (p/p);

A = absorvância medida;

FD = fator de diluição (625);

$E_{LEM}^{1\%}$ = absortividade específica (365,3);

m = massa em gramas da droga; e

PD = perda por dessecação % (p/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

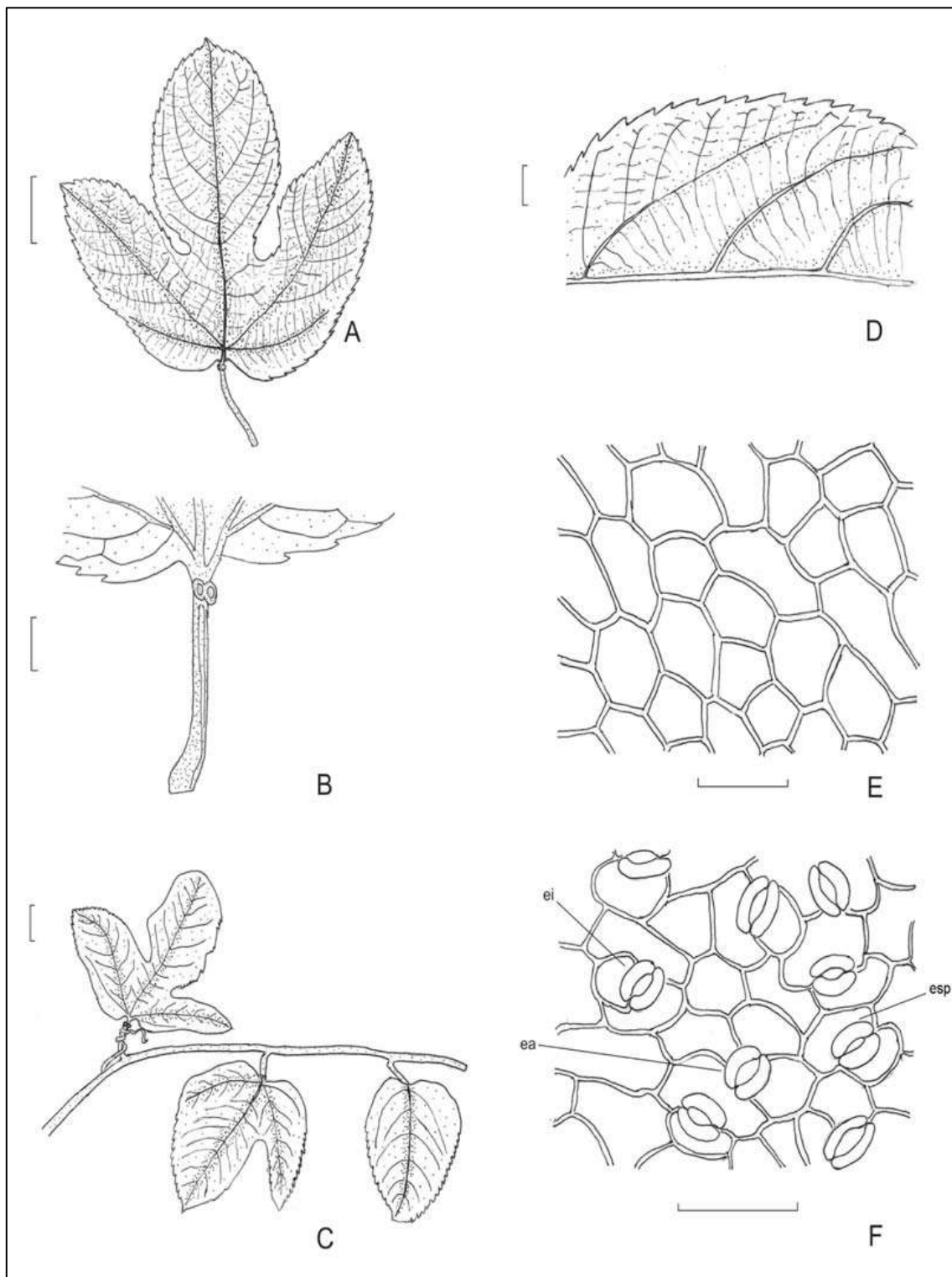


Figura 2 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Passiflora edulis* Sims

As escalas correspondem em **A** e **C** a 3 cm; em **B** e **D** a 1 cm; em **E** e **F** a 50 μ m.

A – aspecto geral da folha, mostrando a nervação palmatinérvea, ápice acuminado, base reentrante e margem serrilhada. **B** – detalhe do pecíolo com um par de nectários extraflorais. **C** – detalhe do ramo mostrando heterofilia e gavinha aderida ao pecíolo. **D** – detalhe da margem foliar serrilhada. **E** – epiderme voltada para a face adaxial da lâmina foliar, em vista

frontal. **F** – epiderme voltada para a face abaxial da lâmina foliar, em vista frontal: estômato anomocítico (ea); estômato anisocítico (ei); estômato paracítico (esp).

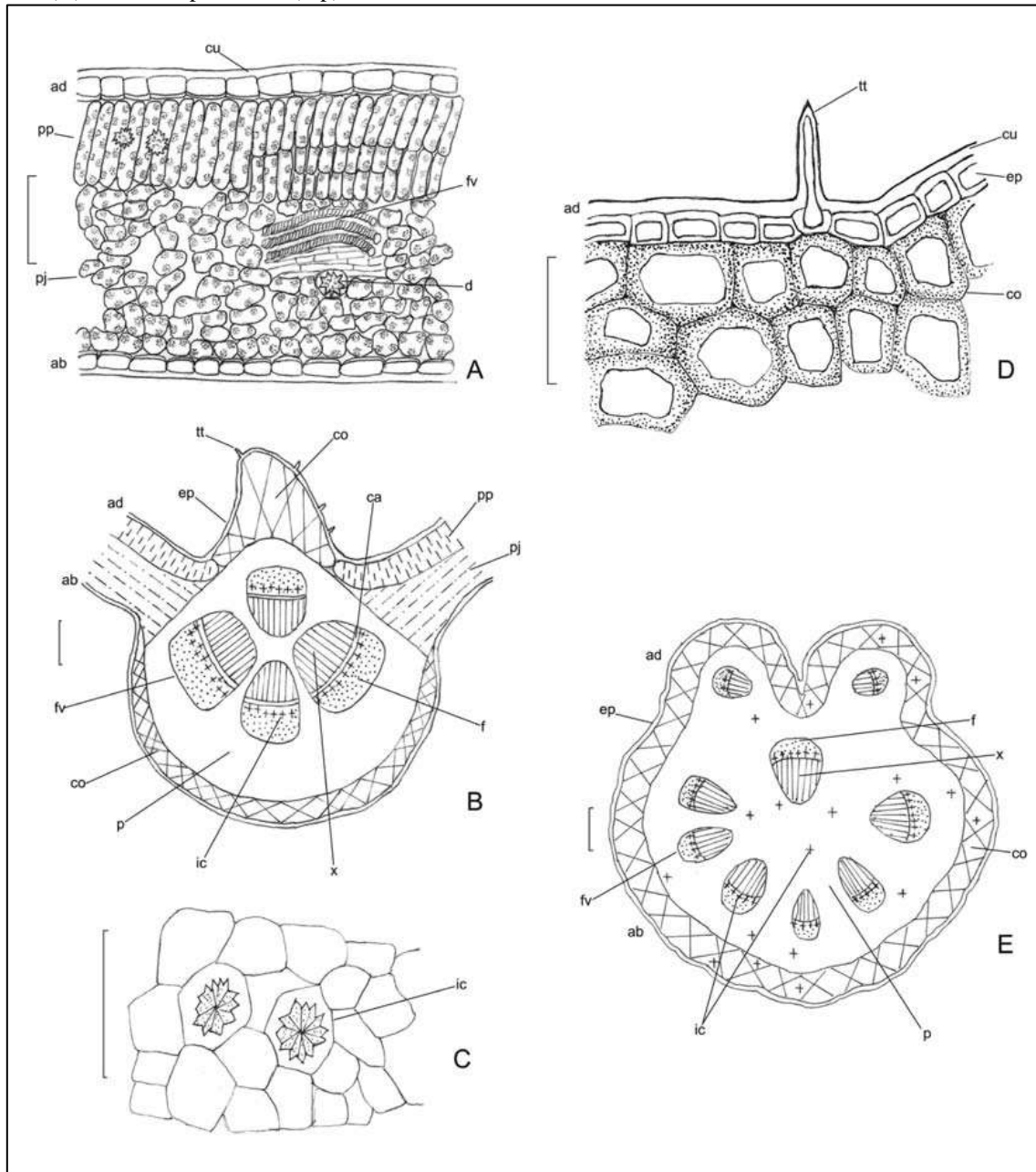


Figura 3 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Passiflora edulis* Sims

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

A – secção transversal do mesofilo: face abaxial (ab); face adaxial (ad); cutícula (cu); drusa (d); feixe vascular (fv); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp). **B** – esquema de porção da lâmina foliar na nervura principal, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); câmbio (ca); colênquima (co); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); inclusão celular (ic); parênquima (p); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); tricoma tector (tt); xilema (x). **C** – detalhe da secção transversal do pecíolo mostrando drusas no feixe vascular: inclusão celular (ic). **D** – detalhe da face adaxial da porção da lâmina foliar na nervura principal, em secção transversal, mostrando o tricoma tector unicelular: face adaxial (ad); colênquima (co); cutícula (cu); epiderme (ep); tricoma tector (tt). **E** – esquema do aspecto geral da secção transversal do pecíolo: face abaxial (ab); face adaxial (ad); colênquima (co); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); inclusão celular (ic); parênquima (p); xilema (x).

MARACUJÁ-DOCE, folha *Passiflorae dulcis folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Passiflora alata* Curtis, contendo, no mínimo, 1,0% de flavonoides totais, expressos em apigenina (C₁₅H₁₀O₅, 270,24).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, glabras, subcoriáceas, de coloração verde clara. Lâminas ovaladas ou oblongas, de 7 a 20 cm de comprimento e 4 a 15 cm de largura, base arredondada ou ligeiramente reentrante, ápice acuminado e margem lisa. Nervação peninérvea. Pecíolo com 2 a 7 cm de comprimento, profundamente canaliculado na parte superior, com um ou geralmente dois pares de nectários extraflorais. É comum a ocorrência de gavinhas no pecíolo. Difere de *Passiflora edulis*, pois esta apresenta folha trilobada, margem serrilhada, nervação palmatinérvea e tricomas tectores na região da nervura principal.

B. Descrição microscópica

Folhas hipoestomáticas e de simetria dorsiventral. A epiderme, em vista frontal, apresenta células de formato poliédrico, com paredes anticlinais ondeadas em ambas as faces. A cutícula é lisa. Os estômatos são paracíticos, anisocíticos e anomocíticos. Em secção transversal, a cutícula é espessa, a epiderme é uniestratificada e o mesofilo está constituído por uma a três camadas de parênquima paliçádico e várias camadas de parênquima esponjoso. Drusas de oxalato de cálcio ocorrem nos parênquimas e especialmente na região das nervuras. Na região da nervura principal, em secção transversal, a face adaxial apresenta pouca convexidade e a face abaxial possui uma convexidade bastante angulosa. Sob ambas as epidermes, células de colênquima interrompem o parênquima clorofiliano, ocorrendo um anel vascular central circundado por células de esclerênquima ou um anel vascular contínuo. Drusas ocorrem em todo o tecido fundamental, no colênquima e também no floema. O pecíolo, em secção transversal, apresenta face adaxial côncava, com duas projeções laterais. A face abaxial é convexa, com uma única projeção central. Internamente à epiderme ocorre preenchimento por colênquima e o restante por parênquima. O sistema vascular é formado por feixes centrais e dois outros localizados nas projeções laterais da face adaxial. Grande quantidade de idioblastos com drusas ocorre em todo o colênquima, parênquima e feixes vasculares.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-amarelada; fragmentos de epiderme da face adaxial com células como as descritas, sem estômatos; fragmentos de epiderme da face abaxial com células como as descritas, com estômatos como descritos; fragmentos de mesofilo em secção transversal, com idioblastos contendo drusas; drusas isoladas; fragmentos de tecido vascular.

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

Fase estacionária: sílica-gel G.

Fase móvel: acetato de etila, acetona, ácido acético e água (6:2:1:1).

Solução amostra: agitar, em banho de ultrassom, durante 10 minutos, uma dispersão a 50 mg/mL do pó fino da droga vegetal em mistura de etanol e água (1:1). Filtrar.

Solução referência: soluções a 1 mg/mL de isovitexina, isoorientina em metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR seguido de polietilenoglicol 4000 a 5% (p/v) em metanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Para diferenciar da espécie da *P. edulis* utilizar o mesmo sistema cromatográfico empregando solução de anisaldeído sulfúrico como revelador. Deve apresentar manchas de coloração azul-esverdeado intensas indicando a presença de saponinas.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
<p>Isovitexina: zona de fluorescência amarelo esverdeado</p> <p>Isoorientina: zona de fluorescência azulada</p>	<p>Zona de fluorescência verde amarelada</p> <p>Zona de fluorescência amarela</p> <p>Zona de fluorescência verde</p> <p>Zona de fluorescência verde-amarelada</p> <p>Zona de fluorescência amarela</p>
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

E. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 340 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido fosfórico a 0,05% (v/v).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> %	<i>Fase móvel (2)</i> %	Sistema de eluição
0 – 15	90→80	10→20	gradiente linear
15 – 30	80	20	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da droga seca e pulverizada (180 µm) e colocar em balão volumétrico de 50 mL. Adicionar aproximadamente 30 mL de solução de etanol e água (1:1), agitar em banho de ultrassom durante 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar o extrato em papel de filtro. Concentrar o extrato sob pressão reduzida e retomar em uma mistura metanol e água (1:1) a uma concentração de 2 mg/mL.

Solução referência (1): transferir, quantitativamente, 1 mg de isovitexina, pesada, com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL e adicionar cerca de 7 mL de solução de etanol e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com mesma solução e homogeneizar.

Solução referência (2): transferir, quantitativamente, 1 mg de vitexina-2''-*O*-ramnosídeo, pesada, com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL e adicionar cerca de 7 mL de solução de etanol e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com mesma solução e homogeneizar.

Solução referência (3): transferir 1 mg de isoorientina pesada, com exatidão, para balão volumétrico de 10 mL e adicionar cerca de 7 mL de solução de etanol e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com mesma solução.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução referência (1)*, 20 µL da *Solução referência (2)*, 20 µL da *Solução referência (3)* e 20 µL da *Solução amostra*. O cromatograma da *Solução amostra* deve apresentar três picos principais, sendo o primeiro e o segundo com tempos de retenção relativos de 0,88 e 1,0 para isoorientina e vitexina-2''-*O*-ramnosídeo, respectivamente. Diferencia-se da *P. edulus* pela presença de vitexina-2''-*O*-ramnosídeo.

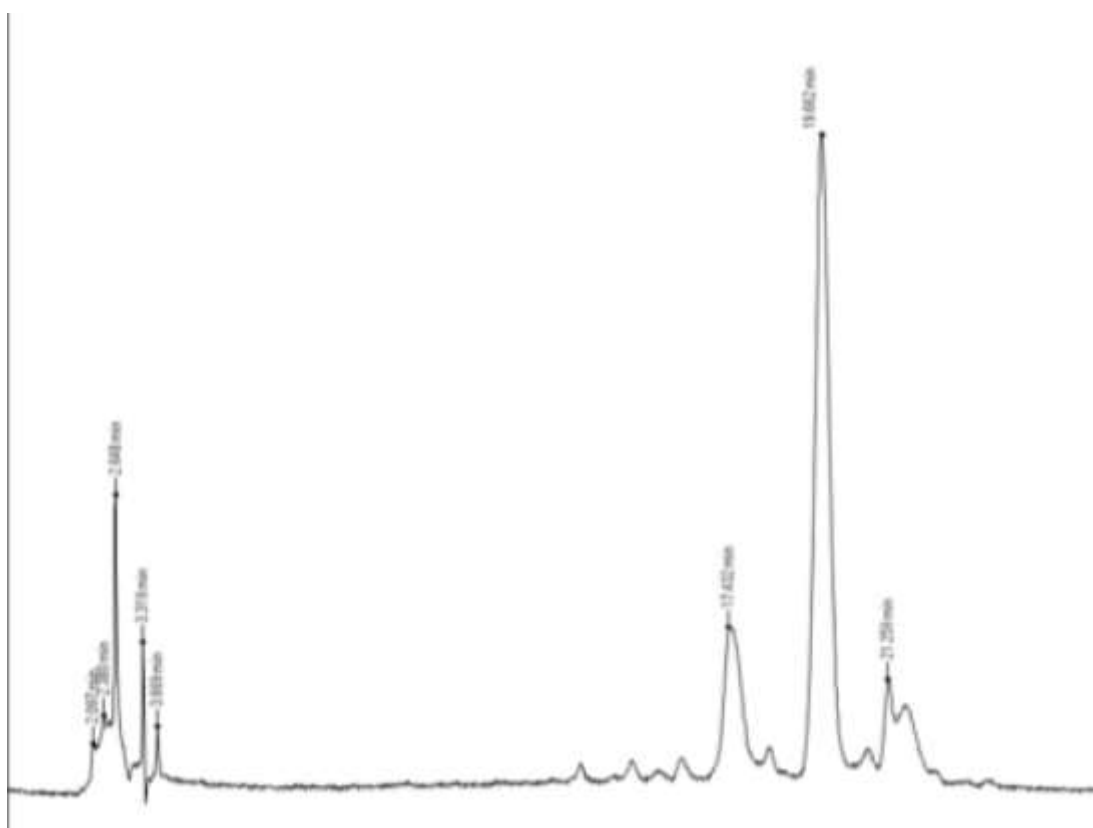


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo do perfil da *solução amostra* de *Passiflora alata* Curtis.

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 10,0%.

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.

Índice de espuma. Proceder conforme descrito em *Determinação do índice de espuma (5.4.1.8)*. Utilizar 0,1 g da droga pulverizada (180 µm). Calcular o índice de espuma conforme a seguinte expressão:

$$IE = \frac{1000}{P \times V}$$

em que,

IE = índice de espuma;

P = percentual da droga utilizada no preparo do decocto; e

V = volume, em mililitros, do decocto usado para a preparação da diluição no tubo de ensaio com espuma de 1 cm de altura.

O IE é, no mínimo, 5000.

DOSEAMENTO

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g de droga pulverizada (180 µm) e colocar em balão de fundo redondo de 50 mL. Adicionar 20 mL de etanol a 50% (v/v) e aquecer, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar a mistura para balão volumétrico de 50 mL utilizando algodão. Retornar o algodão para o mesmo balão de refluxo e adicionar 20 mL de etanol a 50% (v/v), mantendo em refluxo por mais 30 minutos. Filtrar em papel de filtro para o balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com etanol a 50% (v/v) e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 0,8 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL. Adicionar 0,8 mL de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em etanol 50% (v/v), completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução branco: transferir 0,8 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com etanol 50% (v/v) e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 397 nm, em cubeta de 1 cm, 30 minutos após seu preparo, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais, calculado como apigenina, em porcentual (p/p), segundo a expressão:

$$\text{TFT} = \frac{A \times \text{FD} \times 100}{E_{LEM}^{1\%} \times m (100 - \text{PD})}$$

em que,

TFT = teor de flavonoides totais % (p/p);

A = absorvância medida;

FD = fator de diluição (625);

$E_{LEM}^{1\%}$ = absorvância específica (365,3);

m = massa em gramas da droga vegetal; e

PD = perda por dessecação % (p/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

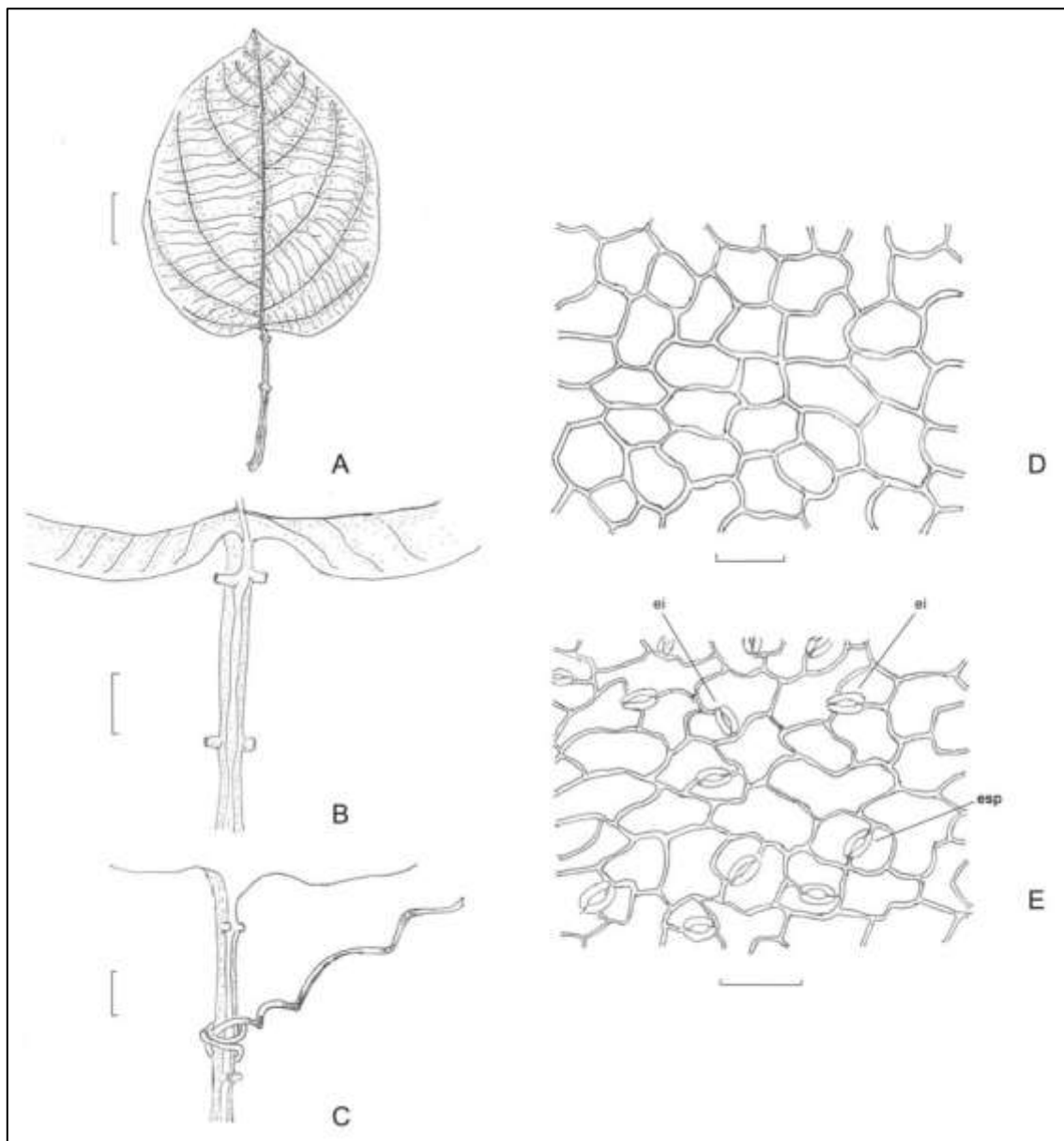


Figura 2 - Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Passiflora alata* Curtis

As escalas correspondem em **A** a 3 cm; em **B** e **C** a 1 cm; em **D** e **E** a 50 μ m.

A – aspecto geral da folha, mostrando a nervação penínérvea, ápice acuminado, base reentrante e margem lisa. **B** – detalhe do pecíolo com dois pares de nectários extraflorais. **C** – detalhe do pecíolo com gavinha aderida. **D** – epiderme voltada para a face adaxial da lâmina foliar, em vista frontal. **E** – epiderme voltada para a face abaxial da lâmina foliar, em vista frontal: estômato anisocítico (ei); estômato paracítico (esp).

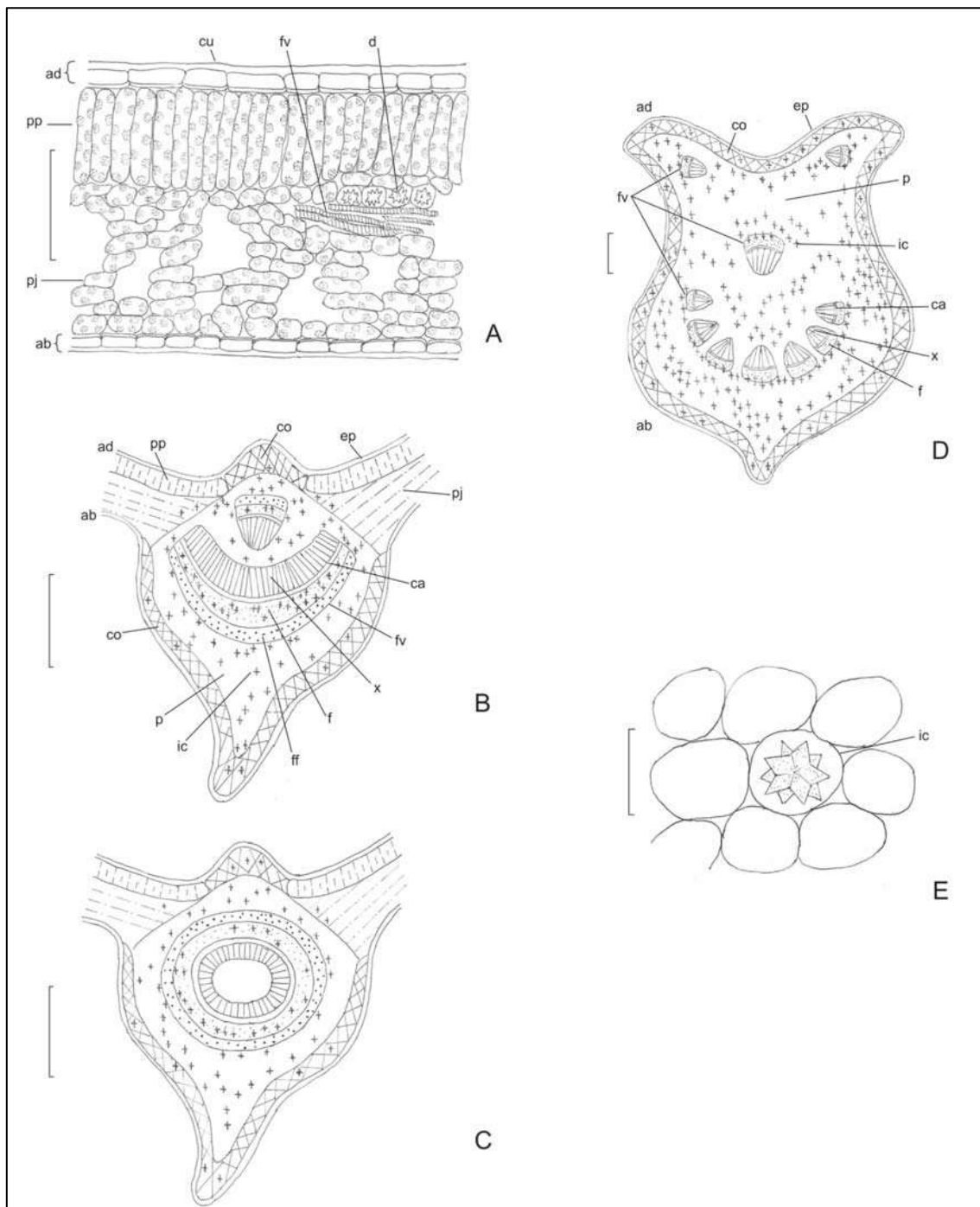


Figura 3 - Aspectos microscópicos em *Passiflora alata* Curtis

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

A – secção transversal do mesofilo: face abaxial (ab); face adaxial (ad); cutícula (cu); drusa (d); feixe vascular (fv); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj). **B** e **C** – esquema de porção da lâmina foliar na nervura principal, em secção transversal, mostrando variação do feixe vascular: face abaxial (ab); face adaxial (ad); câmbio (ca); colênquima (co); epiderme (ep); floema (f); fibras do floema (ff); feixe vascular (fv); inclusão celular (ic); parênquima (p); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); xilema (x). **D** – esquema do aspecto geral da secção transversal do pecíolo: face abaxial (ab); face adaxial (ad); câmbio (ca); colênquima (co); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); inclusão celular (ic); parênquima (p); xilema (x). **E** – detalhe da secção transversal do pecíolo mostrando drusa em célula parenquimática: inclusão celular (ic).

MEIMENDRO, folha

Hyoscyami folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Hyoscyamus niger* L., contendo, no mínimo, 0,05% de alcaloides totais expressos em hiosciamina (C₁₇H₂₃NO₃; 289,37). Os alcaloides são principalmente a hiosciamina acompanhada de escopolamina (hioscina) em proporções variadas.

CARACTERÍSTICAS

Odor ligeiramente nauseoso.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas inteiras, de até 30 cm de comprimento e 10 cm de largura, ovaladas a ovalado-oblongas, de ápice agudo e base cordada nas folhas sésseis e atenuada nas folhas pecioladas, de bordo lobado, irregularmente dentado; coloração verde-amarelada a verde-acastanhada; nervura principal larga e muito desenvolvida, nervuras secundárias formando ângulo pronunciado com a nervura principal, terminando na extremidade dos lobos. Lâminas foliares fortemente pubescentes e viscosas nas duas faces. Folhas friáveis e frequentemente partidas.

B. Descrição microscópica

Folha de simetria dorsiventral, anfiestomática, com estômatos anisocíticos. A epiderme, em vista frontal, apresenta células de paredes sinuosas, com sinuosidade mais evidente na face abaxial. Os tricomas tectores são lisos, de paredes espessas, longos, cônicos e pluricelulares, geralmente com 2 a 4 células. Os tricomas glandulares podem apresentar pedicelo longo, unicelular ou pluricelular e unisseriado, com uma pequena cabeça glandular bicelular, que exsuda uma substância viscosa ou com uma grande cabeça glandular pluricelular elíptica, outras vezes, são muito curtos e formados por um pequeno pedicelo que sustenta uma grande glândula claviforme e pluricelular. Os estômatos ocorrem em maior quantidade na face abaxial. A epiderme, em secção transversal, é uniestratificada e recoberta por uma cutícula lisa. O mesofilo é formado por uma única camada de parênquima paliçádico, seguida por um parênquima esponjoso onde, principalmente na região mais próxima ao parênquima paliçádico, ocorrem idioblastos com cristais prismáticos de oxalato de cálcio. A nervura principal é biconvexa e o feixe vascular principal apresenta feixes vasculares bicolaterais; os feixes secundários também são bicolaterais e envoltos por um periciclo pouco lignificado.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-acinzentada; fragmentos da epiderme mostrando células de paredes sinuosas e cutícula lisa; estômatos anisocíticos mais abundantes na face abaxial; tricomas tectores pluricelulares, unisseriados e tricomas glandulares conforme descritos; fragmentos do mesofilo, conforme descrito; uma só camada de células em paliçada e um parênquima esponjoso contendo idioblastos com prismas simples ou duplos de oxalato de cálcio; elementos de vaso com espessamento anelado ou helicoidal.

D. Descrição microscópica de impurezas no pó

O pó pode igualmente apresentar fibras e elementos de vaso reticulados do caule; grãos de pólen subesféricos, com um diâmetro que pode atingir 60 µm, três poros germinativos, três sulcos e uma exina praticamente lisa; fragmentos de corola de epiderme papilosa; fragmentos de sementes contendo esclereídes do tegumento de paredes espessadas, sinuosos, de coloração castanho-amarelada e cristais cuneiformes de oxalato de cálcio.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: solução concentrada de amônia, água e acetona (3:7:90).

Solução amostra: a 2 g da amostra pulverizada, adicionar 20 mL de ácido sulfúrico 0,05 M. Agitar durante 15 minutos e filtrar. Lavar o filtro com ácido sulfúrico 0,05 M até obtenção de 25 mL de filtrado. Adicionar, ao filtrado, 1 mL de amônia concentrada e agitar duas vezes com 10 mL de éter etílico isento de peróxidos de cada vez. Separar, se necessário, por centrifugação. Reunir as camadas etéreas e secá-las com sulfato de sódio anidro. Filtrar e evaporar o filtrado à secura em banho-maria. Dissolver o resíduo em 0,5 mL de metanol.

Solução padrão: dissolver 50 mg de sulfato de hiosciamina em 9 mL de metanol. Dissolver 15 mg de bromidrato de escopolamina em 10 mL de metanol. A 3,8 mL da solução de sulfato de hiosciamina, adicionar 4,2 mL da solução de bromidrato de escopolamina, completar o volume para 10 mL com metanol e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda de 20 mm por 3 mm, a 1 cm de distância, 10 µL da *Solução amostra* e 20 µL da *Solução padrão*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR e observar as manchas alaranjadas. A seguir, nebulizar a placa com nitrito de sódio a 5% (p/v) até que o gel se torne transparente e examinar depois de 15 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Escopolamina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
Hiosciamina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 2,0% de caules com mais de 7 mm de diâmetro.

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 13%.

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

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

Alcaloides totais

Pesar cerca de 40 g da amostra pulverizada (180 µm) e umedecer com 5 mL de amônia. Adicionar 10 mL de etanol e 30 mL de éter etílico isento de peróxido, misturados cuidadosamente. Transferir a mistura para um percolador, se necessário, com auxílio da solução extratora. Macerar durante 4 horas e percolar com mistura de clorofórmio e éter etílico isento de peróxidos (1:3), até extração completa dos alcaloides. Evaporar à secura 1 mL do percolado e dissolver o resíduo em ácido sulfúrico 0,25 M e verificar a ausência de alcaloides com iodeto de potássio mercúrio SR. Reduzir o volume do

percolado até 50 mL e transferir para um funil de separação com auxílio de éter isento de peróxidos. Ao líquido assim obtido adicionar éter etílico isento de peróxidos, 2,5 vezes o volume do percolador até a obtenção de um líquido de densidade inferior à da água. Extrair a solução, no mínimo três vezes, com 20 mL de solução de ácido sulfúrico 0,25 *M* cada vez. Separar as fases, por centrifugação, se necessário, e transferir a fase ácida para outro funil de separação. Alcalinizar a fase ácida com hidróxido de amônio até pH 8-9 e extrair três vezes com clorofórmio, com alíquotas de 30 mL. Juntar as fases clorofórmicas e retirar a água residual, adicionando 4 g de sulfato de sódio anidro, deixando em repouso por 30 minutos, com agitação ocasional. Retirar a fase clorofórmica e lavar o sulfato de sódio restante com três alíquotas de 10 mL de clorofórmio. Reunir os extratos clorofórmicos e evaporar à secura em banho-maria. Aquecer o resíduo em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 15 minutos. Dissolver o resíduo em 5 mL de clorofórmio, adicionar 20 mL de solução de ácido sulfúrico 0,01 *M* SV e remover o clorofórmio por evaporação em banho-maria. Titular o excesso de ácido com solução de hidróxido de sódio 0,02 *M* SV utilizando vermelho de metila SI como indicador.

Calcular o teor de alcaloides totais, expressos em hiosciamina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{57,88 \times (20 - n)}{(100 - d) \times m}$$

em que,

TA = teor de alcaloides % (p/p);

d = perda por secagem (%);

n = volume em mililitros de hidróxido de sódio 0,02 *M* utilizado; e

m = massa em gramas da tomada de ensaio.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

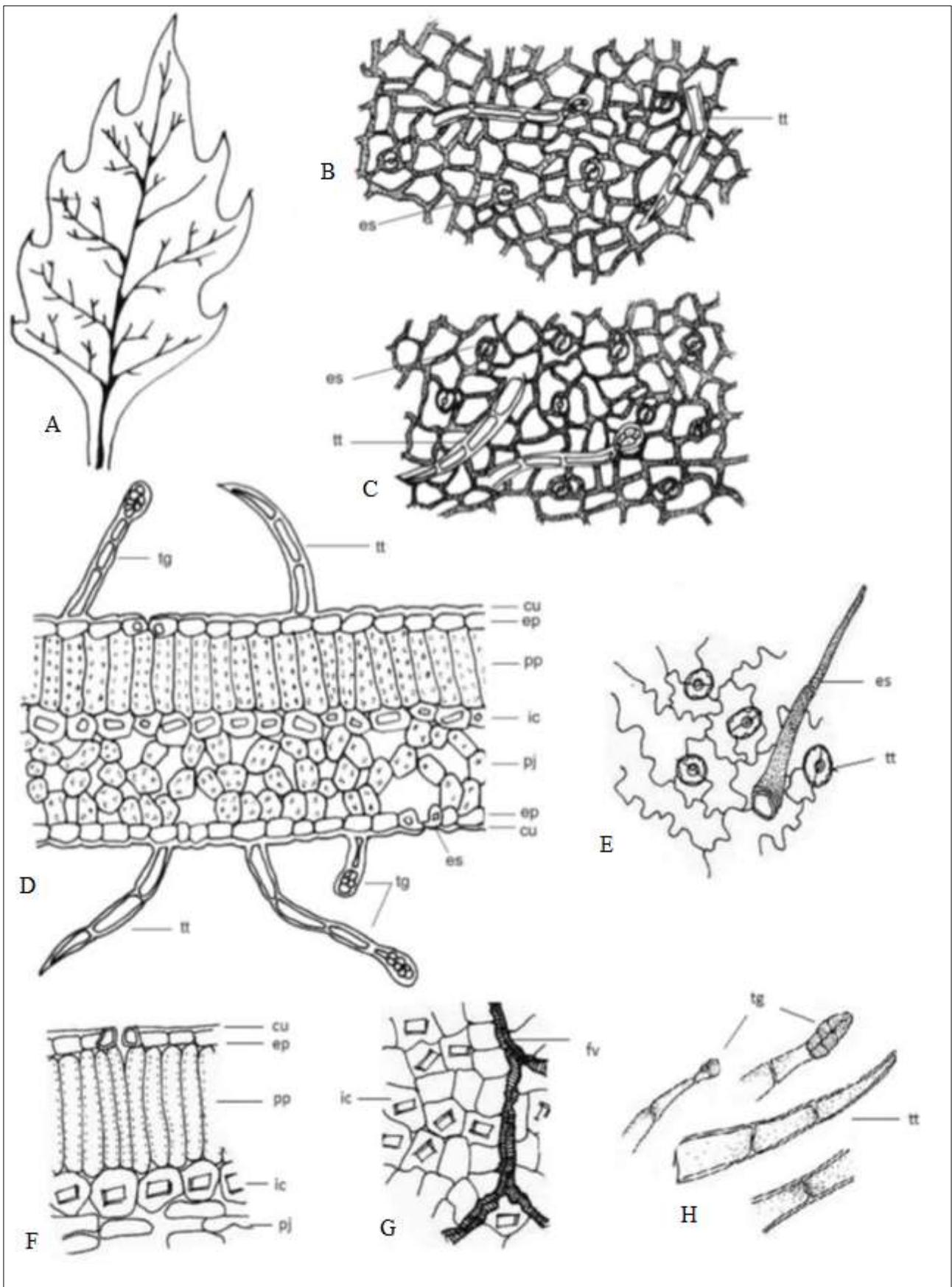


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Hyoscyamus niger* L.

As escalas correspondem em **A** a 5 mm, em **B-D** e **H** a 20 μ m, em **E-G** a 30 μ m.

A. representação esquemática da folha. **B.** detalhe de porção da epiderme voltada para a face adaxial, em vista frontal; estômato (es); tricoma tector (tt). **C.** detalhe de porção da epiderme voltada para a face abaxial, em vista frontal; estômato

(es); tricoma tector (tt). **D.** detalhe da porção do mesofilo, em secção transversal; tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt); cutícula (cu); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); idioblasto contendo cristais prismáticos de oxalato de cálcio (ic); parênquima esponjoso (pj); estômato (es). **E.** fragmento da epiderme em vista frontal, na face abaxial; estômato do tipo anisocítico (es); tricoma tector (tt). **F.** fragmento de porção do mesofilo, em secção transversal; cutícula (cu); epiderme (ep); idioblasto cristalífero (ic); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp). **G.** fragmento da epiderme mostrando cristais e porções de elementos de vaso por transparência; idioblasto cristalífero (ic); feixe vascular (fv). **H.** tricomas ou porções destes, isolados; tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt).

MELISSA, folha *Melissae folium*

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Melissa officinalis* L., contendo, no mínimo, 4,0% de derivados hidroxicinâmicos totais e, no mínimo, 2,0% de ácido rosmarínico (C₁₈H₁₆O₈, 360,31) e, no mínimo, 0,6% de óleo volátil.

CARACTERÍSTICAS

As folhas amassadas têm odor forte, aromático, semelhante ao citral.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas inteiras, membranáceas, rugosas, quebradiças, pecioladas, verde-escuras e brilhantes na face adaxial e verde-claras na face abaxial, às vezes vináceas, principalmente na região próxima ao pecíolo e sobre as nervuras da face abaxial, com tricomas tectores e raros glandulares na face adaxial e com numerosos tricomas tectores e glandulares na face abaxial, estes últimos parecendo pequenos pontos, visíveis com lente de aumento de seis vezes; venação camptódroma-reticulódroma. Lâmina ovalada a ovalado-cordiforme, com base ovalada, arredondada ou cordiforme, ápice obtuso e margem irregularmente crenado-serrada, finamente ciliada, medindo de 4 a 8 cm de comprimento e 3 a 5 cm de largura. Pecíolo de 0,3 a 5,0 cm de comprimento, verde ou vináceo, côncavo na face adaxial, convexo na face abaxial e com duas costelas laterais; face adaxial coberta por longos tricomas tectores, os das costelas visíveis a olho nu.

B. Descrição microscópica

Lâmina foliar de simetria dorsiventral, anfi-hipoestomática, com estômatos diacíticos. Em vista frontal, as células da epiderme apresentam paredes anticliniais sinuosas. A lâmina foliar apresenta os seguintes tricomas: (1) tectores unicelulares, raramente bicelulares, cônicos a triangulares, dentiformes, curtos, de cutícula espessa e verrucosa; (2) tectores pluricelulares unisseriados, de três a cinco células, sendo a apical de ápice agudo, de aspecto uncinado, de cutícula espessa e verrucosa; (3) tectores pluricelulares unisseriados, de três a nove células, muito longos, de cutícula espessa e verrucosa; (4) tectores, pluricelulares unisseriados, de três a nove células, muito longos e de base alargada, formada por uma coroa de células; (5) glandulares de cabeça unicelular ou bicelular, arredondada e pedicelo unicelular a tricelular; (6) glandulares peltados, com pedicelo unicelular, localizado em depressão na epiderme e com cabeça secretora octocelular. Em secção transversal, a cutícula é levemente estriada e a epiderme é uniestratificada. O parênquima paliçádico é

uniestratificado e o esponjoso é bi- a triestratificado; grãos de amido estão presentes em todos os tecidos. A nervura principal, em secção transversal, apresenta cutícula lisa na face adaxial e estriada na abaxial, a epiderme é uniestratificada, o colênquima é angular, uniestratificado junto à face abaxial e com três a quatro camadas junto à face adaxial. Ocorre um feixe colateral único, raro 2 ou 3, envolvido por uma endoderme contínua ou não. O pecíolo, em secção transversal, apresenta cutícula levemente estriada e epiderme uniestratificada. Os tricomas são os mesmos citados para a lâmina. O colênquima é angular e está distribuído em toda a extensão do pecíolo, uni- ou biestratificado na face adaxial e triestratificado na face abaxial; na região das costelas ocorrem até sete camadas. O sistema vascular é formado por 3 a 5 feixes colaterais, cada um deles envolvido por endoderme; o floema pode apresentar células pétreas junto às fibras.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração esverdeada; fragmentos de epiderme foliar com células de paredes anticlinais sinuosas e estômatos diacíticos e com cicatrizes dos tricomas tectores do tipo dentiforme; grande quantidade de tricomas conforme os descritos; fragmentos de mesofilo como descrito; cristais de oxalato de cálcio ausentes.

D. Descrição macroscópica das impurezas

Os caules, ramos, flores e frutos da própria espécie, se presentes como impureza, caracterizam-se: caule quadrangular, piloso quando jovem; flores pequenas, estipitadas e protegidas por brácteas foliáceas, semelhantes às demais folhas; cálice pubescente, tubuloso-campanulado, bilabiado, lábio superior tridentado e inferior bífido; corola branca a amarelada ou rosada, com tubo recurvado e limbo com dois lobos desiguais, o superior ereto, bífido e o inferior estendido, trilobado, com lobos obtusos, sendo o mediano o mais longo; estames quatro, didínamos, coniventes sob o lábio superior da corola, anteras com tecas divergentes; ovário súpero, tetralobado, com lóculos monospermicos; estilete ginobásico, bífido; fruto tetraquênio, de coloração marrom.

E. Descrição microscópica da impureza correspondente ao caule

Os caules da própria espécie, se presentes como impureza, apresentam, em estrutura primária, cutícula espessa e estriada, epiderme uniestratificada com células poliédricas, estômatos distribuídos próximos às costelas e localizados muito acima das demais células epidérmicas, muitos tricomas, mais comumente o tipo 6, além dos tipos 2 e 5 e os do tipo 4 distribuem-se nas costelas. O córtex apresenta colênquima angular distribuído por toda a extensão e mais desenvolvido nas costelas, clorênquima e parênquima cortical formado por células isodiamétricas com grandes espaços intercelulares. A endoderme possui grande quantidade de grãos de amido e envolve os quatro feixes colaterais. O parênquima medular é formado por células isodiamétricas de grande volume e de paredes delgadas. Em estrutura secundária, a epiderme e o córtex mantém suas características, exceto a clara redução de tricomas e a comum ocorrência de células pétreas no parênquima cortical. O floema possui grande quantidade de fibras, o câmbio vascular é evidente e o xilema apresenta grande quantidade de grãos de amido. Estes grãos ocorrem em todos os tecidos, exceto na epiderme e em maior quantidade quando em estrutura secundária.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: hexano e acetato de etila (90:10).

Solução amostra: transferir cerca de 2 g da droga moída para balão de fundo redondo de 250 mL, adicionar 100 mL de água. Adicionar 0,5 mL de xileno pela abertura lateral k e destilar durante uma hora conforme descrito em *Determinação de óleos voláteis em drogas vegetais (5.4.1.6)*. Após a destilação, transferir a fase orgânica para um balão aferido de 1 mL, lavar o tubo graduado do aparelho com um pouco de xileno e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução referência: diluir 1 µL de citronelal e 10 µL de citral em xileno, num balão volumétrico de 25 mL, completar o volume e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Em seguida, nebulizar a placa com solução de anisaldeído e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 10 a 15 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Citronelal: zona de coloração violeta-acinzentada	Zona de zona de coloração violeta-acinzentada
	Zona de zona de coloração violeta-avermelhado
Citral: zona de coloração violeta-azulada	Zona de zona de coloração violeta-azulada
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 10,0% de caules e flores.

Água (5.4.1.4). No máximo 10,0%. Determinar em 1 g da amostra moída (355 µm), em estufa entre 100 °C e 105°C, durante 2 horas.

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

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.

Perfil cromatográfico. 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	60 → 300
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: diluir o óleo volátil 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. Os índices de retenção linear dos constituintes do óleo são calculados em relação a uma série homóloga de hidrocarbonetos e comparados com amostras referência. Determinar as concentrações relativas por normalização (integração manual ou eletrônica). Calcular o Índice de Retenção Relativo, segundo a expressão:

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

em que,

IRR = Índice de Retenção Relativo;

n = número de átomos de carbono do alcano com tempo de retenção imediatamente anterior ao constituinte “x” a ser caracterizado;

tr_x = tempo de retenção do constituinte “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano imediatamente anterior ao constituinte “x”; e

tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n +1” carbonos (imediatamente posterior ao constituinte “x”).

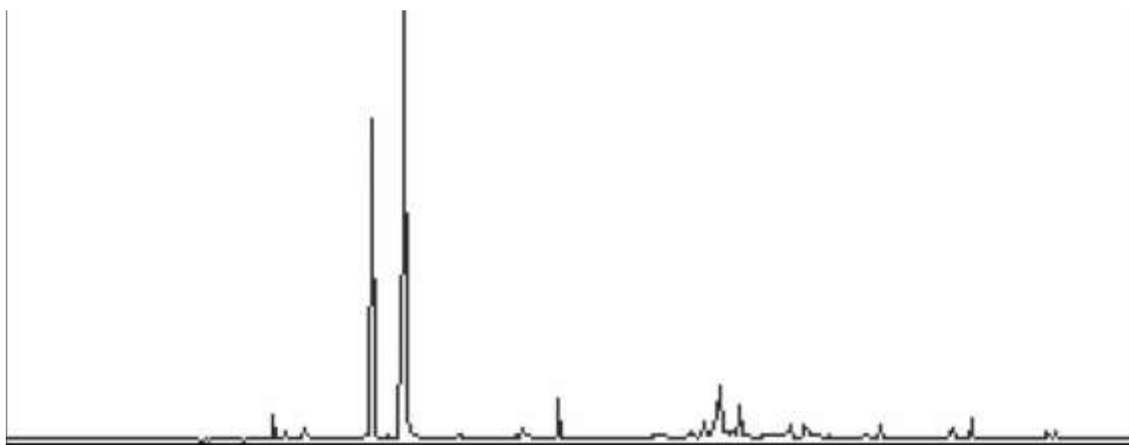


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Melissa officinalis* L., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama.

No cromatograma obtido com a *solução amostra* verificar a presença dos componentes conforme segue:

Pico	Índice de Retenção	Constituinte	Teor (%)
1	1234	neral (citral B)	30,4 – 32,9
2	1265	geranial (citral A)	49,0 – 53,3
3	1404	beta-cariofileno	2,6 – 3,1
4	1579	óxido de cariofileno	3,9- 6,4

DOSEAMENTO

Derivados hidroxicinâmicos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da droga pulverizada e transferir para balão de fundo redondo. Acrescentar 190 mL de etanol a 50% (v/v) e aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Esfriar e filtrar. Lavar o filtro com 10 mL de etanol a 50% (v/v). Transferir o filtrado e a solução de lavagem para balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com etanol a 50% (v/v) e homogeneizar.

Solução amostra: para um tubo de ensaio, transferir 1 mL da *Solução estoque*, 2 mL de ácido clorídrico 0,5 M, 2 mL de uma solução preparada dissolvendo 10 g de nitrato de sódio e 10 g de molibdato de sódio em 100 mL de água e, a seguir, 2 mL de hidróxido de sódio 2 M, completar o volume para 10 mL com água e homogeneizar.

Solução branco: para outro tubo de ensaio, transferir 1 mL da *Solução estoque*, 2 mL de ácido clorídrico 0,5 M, 2 mL de hidróxido de sódio 2 M, completar o volume para 10 mL com água e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 505 nm, após o seu preparo, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Considerar o valor 400 como absorvância específica do ácido rosmarínico em 505 nm. Calcular o teor de derivados hidroxicinâmicos totais, expresso em ácido rosmarínico, em percentagem, segundo a expressão:

$$\text{TDHC} = \frac{A \times 5}{m}$$

em que,

TDHC = derivados hidroxicinâmicos totais, expresso em ácido rosmarínico (%);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da droga vegetal, considerando a determinação de água.

Ácido rosmarínico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 332 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (4 µm), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/ minuto.

Fase móvel (1): água e ácido trifluoracético (100:0,1).

Fase móvel (2): acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,1).

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1)</i> %	<i>Fase móvel (2)</i> %	Sistema de eluição
0 – 14	90→61	10→39	gradiente linear
14 – 16	61→50	39→50	gradiente linear
16 – 18	50→90	50→10	gradiente linear
18 – 23	90	10	Isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da droga seca e moída (800 µm) e colocar em tubo de centrífuga fechado. Adicionar 5 mL de etanol a 40% (v/v) e levar ao banho de ultrassom durante 10 minutos. Centrifugar por 5 minutos a 1500 rpm. Separar e transferir o sobrenadante para balão volumétrico de 10 mL. Extrair novamente o resíduo da droga com 4 mL de etanol a 40% (v/v) em banho de ultrassom durante 5 minutos. Centrifugar e transferir o sobrenadante para o mesmo balão volumétrico, completar o volume para 10 mL com etanol a 40% (v/v) e homogeneizar. Diluir 50 µL da solução resultante em 0,3 mL de água.

Solução estoque: dissolver 10 mg de ácido rosmarínico em metanol, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com metanol e homogeneizar.

Soluções para curva analítica: diluir uma alíquota de 200 µL da *Solução estoque* de modo a obter solução a 0,25 mg/mL. Realizar diluições da solução anterior, em metanol, de modo a obter concentrações de 7,80 µg/mL, 15,60 µg/mL, 31,25 µg/mL, 62,50 µg/mL, 125 µg/mL e 250 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções para 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 10,3 minutos para o ácido rosmarínico. Calcular o teor de ácido rosmarínico na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva de calibração. O resultado é expresso pela média das determinações em gramas de ácido rosmarínico por 100 gramas da droga (%), considerando o teor de água.

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. Adicionar 0,5 mL de xilol pela abertura lateral k. Utilizar planta seca rasurada e não contundida. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga rasurada. Destilar por 4 horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

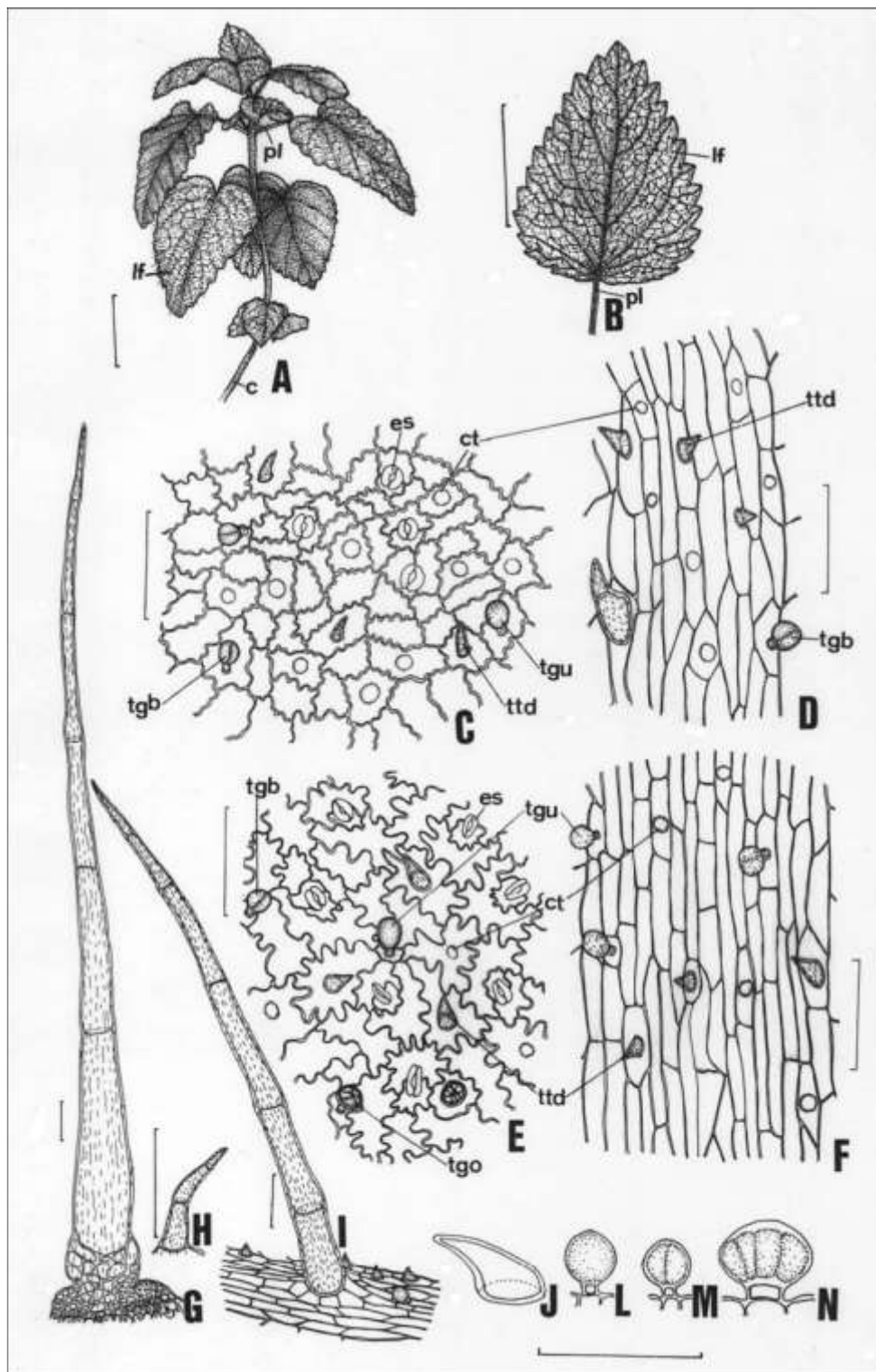


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Melissa officinalis* L.

As escalas correspondem em **A e B** a 3 cm; em **C, D, E, F, G, H, I, J, L, M e N** a 100 μm . **A** – aspecto geral de um ramo: caule (c); lâmina foliar (lf); pecíolo (pl). **B** – detalhe da face adaxial de uma folha: lâmina foliar (lf); pecíolo (pl). **C** – detalhe de uma porção da face adaxial da lâmina foliar, na região do intercostal, em vista frontal: cicatriz do tricoma tector do tipo dentiforme (ct); estômato (es); tricoma glandular com cabeça bicelular, tipo 5 (tgb); tricoma glandular com cabeça unicelular, tipo 5 (tgu); tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ttd). **D** – detalhe de uma porção da face adaxial da lâmina foliar, sobre a nervura principal, em vista frontal: cicatriz do tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ct); tricoma glandular com cabeça bicelular, tipo 5 (tgb); tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ttd). **E** – detalhe de uma porção da face abaxial da lâmina foliar, na região intercostal, em vista frontal: cicatriz do tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ct); estômato (es); tricoma glandular com cabeça bicelular, tipo 5 (tgb); tricoma glandular com cabeça octacelular, tipo 6 (tgo); tricoma glandular com cabeça unicelular, tipo 5 (tgu); tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ttd). **F** – detalhe

de uma porção da face abaxial da lâmina foliar, sobre a nervura principal, em vista frontal: cicatriz do tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ct); tricoma glandular com cabeça unicelular, tipo 5 (tgu); tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ttd). **G** – detalhe de um tricoma tector pluricelular unisseriado, com coroa de células basais, tipo 4, em vista lateral. **H** – detalhe de um tricoma tector pluricelular unisseriado, de aspecto uncinado, tipo 2, em vista lateral. **I** – detalhe de um tricoma tector pluricelular unisseriado, tipo 3, em vista lateral. **J** – detalhe de um tricoma tector dentiforme, unicelular, tipo 1, em vista lateral. **L** – detalhe de um tricoma glandular de cabeça unicelular, tipo 5, em vista lateral. **M** – detalhe de um tricoma glandular de cabeça bicelular, tipo 5, em vista lateral. **N** – detalhe de um tricoma glandular, com cabeça secretora octocelular, tipo 6, em vista lateral.

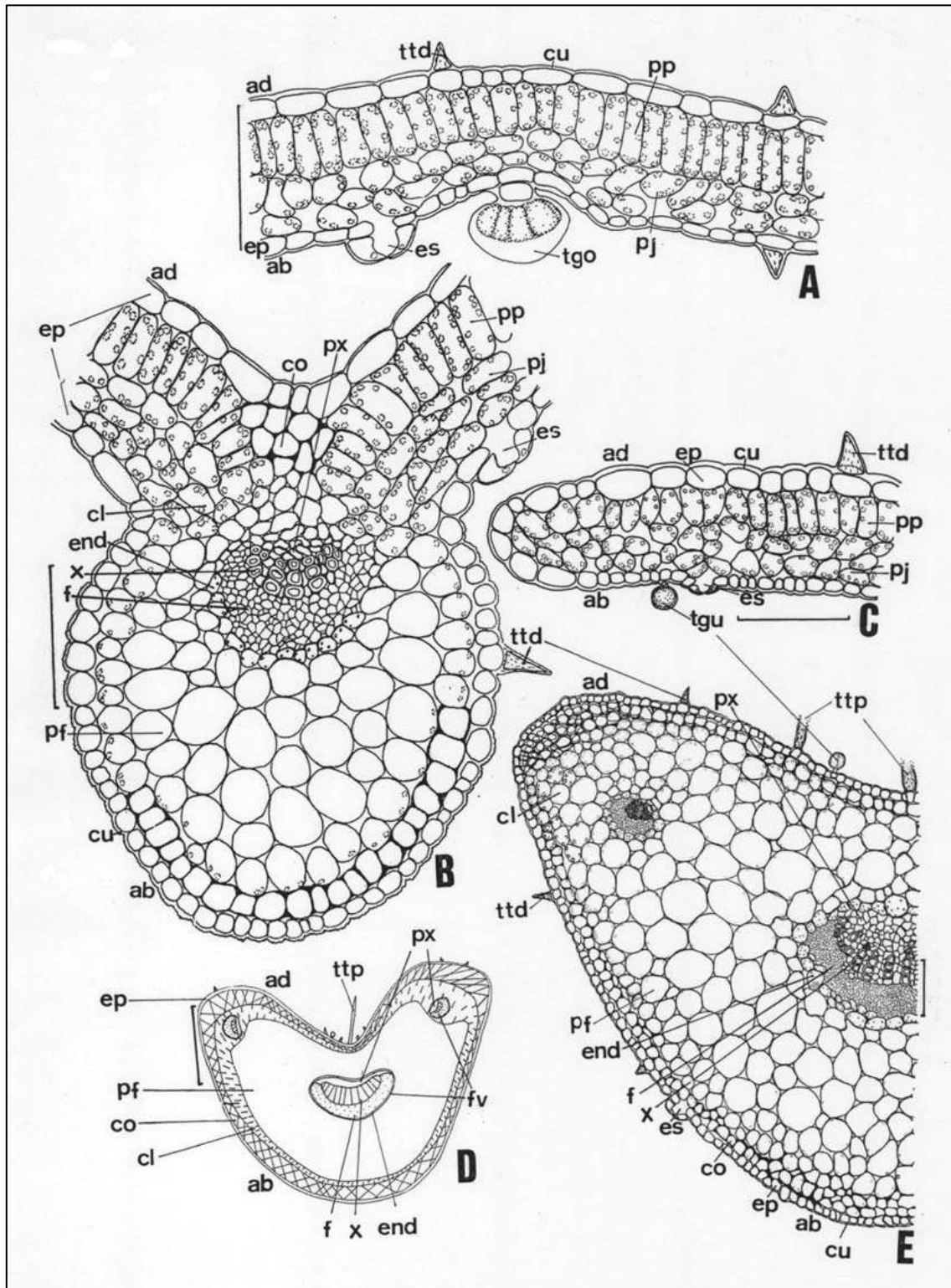


Figura 3 – Aspectos microscópicos em *Melissa officinalis* L.

As escalas correspondem em **A, B, C e E** a 100 µm; em **D** a 400 µm. **A** – detalhe de uma porção da região do mesofilo, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); cutícula (cu); epiderme (ep); estômato (es); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ttd); tricoma glandular com cabeça octocelular, tipo 6 (tgo). **B** – detalhe da região da nervura principal e de porção do mesofilo, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); colênquima (co); cutícula (cu); endoderme (end); epiderme (ep); estômato (es); floema (f); parênquima esponjoso (pj); parênquima (p); parênquima paliçádico (pp); parênquima do xilema (px); tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ttd); xilema (x). **C** – detalhe de uma porção do bordo foliar, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); cutícula (cu); epiderme (ep); estômato (es); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); tricoma glandular com cabeça unicelular, tipo 5 (tgu); tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ttd). **D** – representação esquemática do aspecto geral do pecíolo, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); colênquima (co); endoderme (end); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); parênquima fundamental (pf); parênquima do xilema (px); tricoma tector pluricelular unisseriado, tipo 3 (ttp); xilema (x). **E** – detalhe de porção do pecíolo, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); colênquima (co); cutícula (cu); endoderme (end); epiderme (ep); estômato (es); floema (f); parênquima fundamental (pf); parênquima do xilema (px); tricoma glandular com cabeça bicelular, tipo 5 (tgu); tricoma tector do tipo dentiforme, tipo 1 (ttd); tricoma tector pluricelular unisseriado, tipo 3 (ttp), xilema (x).

NOZ-DE-COLA, semente *Colae semen*

A droga vegetal consiste de cotilédones de *Cola nitida* (Vent.) Schott & Endl. (syn. *Cola vera* K.Schum.), contendo, no mínimo, 1,7% de taninos totais expressos em pirogalol (C₆H₆O₃; 126,11) e 2,0% de metilxantinas expressos em cafeína (C₈H₁₀N₄O₂, 194,19).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A semente contém dois cotilédones, os quais são normalmente encontrados no comércio já separados. São duros e desiguais, sólidos, irregulares, de coloração castanho-avermelhada, de tamanho muito variável, com 2 a 5 cm de comprimento por cerca de 2 cm de largura e até 1 cm de espessura. O ápice do cotilédone é mais largo do que a sua base e ambos são arredondados. A margem é inteira. A superfície externa de cada cotilédone é convexa ou ligeiramente deprimida, rugosa, de coloração castanha a castanho-avermelhada. A superfície interna é plana ou deprimida, mais ou menos lisa, geralmente irregular, apresentando na base pequena cavidade contendo, às vezes, a radícula e a plúmula, ou vestígios destas. A superfície de fratura é uniforme e castanho-brilhante.

B. Descrição microscópica

Os cotilédones estão envoltos por uma epiderme formada por células retangulares, pequenas ou ligeiramente alongadas no sentido radial e são constituídos por um parênquima homogêneo de células poligonais, às vezes de contorno irregular. As células mais internas são maiores, com paredes espessas e pontoadas, de coloração castanha, contendo compostos fenólicos, matéria graxa e abundantes grãos de amido. Esses últimos estão principalmente distribuídos nas células centrais e são desiguais, esféricos, ovalados, ovalado-arredondados, oblongos, reniformes, elipsoides ou piriformes, com hilo ramificado, centralizado ou excêntrico, quase sempre fundido, em forma de estrela ou de cruz e suas estrias concêntricas são pouco visíveis. O tamanho dos grãos varia de 5 a 35 µm, raramente 45 µm.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-avermelhada a moderadamente amarelado-acastanhada; fragmentos de epiderme e de parênquima com células poligonais, de paredes pardas ou castanho-avermelhadas, contendo numerosos e variados grãos de amido, como os descritos; escassos fragmentos de pequenos feixes fibrovasculares. Os grãos de amido, quando observados em luz polarizada, exibem uma cruz na região do hilo.

D. 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, metanol e água (100:13,5:10).

Solução amostra: extrair a droga previamente pulverizada, sob refluxo, durante 15 minutos, em concentração igual a 2% (p/v), utilizando etanol como líquido extrator. Filtrar e aplicar na cromatoplaca.

Solução referência: dissolver 10 mg de cafeína em 2 mL de etanol absoluto.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 5 µL a 10 µL da *Solução amostra* e 2 µL a 3 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar por alguns minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar com o iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR. Adicionalmente nebulizar com solução aquosa de nitrito de sódio a 5% (p/v).

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Cafeína: zona de coloração laranja	Zona de coloração vermelho-tijolo
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 15,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). 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

Metilxantinas

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da amostra pulverizada. Extrair com 20 mL de solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v), sob agitação magnética, durante 15 minutos, por quatro vezes. Filtrar as porções para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) e homogeneizar. Transferir 10 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com a mesma solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) e homogeneizar, obtendo-se, assim, concentração teórica em torno de 15 µg/mL.

Solução referência: pesar, com exatidão, cerca de 25 mg de cafeína e transferir para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) e homogeneizar, obtendo-se solução estoque de cafeína a 250 µg/mL.

Soluções para curva analítica: diluir alíquotas da *Solução referência* para obter as seguintes concentrações: 2,5 µg/mL; 5,0 µg/mL; 10,0 µg/mL; 15,0 µg/mL e 20,0 µg/mL, utilizando solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) para completar o volume.

Procedimento: medir a absorvância das soluções em 271 nm, empregar cubetas de 1 cm. Utilizar solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) para ajuste do zero. Calcular o teor de cafeína (metilxantinas) na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica da cafeína.

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar 0,75 g da droga pulverizada, transferir para erlenmeyer e adicionar 150 mL de água. Aquecer até fervura e manter, em banho-maria, à temperatura de 80 °C a 90 °C durante 30 minutos. Resfriar em água corrente. Transferir a mistura para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Deixar decantar o sedimento e filtrar em papel filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL de ácido fosfotúngstico SR e diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução (A_1) a 715 nm, exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: adicionar a 20 mL do filtrado 0,2 g de pó de pele SQR e agitar, vigorosamente, durante 60 minutos. Filtrar. Transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL de ácido fosfotúngstico SR e diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução a 715 nm (A_2), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para o ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, 50 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume e homogeneizar. Transferir 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL de ácido fosfotúngstico SR e diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância dessa solução a 715 nm (A_3), exatamente 3 minutos após a adição do último reagente e dentro de 15 minutos contados da dissolução do pirogalol, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{13,12 \times (A_1 - A_2)}{A_3 \times m}$$

em que,

TT = teor de taninos totais %;

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água;

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*; e

A_3 = absorvância medida para a *Solução padrão*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

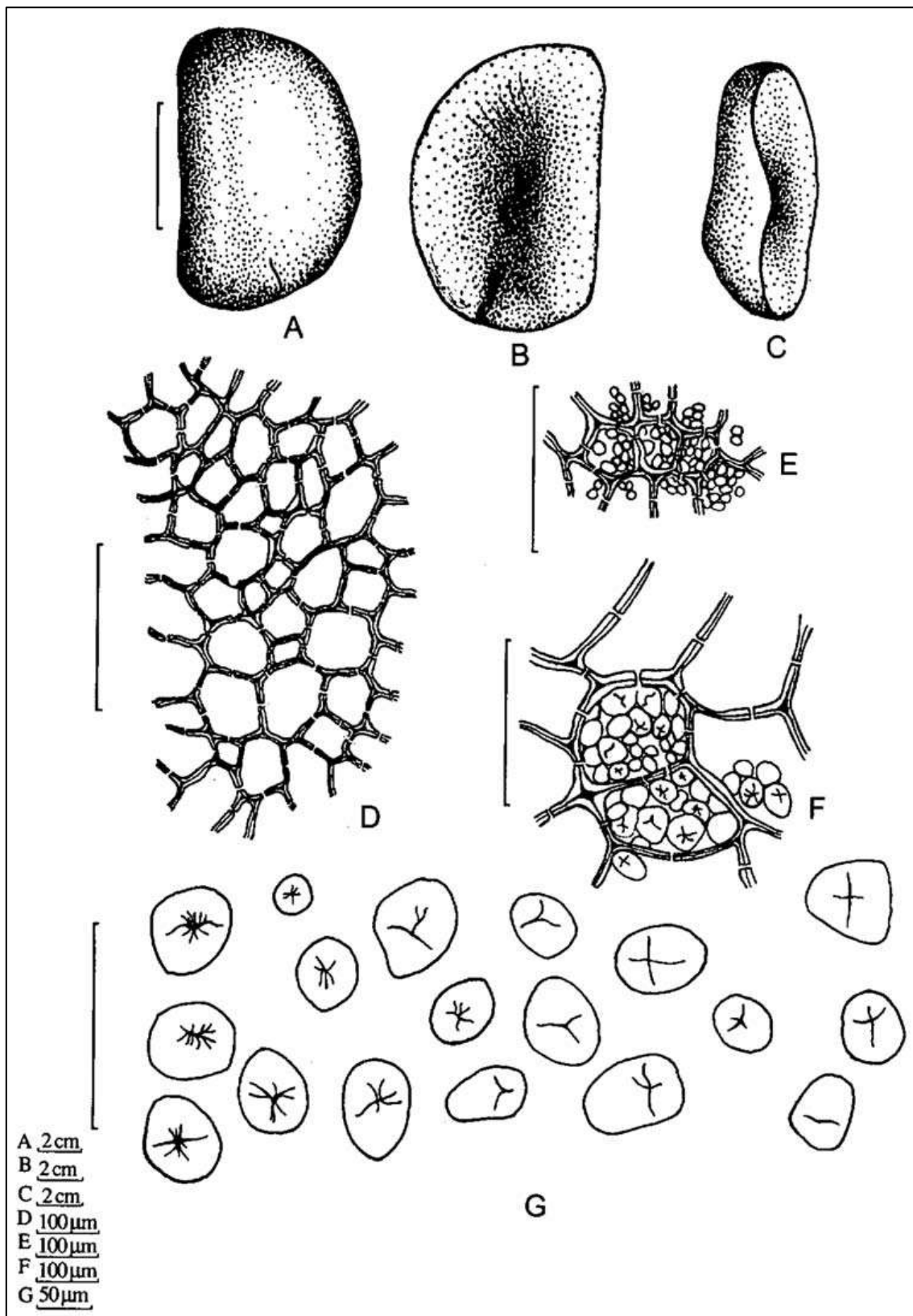


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Cola nitida* (Vent.) Schott & Endl.

As escalas correspondem em A, B e C a 2 cm; em D, E e F a 100 μm; em G a 50 μm.

A – aspecto da face externa do cotilédono. B – aspecto da face interna do cotilédono. C – cotilédono em vista equatorial. D, E, F e G – detalhes do pó. D, E e F – fragmentos de parênquima, evidenciando tamanhos variáveis de células e paredes pontoadas. G – detalhe de grãos de amido, mostrando variabilidade quanto à forma, tamanho dos grãos e aspecto do hilo.

PITANGUEIRA, folha

Eugeniae folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Eugenia uniflora* L., contendo, no mínimo, 5,0% de taninos, 1,0% de flavonoides totais, expressos em quercetina; e, 0,8% de óleos voláteis. O óleo volátil é constituído de, no mínimo, 27,0% de curzerenos (cis e trans).

CARACTERÍSTICAS

As folhas secas apresentam odor cítrico

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas simples, ovaladas a ovalado-lanceoladas, em geral com 4,5 a 6,2 cm de comprimento e 2,0 a 2,7 cm de largura, glabras, membranáceas a levemente coriáceas, de coloração verde escuro na face adaxial e verde mais claro na abaxial; lâmina com ápice agudo a acuminado, por vezes levemente falcado, base aguda a obtusa, margem inteira, penínervia, com nervura principal mais proeminente na face abaxial. Nervação camptódromo-broquidódroma, cada nervura secundária partindo em ângulo agudo em relação à principal, anastomosando-se com sua superior subsequente, de modo a formar uma série de arcos nas proximidades do bordo foliar; as nervuras secundárias e de ordem superior determinam aréolas incompletas, com terminações vasculares livres. Pecíolo com 0,3 a 0,6 cm de comprimento. As glândulas, presentes na lâmina, dificilmente são visualizadas sem auxílio de lentes.

B. Descrição microscópica

Lâmina foliar de simetria dorsiventral, hipoestomática com estômatos paracíticos, cujas células-guarda mostram espessamento da face interna em forma de halteres. Em vista frontal, as paredes anticliniais das células epidérmicas são sinuosas em ambas as faces. Em secção transversal, a lâmina apresenta epiderme uniestratificada, recoberta por cutícula. O parênquima paliçádico é uniestratificado e acompanhado por células coletoras. O parênquima esponjoso possui de 7 a 9 estratos de células com projeções braciiformes relativamente longas. No mesófilo são comuns idioplastos com cristais rômnicos e drusas de oxalato de cálcio. Cavidades secretoras, contendo óleo volátil, são comuns subjacentes à epiderme, em ambas as faces foliares, embora mais abundantes na adaxial. Na nervura principal, de contorno plano-convexo, ou raramente côncavo-convexo ou biconvexo, ocorrem, subjacentes à epiderme, uma a 3 camadas de colênquima anelar. O feixe vascular principal é do tipo biclateral, em arco aberto, envolto por dois a três estratos de células parenquimáticas de paredes espessadas, e uma bainha de fibras, exceto nas extremidades do arco. O floema apresenta abundância de cristais rômnicos de pequenas dimensões. As nervuras secundárias e as de menor calibre são acompanhadas por calotas de fibras em ambos os polos. O pecíolo, de contorno côncavo-convexo, apresenta pequenas expansões laterais. A epiderme é uniestratificada, contendo substâncias de coloração castanha, também presente nas células do parênquima fundamental subjacente, colenquimatoso. Cavidades secretoras, semelhantes às da lâmina, também estão presentes subepidêrmicamente. Grãos de amido, drusas e cristais ocorrem em abundância por todo o parênquima. O feixe vascular configura-se em arco aberto, biclateral, com abundância de cristais rômnicos no floema, envolto por quatro a oito camadas de tecido parenquimático de paredes

espassadas, formando uma bainha perivascular. Fibras, isoladas ou em grupos de dois a três elementos, raramente estão presentes ao redor do feixe vascular.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos de epiderme da lâmina com paredes anticlinais sinuosas, sem estômatos; fragmentos de epiderme com estômatos paracíticos, mostrando o espessamento em halteres; fragmentos da lâmina mostrando parênquima paliçádico uniestratificado e/ou parênquima esponjoso com projeções brachiformes relativamente longas; fragmentos da lâmina contendo cristais rômnicos, drusas em abundância e cavidades secretoras de aspecto brilhante devido à presença de óleo volátil; drusas e cristais rômnicos isolados.

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

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

Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico e água (75:5:5).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 10 g da droga moída, acrescentar 100 mL de água e aquecer sob refluxo por 15 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar a solução obtida em algodão, sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 25 mL de acetato de etila em funil de separação de 125 mL. Deixar em repouso em freezer a temperatura de -18 °C durante 15 minutos, para total separação das fases. Reunir e filtrar as frações orgânicas com 5 g de sulfato de sódio anidro. Evaporar a fração orgânica em evaporador rotatório sob pressão reduzida até resíduo. Suspender o resíduo com 1 mL de metanol.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de epicatequina e dissolver em 2 mL de metanol.

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Soluções referência (1)* e 10 µL da *Solução referência (2)*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar em capela de exaustão. Nebulizar a placa com solução de cloreto férrico a 1% (p/v) em metanol.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
4-O-Metilgalocatequina: zona de coloração cinza-azulado Epicatequina: zona de coloração cinza-azulado	Zona de coloração cinza-azulado Zona de coloração cinza-azulado Zona de coloração castanho-azulada Zona de coloração castanho-azulada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

E. Para a identificação de curzerenos, proceder conforme descrito em *Cromatografia a gás (5.2.17.5)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de espectrometria de massas, utilizando mistura de nitrogênio, ar sintético e hidrogênio (1:1:10) como gases auxiliares; coluna capilar de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com propilenoglicol, com espessura do filme de 0,25 µm. Utilizar hélio a uma pressão de 80 kpa como gás de arraste com fluxo de 1 mL/minuto.

Temperatura:

	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
Coluna	0 – 63,33	60 → 250
Injetor		220
Detector		230

Solução amostra: diluir o óleo volátil 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. Os isômeros do curzereno devem apresentar tempo de retenção relativo de aproximadamente 1845.

Calcular o Índice de Retenção Relativo (IRR), segundo a expressão:

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

em que,

IK = Índice de Retenção Relativo;

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

tr_x = tempo de retenção do composto “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano com “n” carbonos; e
 tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n + 1” carbonos.

TESTES

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

Água (5.4.1.4). No máximo 10,0%.

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

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.

Índice de espuma. Transferir, quantitativamente, cerca de 1 g da droga vegetal moída (180 μ m), pesada, com exatidão, para erlenmeyer contendo 50 mL de água fervente. Manter sob fervura moderada durante 15 minutos. Resfriar, filtrar em algodão para balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume, através do filtro, até 100 mL e homogeneizar. Distribuir o decocto obtido em 10 tubos de ensaio com tampa (16 mm de diâmetro por 16 cm de altura), em uma série sucessiva de 1 mL, 2 mL, 3 mL, até 10 mL, e ajustar o volume do líquido em cada tubo a 10 mL com água. Tampar os tubos e agitá-los, vigorosamente, com movimentos verticais por 15 segundos, com duas agitações por segundo. Deixar em repouso por 15 minutos e medir a altura da espuma. Após, adicionar em cada tubo 1 mL de ácido clorídrico 2 M. Se a altura da espuma de todos os tubos for inferior a 1 cm, o índice de espuma é menor do que 100. Se, em qualquer um dos tubos, a altura da espuma medida permanecer igual ou superior a 1 cm, a diluição do material vegetal nesse tubo (A) é o índice observado. Calcular o índice de espuma (IE), segundo a expressão:

$$IE = \frac{1000}{A}$$

em que,

IE = índice de espuma;

A = volume em mililitros do decocto usado para preparação da diluição no tubo em que a espuma foi observada.

O IE para o decocto deve ser de, no mínimo, 125.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga pulverizada (250 µm) e transferir para um erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água. Aquecer, em banho-maria, durante 30 minutos à temperatura de 60 °C. Resfriar em água corrente e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o erlenmeyer e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo de droga vegetal para o mesmo balão volumétrico. Completar o volume com água e homogeneizar. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL do filtrado adicionar 0,1 g de pó de pele SQR e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir, volumetricamente, 5 mL desse filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso 50 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero. Calcular o teor de taninos, expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = taninos totais % (p/p);

A_1 = absorvância da *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância da *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância da *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio, considerando a determinação de água; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,4 g de droga moída (240 µm), e transferir para um balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 1 mL de solução de metenamina a 0,5% (p/v), 20 mL de acetona e 2 mL de ácido clorídrico. Aquecer, sobre manta de aquecimento, mantendo sob refluxo, por 30 minutos. Filtrar em pequena quantidade de algodão para um balão volumétrico de 100 mL.

Lavar o resíduo da droga e o algodão, no mesmo balão de fundo redondo, com 20 mL acetona. Manter sob refluxo, por 10 minutos, e filtrar em algodão para o mesmo balão volumétrico de 10 mL. Repetir essa operação mais uma vez. Resfriar à temperatura ambiente, completar o volume com acetona e homogeneizar. Transferir 20 mL dessa solução acetônica, para funil de separação (125 mL), 20 mL de água e extrair com uma porção de 15 mL de acetato de etila. Repetir a extração por três vezes, com porções de 10 mL de acetato de etila. Reunir as fases acetato de etila e lavar em funil de separação com duas porções de 50 mL de água. Transferir a fase de acetato de etila para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com acetato de etila e homogeneizar.

Solução amostra: transferir, volumetricamente, 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL da solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em metanol, completar o volume com solução de ácido acético a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de ácido acético a 5% (v/v) em metanol e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* a 425 nm, em cubeta com 1 cm de espessura, 30 minutos após seu preparo, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Considerar a absorvidade específica da quercetina como $A(1\%, 1\text{ cm}) 500$. Calcular o teor de flavonoides totais, expressos em quercetina, na amostra, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TQ = \frac{A \times 62500}{500 \times m \times (100 - P)}$$

em que,

TQ = teor de quercetina %;

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas da droga; e

P = perda por dessecação % (p/p).

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 destilada como líquido de destilação e 0,5 mL de xileno, que deve ser introduzido pela abertura lateral K. Utilizar planta seca rasurada e não contundida. Proceder à determinação de óleo volátil, a partir de 100 g da droga rasurada. Destilar durante quatro horas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

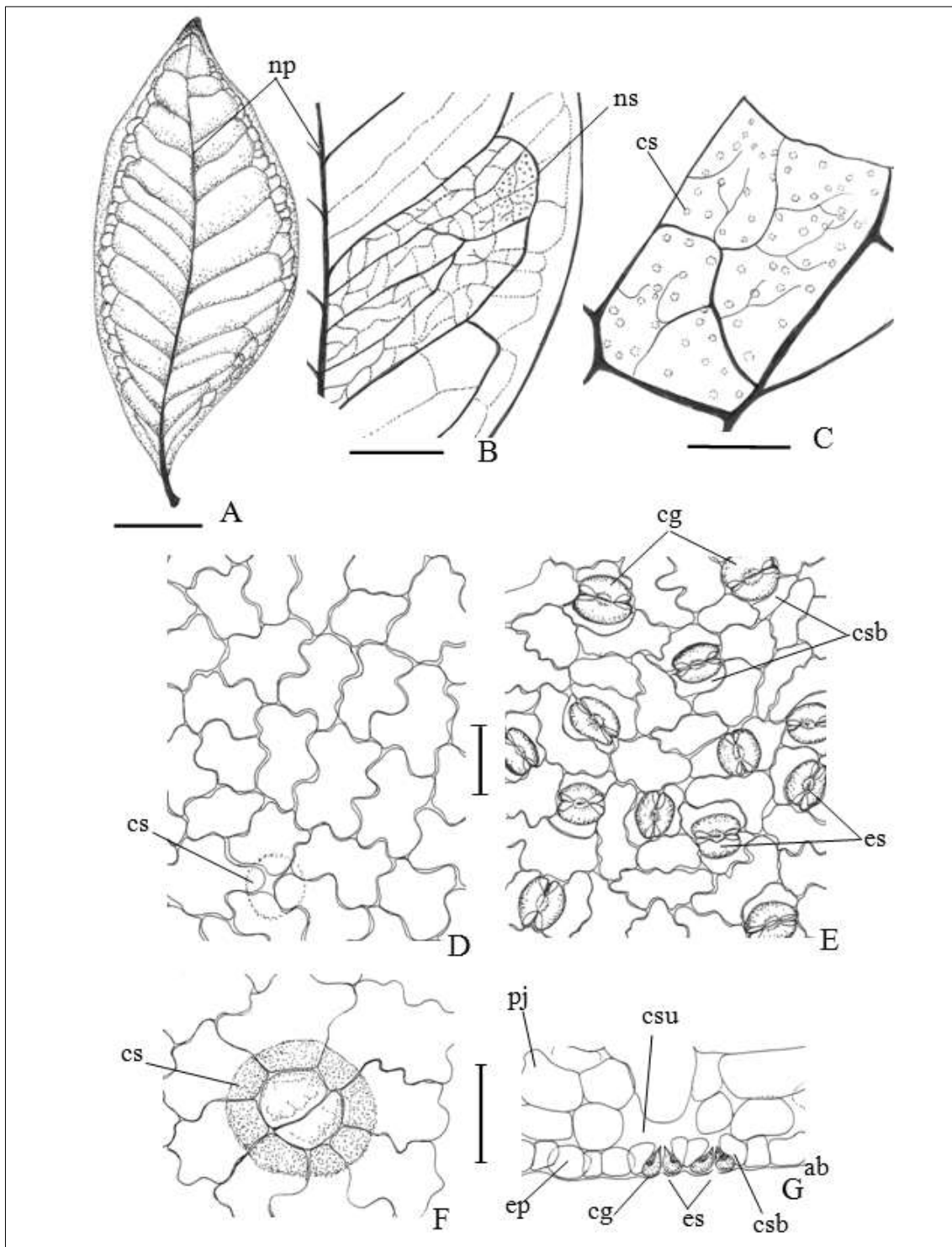


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Eugenia uniflora* L.

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B** a 5 mm; em **C** a 1 mm; em **D**, **E**, **F** e **G** a 50 μ m.

A – representação esquemática da folha, em vista frontal: nervura principal (np). **B** – detalhe esquemático de porção da lâmina mostrando a nervação foliar: nervura principal (np); nervura secundária (ns). **C** – detalhe esquemático de aréolas e terminações vasculares: cavidade secretora (cs). **D** e **E** – detalhes parciais da face adaxial e abaxial da lâmina foliar, respectivamente, em vista frontal: cavidade secretora (cs); célula-guarda (cg); célula subsidiária (csb); estômato (es). **F** – detalhe parcial da face adaxial da lâmina foliar, em vista frontal, mostrando uma cavidade secretora visualizada por transparência: estômato (es). **G** – detalhe parcial da lâmina, em secção transversal, mostrando complexos estomáticos geminados: parênquima esponjoso (pj); câmara subestomática (csu); face abaxial (ab); célula subsidiária (csb); estômato (es); célula-guarda (cg); epiderme (ep).

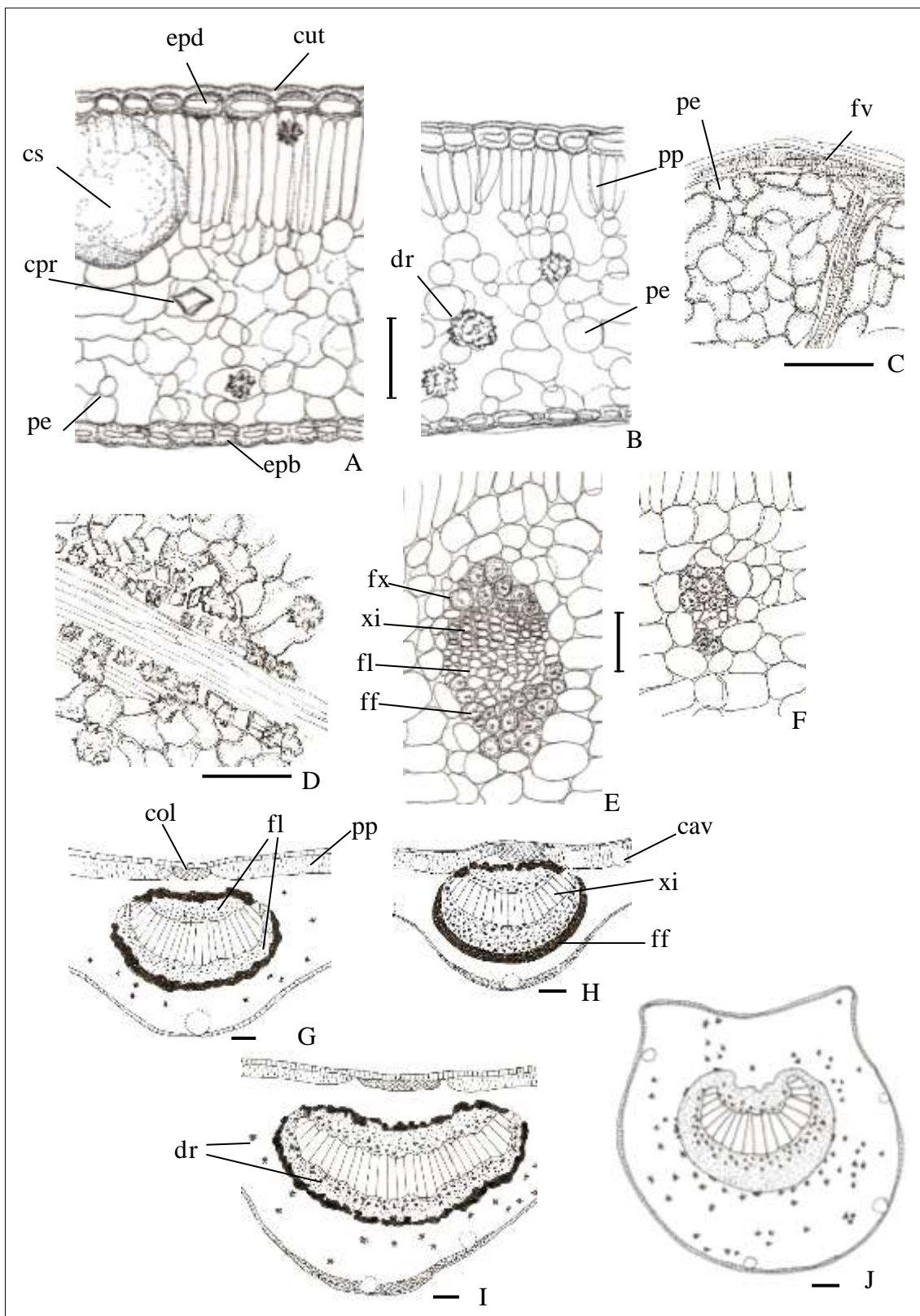


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pé em *Eugenia uniflora* L.

As escalas correspondem em **A e B** a 100 μm ; em **C, D, E e F** a 50 μm ; em **G, H e I** a 100 μm ; em **J** a 200 μm .

A e B – detalhes parciais do mesofilo de diferentes amostras, em secções transversais: face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); cutícula (cu); cavidade secretora (cs); idioblasto cristalífero (ic); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); espaço intercelular (ei). **C e D** – fragmentos do pé mostrando detalhes do parênquima esponjoso: parênquima esponjoso (pj); espaço intercelular (ei); feixe vascular (fv); idioblasto cristalífero (ic). **E e F** – detalhes parciais, em secções transversais, de uma nervura secundária e uma terciária, respectivamente: parênquima paliçádico (pp); fibras do xilema (fx); xilema (x); floema (f); fibras do floema (ff); parênquima esponjoso (pj). **G, H e I** – diagramas da nervura principal, em secções transversais, nas regiões mediana (**G**) e basal de diferentes amostras (**H e I**): face abaxial

(ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); xilema (x); colênquima (co); floema (f); parênquima paliçádico (pp); fibras do floema (ff); idioblasto cristalífero (ic); cavidade secretora (cs). **J** – diagrama, em secção transversal, do pecíolo: face abaxial (ab); face adaxial (ad); cavidade secretora (cs); epiderme (ep); floema (f); idioblasto cristalífero (ic); xilema (x).

POLÍGALA, raiz *Senegae radix*

A droga vegetal consiste de raízes e curto rizoma nodoso de *Polygala senega* L. e de seus cultivares, contendo, no mínimo, 6% de saponinas expressos em derivados do ácido oleanólico ($C_{30}H_{48}O_3$, 456,70).

CARACTERÍSTICAS

A raiz tem odor característico semelhante ao salicilato de metila; o pó é esternutatório; quando agitado com água produz espuma abundante.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A raiz é axial e fusiforme, um pouco tortuosa, às vezes ramificada ou bifurcada, apresentando na região apical um curto rizoma nodoso, subgloboso, fortemente alargado, com até 4 cm de largura, verrucoso, de coloração castanho-avermelhada, exibindo numerosos vestígios de caules aéreos, cuja presença não pode exceder 2% do peso total, cobertos ao nível de sua inserção por folhas rudimentares, escamosas, ovaladas, obtusas, com 2 a 3 mm de comprimento, frequentemente rosadas a arroxeadas, com bordos ciliados. Lateralmente, a raiz apresenta um apêndice em forma de quilha, disposto em toda a sua extensão, distribuído, geralmente, de maneira helicoidal. A raiz, abaixo do rizoma apical nodoso, tem em regra, de 5 a 20 cm de comprimento e de 0,5 a 1,2 cm de largura, podendo apresentar um pequeno número de raízes laterais. Sua superfície, de coloração castanho-amarelada e pardacenta na região superior e amarelada na inferior, é estriada, tanto longitudinal quanto transversalmente. Em secção transversal, observa-se o córtex amarelo-acastanhado, de espessura variada, circundando uma área central lenhosa, de coloração amarelo-clara, opaca, de forma mais ou menos circular, até irregular. Esta secção mostra uma estrutura predominantemente excêntrica, geralmente de forma oval ou piriforme, em virtude da presença da quilha. A forma da secção transversal é variável, inclusive em diferentes alturas no mesmo indivíduo. A fratura é lisa e nítida.

B. Descrição microscópica

Pelo exame microscópico da secção transversal da raiz, utilizando solução de hipoclorito de sódio a 3% (p/v), evidencia-se um súber de duas a seis camadas de células pardo-amareladas claras, alongadas tangencialmente, com paredes finas. A região cortical é formada por cerca de dez ou mais camadas de células, sendo as mais externas colenquimáticas e as demais parenquimáticas, as quais apresentam uma substância amorfa, incolor ou amarelo-clara, que se separa sob a forma de grandes gotas de óleo pela adição de uma gota de soluto de hidróxido de potássio. O câmbio forma um anel contínuo, produzindo tecidos de crescimento secundário anômalo, na maioria das vezes de disposição excêntrica. O floema apresenta células parenquimáticas que se distribuem de maneira radial e em seus

elementos condutores também se verifica a presença da substância amorfa. O xilema forma um maciço de lenho secundário, geralmente disposto em forma de leque, constituído de traqueídes com diâmetro de até 65 μm e elementos de vaso de paredes com espessamento reticulado e placas de perfuração laterais, associados a poucas células parenquimáticas lignificadas. Mais internamente, verifica-se a presença do xilema primário, que permite a classificação do órgão como diarco. A região da quilha, cuja forma é variável, de proeminente a quase circular, é originada por uma atividade irregular do câmbio, a qual pode promover um desenvolvimento anômalo do xilema e/ou do floema, resultando na formação de um ou dois, raramente três, grandes raios parenquimáticos cuneiformes, na região destes tecidos. As anomalias observadas em secção transversal correspondem a modificações profundas na estrutura anatômica da casca e do lenho, tornando-se muito evidentes quando tratadas com floroglucinol e ácido clorídrico.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-clara; fragmentos de súber; fragmentos de parênquima cortical de cor amarelada, com gotas de óleo; células do colênquima com gotas de óleo; fragmentos de traqueídes curtos; células dos raios parenquimáticos lignificadas e com grandes poros simples.

D. Descrição macroscópica e microscópica das impurezas

Restos de caules, em secção transversal, apresentam epiderme com células subretangulares e alongadas, córtex parenquimatoso, bainha de fibras pericíclicas não lignificadas, floema com elementos de pequeno diâmetro, xilema formado por traqueídes e elementos de vaso com paredes de espessamento reticulado, helicoidal ou pontoado e medula parenquimática. Folhas escamosas, quando presentes, exibem epiderme com paredes anticlinais sinuosas, tricomas unicelulares arredondados no ápice e estômatos anomocíticos.

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

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

Fase móvel: utilizar a fase superior da mistura de 1-butanol, água e ácido acético glacial (50:40:10).

Solução amostra: pesar 1 g da droga em pó, adicionar 10 mL de etanol a 70% (v/v) e deixar em ebulição por 15 minutos, sob refluxo. Filtrar e resfriar.

Solução referência: preparar uma solução de escina a 1 mg/mL em etanol a 70% (v/v).

Procedimento: aplicar em duas cromatoplacas, em forma de banda, separadamente, 10 μL da *Solução amostra* e 10 μL e 40 μL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a primeira placa com anisaldeído SR1 e aquecer em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C, até o aparecimento de manchas vermelhas correspondentes aos saponosídeos. Nebulizar a segunda placa com ácido fosfomolibdico a 20% (p/v) em etanol e aquecer em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C, até que as manchas correspondentes aos saponosídeos tornem-se azuis. A intensidade e o tamanho das manchas obtidas no cromatograma da *Solução amostra* estão entre as duas manchas correspondentes à escina, obtidas pela aplicação de 10 μL e 40 μL da *Solução referência*.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Escina: zona de coloração violeta-acinzentada	Zona de coloração vermelha Zona de coloração vermelha Zona de coloração vermelha Zona de coloração vermelha
<i>Solução referência 10 mL</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa		
Zona de coloração azulada fraca Escina Zona de coloração azulada	Zona de coloração azulada Escina Zona de coloração azulada	Zona de coloração azul-esverdeada Zona de coloração azul-esverdeada Zona de coloração azul-esverdeada
<i>Solução referência 10 mL</i>	<i>Solução referência 40 mL</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%. Referentes aos vestígios de caules aéreos.

Água (5.4.1.4). No máximo 10%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 6%.

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

Saponinas

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Reagente de coloração: Dissolver 75 mg de cloreto férrico em 50 mL de ácido acético anidro. Adicionar, sob agitação e resfriamento, 50 mL de ácido sulfúrico. Utilizar imediatamente após o preparo.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da planta pulverizada e transferir para balão de fundo redondo de 250 mL. Adicionar 70 g de etanol a 50% (v/v), 0,1 mL de silicone antiespumante e algumas pérolas de vidro. Pesar, com exatidão, o conjunto e aquecê-lo, sob refluxo, em banho-maria, por 60 minutos. Esfriar e completar até peso inicial com etanol a 50% (v/v). Centrifugar, separar o resíduo e a solução decantada, que é pesada e reduzida a resíduo em rotavapor, a uma temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo em 10 mL de ácido clorídrico 0,1 M, transferir para funil de separação de 250 mL e lavar o balão com duas porções de 5 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Reunir as fases ácidas e extrair com três porções de 70 mL da fase superior de mistura de 1-butanol, ácido clorídrico 0,1 M e clorofórmio (180:90:30). Após agitação, as duas fases devem permanecer em repouso por 15 minutos, no mínimo, antes da sua separação. As fases orgânicas são reunidas e lavadas com duas porções da fase inferior da mistura de 1-butanol, ácido clorídrico 0,1 M e clorofórmio (180:90:30). A fase inferior é desprezada. Evaporar a fase orgânica a resíduo em evaporador rotatório, em temperatura máxima de 60 °C. Suspender o resíduo com ácido acético glacial a 98% (v/v) e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com ácido acético glacial e homogeneizar. Filtrar a solução, desprezando os primeiros 20 mL do filtrado.

Solução amostra: transferir 0,5 mL da *Solução estoque* para tubo de ensaio, acrescentar 4 mL do *Reagente de coloração*. Homogeneizar e aquecer o tubo de ensaio em banho-maria a (60 ± 1) °C durante 25 minutos. Resfriar em banho de gelo por 30 segundos e realizar a leitura imediatamente.

Solução branco: transferir 0,5 mL de ácido acético glacial para tubo de ensaio e adicionar 4 mL do *Reagente de coloração*. Homogeneizar e aquecer o tubo de ensaio em banho-maria a (60 ± 1) °C durante 25 minutos. Resfriar em banho de gelo por 30 segundos e realizar a leitura imediatamente.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 520 nm, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de saponinas, como derivados do ácido oleanólico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TAO} = \frac{463,2 \times A}{m_1 \times m_2}$$

em que,

TAO = teor de derivados do ácido oleanólico %;

A = absorvância medida;

m_1 = massa em gramas da solução após centrifugação; e

m_2 = massa em gramas da droga, considerando o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

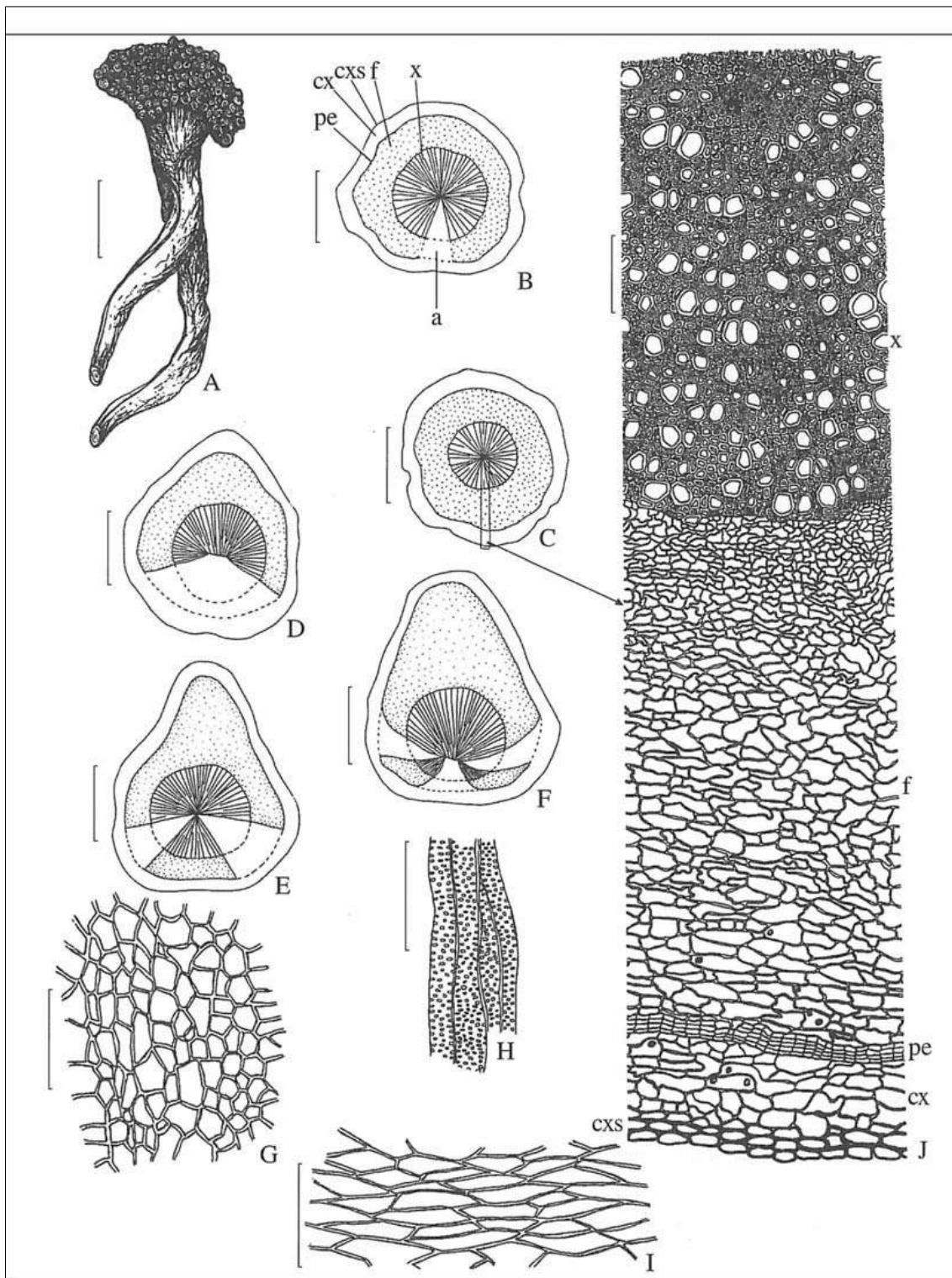


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó da raiz em *Polygala senega* L.

As escalas correspondem em **A** a 7 mm; em **B, C, D, E e F** a 1 mm; em **G, H, I e J** a 100 µm.

A – aspecto geral da raiz com rizoma apical nodoso. **B, D, E e F** – aspectos gerais de secções transversais da raiz: anomalia dos raios parenquimáticos (a); córtex (cx); córtex suberizado (cxs); floema (f); periderme (pe); xilema (x). **C** – aspecto geral da secção transversal da raiz com estrutura normal. **G** – células do parênquima cortical da região mais interna. **H** – detalhe de elementos de vasos. **I** – células do parênquima cortical da região mais externa. **J** – detalhe de uma porção da raiz em secção transversal, conforme indicado em **C**: córtex (cx); córtex suberizado (cxs); floema (f); periderme (pe); xilema (x).

QUEBRA-PEDRA, parte aérea

Phyllanthus niruriae herbae

A droga vegetal consiste de partes aéreas secas de *Phyllanthus niruri* L. [syn. *Phyllanthus niruri* ssp. *niruri* L. e *Phyllanthus niruri* ssp. *lathyroides* (Kunth) G.L. Webster] contendo, no mínimo, 6,5% de taninos totais e 0,15% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Caules herbáceos glabros, com até 80 cm de comprimento, simples ou ramificados, com ramos laterais filiformes, estes portando folhas. Folhas simples, alternas, membranáceas, glabras, oblongo-elípticas, de ápice atenuado, às vezes mucronado e base assimétrica, margem lisa. Lâminas com 0,5 a 1,4 cm de comprimento e 0,3 a 0,6 cm de largura, venação broquidódroma. Pecíolo de até 0,1 cm de comprimento. Estípula de 0,1 cm a 0,2 cm de comprimento, triangular-lanceolada, com ápice longo e estreitamente agudo a acicular e base inteira. Flores femininas com até 0,4 cm de diâmetro, com cinco tépalas elípticas e disco inteiro; ovário tricarpelar, trilocular, cada lóculo bispérmico; três estiletos bifidos na poção apical, estigmas globosos; pedicelo com 0,1 a 0,4 cm de comprimento. Flores masculinas com cinco tépalas largo-ovaladas, disco pentalobado e três estames com filetes conatos na base; pedicelos com cerca de 0,2 cm de comprimento. Frutos esquizocárpicos, do tipo tricoca, com 0,10 a 0,25 cm de diâmetro, depresso-globosos, expostos para a região abaxial dos ramos, separando-se em carpídios (cocas); duas sementes por lóculo, triangulares, com ápice agudo a arredondado; pedicelos com cerca de 0,4 a 0,5 cm de comprimento na maturação; tépalas persistentes, membranáceas, atingindo 2/3 da altura do fruto. As características macroscópicas em *Phyllanthus niruri* e *Phyllanthus tenellus* são determinantes para distingui-las, uma vez que ambas são muito similares quanto às características anatômicas. Em *Phyllanthus niruri*, as principais características macroscópicas são folhas de base assimétrica, estigmas globosos, e a presença de três estames com filetes conatos na base.

B. Descrição microscópica

O caule, em secção transversal, exhibe epiderme uniestratificada. Subepidermicamente encontram-se uma ou mais camadas de colênquima com espessamento angular, seguido de clorênquima formado por células isodiamétricas, contendo grãos de amido. Mais internamente, ocorrem uma ou mais camadas de parênquima cortical. O floema é constituído externamente por agrupamentos de fibras de paredes muito espessas e lume reduzido. Os elementos de vaso do xilema alternam-se com fileiras de fibras e células esclerificadas. O parênquima medular pode apresentar grãos de amido. Drusas de oxalato de cálcio ocorrem nos parênquimas. Em caules de maior diâmetro pode ocorrer periderme, seguida de clorênquima com grãos de amido e cristais. Lâmina foliar de simetria dorsiventral, em regra hipoestomática, com estômatos paracíticos, raramente anomocíticos. Em vista frontal, as células da epiderme da face adaxial mostram contornos irregulares e paredes onduladas. A cutícula é fina, a epiderme é uniestratificada em ambas as faces e possui células achatadas e algumas papilosas. O parênquima paliçádico é uniestratificado, ocupando cerca de 2/3 da espessura do mesofilo, apresentando idioblastos com drusas de oxalato de cálcio. Cristais pequenos e de diferentes formas são comuns e raramente ocorrem cristais romboédricos. O parênquima esponjoso é constituído por duas a três camadas. Cristais pequenos agregados e/ou isolados são comuns. O sistema vascular é do tipo colateral.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: presença de frutos depresso-globosos, carpídios (cocas) isolados e sementes como descritos; flores ou parte delas como descritas; cristais de oxalato de cálcio do tipo drusas; fragmentos de fibras; fragmentos de tecido epidérmico como descritos; fragmentos de tecidos foliares e caulinares como descritos; fragmentos de tecido vascular com elementos de vaso apresentando espessamento anelado, espiralado ou pontado, e fibras.

D. Descrição microscópica das impurezas

Se presente como impureza, a raiz em crescimento secundário apresenta periderme formada por três a quatro camadas de células suberificadas, felogênio e feloderme. Abaixo deste tecido encontra-se o parênquima cortical, formado por três a seis estratos celulares. O floema apresenta fibras dispostas perifericamente. O xilema apresenta duas a quatro fileiras de fibras dispostas radialmente. Os raios parenquimáticos são ricos em grãos de amido. Cristais como os descritos são comuns em todos os tecidos, sendo mais abundantes na região cortical e no parênquima medular.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

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

Solução amostra: transferir cerca de 1 g da droga moída para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de metanol e aquecer, sob refluxo, durante 30 minutos em banho-maria. Resfriar à temperatura ambiente e filtrar sob pressão reduzida. Extrair novamente com mais 10 mL de metanol durante 30 minutos, resfriar e filtrar, lavando o resíduo com 5 mL de metanol. Reunir os filtrados, completar o volume para 25 mL com metanol e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 10 mg de vitexina-2-ramnosídeo em 2 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca, deixar a placa secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C e, ainda morna, nebulizar com uma solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em metanol, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol. Deixar a placa secar ao ar livre durante 30 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência laranja
	Zona de fluorescência laranja
	Zona de fluorescência alaranjada
Vitexina-2-ramnosídeo: zona de fluorescência amarelo esverdeado	Zona de fluorescência amarelo esverdeado
	Zona de fluorescência amarela
Solução referência	Solução amostra

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄(0,250 mm).

Fase móvel: hexano e acetato de etila (70:30).

Solução amostra: transferir cerca de 1 g da droga moída para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de metanol e aquecer, sob refluxo, durante 30 minutos em banho-maria. Resfriar à temperatura ambiente e filtrar sob pressão reduzida. Extrair novamente com mais 10 mL de metanol durante 30 minutos, resfriar e filtrar, lavando o resíduo com 5 mL de metanol. Reunir os filtrados, completar o volume para 25 mL com metanol e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver separadamente 10 mg de filantina e de nirantina em 2 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído, ácido sulfúrico e ácido acético (1:2:97) e, a seguir aquecer em estufa. O cromatograma obtido com a *Solução amostra* não deve apresentar as manchas respectivas à filantina e nirantina obtidas com a *Solução referência*.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração
	Zona de coloração
	Zona de coloração
	Zona de coloração
	Zona de coloração
Nirantina: zona de coloração azul escuro Filantina: zona de coloração azul claro	
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 2,0%, correspondente às raízes.

Água (5.4.1.4). 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

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga moída, transferir para balão de fundo redondo e adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos, em

temperatura entre 80 °C e 90 °C. Resfriar em água corrente, transferir a mistura para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Deixar decantar o sedimento e filtrar, desprezando os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL de reagente de Folin-Denis e diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução (A₁) em 715 nm, exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: adicionar 0,2 g de pó de pele SQR a 20 mL da *Solução estoque* e agitar, mecanicamente, durante 60 minutos. Filtrar. Diluir 5 mL dessa solução para 25 mL com água. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL do reagente de Folin-Denis e diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução (A₂) em 715 nm, exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver 50 mg de pirogalol em água e diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir 5 mL dessa solução para 100 mL com água. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL de reagente de Folin-Denis e diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução (A₃) em 715 nm, exatamente 3 minutos após a adição do último reagente e dentro de 15 minutos contados da dissolução do pirogalol, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{13,12 \times (A_1 - A_2)}{A_3 \times m}$$

em que,

TT = taninos totais %;

A₁ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A₂ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A₃ = absorvância medida para a *Solução referência*; e

m = massa em gramas da droga vegetal, considerando a determinação de água.

Ácido gálico

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector de ultravioleta a 275 nm; pré-coluna contendo fase reversa C-18 hidrofílica e coluna de 100 mm de comprimento e 2,1 mm de diâmetro interno, empacotada com C-18 hidrofílica (3 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,25 mL/minuto.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 7	95	5	isocrática
10 - 14	95 → 0	5 → 100	gradiente linear

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga seca e moída (800 µm) e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de água, adaptar em condensador de refluxo e aquecer, em manta, à ebulição durante 15 minutos. Esfriar sob água corrente e filtrar o extrato sob pressão reduzida. Lavar o resíduo com água. Transferir o filtrado para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar em membrana de 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de ácido gálico SQR na *Fase móvel (1)* para obter solução a 1 mg/mL.

Soluções para curva analítica: transferir 1 mL da *Solução referência* para balão volumétrico de 50 mL, completar o volume com a *Fase móvel (1)* e homogeneizar. Diluir alíquotas de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL e 7 mL dessa solução a 10 mL utilizando a *Fase móvel (1)* obtendo assim, soluções com concentrações de 2,0 µg/mL, 4,0 µg/mL, 6,0 µg/mL, 10,0 µg/mL e 14,0 µg/mL. Filtrar as soluções em membrana de 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

Procedimento: injetar, separadamente, 5 µL da *Soluções para curva analítica* e 5 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob o pico correspondentes ao ácido gálico. O tempo de retenção relativo é cerca de 4,6 minutos para o ácido gálico. Calcular o teor de ácido gálico na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica do ácido gálico. O resultado é expresso pela média das determinações em gramas de ácido gálico por 100 gramas da droga considerando a determinação de água (%).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

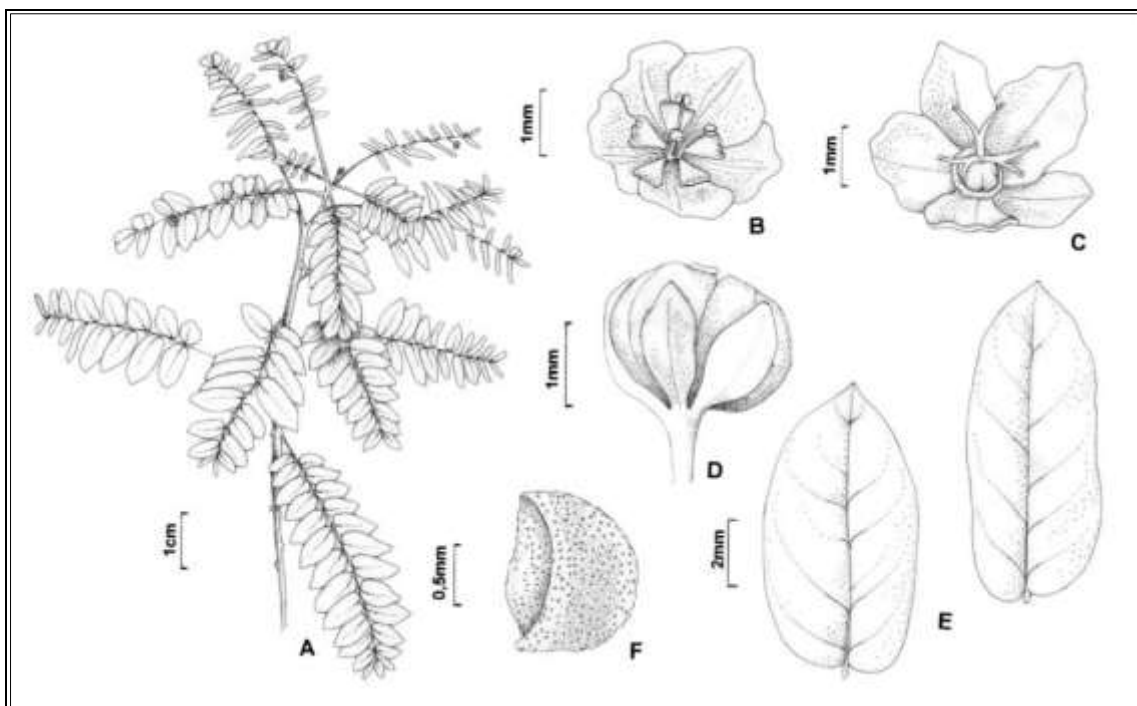


Figura 1 – Aspectos macroscópicos em *Phyllanthus niruri* L.

A – hábito. **B** – flor masculina com 5 nectários e três estames. **C** – flor feminina com ovário e disco nectarífero. **D** – fruto, tépalas persistentes. **E** – folhas de base assimétrica. **F** – aspecto geral da semente.

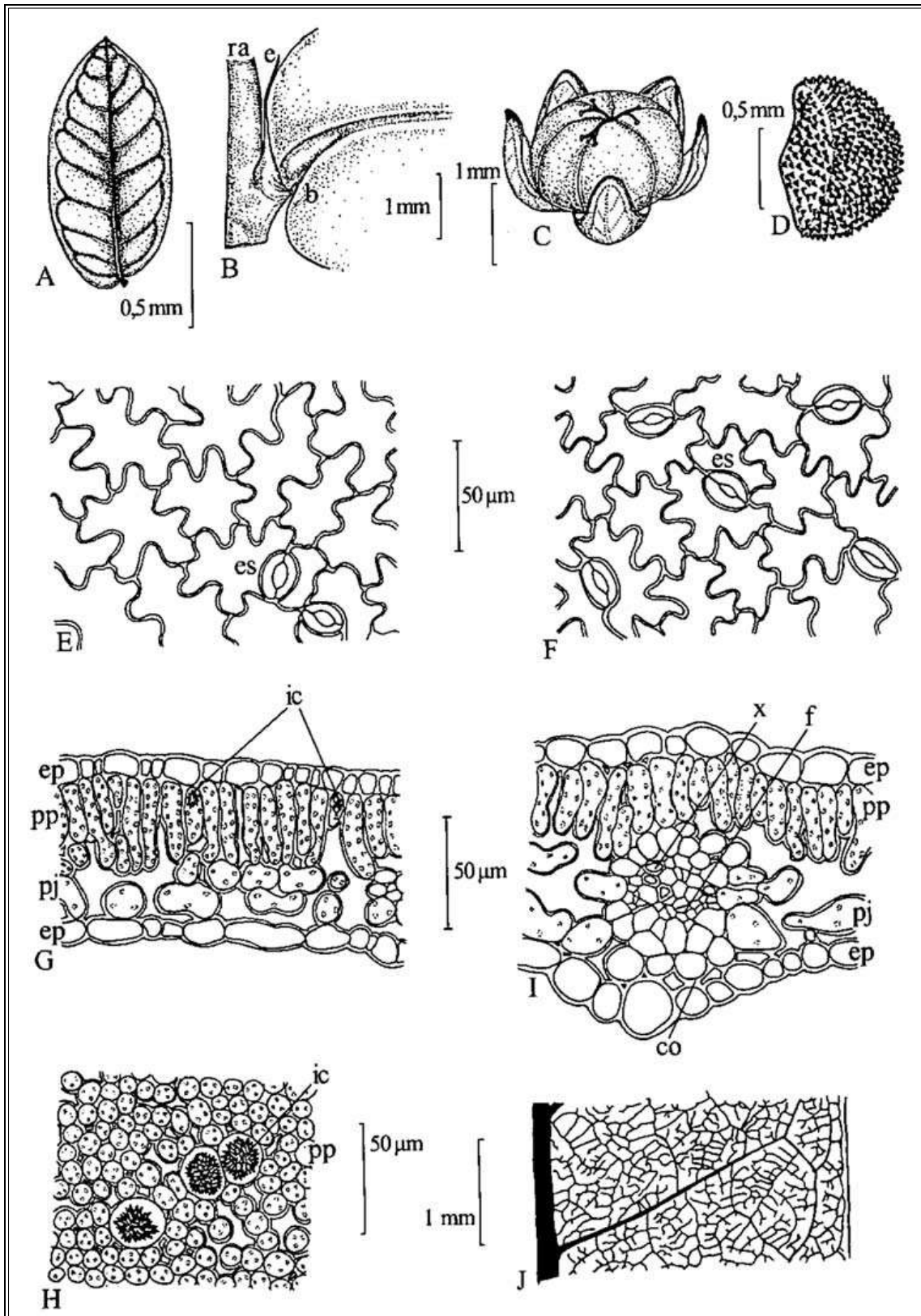


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus niruri* L.

As escalas correspondem em **A** e **D** a 0,05 cm; em **B**, **C** e **J** a 0,1 cm; em **E**, **F**, **G**, **H** e **I** a 50 μm

A – aspecto geral da folha. **B** – aspecto geral da estípula na região do nó: ramo (ra); estípula (e); base da folha (b). **C** – aspecto geral do fruto. **D** – aspecto geral da semente. **E** – vista frontal da epiderme da face adaxial: estômato (es). **F** – vista frontal da epiderme da face abaxial: estômato (es). **G** – lâmina foliar na região do mesofilo, em secção transversal: epiderme (ep); parênquima paliádico (pp); parênquima esponjoso (pj); idioblasto cristalífero (ic). **H** – região do mesofilo

ao nível do parênquima paliçádico, em secção paradérmica, evidenciando idioblastos com drusas: idioblasto cristalífero (ic); estômato (es). **I** – lâmina foliar na região da nervura principal em secção transversal: epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); xilema (x); floema (f); colênquima (co). **J** – detalhe da nervação broquidódroma de um segmento da lâmina foliar em vista frontal.

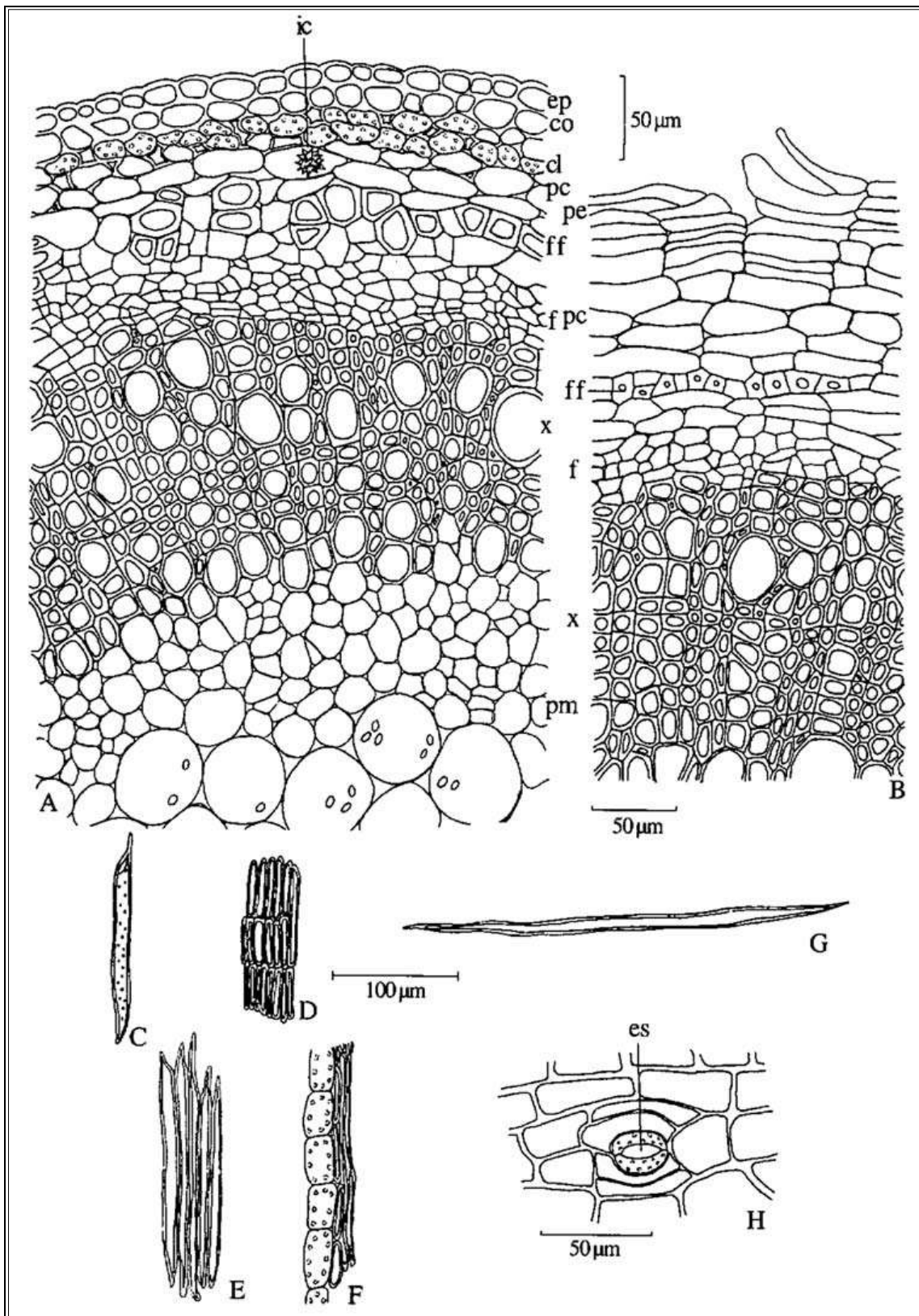


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus niruri* L.

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

A – detalhe do caule em secção transversal: epiderme (ep); colênquima (co); clorênquima (cl); parênquima cortical (pc); fibras do floema (ff); floema (f); xilema (x); parênquima medular (pm); idioblasto cristalífero (ic). **B** – detalhe da raiz em secção transversal: periderme (pe); parênquima cortical (pc); fibras do floema (ff); floema (f); xilema (x). **C** – elemento de vaso com espessamento pontado em vista longitudinal. **D** – células parenquimáticas esclerificadas. **E** – fibras do floema em vista longitudinal. **F** – células clorênquimáticas junto às fibras do floema. **G** – fibra em vista longitudinal. **H** – detalhe de um fragmento da epiderme caulinar em vista frontal, mostrando estômato (es).

QUEBRA-PEDRA, parte aérea *Phyllanthus tenellae herbae*

A droga vegetal consiste de partes aéreas secas de *Phyllanthus tenellus* Roxb., contendo, no mínimo, 9,0% de taninos totais e 0,12% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Caules herbáceos glabros, com até 60 cm de comprimento, simples ou ramificados, com ramos laterais filiformes, estes portando folhas. Folhas simples, alternas, membranáceas, glabras, elípticas a elíptico-ovaladas, de ápice obtuso e base obtusa a aguda e simétrica, margem lisa. Lâminas com 0,8 a 2,5 cm de comprimento e 0,5 a 1,2 cm de largura, venação broquidódroma. Pecíolo de até 0,1 cm de comprimento. Estípula de até 0,15 cm de comprimento, estreito-triangular, com ápice agudo e base inteira. Flores femininas com até 0,3 cm de diâmetro, com cinco tépalas obovaladas e disco inteiro; ovário tricarpelar, trilocular, cada lóculo bispérmico; três estiletos bífidios na porção apical, estigmas não globosos; pedicelo com 0,1 a 0,8 cm de comprimento. Flores masculinas com cinco tépalas suborbiculares, disco pentalobado e cinco estames com filetes livres entre si; pedicelos com até 0,15 cm de comprimento. Frutos esquizocárpicos, do tipo tricoca, com 0,1 a 0,2 cm de diâmetro, depresso-globosos, expostos para a região adaxial dos ramos, separando-se em carpídios (cocas); duas sementes por lóculo, triangulares, com ápice arredondado; pedicelos com até 0,9 cm de comprimento na maturação; tépalas persistentes, membranáceas, atingindo metade da altura do fruto. As características macroscópicas em *Phyllanthus tenellus* e *Phyllanthus niruri* são determinantes para distingui-las, uma vez que ambas são muito similares quanto às características anatômicas. Em *Phyllanthus tenellus*, as principais características macroscópicas são folhas de base simétrica, estigmas não globosos, e a presença de cinco estames com filetes livres.

B. Descrição microscópica

O caule, em secção transversal, exhibe epiderme uniestratificada. Subepidermicamente encontram-se uma ou duas camadas de colênquima com espessamento angular, seguido de clorênquima formado por células isodiamétricas, contendo grãos de amido. Mais internamente, ocorrem uma ou mais camadas de parênquima cortical. O floema é constituído externamente por grupamentos de fibras de paredes muito espessas e lume reduzido. Os elementos de vaso do xilema alternam-se com fileiras de fibras e células esclerificadas. O parênquima medular pode apresentar grãos de amido. Cristais romboédricos de oxalato de cálcio ocorrem nos parênquimas. Em caules de maior diâmetro pode ocorrer periderme, seguida de clorênquima com grãos de amido e cristais. Lâmina foliar de simetria dorsiventral, hipostomática, com estômatos paracíticos, raramente anomocíticos. Em vista frontal, as células da epiderme da face adaxial mostram contornos irregulares e paredes onduladas. A cutícula é fina, a epiderme é uniestratificada em ambas as faces e possui células achatadas e algumas papilosas.

O parênquima paliçádico é uniestratificado, ocupando cerca da metade da espessura do mesofilo, apresentando idioblastos com cristais romboédricos de oxalato de cálcio. O parênquima esponjoso é constituído por duas a três camadas de células. O sistema vascular é do tipo colateral.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: presença de frutos depresso-globosos, carpídios (cocas) isolados e sementes como descritos; flores ou parte delas como descritas; cristais romboédricos de oxalato de cálcio; fragmentos de fibras; fragmentos de tecido epidérmico como descritos; fragmentos de tecidos foliares e caulinares como descritos; fragmentos de tecido vascular com elementos de vaso apresentando espessamentos anelado, espiralado e mais frequentemente pontoado, e fibras.

D. Descrição microscópica das impurezas

Se presente como impureza, a raiz em crescimento secundário apresenta periderme formada por duas a três camadas suberificadas, felogênio e feloderme. Abaixo deste tecido encontra-se o parênquima cortical, formado por três a quatro estratos celulares. O floema apresenta fibras dispostas perifericamente. O xilema apresenta fibras entre os elementos de vaso ou duas a quatro fileiras de fibras dispostas radialmente, além de raios parenquimáticos formados por uma ou duas fileiras de células de paredes espessadas, contendo grãos de amido. Cristais como os descritos são comuns nos tecidos parenquimáticos, inclusive dos sistemas vasculares.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

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

Solução amostra: transferir cerca de 1 g da droga moída para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de metanol e aquecer, sob refluxo, durante 30 minutos em banho-maria. Resfriar à temperatura ambiente e filtrar sob pressão reduzida. Extrair novamente com mais 10 mL de metanol durante 30 minutos, resfriar e filtrar, lavando o resíduo com 5 mL de metanol. Reunir os filtrados. Completar o volume para 25 mL com metanol, homogeneizar, e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 10 mg de rutina em 2 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça, deixar a placa secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C e, ainda morna, nebulizar com difenilborato de aminoetanol SR, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em metanol. Deixar a placa secar ao ar livre durante 30 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência laranja
	Zona de fluorescência laranja
Rutina: zona de fluorescência alaranjada	Zona de fluorescência alaranjada
	Zona de fluorescência amarela
Solução referência	Solução amostra

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: hexano e acetato de etila (70:30).

Solução amostra: transferir cerca de 1 g da droga moída para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de metanol e aquecer, sob refluxo, durante 30 minutos em banho-maria. Resfriar à temperatura ambiente e filtrar sob pressão reduzida. Extrair novamente com mais 10 mL de metanol durante 30 minutos. Filtrar o extrato, lavando o resíduo com 5 mL de metanol agrupando-o ao primeiro. Completar o volume para 25 mL com metanol, homogeneizar e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver separadamente 10 mg de filantina SQR e nirantina SQR em 2 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 25 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com mistura de solução de anisaldeído, ácido sulfúrico e ácido acético (1:2:97), e a seguir, aquecer em estufa. O cromatograma obtido com a *Solução amostra* não deve apresentar as manchas respectivas à filantina e nirantina obtidas com a *Solução referência*.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração Zona de coloração
	Zona de coloração
	Zona de coloração
	Zona de coloração
	Zona de coloração
Nirantina: zona de coloração azul escuro Filantina: zona de coloração azul claro	
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 2,0%, correspondente às raízes.

Água (5.4.1.4). No máximo 9,5%.

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

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga moída, transferir para balão de fundo redondo e adicionar 150 mL de água. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos, em

temperatura entre 80 °C e 90 °C. Resfriar em água corrente, transferir a mistura para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Deixar decantar o sedimento e filtrar, desprezando os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL de reagente de Folin-Denis e diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução (A₁) em 715 nm, exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: adicionar 0,2 g de pó de pele SQR a 20 mL da *Solução estoque* e agitar, mecanicamente, durante 60 minutos. Filtrar. Diluir 5 mL dessa solução para 25 mL com água. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL do reagente de Folin-Denis e diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução (A₂) em 715 nm, exatamente 3 minutos após a adição do último reagente, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver 50 mg de pirogalol em água e diluir para 100 mL com o mesmo solvente. Diluir 5 mL dessa solução para 100 mL com água. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL de reagente de Folin-Denis e diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR. Medir a absorvância da solução (A₃) em 715 nm, exatamente 3 minutos após a adição do último reagente e dentro de 15 minutos contados da dissolução do pirogalol, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{13,12 \times (A_1 - A_2)}{A_3 \times m}$$

em que,

TT = taninos totais %;

A₁ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A₂ = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A₃ = absorvância medida para a *Solução referência*; e

m = massa em gramas da droga vegetal, considerando a determinação de água.

Ácido gálico

Proceder conforme descrito em Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector de ultravioleta a 275 nm; pré-coluna contendo fase reversa C-18 hidrofílica e coluna de 10 cm de comprimento e 2,1 mm de diâmetro interno, empacotada com C-18 hidrofílica (3 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,25 mL/minutos.

Fase móvel (1): ácido trifluoracético a 0,05%.

Fase móvel (2): ácido trifluoracético a 0,05% em metanol.

Tempo (minutos)	Fase móvel (1) (%)	Fase móvel (2) (%)	Sistema de eluição
0 - 8	100	0	isocrático
8 - 15	100 → 50	0 → 50	gradiente linear
15 - 20	50	50	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga seca e moída (800 µm) e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 30 mL de água, adaptar em condensador de refluxo e aquecer, em manta, à ebulição durante 15 minutos sob agitação magnética. Esfriar sob água corrente e filtrar o extrato sob pressão reduzida. Lavar o resíduo com água. Transferir o filtrado para balão volumétrico de 250 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar em membrana de 0,45 µm e injetar no cromatógrafo.

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de ácido gálico na *Fase móvel (1)* para obter solução a 400 µg/mL.

Solução para curva analítica: transferir 2 mL da *Solução referência* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com a *Fase móvel (1)* e homogeneizar. Diluir alíquotas de 2 mL e 5 mL dessa solução a 25 mL utilizando a *Fase móvel (1)* obtendo assim, soluções com concentrações de 2,6 µg/mL e 6,4 µg/mL. Adicionalmente, diluir alíquotas de 3 mL, 5 mL e 7 mL a 10 mL utilizando a *Fase móvel (1)*, obtendo soluções com concentrações de 9,6 µg/mL, 16,0 µg/mL e 22,4 µg/mL. Utilizar as cinco soluções preparadas (2,6 µg/mL; 6,4 µg/mL; 9,6 µg/mL; 16,0 µg/mL e 22,4 µg/mL) na construção da curva analítica, após filtração em membrana de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 5 µL da *Soluções para curva analítica* e 5 µL da *Solução amostra*. Registrar os cromatogramas e medir as áreas sob o pico correspondentes ao ácido gálico. O tempo de retenção relativo é cerca de 5,3 minutos para o ácido gálico. Calcular o teor de ácido gálico na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica do ácido gálico. O resultado é expresso pela média das determinações em gramas de ácido gálico por 100 gramas da droga considerando a determinação de água (%).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

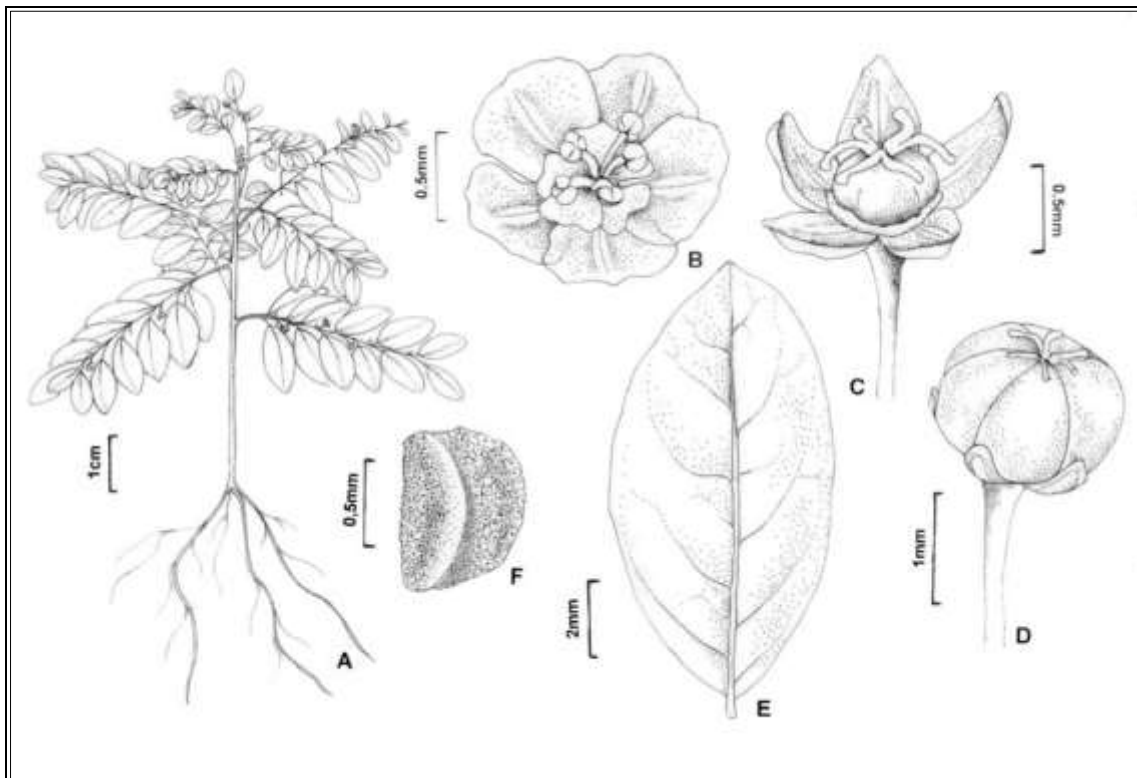


Figura 1 – Aspectos macroscópicos em *Phyllanthus tenellus* Roxb.

A – hábito. **B** – flor masculina com cinco nectários e cinco estames. **C** – flor feminina com ovário e disco nectarífero. **D** – fruto, tépalas persistentes. **E** – folha de base simétrica. **F** – aspecto geral da semente.

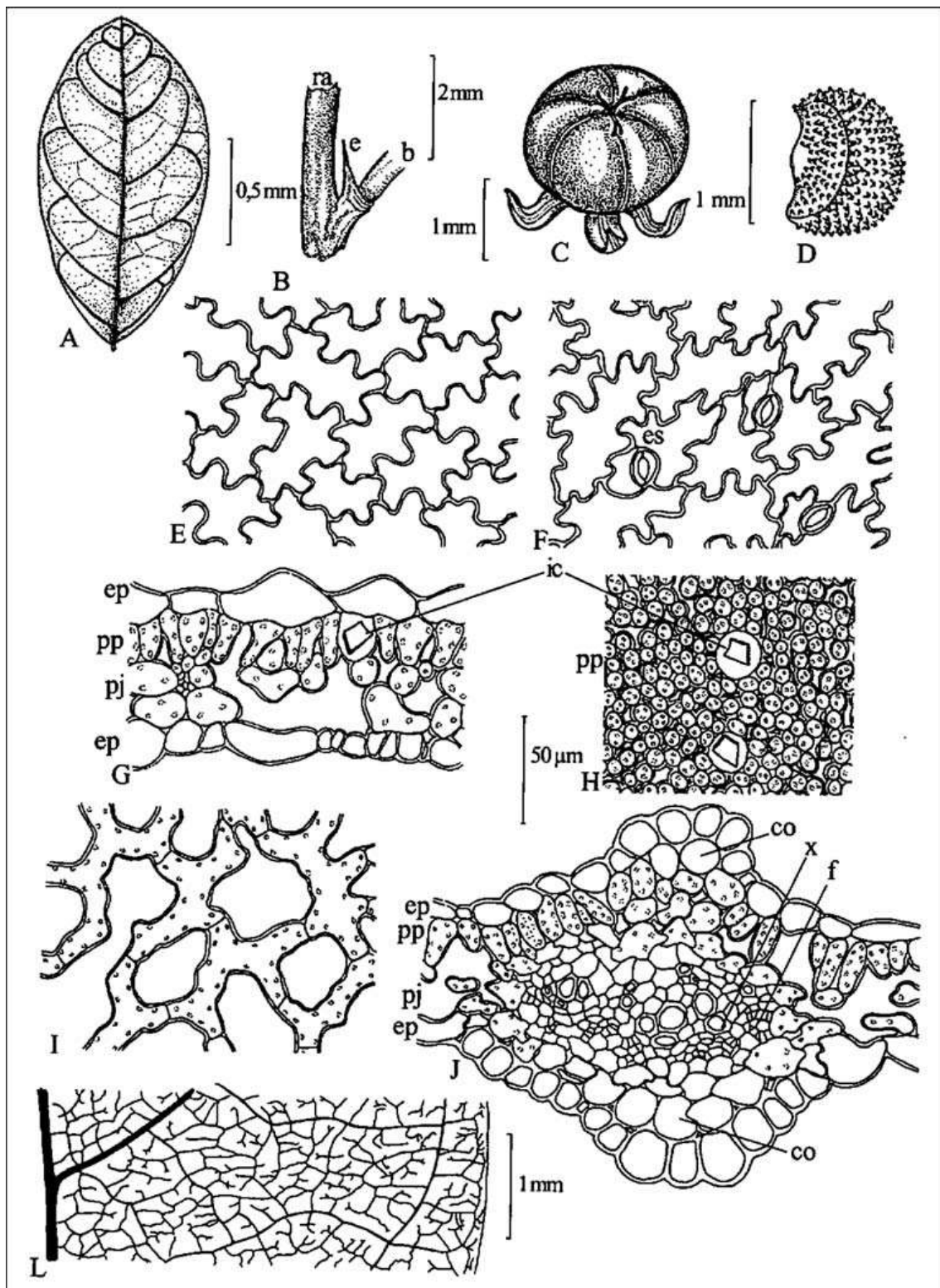


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus tenellus* Roxb.

As escalas correspondem em **A** a 0,5 mm; em **B** a 2 mm; em **C**, **D** e **L** a 1 mm; em **E**, **F**, **G**, **H**, **I** e **J** a 50 µm.

A – aspecto geral da folha. **B** – detalhe da estípula na região do nó: ramo (ra); estípula (e); base da folha (b). **C** – aspecto geral do fruto. **D** – aspecto geral da semente. **E** – vista frontal da epiderme da face adaxial. **F** – vista frontal da epiderme da face abaxial: estômato (es). **G** – lâmina foliar na região do mesofilo em secção transversal: epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); idioblasto cristalífero (ic). **H** – região do mesofilo ao nível do parênquima paliçádico, em secção paradérmica, evidenciando os idioblastos cristalíferos: idioblasto cristalífero (ic); parênquima paliçádico (pp). **I** – região do mesofilo ao nível do parênquima esponjoso, em secção paradérmica, evidenciando as células braciformes. **J** – lâmina foliar na região da nervura principal em secção transversal: epiderme (ep); parênquima paliçádico

(pp); parênquima esponjoso (pj); colênquima (co); xilema (x); floema (f). **L** – detalhe da nervação broquidódroma de um segmento da lâmina foliar em vista frontal.

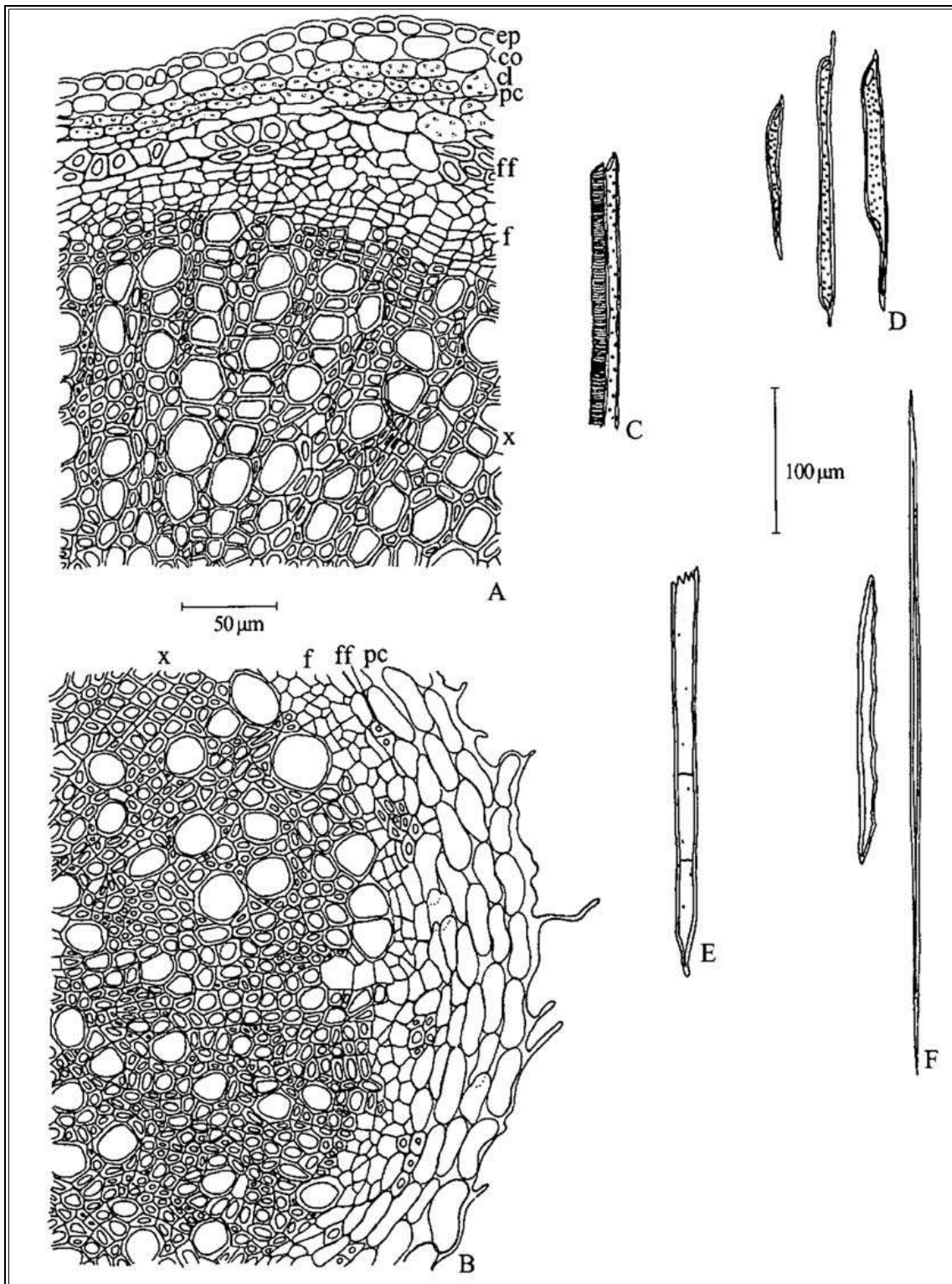


Figura 3 – Aspectos microscópicos e macroscópicos do pó em *Phyllanthus tenellus* Roxb.

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

A – detalhe do caule em secção transversal: epiderme (ep); colênquima angular (co); clorênquima (cl); parênquima cortical (pc); fibras do floema (ff); floema (f); xilema (x). **B** – detalhe da raiz em secção transversal: xilema (x); floema (f); fibras do floema (ff); parênquima cortical (pc). **C** – elementos de vaso com espessamento helicoidal e pontado em vista longitudinal. **D** – elementos de vaso com espessamento pontado, em vista longitudinal. **E** – vista parcial de uma fibra septada. **F** – fibras em vista longitudinal.

QUILAIA, casca

Quillaja cortex

A droga vegetal consiste de cascas secas e fragmentadas de ramos de *Quillaja saponaria* Molina, destituídas de periderme.

CARACTERÍSTICAS

A droga é esternutatória.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A droga é comercializada em peças planas ou pouco recurvadas, formando placas de aproximadamente 1 cm de comprimento, 10 cm de largura e 1 a 5 mm de espessura. A superfície externa apresenta coloração esbranquiçada, com pequenas manchas de coloração parda, geralmente lisa ou finamente estriada longitudinalmente. Aderida a esta casca frequentemente são encontradas partes do ritidoma de coloração amarronzada a pardo-escuro. A superfície interna é branco-amarelada e lisa. A fratura é lisa a ligeiramente fibrosa. Em secção transversal, a fratura apresenta uma estrutura regularmente quadriculada por faixas tangenciais escuras e linhas radiais claras.

B. Descrição microscópica

O líber, que constitui sozinho a espessura das cascas comerciais, exibe de forma característica um aspecto quadriculado, o que se deve pelo cruzamento sucessivo dos raios parenquimáticos com zonas de parênquima, que se alternam com feixes de fibras. Em toda esta região, as células encontram-se justapostas, formando meatos. Os raios parenquimáticos constam de duas a seis camadas de células de 60 a 100 µm de comprimento por, aproximadamente, 20 µm de largura. As fibras liberianas são tortuosas e, frequentemente, encontram-se acompanhadas por pequenos grupos de esclerídes. O parênquima contém células de 20 a 40 µm de comprimento por 60 a 200 µm, geralmente, 90 µm de largura. Possui numerosas células de mucilagem, células amilíferas com grãos de amido de 5 a 20 µm de diâmetro e inúmeras células contendo monocristais de oxalato de cálcio, que podem atingir 50 a 170 µm de comprimento e até 30 µm de largura.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: pó muito fino e de coloração amarelo-palha, com fragmentos das estruturas descritas anteriormente; fibras esclerenquimáticas; grande quantidade de cristais prismáticos de oxalato de cálcio em fragmentos do parênquima ou livres; porções de parênquima com grãos de amido; algumas células pétreas alongadas com poros oblíquos; fragmentos de tubos crivados; ocasionalmente, fragmentos suberosos.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: etanol, clorofórmio e água (40:30:5).

Solução amostra: a 1 g da droga pulverizada, adicionar 20 mL de etanol a 50% (v/v) e agitar durante 20 minutos. Filtrar e concentrar o filtrado à secura em banho de água à temperatura não superior a 50 °C. Dissolver o resíduo em 5 mL de metanol.

Solução referência: pesar 0,1 g de saponina purificada e dissolver em 5 mL de metanol, de modo a obter solução a 2,0%. Filtrar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 15 µL a 20 µL da *Solução amostra* e 5 µL a 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a placa com anisaldeído SR e aquecer em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C, durante 5 minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de coloração castanha Zona de coloração castanha
Saponina: zona de coloração castanha	Zona de coloração castanha Zona de coloração castanha
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Água (5.4.1.4). No máximo 8,0%.

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

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 1,0%.

Índice de espuma (5.4.1.8). Pesar 0,1 g de quilaia em pó e adicionar 100 mL de água. Ferver por 5 minutos. Filtrar e completar o volume para 100 mL com água. No mínimo 1000.

Substâncias extraíveis por álcool (5.4.1.9). Macerar 5 g da droga pulverizada em 100 mL de etanol a 45% (v/v) em um recipiente hermeticamente fechado por 24 horas, mantendo sob agitação constante

durante as primeiras 6 horas, e deixar em repouso por 18 horas. Filtrar e completar o volume para 100 mL com etanol a 45% (v/v). Evaporar 20 mL do filtrado à secura, em pesa-filtro previamente tarado à 105 °C, até peso constante. Calcular a porcentagem do extrativo solúvel em etanol com referência a droga seca. No mínimo 22,0%.

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e calor.

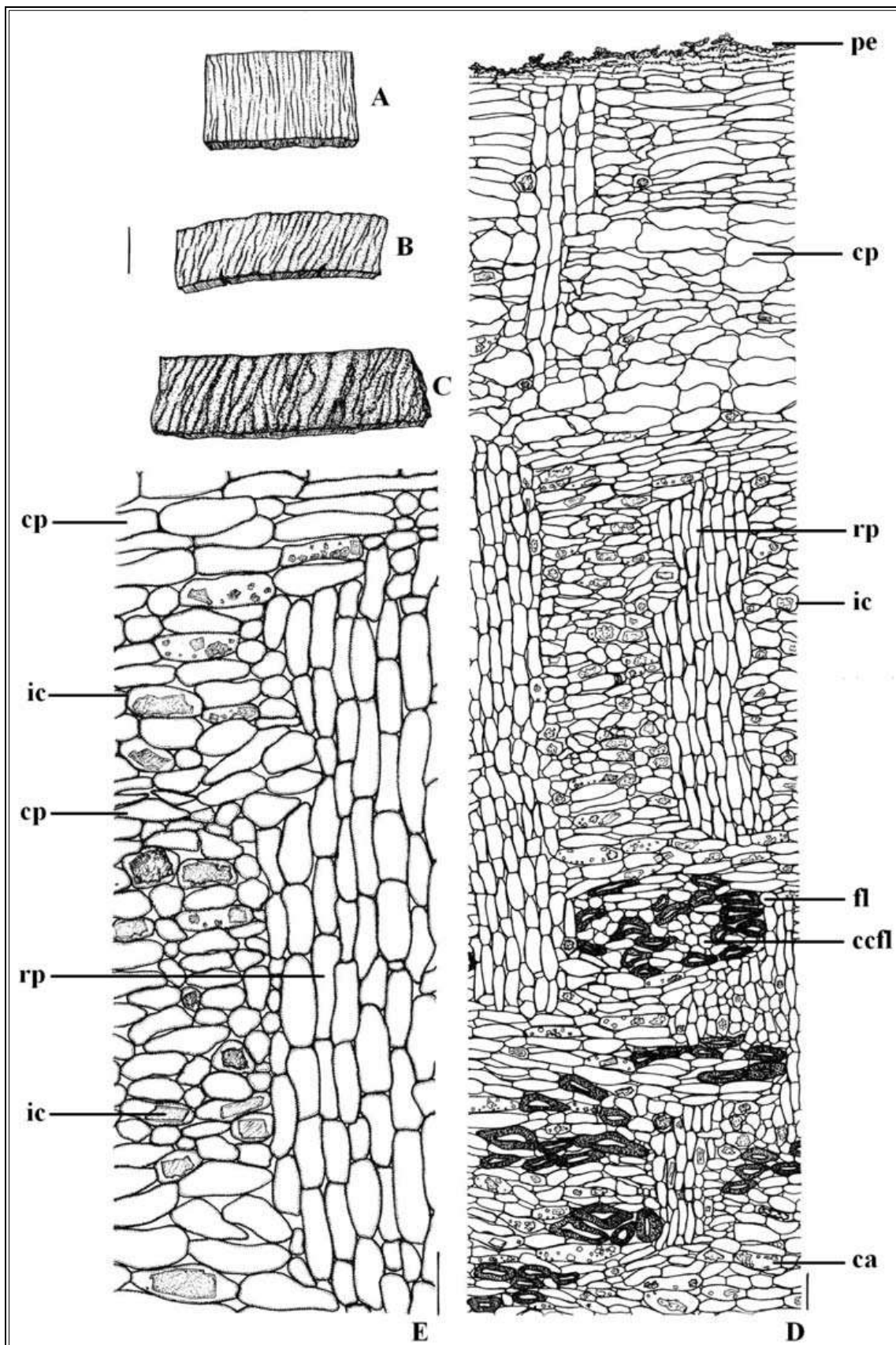


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Quillaja saponaria* Molina

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B** e **C** a 50 μ m; em **D** a 150 μ m; em **E** a 50 μ m.

A – aspecto geral em vista frontal da casca do caule evidenciando a face interna. **B** e **C** – aspecto geral em vista frontal da casca do caule evidenciando a face externa. **D** – detalhe de uma porção da casca do caule em secção transversal: célula amilífera (**ca**); células condutoras do floema (**ccfl**); célula parenquimática (**cp**); fibra liberiana (**fl**); idioblasto cristalífero (**ic**); periderme (**pe**); raio parenquimático (**rp**). **E** – detalhe parcial da região floemática com células de parênquima e raio

parenquimático evidenciando o entrecruzamento entre estas células e a presença de idioblastos cristalíferos: célula parenquimática (**cp**); idioblasto cristalífero (**ic**); raio parenquimático (**rp**).

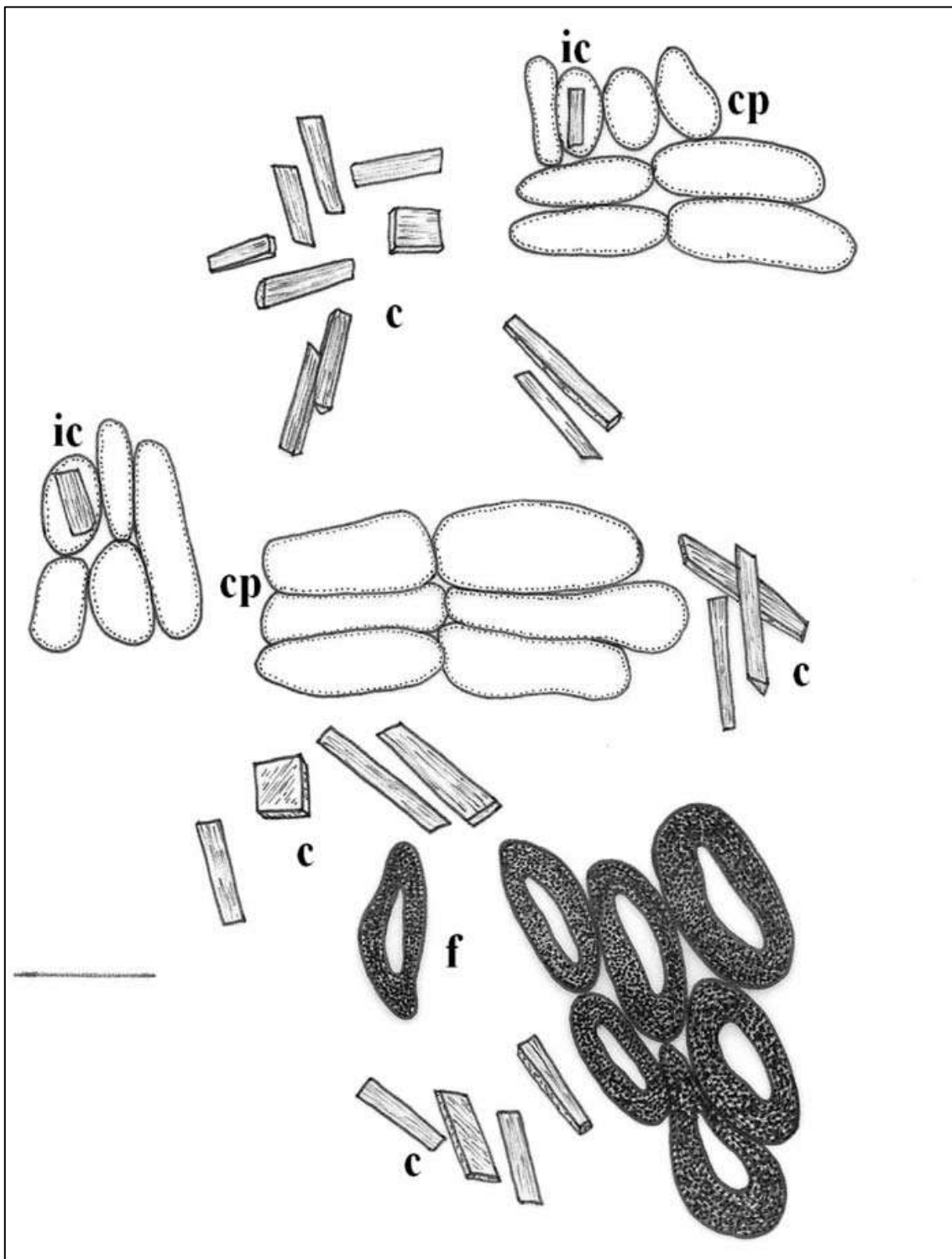


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Quillaja saponaria* Molina

A escala corresponde a 50 μ m.

c – cristais prismáticos. cp– célula parenquimática. ic– idioblasto cristalífero. f – fibras.

QUINA-AMARELA, casca

Cinchonae cortex

A droga vegetal consiste de cascas secas de *Cinchona calisaya* Wedd. e de suas variedades, contendo, no mínimo, 6,0% de alcaloides totais, dos quais 30 a 60% são do grupo quinina ($C_{20}H_{24}N_2O_2$, 324,42).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A casca apresenta-se em tubos ou pedaços curvos, de comprimento e largura variáveis e com 3 a 7 mm de espessura. A superfície externa é cinzento-acastanhada, frequentemente acompanhada de líquens, e apresenta numerosas fissuras transversais e longitudinais e por vezes destacam-se gretas transversais de poucos milímetros. A face interna é castanho-amarelada e finamente estriada, apresentando depressões ovoides marcadas de forma mais ou menos intensa. Em secção transversal destacam-se três regiões distintas: a região mais externa é fina e apresenta coloração castanho-acinzentada, a região mediana exibe máculas arredondadas e coloração amarelada e a região interna é sulcada radialmente por numerosas linhas amarelas.

B. Descrição microscópica

O súber, em secção transversal, é constituído por aproximadamente 15 camadas de células com conteúdo de coloração acastanhada que se dispõe de forma regular em fileiras radiais. A feloderme apresenta inúmeras camadas de células regulares, com paredes celulares escuras. O parênquima cortical é formado por células com paredes tênues, destacando-se idioblastos que contém areia cristalina distribuídos de forma esparsa. Mais internamente ocorrem células de forma oval, que atingem um grande diâmetro em relação às demais células. O floema é muito desenvolvido, destacando-se elementos de tubo crivado estreitos e raios parenquimáticos. A largura dos raios parenquimáticos corresponde, geralmente, a fileiras de três células. As demais células do parênquima floemático encerram grãos de amido esféricos ou plano-convexos dispostos isoladamente ou em tríade. No floema destacam-se fibras que se assemelham a células pétreas e apresentam parede muito espessada e claramente estriada, atravessada por pontoações. As fibras floemáticas encontram-se dispostas radialmente de forma isolada, reunidas em pequenos grupos ou formando fileiras curtas e irregulares, por toda a região do floema.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fraturas maiores de coloração acastanhada e fraturas menores de coloração castanho-avermelhada; fragmentos de súber de coloração amarelada a pardo-avermelhada; fragmentos de parênquima cortical contendo grãos de amido esféricos e idioblastos com cristais de oxalato de cálcio na forma de areia cristalina; fragmentos de fibras floemáticas, de paredes espessadas, lignificadas, com pontoações; fragmentos de parênquima floemático e de raios parenquimáticos, associados às fibras, contendo grãos de amido esféricos; células grandes e ovais; grãos de amido esféricos ou plano-convexos simples ou associações de dois ou três grãos.

D. Reação de Grahe. Adicionar 500 mg de casca de quina-amarela pulverizada em um tubo de ensaio e aquecer diretamente na chama. Observar o desprendimento de vapores de coloração púrpura e sua condensação nas paredes do tubo. Esse destilado é solúvel em etanol.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: clorofórmio e dietilamina (90:10).

Solução amostra: adicionar 0,1 mL de hidróxido de amônio a 25% (p/v) e 5 mL de cloreto de metileno a 0,1 g da droga pulverizada. Deixar em repouso durante 30 minutos, agitando ocasionalmente. Filtrar e evaporar o filtrado até secar em banho-maria. Dissolver o resíduo em 1 mL de etanol absoluto.

Solução referência: dissolver, separadamente, 17,5 mg de quinina, 0,5 mg de quinidina e 10 mg de cinchonina em 5 mL de etanol absoluto.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 15 µL a 20 µL da *Solução amostra* e 3 µL a 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar em estufa a temperatura entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente 10 minutos. Deixar a placa esfriar e nebulizar a placa com solução de ácido sulfúrico a 50% (p/v) em etanol. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
	Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência azul clara
	Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência azul
Cinchonina: zona de fluorescência azulada Quinidina: zona de fluorescência azulada	
Quinina: zona de fluorescência azul intenso	Zona de fluorescência azul intenso
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2 %.

Água (5.4.1.4). No máximo 8 %.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 10 %.

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

Alcaloides

Proceder conforme *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga pulverizada (180 µm), transferir para erlenmeyer de 250 mL, adicionar 10 mL de água e 7 mL de ácido clorídrico 2 M. Aquecer em banho-maria durante 30 minutos. Deixar esfriar e adicionar 25 mL de cloreto de metileno, 50 mL de éter etílico e 5 mL de hidróxido de sódio a 20% (p/v). Agitar a mistura durante 30 minutos. Adicionar 3 g de goma adraganta em pó e agitar até a preparação se tornar clara. Filtrar em papel de filtro e lavar o erlenmeyer e o papel de filtro com cinco porções de 20 mL da mistura de cloreto de metileno e éter etílico (1:2). Reunir os filtrados das lavagens, evaporar até a secura e dissolver o resíduo em 10 mL de etanol absoluto. Evaporar 5,0 mL da solução até a secura. Dissolver o resíduo em ácido clorídrico 0,1 M, transferir para balão volumétrico, completar o volume para 1000 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solução referência (1): preparar solução dissolvendo 30 mg de quinina em ácido clorídrico 0,1 M, completar o volume para 1000 mL e homogeneizar.

Solução referência (2): preparar solução dissolvendo 30 mg de cinchonina em ácido clorídrico 0,1 M, completar o volume para 1000 mL e homogeneizar.

Procedimento: medir as absorvâncias da *Solução amostra*, *Solução referência (1)* e *Solução referência (2)* em 316 nm e 348 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 M para ajuste do zero. Calcular a porcentagem de alcaloides do grupo quinina (x) e de alcaloides do grupo cinchonina (y), em porcentagem, segundo as expressões:

$$y = \frac{[A_{316} \times A_{c348}] - [A_{c316} \times A_{348}]}{[A_{q316} \times A_{c348}] - [A_{c316} \times A_{q348}]} \times \frac{100}{m} \times \frac{2}{1000}$$
$$x = \frac{[A_{316} \times A_{q348}] - [A_{q316} \times A_{348}]}{[A_{c316} \times A_{q348}] - [A_{q316} \times A_{c348}]} \times \frac{100}{m} \times \frac{2}{1000}$$

em que,

y = alcaloides do grupo cinchonina %;

x = alcaloides do grupo quinina %;

m = massa em gramas da amostra;

A₃₁₆ = absorvância medida para a *Solução amostra* em 316 nm;

A₃₄₈ = absorvância medida para a *Solução amostra* em 348 nm;

A_{q316} = absorvância medida para a *Solução referência (1)* em 316 nm, corrigida para concentração de 1 mg em 1000 mL;

A_{q348} = absorvância medida para a *Solução referência (1)* em 348 nm, corrigida para concentração de 1 mg em 1000 mL;

A_{c316} = absorvância medida para a *Solução referência (2)* em 316 nm, corrigida para concentração de 1 mg em 1000 mL; e

A_{c348} = absorvância medida para a *Solução referência (2)* em 348 nm, corrigida para concentração de 1 mg em 1000 mL.

Calcular o conteúdo de alcaloides totais, $(x + y)$ e determinar o conteúdo relativo de alcaloides do grupo quinina, a partir da seguinte equação: $\frac{100x}{(x+y)}$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

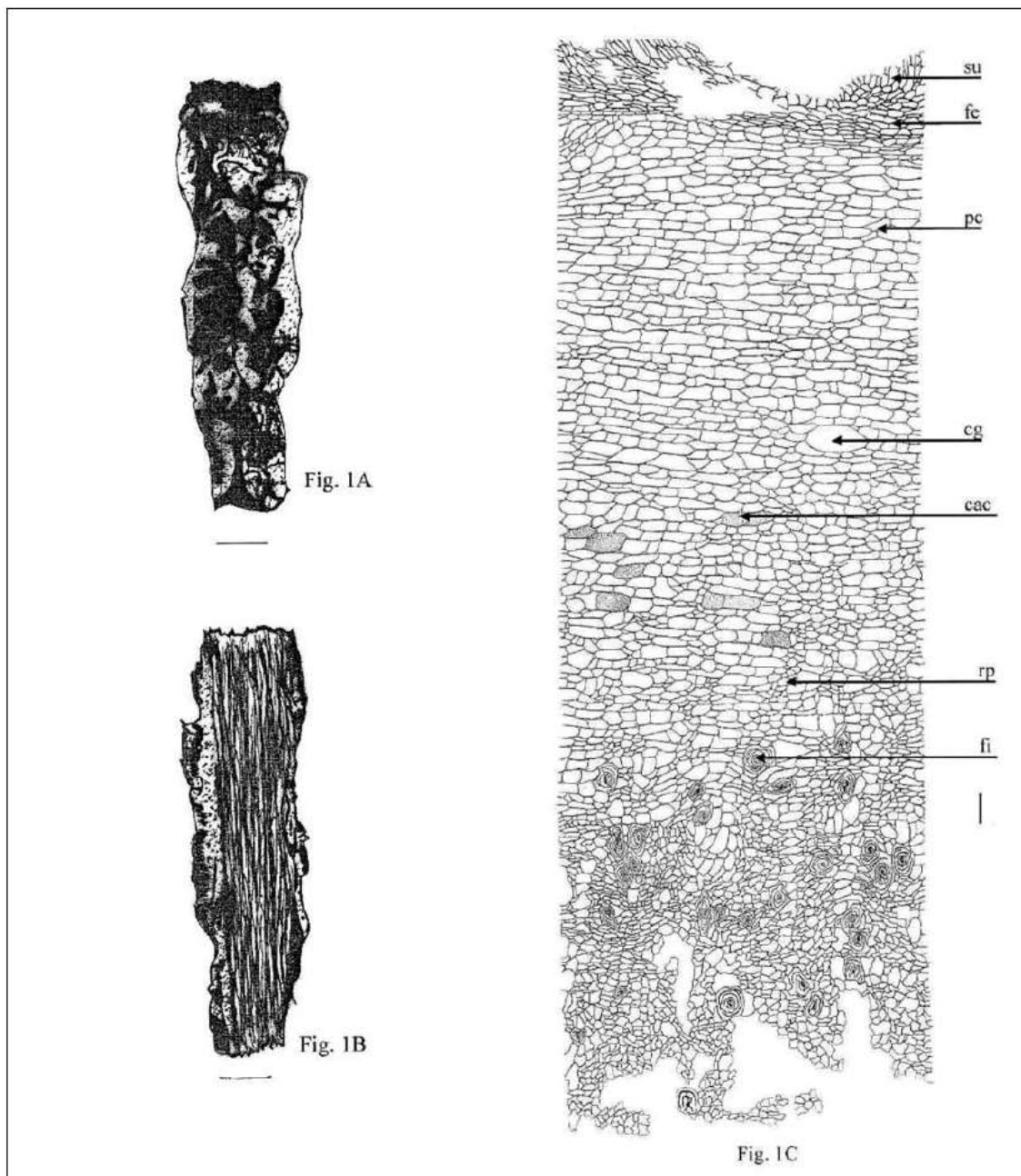


Figura 1 - Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Cinchona calisaya* Wedd.

As escalas correspondem: em **A** e **B** a 1 cm; em **C** a 500 μm .

A. aspecto geral em vista frontal da casca do caule evidenciando a face externa. **B.** aspecto geral em vista frontal da casca do caule evidenciando a face interna. **C.** seção transversal evidenciando o aspecto geral das cascas dos ramos; células com areia cristalina (cac); células gigantes (cg); feloderme (fe); fibra (fi); célula do parênquima cortical (pc); raio parenquimático na região floemática (rp); súber (su).

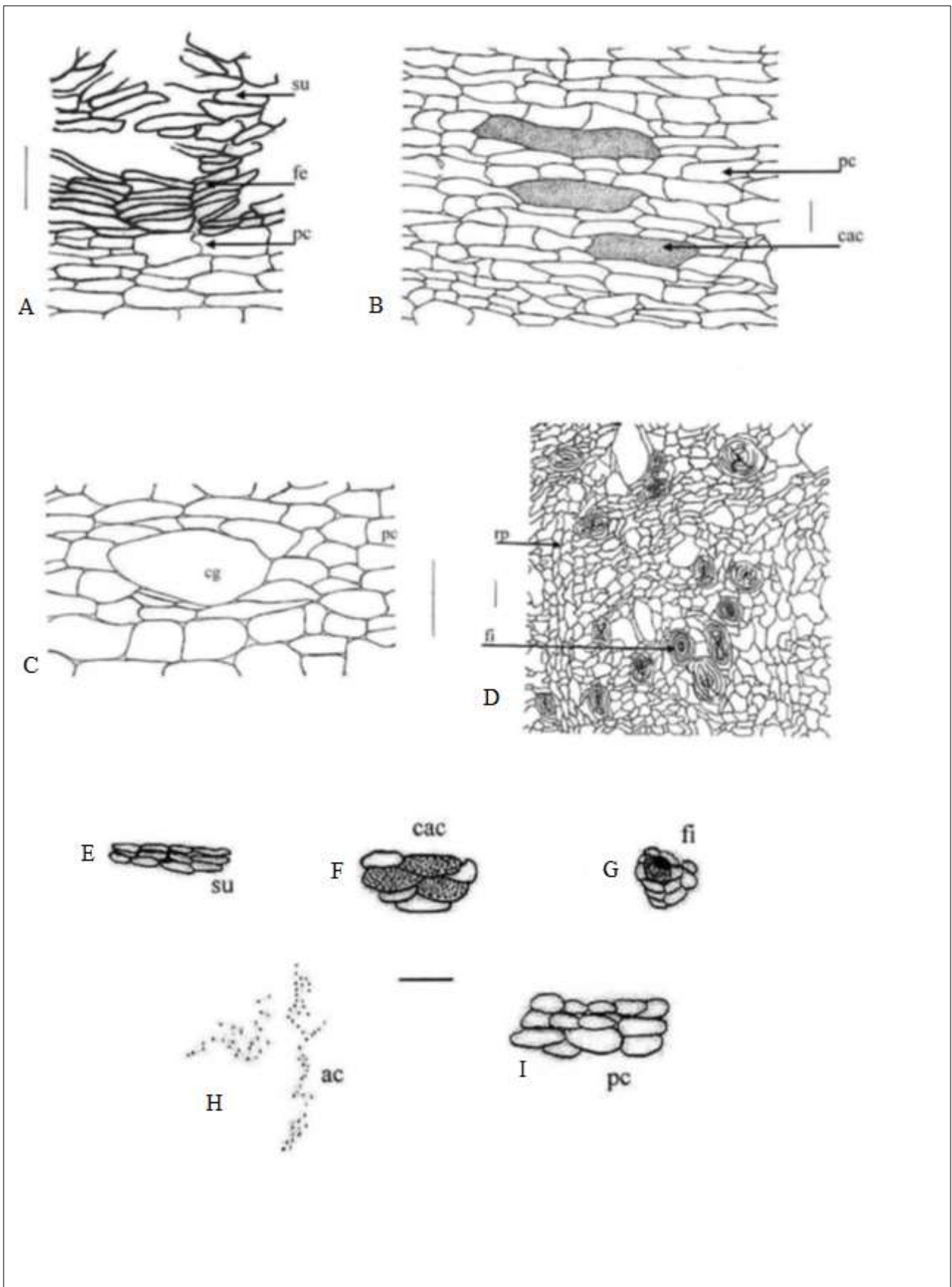


Figura 2 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Cinchona calisaya* Wedd.

As escalas correspondem em **A** e **C** a 500 μm ; em **B** a 200 μm , em **D** a 350 μm e em **E** a **I** a 500 μm .

A. secção transversal evidenciando um detalhe da região externa da casca próximo a lenticelas; feloderme (fe); parênquima cortical (pc); súber (su). **B.** secção transversal de detalhe do parênquima cortical com células com areia cristalina; célula com areia cristalina (cac); parênquima cortical (pc). **C.** secção transversal em detalhe do parênquima

cortical com células gigantes; parênquima cortical (pc); célula gigante (cg). **D.** secção transversal em detalhe da região floemática; fibra (fi); raio parenquimático na região floemática (rp). **E - I.** detalhes do pó. **E.** súber. **F.** células com areia cristalina. **G.** fibra rodeada por parênquima. **H.** areia cristalina. **I.** fragmento de parênquima cortical.

RATÂNIA, raiz *Ratanhiae radix*

A droga vegetal consiste de raízes secas de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson (syn. *Krameria triandra* Ruiz & Pav.) contendo, no mínimo, 5% de taninos totais, expressos em pirogalol (C₆H₆O₃, 126,11).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As raízes são recobertas por súber marrom-avermelhado, sulcado irregularmente, o que permite a formação de pequenas placas denominadas ritidoma, de formato irregular e que se desprendem com certa facilidade. Subjacentes, estão o córtex amiláceo e o floema, compondo uma camada de coloração castanho clara. A casca, formada pelos estratos acima, facilmente se desprende do cilindro central, lenhoso e também de coloração castanho clara externamente e marrom-avermelhada na porção mais central. Amostras fragmentadas apresentam formas curvadas de comprimentos diversos, torcidas, às vezes fibrosas.

B. Descrição microscópica

Nas raízes com crescimento secundário estabelecido, o súber é formado por diversos estratos de células com paredes pouco espessadas, tabulares, enfileiradas, e que reagem positivamente para polifenóis na presença do cloreto férrico 10%. Mais internamente forma-se nova periderme, cujas células encontram-se deformadas ou rompidas. Na região cortical, as células apresentam dimensões variadas e paredes espessadas, sempre alongadas longitudinalmente nas porções mais próximas ao floema e são repletas de grãos de amido de grandes dimensões e de formato esférico, simples ou compostos por 2-3 porções. O floema apresenta raios parenquimáticos unisseriados formados por células volumosas, abundantes em idioblastos com cristais prismáticos de formas e tamanhos variados e com grãos de amido, como os do córtex. Tanto no córtex amiláceo quanto no floema ocorrem fibras isoladas ou agrupamentos de 5-15 elementos, cujas paredes são relativamente delgadas, sofrendo deformações por compressão mecânica, em suas porções mais externas, configurando um arranjo ramificado em relação às células adjacentes. O xilema é formado por grande quantidade de fibras relativamente largas, lignificadas e com pontoações areoladas em abundância. Este tipo de pontoação também está presente nos elementos de vaso, os quais são em geral isolados, raramente em duplas, sempre associados com o parênquima axial, paratraqueal. A placa de perfuração é do tipo simples. Os raios xilemáticos são unisseriados.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos do súber com coloração marrom-avermelhada, com típicas células tabulares de formato uniforme; fragmentos do tecido cortical com grãos de amido esféricos, simples

ou compostos, de grandes dimensões, associados com fibras arranjadas de modo ramificado; fragmentos do lenho com células dotadas de pontoações areoladas.

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

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

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

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 10 g da droga moída, acrescentar 100 mL de etanol a 70% (v/v) e aquecer, sob refluxo, por 10 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar e eliminar o etanol em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 25 mL de acetato de etila em funil de separação (125 mL). Deixar em repouso em freezer (-18 °C) por 15 minutos, para total separação das fases. Reunir as frações orgânicas e filtrar em papel de filtro com 2 g de sulfato de sódio anidro. Evaporar a fração obtida em evaporador rotatório sob pressão reduzida até resíduo. Retomar o resíduo com 5 mL de metanol.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 2 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar em capela de exaustão. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. A seguir, nebulizar a placa com cloreto férrico a 1% (p/v) em metanol.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração castanho-azulada	Zona de coloração castanho-avermelhada Zona de coloração castanho-azulada Zona de coloração castanho-avermelhada Zona de coloração castanho-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 2%.

Água (5.4.1.4). No máximo 12%.

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

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2%.

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g de droga pulverizada (180 µm) e transferir para erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada. Adicionar 150 mL de água destilada. Aquecer, em banho-maria, durante 30 minutos à temperatura de 60 °C. Resfriar, em água corrente, e transferir para um balão volumétrico de 250 mL. Lavar o erlenmeyer e transferir as águas de lavagem com todo conteúdo de droga vegetal para o mesmo balão volumétrico. Completar o volume com água e homogeneizar. Deixar decantar e filtrar o líquido sobrenadante em papel de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL do filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_1) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL do filtrado adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir 5 mL desse filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_2) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Solução referência: dissolver, em água, imediatamente antes do uso, 50,0 mg de pirogalol, transferir para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL da solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar. Determinar a absorvância em 760 nm (A_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos (droga seca), expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

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

em que,

TT = teor de taninos totais %;

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio, considerando a determinação de água; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

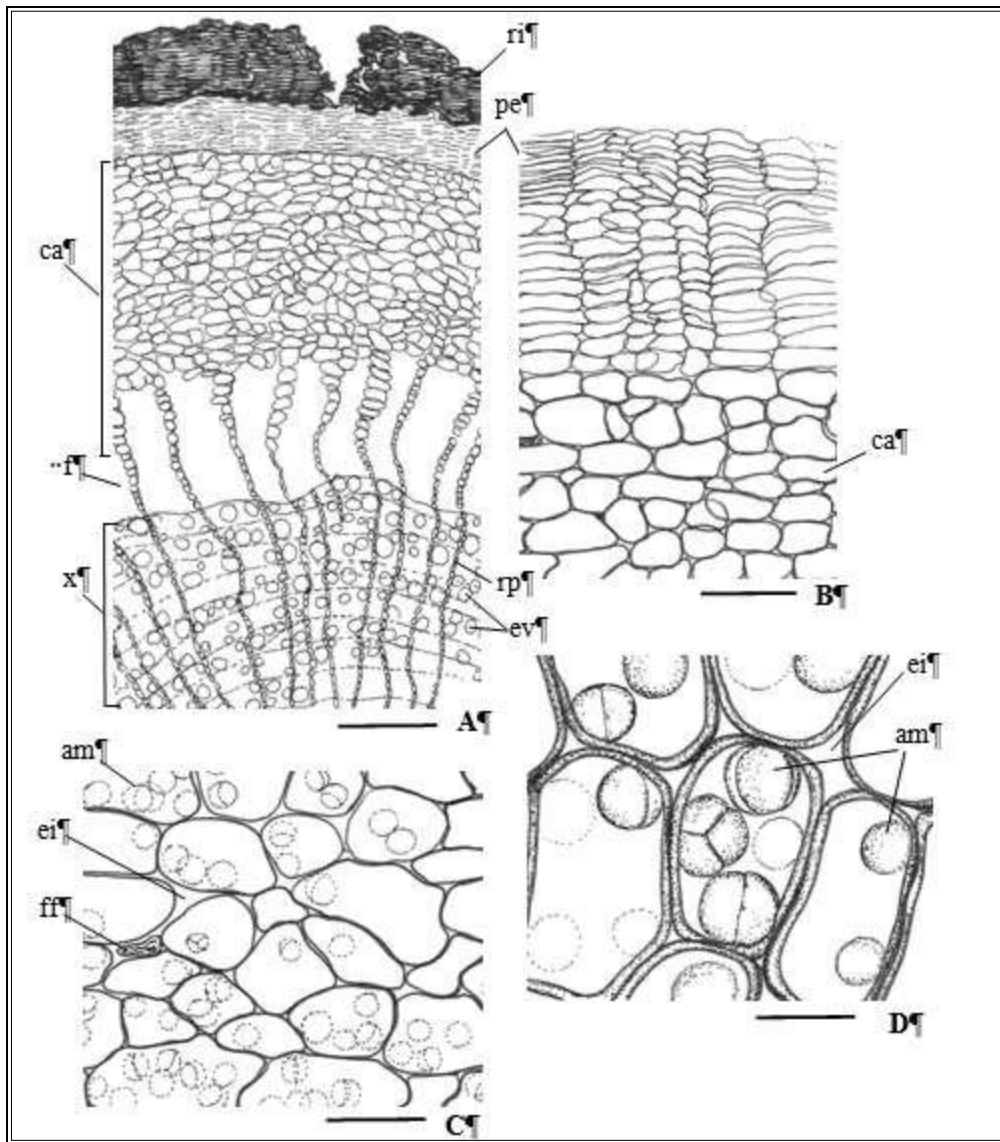


Figura 1 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson.

As escalas correspondem em **A** a 250 µm; em **B** a 100 µm; em **C** a 50 µm; em **D** a 25 µm.

A - aspecto geral da distribuição dos tecidos da raiz, em secção transversal: córtex amiláceo (ca); elemento de vaso (ev); floema (f); periderme (pe); ritidoma (ri); raio parenquimático; xilema (x). **B** - detalhe parcial da casca com periderme (pe) recém formada e córtex amiláceo (am), em secção transversal; **C** e **D** - detalhe parcial do córtex amiláceo em secção transversal e longitudinal radial, respectivamente: grãos de amido (am), espaço intercelular (ei); fibra do floema (ff).

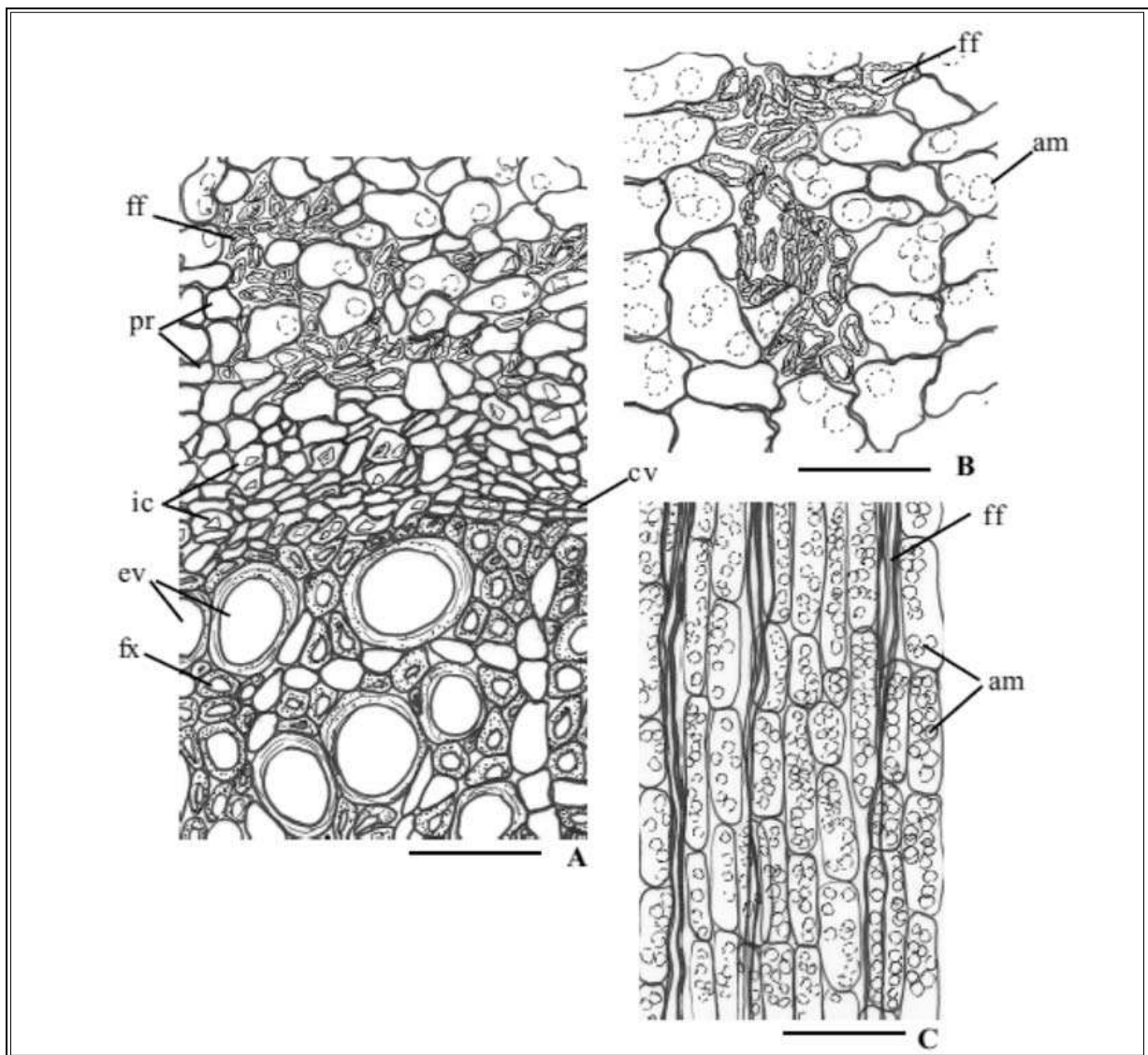


Figura 2 – Aspectos microscópicos *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson.

As escalas correspondem em **A** e **B** a: 50 µm; em **C** a 100 µm.

A - detalhe parcial da região cambial e dos tecidos condutores, em secção transversal: câmbio vascular (cv); elemento de vaso (ev); idioblasto cristalífero (ic); fibras do floema (ff); fibra do xilema (fx); parênquima de reserva. **B** - detalhe parcial do floema, em secção transversal, mostrando parênquima de reserva e fibras do floema: grãos de amido (am); fibras do floema (ff). **C** - detalhe parcial do floema, em secção longitudinal radial: grãos de amido (am); fibras do floema (ff).

RATÂNIA, tintura *Ratanhiae tinctura*

A tintura é obtida a partir das raízes secas de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson (syn. *Krameria triandra* Ruiz & Pav.), contendo, no mínimo, 0,5% de taninos, expressos em pirogalol (C₆H₆O₃,126,11).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por maceração ou percolação utilizando etanol 70% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

A tintura possui cor marrom-avermelhada.

IDENTIFICAÇÃO

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

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

Fase móvel: acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (60:20:15:15).

Solução amostra: aquecer 5,0 mL da tintura a resíduo seco em banho-maria. Retomar o resíduo em 10,0 mL de água. Extrair a fase aquosa resultante com três porções de 10,0 mL de acetato de etila em funil de separação. Deixar em repouso em freezer (-18 °C) por 15 minutos, para total separação das fases. Reunir as frações orgânicas e lavar com 20,0 mL de água.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 2 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar em capela de exaustão. A seguir, nebulizar a placa com cloreto férrico 1% em metanol (p/v).

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Catequina: zona de coloração castanho-azulada	Zona de coloração castanho-avermelhada Zona de coloração castanho-azulada Zona de coloração castanho-avermelhada Zona de coloração castanho-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,891 a 0,906.

Etanol (5.3.3.8). 63,0% a 67,0%.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 1,9%.

DOSEAMENTO

Taninos totais

Nota: proteger as amostras da luz durante a extração e a diluição. Utilizar água isenta de dióxido de carbono em todas as operações.

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: transferir, quantitativamente, cerca de 1,5 g de tintura pesada, com exatidão, para um balão volumétrico de 250 mL e completar o volume com água. Filtrar a mistura em papel de filtro. Rejeitar os primeiros 50,0 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir, volumetricamente, 5 mL do filtrado da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio a 29% (p/v) e homogeneizar.

Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele: a 10 mL do filtrado da *Solução estoque* adicionar 0,1 g de pó de pele e agitar, mecanicamente, em erlenmeyer de 125,0 mL durante 60 minutos. Filtrar em papel de filtro. Transferir, volumetricamente, 5 mL desse filtrado para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio 29% (p/v) e homogeneizar.

Solução referência: dissolver, em água, 50,0 mg de pirogalol, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 2 mL dessa solução, 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de carbonato de sódio 29% (p/v) e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra para polifenóis totais* (A_1), *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele* (A_2) e *Solução referência* (A_3) em 760 nm 30 minutos após o seu preparo, utilizando água para ajuste do zero. Calcular o teor de taninos, expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{62,5 (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_3}$$

em que,

TT = taninos totais %;

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis totais*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra para polifenóis não adsorvidos por pó de pele*;

A_3 = absorvância medida para a *Solução referência*;

m_1 = massa em gramas da amostra utilizada no ensaio; e

m_2 = massa em gramas de pirogalol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

RAUVOLFIA, raiz *Rauvolfiae radix*

A droga vegetal consiste de raízes secas de *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz, contendo, no mínimo, 0,15% de alcaloides do grupo reserpina ($C_{33}H_{40}N_2O_9$, 608,68) – rescinamina ($C_{35}H_{42}N_2O_9$, 634,72).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Raiz cilíndrica, frequentemente adelgada na extremidade distal, tortuosa; raiz inteira ou suas porções de 1 a 10 cm de comprimento e de 3 a 22 mm de diâmetro; superfície externa longitudinalmente enrugada a sulcada irregularmente, de coloração cinzento-castanha clara; podem ocorrer restos das raízes secundárias ou principalmente cicatrizes arredondadas oriundas da queda das mesmas, com 0,5 a 1,0 mm de diâmetro; a casca pode faltar parcialmente e observam-se, nestas falhas, camadas internas, de cor castanho-amarelada. Lenticelas são frequentemente observadas. O córtex tem coloração castanho-amarelada e o cilindro central é amarelo-claro, com 2 a 8 anéis concêntricos, exibindo uma fina estriação radial. Raramente estão presentes restos do rizoma.

B. Descrição microscópica

A periderme tem até 20 camadas de células achatadas tangencialmente, com arranjo radial. O súber é homogêneo e constituído por cerca de 15 camadas de células suberosas de paredes delgadas. A feloderme possui até quatro camadas de células com paredes delgadas. O parênquima cortical é amilífero, com várias camadas de células de paredes não lignificadas; os grãos de amido, evidenciados pelo reagente de Lugol, podem ser pequenos e numerosos ou volumosos, de formato arredondado ou ovalado. Laticíferos ramificados, de crescimento intrusivo, permeiam o parênquima cortical. O floema é constituído apenas por elementos de tubo crivado e células parenquimáticas; fibras e esclereídes estão ausentes. Os raios parenquimáticos são multisseriados, podendo ser estreitos ou largos; suas células apresentam grãos de amido e/ou cristais de formatos variados. O xilema secundário também possui arranjo radial. Os elementos traqueais e as fibras estão dispostos em séries radiais uni ou bisseriadas e alternam-se aos raios parenquimáticos multisseriados. Os elementos traqueais são estreitos (cerca de 40 µm de diâmetro), com placa de perfuração simples ou escalariforme; as fibras são libriformes e têm paredes espessadas. Os raios parenquimáticos são multisseriados, suas células possuem paredes lignificadas e os grãos de amido são mais volumosos do que aqueles encontrados no floema e no parênquima cortical. O xilema primário, com seis a oito polos de protoxilema, ocupa posição central; os elementos traqueais também são estreitos e de calibre semelhante ao das células parenquimáticas adjacentes.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração acinzentada-clara ou castanho-amarelada clara; fragmentos do súber, de coloração amarelada, com paredes delgadas suberificadas; fragmentos de elementos de vaso de paredes espessadas, com pontoações areoladas; fragmentos de células parenquimáticas do xilema com paredes espessadas e pontoações simples; fragmentos de células parenquimáticas do córtex com paredes delgadas; numerosos grãos de amido arredondados, às vezes agregados, com a região central na forma de y ou de estrela.

D. Falsificações ou adulterantes

Falsificações e confusões são possíveis, especialmente com raízes de outras espécies de *Rauvolfia* originadas da Índia, como, por exemplo, *Rauvolfia heterophylla* Wild. ex Roem. & Schult. Ao contrário dessas, na raiz de *Rauvolfia serpentina* não ocorrem fibras e células pétreas na parte externa ao câmbio. Diferentemente de outras espécies, a raiz de *R. serpentina* mostra uma distribuição de amido quase homogênea por toda a secção transversal, exceto no súber e no xilema primário. Falsificações também ocorrem com raízes de *Withania somnifera* (L.) Dunal (Solanaceae). Enquanto o lenho de *Rauvolfia* é amarelo-claro, mostrando estrias finas radiais, sendo que microscopicamente verifica-se a presença de raios parenquimáticos e elementos de vaso com disposição radial, em *Withania* observa-se lenho branco, formado por um anel fechado, sendo que microscopicamente são observados elementos de vaso dispersos no parênquima.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

Fase móvel: butanol, ácido acético e água (40:10:10).

Solução amostra: ferver sob refluxo 1 g da droga seca e pulverizada com 5 mL de metanol e 1 mL de uma solução de carbonato de sódio a 10% (p/v), durante 10 minutos, resfriar e filtrar.

Solução referência: preparar uma solução de reserpina a 10 mg/mL em metanol.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda 10 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução de referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar a placa secar em estufa em temperatura entre 100 °C e 105 °C. Nebulizar a placa com iodeto de potássio e subnitrato de bismuto SR. Deixar secar a placa ao ar livre durante 10 minutos. Examinar sob a luz visível e, a seguir sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Reserpina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja Zona de coloração laranja Zona de coloração laranja Zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 5%.

Água (5.4.1.4). No máximo 12%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 10%.

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 agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Aflatoxina (5.4.4). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução amostra estoque: pesar, com exatidão, cerca de 2,5 g da planta seca e moída e realizar extração com 100 mL de etanol, sob refluxo durante 4 horas, protegendo sempre da luz. Após a extração, completar o volume com etanol, em balão volumétrico de 100 mL. Transferir uma alíquota volumétrica de 20 mL para funil de separação. Adicionar, com proveta, 200 mL de ácido sulfúrico 0,25 M e extrair quatro vezes com 60 mL de clorofórmio, descartando a fase contendo ácido sulfúrico, e reservando a fase contendo o clorofórmio. Extrair quatro vezes a fase contendo clorofórmio com 60 mL de bicarbonato de sódio a 2% (p/v), e filtrar a fase orgânica para balão volumétrico de 250 mL. Após a filtração, completar o volume com etanol e homogeneizar.

Solução amostra (1): transferir, volumetricamente, 25 mL da *Solução amostra estoque* para balão de fundo redondo e levar a secura em rotavapor com banho-maria em temperatura a cerca de 40 °C. Adicionar, volumetricamente, 5 mL de etanol e 2 mL de ácido sulfúrico 0,25 M.

Solução amostra (2): transferir, volumetricamente, 25 mL da *Solução amostra estoque* para balão de fundo redondo e levar a secura em rotavapor com banho-maria em temperatura a cerca de 40 °C. Adicionar, volumetricamente, 5 mL de etanol, 1 mL de ácido sulfúrico 0,25 M, 1 mL de nitrito de sódio a 0,3% (p/v) e homogeneizar.

Solução referência estoque: pesar, analiticamente, e transferir 20 mg de reserpina SQR para um balão volumétrico de 50 mL. Adicionar 25 mL de etanol e levar ao ultrassom. Aquecer se necessário. Aguardar o resfriamento da solução, completar o volume com etanol e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com etanol e homogeneizar, resultando na concentração de 20 µg/mL.

Solução referência (1): reunir, volumetricamente, 5 mL de *Solução referência estoque* e 2 mL de ácido sulfúrico 0,25 M e homogeneizar.

Solução referência (2): reunir, volumetricamente, 5 mL de *Solução referência estoque*, 1 mL de ácido sulfúrico 0,25 M, 1 mL de nitrito de sódio a 0,3% (p/v) e homogeneizar.

Nota: não empregar *Solução referência (1)* e *Solução referência (2)* de dias anteriores.

Procedimento: aquecer a *Solução amostra (1)*, a *Solução amostra (2)*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*, concomitantemente em banho-maria em temperatura entre 50 °C e 60 °C, durante exatos 20 minutos. Resfriar as soluções até temperatura ambiente e adicionar, volumetricamente, 0,5 mL de ácido sulfâmico a 5% (p/v) em cada uma delas e aguardar 20 minutos exatos. Após o tempo de espera, medir a absorvância da *Solução amostra (1)* (A_1), da *Solução*

amostra (2) (A_2), da *Solução referência (1)* (S_1) e da *Solução referência (2)* (S_2) em 390 nm, utilizando uma mistura de etanol e água (2:1) para ajuste do zero. Calcular a massa de alcaloides do grupo reserpina-rescinamina, como reserpina, em mg, segundo a expressão:

$$\text{MAL} = 5 \times \frac{(A_1 - A_2)}{(S_1 - S_2)}$$

em que,

MAL = massa em miligramas de alcaloides;

A_1 = absorvância medida para a *Solução amostra (1)*;

A_2 = absorvância medida para a *Solução amostra (2)*;

S_1 = absorvância medida para a *Solução padrão (1)*; e

S_2 = absorvância medida para a *Solução padrão (2)*.

Calcular o teor de alcaloides como reserpina-rescinamina, em base seca, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TAL} = \frac{\text{MAL}}{m} \times 100$$

em que,

TAL = teor de alcaloides % (p/p);

MAL = massa em miligramas de alcaloides; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

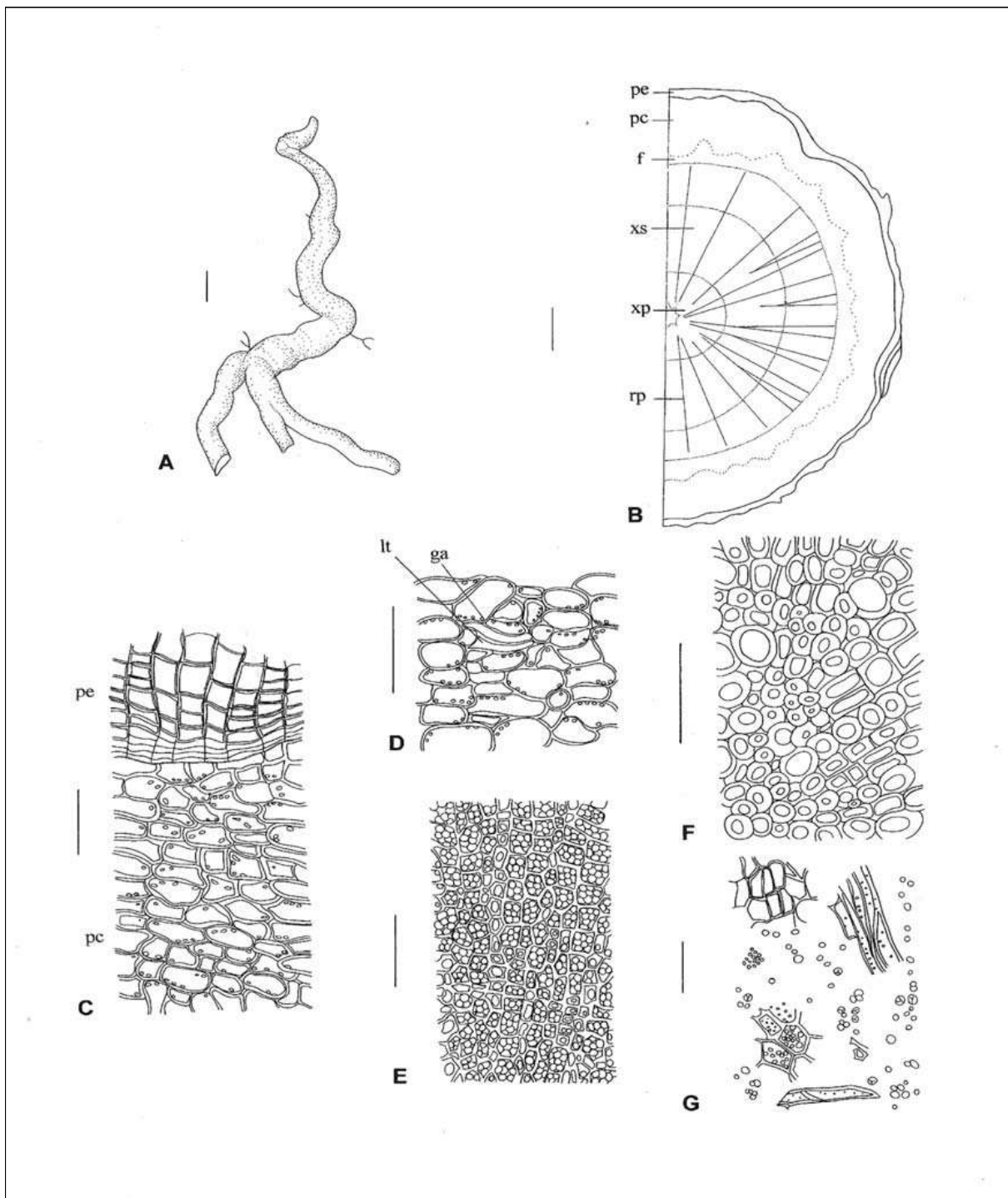


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz

As escalas correspondem: em A a 100 mm, em B e G a 100 μ m, e de C a F a 50 μ m.

A - aspecto geral da raiz; **B** - esquema da secção transversal da raiz; **C** - detalhe de porção da periderme e parênquima cortical, em secção transversal; **D** - detalhe de porção do parênquima cortical em secção transversal; **E** - detalhe de porção do xilema secundário apresentando raios parenquimáticos multisseriados com abundantes grãos de amido, fibras e vasos dispostos em séries radiais, em secção transversal; **F** - detalhe de porção do xilema primário em secção transversal; **G** - aspecto geral do pó da raiz, com fragmentos do súber (acima, à esquerda), de fibras e vasos (acima, à direita e abaixo, na região central), de células parenquimáticas do xilema secundário (abaixo, à esquerda) e numerosos grãos de amido, isolados ou agregados; região do floema primário e secundário (f); grão de amido (ga); laticífero ramificado de crescimento intrusivo (lt); parênquima cortical (pc); periderme (pe); raio parenquimático (rp); xilema primário (xp); xilema secundário (xs).

RUIBARBO, rizoma e raiz

Rhei rhizoma et radix

A droga vegetal consiste de rizomas e raízes secos e fragmentados de *Rheum palmatum* L. e/ou *Rheum officinale* Baill., ou seus híbridos interespecíficos, contendo, no mínimo, 2,2% de derivados hidroxiantracênicos, expressos em reína (C₁₅H₈O₆, 284,22). Os rizomas devem ser desprovidos das bases dos pecíolos foliares.

CARACTERÍSTICAS

A droga apresenta odor característico e aromático.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Fragmentos de rizoma irregulares, discoides ou cilíndricos, arredondados, planos ou plano-convexos, com até 15 cm de diâmetro e 1 a 5 cm de espessura, frequentemente desprovidos da região cortical e/ou parte da região vascular mais externa. A superfície externa é lisa e geralmente revestida de uma camada de pó amarelo-acastanhado, o qual, se retirado, evidencia uma coloração rosada; os fragmentos, quando umedecidos, mostram linhas escuras e claras que se entrecruzam, com numerosos retículos em forma de losangos interrompidos pelas cicatrizes provenientes das raízes. Em secção transversal, destaca-se um anel escuro, correspondente ao câmbio, seguido por outro anel estreito, regularmente sulcado por estrias radiais alaranjadas, paralelas entre si. O interior do cilindro central é preenchido por um tecido de cor rosada, no qual se destacam numerosas estruturas em forma de estrela, correspondentes a feixes vasculares anômalos. Os rizomas de *Rheum palmatum* se caracterizam por apresentar feixes vasculares anômalos pequenos, em média com 2,5 mm de diâmetro e um conjunto de feixes formando um anel contínuo, às vezes dois, enquanto que os de *Rheum officinale* têm feixes maiores, com até 4,1 mm de diâmetro, distribuídos aleatoriamente na secção transversal. Os fragmentos de raízes são cilíndricos ou cônicos, desprovidos de córtex, medindo de 3 a 6 cm de diâmetro e 4 a 17 cm de comprimento, com coloração semelhante à do rizoma. Em secção transversal, são nítidos os raios parenquimáticos de disposição radial, desde a porção central até a periferia. A fratura dos rizomas e raízes é granulosa.

B. Descrição microscópica

Em secção transversal, o rizoma, quando acompanhado da região cortical ou de seus restos, apresenta súber e parênquima cortical externo pouco desenvolvidos; as células do súber têm disposição radial e paredes finas; o parênquima cortical externo, assim como os demais parênquimas, possui células arredondadas ou ocasionalmente poligonais, de paredes finas, com numerosos grãos de amido e cristais do tipo drusa. São observados grãos de amido e drusas de oxalato de cálcio. O sistema vascular apresenta-se sob duas formas distintas: o mais externo, derivado do câmbio normal, é contínuo e mais ou menos circular e o mais interno apresenta feixes vasculares anômalos, com aspecto de estrela, as quais se distribuem irregularmente no parênquima medular ou algumas delas formam um ou dois anéis. O sistema vascular externo possui floema secundário pouco desenvolvido e obliterado. O xilema secundário tem disposição radial e é formado por poucas camadas de elementos de vaso com espessamento geralmente reticulado. Os raios parenquimáticos apresentam massas amorfas de coloração amarelo-acastanhado ou amarelo intenso, correspondentes aos derivados hidroxiantracênicos, que se coram de vermelho na presença de hidróxido de potássio a 10% (p/v). O

parênquima medular preenche quase a totalidade do cilindro central, sendo interrompido pelos feixes vasculares anômalos. Cada um destes feixes tem aspecto de estrela, seu floema é interno e o xilema externo e os raios parenquimáticos partem do centro do feixe. O floema dos feixes estrelares tem aparência esbranquiçada e as células parenquimáticas estão repletas de grãos de amido e algumas possuem drusas; a zona cambial é contínua e formada por três a quatro camadas de células; o xilema possui poucos elementos de vaso, dispostos em duas a cinco fileiras, apresentando paredes relativamente delgadas, reticuladas e não lignificadas. A raiz, em secção transversal, apresenta as mesmas características do rizoma, exceto pela ausência de feixes vasculares anômalos e de parênquima medular. As massas amorfas amareladas contendo derivados hidroxiantracênicos ocorrem mais abundantemente, quando comparadas àquelas encontradas nos raios parenquimáticos do rizoma.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para estas espécies, menos os caracteres macroscópicos. Utilizar solução aquosa de hipoclorito de sódio a 3% (p/v) para o exame microscópico. São características: coloração alaranjada à amarelo-acastanhada, que com hidróxido de potássio a 10% (p/v) toma cor vermelha; células dos raios parenquimáticos com substância amarela amorfa; fragmentos de elementos de vaso reticulados não lignificados, que podem atingir até 175 µm de comprimento; numerosos grupos de células parenquimáticas, de forma arredondada ou poligonal, de paredes finas, com grãos de amido; fragmentos de raios parenquimáticos em vista longitudinal radial ou em vista tangencial; grande número de grãos de amido esféricos, com hilo central e radiado, simples ou compostos, com duas a cinco unidades; drusas de oxalato de cálcio ou seus fragmentos. Fibras e esclereídes ausentes.

D. Falsificações e adulterantes

São consideradas falsificações outras espécies de *Rheum*, principalmente *Rheum rhaponticum* L.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: éter de petróleo, acetato de etila e ácido fórmico anidro (75:25:1).

Solução amostra: pesar, cerca de 50 mg da droga em pó (250 µm), adicionar 1 mL de ácido clorídrico e 30 mL de água, aquecer sob refluxo, em banho-maria, por 15 minutos. Resfriar à temperatura ambiente e extrair com 25 mL de éter etílico. Filtrar sobre sulfato de sódio anidro. Evaporar o filtrado até resíduo. Suspender o resíduo em 0,5 mL de éter etílico.

Solução referência: emodina a 0,1% (p/v) em éter etílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com hidróxido de potássio a 10% (p/v) em metanol para a visualização de zonas vermelho a violeta.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra* antes da nebulização. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Emodina: zona de fluorescência alaranjada	Zona de fluorescência alaranjada Zona de fluorescência alaranjada
	Zona de fluorescência alaranjada
	Zona de fluorescência alaranjada Zona de fluorescência alaranjada
Solução referência	Solução amostra

TESTES

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: cloreto de metileno e metanol(80:20).

Solução amostra: pesar 0,2 g da droga em pó e adicionar 2 mL de metanol. Aquecer sob refluxo, por 15 minutos. Esfriar e filtrar.

Solução referência: solução de raponticina a 1 mg/mL em metanol.

Procedimento: aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 5 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. A região do cromatograma obtida com a *Solução amostra* não deve apresentar mancha azul próxima ao ponto de aplicação, indicando a presença de raponticina. Nebulizar a placa com ácido fosfomolibdico SR. A região do cromatograma obtida com a *Solução amostra* não deve apresentar mancha azul escura próxima ao ponto de aplicação, indicando a presença de raponticina.

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

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%.

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

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.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Derivados hidroxiantracênicos

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Solução estoque: em balão de fundo redondo de 50 mL, pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da droga dessecada e pulverizada. Adicionar 30 mL de água, misturar e pesar o conjunto. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 15 minutos. Deixar esfriar e adicionar 50 mg de bicarbonato de sódio. Pesar e restabelecer o peso original com água. Centrifugar e transferir 10 mL do líquido sobrenadante para um balão de fundo redondo de 50 mL de capacidade. Adicionar 20 mL de cloreto férrico SR e agitar. Aquecer a mistura, sob refluxo, durante 20 minutos. Agitar frequentemente. Adicionar 1 mL de ácido clorídrico e aquecer por mais 20 minutos. Esfriar e transferir para funil de separação. Extrair com três porções sucessivas de 25 mL de éter etílico, previamente utilizada para lavar o balão de fundo redondo. Reunir os extratos etéreos e lavar com duas porções de 20 mL de água, filtrar para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com éter etílico e homogeneizar.

Solução amostra: evaporar 10 mL da *Solução estoque* até resíduo. Suspender o resíduo em 10 mL de acetato de magnésio a 0,5% (p/v) em metanol.

Solução branco: usar metanol.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 515 nm, imediatamente após o seu preparo, utilizando *Solução branco* para ajuste do zero. Considerar, para a réina, A(1%, 1 cm) igual a 440, em 515 nm, em metanol. Calcular o teor de derivados hidroxiantracênicos, expressos em réina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TDHC} = \frac{A \times 0,68}{m}$$

em que,

TDHC = derivados hidroxiantracênicos em %;

A = absorvância medida; e

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

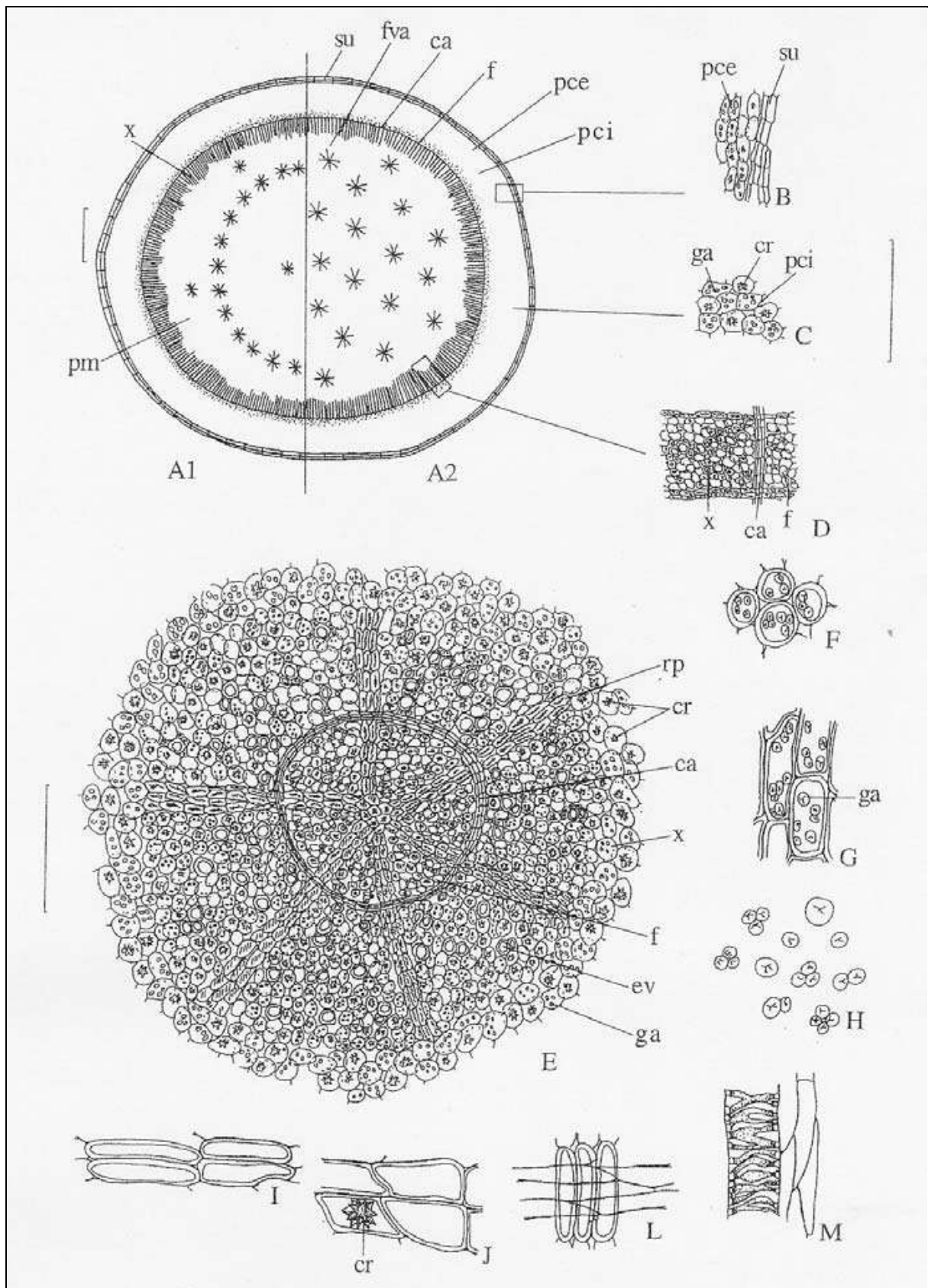


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Rheum palmatum* L. (A1) e *Rheum officinale* Baill. (A2)

As escalas correspondem em A, B, C, D e E a 500 µm; em F, G, H, I, J, L e M a 100 µm.

A1 e A2 - esquemas parciais dos rizomas em secção transversal; câmbio (ca); floema (f); feixe vascular anômalo (fva); parênquima cortical externo (pce); parênquima cortical interno (pci); parênquima medular (pm); súber (su). B - detalhe de secção transversal da região externa do córtex do rizoma; parênquima cortical externo (pce); súber (su). C - detalhe de secção transversal da região cortical; cristal (cr); grão de amido (ga); parênquima cortical interno (pci). D - detalhe da

região vascular; câmbio (ca); floema (f); xilema (x). **E** - detalhe do sistema vascular anômalo em secção transversal; câmbio (ca); cristal (cr); elemento de vaso (ev); floema (f); grão de amido (ga); raio parenquimático (rp); xilema (x). **F** - detalhe de células parenquimáticas em secção transversal contendo grãos de amido. **G** - detalhe de células parenquimáticas em secção longitudinal; grão de amido (ga). **H** - detalhes de grãos de amido. **I** - detalhe de células do raio parenquimático, em secção transversal. **J** - detalhe de células parenquimáticas em secção transversal; cristal (cr). **L** - detalhe de células parenquimáticas radiais em secção transversal, associadas a outras células parenquimáticas em secção longitudinal radial. **M** - detalhe de elemento de vaso com espessamento reticulado e células parenquimáticas em secção longitudinal.

SABUGUEIRO, flor *Sambucus nigra flos*

A droga vegetal consiste de flores secas de *Sambucus nigra* L., contendo, no mínimo, 1,5% de flavonoides totais, expressos em quercetina e, no mínimo, 1% de rutina.

CARACTERÍSTICAS

As flores secas têm odor fraco e aromático característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Flores amareladas pela dessecação, pentâmeras ou tetrâmeras, hermafroditas, medindo 3 a 5 mm de diâmetro, cada uma apresentando até três diminutas brácteas verdes, distribuídas no pedicelo, receptáculo e/ou base do cálice, em diferentes alturas, visíveis com lente de aumento. Brácteas pouco papilosas, com tricomas tectores e glandulares na face adaxial, com dentes marginais unicelulares. Botões florais globosos, esbranquiçados ou amarronzados, medindo 1,5 a 3,0 mm de diâmetro. Cálice com sépalas esbranquiçado-amareladas, esverdeadas ou amarronzadas, triangulares, medindo 0,5 a 1,2 mm de comprimento e 0,5 a 0,7 mm de largura na porção basal, levemente soldadas entre si na base e com dentes marginais unicelulares. Corola amarelada, rotada, com pétalas soldadas entre si na base em um curto tubo. Pétalas ovaladas a elípticas, de ápice retrorso, medindo 2,0 a 3,5 mm de comprimento e 2 a 3 mm de largura. Androceu formado por cinco ou quatro estames, dispostos alternadamente às pétalas, com filetes aderidos ao tubo da corola. Anteras ditecas, extrorsas, dorsifixas, oblongas, deiscentes, de coloração amarela, com 1 mm de comprimento. Filetes glabros e cilíndricos, de 1,0 a 1,5 mm de comprimento. Ovário ínfero, soldado ao tubo calicino, tricarpelar, raro tetracarpelar, trilocular, raro tetralocular, com carpelos bem demarcados, com um rudimento seminal por lóculo, de placentação axial. Gineceu globoso e papiloso, com um curto estilete e estigma trilobado. Um disco anelado e proeminente envolve a base do gineceu.

B. Descrição microscópica

Brácteas, sépalas e pétalas são hipostomáticas, anfiestomáticas e anfi-hipostomáticas respectivamente; os estômatos são do tipo anomocítico; em vista frontal, a cutícula apresenta estrias; tricomas tectores e glandulares ocorrem principalmente na base da face adaxial; em secção transversal, a cutícula é estriada, a epiderme é uniestratificada e o mesofilo é homogêneo; gotas lipídicas esféricas ocorrem em todos os tecidos, exceto no xilema. Idioblastos de aspecto enegrecido, contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de areia cristalina são visíveis nas três peças. Nas

pétalas ocorrem três, raro quatro nervuras paralelas, as secundárias partindo da principal, ramificadas ou não; a epiderme apresenta células papilosas, menos proeminentes nas regiões dos bordos; grãos de amido elipsoides estão presentes no mesofilo. O filete, em vista frontal, possui cutícula estriada. A antera, em secção transversal, possui epiderme papilosa, o tapete é uniestratificado e o endotécio é formado por duas a três camadas de células fibrosas, com pontoações evidentes. O grão de pólen é prolato, tricolporado, com 15 a 25 µm de diâmetro, com superfície reticulada. O gineceu é formado por três, raro quatro carpelos e cada cavidade apresenta um rudimento seminal; em secção transversal, o tecido parenquimático da parede carpelar é compacto, formado por células ricas em cloroplastídios e gotas lipídicas; o parênquima mais interno é desprovido de cloroplastídios; as células epidérmicas do estigma são extremamente papilosas. Difere de *Sambucus australis* por esta não apresentar idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio nas brácteas, sépalas e pétalas, além de geralmente cinco carpelos no ovário.

C. Descrição macroscópica das impurezas

Os pedicelos da própria espécie são considerados matéria estranha; são esbranquiçados pela dessecação, longitudinalmente sulcados, medindo 1 a 7 mm de comprimento, com tricomas tectores e glandulares.

D. Descrição microscópica das impurezas

O pedicelo, em vista frontal, apresenta cutícula estriada, células epidérmicas retangulares, estômatos anomocíticos e na porção basal, tricomas tectores e glandulares; em secção transversal, apresenta proeminências e reentrâncias acentuadas, cutícula estriada, epiderme uniestratificada, com células de forma tabular e paredes periclinais internas espessas; na região cortical ocorre uma a seis camadas de colênquima tabular, seguido por um parênquima com amplos espaços intercelulares; o sistema vascular é formado por até 16 feixes colaterais, dispostos em forma de anel; a região medular é preenchida por parênquima com células de paredes delgadas; cloroplastídios ocorrem nos parênquimas; gotas lipídicas ocorrem na epiderme e no parênquima cortical; grãos de amido são observados na endoderme e no floema.

E. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para as flores desta espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração amarelo-esverdeada; fragmentos de sépalas com dentes marginais unicelulares isolados; fragmentos de epiderme de sépalas e de pétalas papilosas e com cutícula estriada; fragmentos de epiderme com estômatos anomocíticos; células-guarda isoladas; fragmentos de epiderme com tricomas tectores de diferentes tipos; raros tricomas tectores e glandulares isolados ou partes destes; fragmentos de parênquima; porções de tecidos com gotas lipídicas; parte de elementos traqueais de espessamento helicoidal; fragmentos da epiderme de antera, extremamente papilosa; fragmentos da camada fibrosa de antera; numerosos grãos de pólen como descritos; grãos de pólen isolados ou agrupados, ou associados a fragmentos de anteras e de epiderme de diversas peças; porções de estigma com epiderme papilosa; porções de brácteas; porções do bordo de sépalas, de pétalas e de brácteas.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metiletilcetona, água, ácido fórmico anidro (50:30:10:10).

Solução amostra: transferir 0,5 g da amostra moída (355) para um béquer e adicionar 5 mL de metanol. Sonicar por 10 minutos. Centrifugar a 1000 x g por 5 minutos.

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

Procedimento: aplicar na placa, separadamente, 4 µL da *Solução amostra* e 4 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma por 6 cm. Remover a placa e deixar secar ao ar. Aquecer em estufa a 100 °C por 5 minutos e nebulizar com uma solução de ácido difenilbórico aminoetil éster a 1g/L em acetato de etila, em seguida com uma solução de macrogol 400 a 5 g/L em cloreto de metileno. Deixar secar por 30 minutos. Examinar sob a luz do dia e a seguir sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após exame sob a luz do dia e sob a luz ultravioleta em 365 nm, na ordem. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Hiperosídeo: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração laranja
Rutina: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração amarelo escuro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de coloração azul fluorescente	Zona de coloração azul fluorescente intensa 2 zonas de coloração azul fluorescente intensa
Hiperosídeo: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração laranja fluorescente
Ácido Clorogênico: zona de coloração azul fluorescente	Zona de coloração azul fluorescente intensa
Rutina: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração laranja fluorescente
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

G. Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar o sistema descrito em *Doseamento para Rutina*. O pico majoritário do cromatograma corresponde à rutina; observa-se um pico em tempo de retenção inferior com características de ácido cafeoilquínico e quatro picos após a rutina, sendo que os dois imediatamente após têm espectro de absorção no ultravioleta semelhante à rutina e, os dois seguintes, com espectro de absorção característica de ácido cafeoilquínico.

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 8% de pedicelos grosseiros e outros materiais estranhos, e, no máximo, 15% da amostra com cor alterada (enegrecida).

Água (5.4.1.4). No máximo 11%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 9%.

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

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da droga pulverizada (800 µm) e colocar em balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 0,25 mL de solução aquosa de metenamina 0,5%, 10 mL de acetona e 0,5 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar a mistura em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Retornar o resíduo da droga e algodão ao mesmo balão de fundo redondo, adicionar 7 mL de acetona. Aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar em algodão para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Repetir a operação retornando novamente o resíduo da droga e o algodão para o balão de fundo redondo, adicionar 7 mL de acetona e aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar para o mesmo balão de 25 mL. Após resfriamento à temperatura ambiente, completar o volume com acetona e homogeneizar. Em funil de separação, adicionar 10 mL dessa solução, 10 mL de água e, a seguir, extrair com 10 mL de acetato de etila. Repetir a extração mais duas vezes, com porções de 6 mL de acetato etila cada uma. Reunir as fases de acetato de etila, em funil de separação, e lavá-las com duas porções de 15 mL de água. Transferir, a fase orgânica, a seguir, para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com acetato de etila e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL de cloreto de alumínio a 2% (p/v) em metanol, completar o volume com solução de ácido acético a 5% (p/v) em metanol e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com solução de ácido acético a 5% (p/v) em metanol e homogeneizar.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 425 nm 30 minutos após o seu preparo, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais, expressos como quercetina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TQ = \frac{A \times 15625}{500 \times m \times (100 - P_d)}$$

em que,

TQ = teor de flavonoides totais, expresso em quercetina (%);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas da droga vegetal; e

P_d = teor de água (%).

Rutina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 356 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 a 10 µm), coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/ minuto.

Fase móvel (1): água, acetonitrila e ácido trifluoracético (95:5:0,01).

Fase móvel (2): acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,01).

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1) %</i>	<i>Fase móvel (2) %</i>	Sistema de eluição
0 – 7	90→70	10→30	gradiente linear
7 – 8	70→0	30→100	gradiente linear
8 – 11	0	100	isocrático
11 – 12	0→90	100→10	gradiente linear
12 – 18	90	10	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da droga seca e moída (800 µm) e colocar em frasco de vidro. Agitar, por turbólise, velocidade 3, durante 5 minutos com 5 mL de etanol a 80% (v/v). Filtrar em papel de filtro, sob vácuo, para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar em membrana, diluir 50 µL em 950 µL de mistura de acetonitrila e água (1:9) e homogeneizar.

Solução referência: dissolver 5 mg de rutina SQR em 10 mL de metanol.

Soluções para curva analítica: diluir uma alíquota de 2,5 mL da *Solução referência*, em balão volumétrico de 25 mL, de modo a obter solução a 50 µg/mL. Diluir alíquotas de 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, 2,5 mL, 3 mL, 3,5 mL, 4 mL e 4,5 mL, em balões volumétricos de 5 mL, com metanol, de modo a obter concentrações de 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 30 µg/mL, 35 µg/mL, 40 µg/mL e 45 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções para 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 5 minutos para o rutina. Calcular o teor de rutina na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica. O resultado é expresso pela média das determinações em gramas de rutina por 100 gramas da droga (%), considerando o teor de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

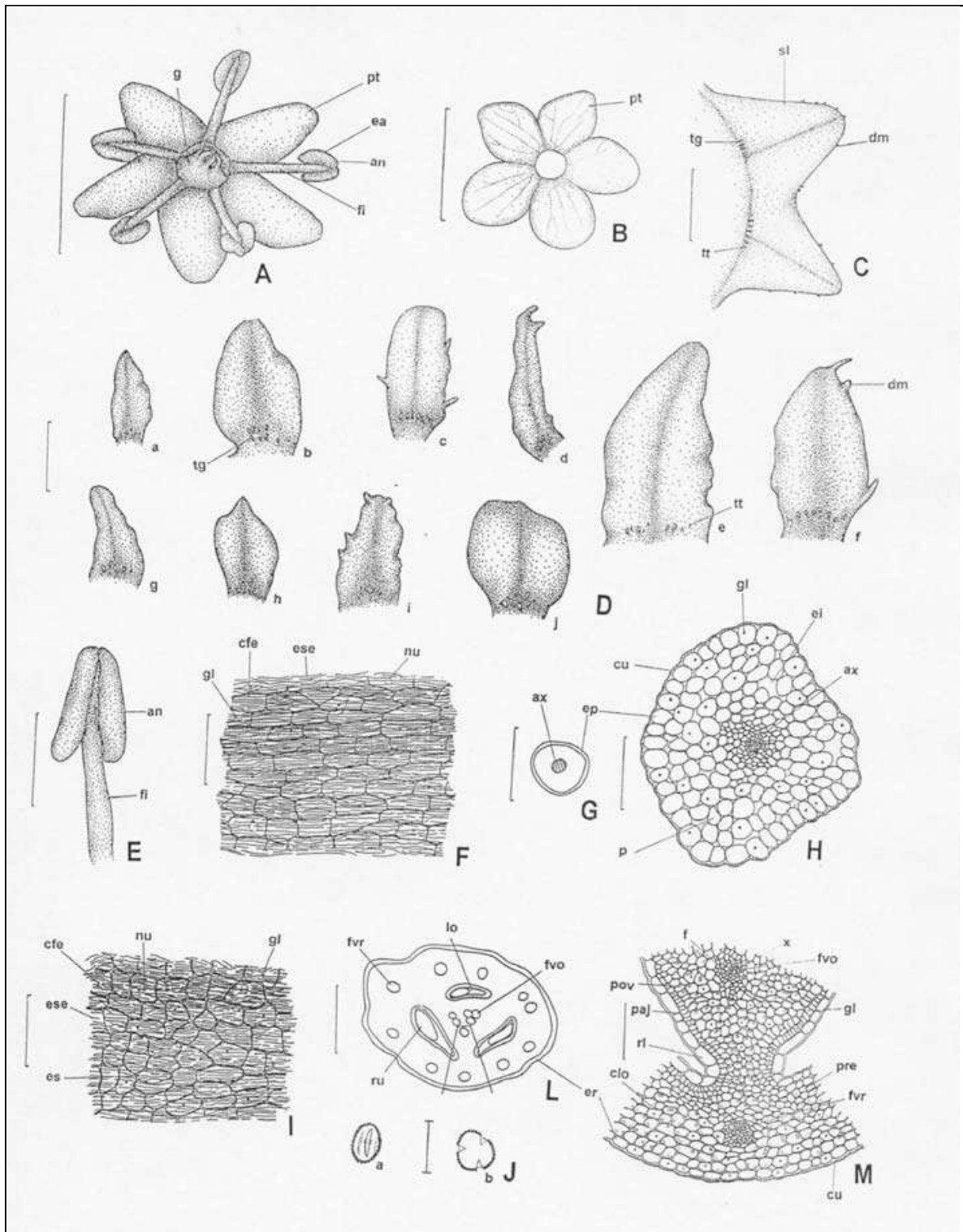


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.

As régulas correspondem em **A** a 3,0 mm; em **B** e **E** a 5,0 mm; em **C** a 1,0 mm; em **D** e **G** a 0,4 mm; em **F**, **H**, **I** e **M** a 100 μ m; em **J** a 30 μ m; em **L** a 400 μ m.

A - aspecto geral da flor, em vista frontal; antera (an); estame (ea); filete (fi); gineceu (g); pétala (pt). **B** - aspecto geral da corola desprendida, em vista frontal; pétala (pt). **C** - aspecto geral de parte do cálice, em vista frontal; dente marginal (dm); sépala (sl); tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **D** - aspecto geral da face adaxial de brácteas, em vista frontal, evidenciando suas distintas formas: (a, b, e, f, i) brácteas elípticas; (c) bráctea oblonga; (d) bráctea laminar; (g) bráctea triangular; (h, j) brácteas obovado-elípticas; (dm) dente marginal; (tg) tricoma glandular; (tt) tricoma tector. **E** - aspecto geral do estame em posição lateral; (na) antera; (fi) filete. **F** - detalhe de porção da epiderme do filete, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (esse); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **G** - esquema geral do filete, em secção transversal; agrupamento xilemático (ax); epiderme (ep). **H** - detalhe do filete em secção transversal; agrupamento xilemático (ax); cutícula estriada (cu); espaço intercelular (ei); epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima

(p). **I** - detalhe de porção da epiderme do receptáculo, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (esse); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **J** - esquema geral do grão de pólen; a: vista polar; b: vista equatorial. **L** - esquema geral do receptáculo e do ovário em secção transversal; epiderme do receptáculo (er); feixe vascular do ovário (fvo); feixe vascular do receptáculo (fvr); lóculo (lo); rudimento seminal (ru). **M** - detalhe de porção do receptáculo e do ovário, em secção transversal, conforme destacado em L; cloroplastídios (clo); cutícula estriada (cu); epiderme do receptáculo (er); floema (f); feixe vascular do ovário (fvo); feixe vascular do receptáculo (fvr); gota lipídica (gl); parênquima de células justapostas (paj); parênquima do ovário (pvo); parênquima do receptáculo (pre); revestimento do lóculo (rl); xilema (x).

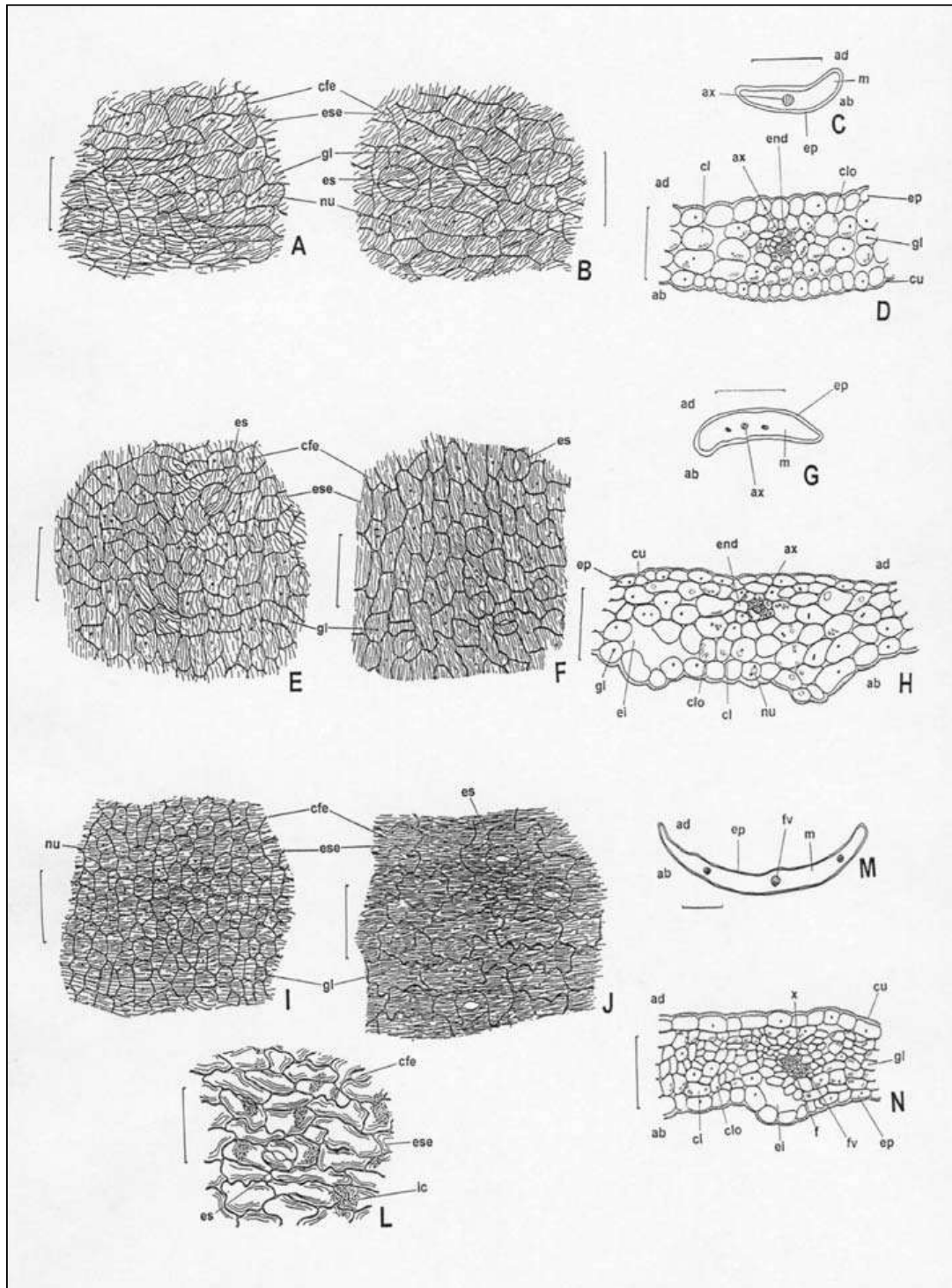


Figura 2 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.

As réguas correspondem em **A, B, D, E, F, H, I-L** e **N** a 100 μ m; em **C, G** e **M** 0,4 mm.

A - detalhe de porção da face adaxial da epiderme da bráctea, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (esse); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **B** - detalhe de porção da face abaxial da epiderme da bráctea, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo

(nu). **C** - esquema geral da bráctea, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); agrupamento xilemático (ax); epiderme (ep); mesofilo (m). **D** - detalhe da região da nervura principal da bráctea, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); agrupamento xilemático (ax); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula (cu); endoderme (end); epiderme (ep); gota lipídica (gl). **E** - detalhe de porção da face adaxial da epiderme da sépala, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl). **F** - detalhe de porção da face abaxial da epiderme da sépala, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl). **G** - esquema geral da sépala, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); agrupamento xilemático (ax); epiderme (ep); mesofilo (m). **H** - detalhe de porção da sépala na região da nervura principal, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); agrupamento xilemático (ax); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula estriada (cu); espaço intercelular (ei); endoderme (end); epiderme (ep); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **I** - detalhe de porção da face adaxial da epiderme da pétala, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **J** - detalhe de porção da face abaxial da epiderme da pétala, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl). **L** - detalhe de porção da face abaxial da epiderme da pétala, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); idioblasto cristalífero (ic). **M** - esquema geral da pétala, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); feixe vascular (fv); mesofilo (m). **N** - detalhe de porção da pétala, na região da nervura principal, em secção transversal; face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula estriada (cu); espaço intercelular (ei); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); gota lipídica (gl); xilema (x).

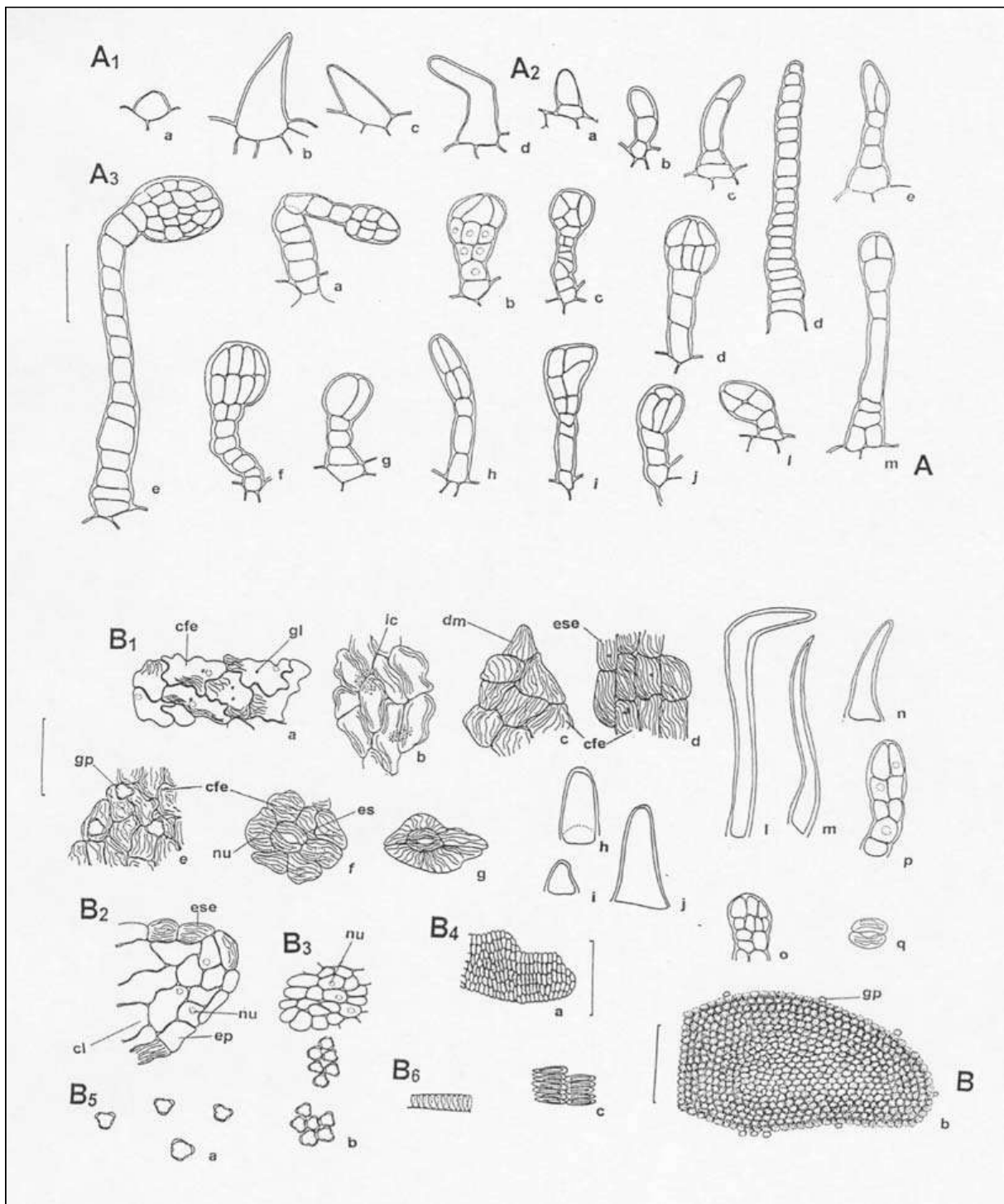


Figura 3 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.

As régua correspondem em **A** e **B** (**B₁ - B₃**, **B₄-B₆**) a 100 μ m; em **B** (**B_{4a}** e **b**) a 400 μ m.

A - detalhe de tricomas ocorrentes em brácteas, sépalas e pétalas; **A₁**. tricomas tectores unicelulares; **A₂**. tricomas tectores pluricelulares; **A₃**. Tricomas glandulares. **B** - detalhes do pó. **B₁**. (a-q): porções de epiderme; (a-g): fragmentos de epiderme, em vista frontal; célula fundamental da epiderme (cfe); dente marginal (dm); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); grão de pólen (gp); idioblasto cristalífero (ic); núcleo (nu); (h-j) porções de tricomas tectores unicelulares; (l-n) porções de dentes marginais; (o-p) porções de tricomas glandulares com cabeça pluricelular; (q) células-guarda isoladas; **B₂**. porção de bordo da pétala; epiderme (ep); estrias epicuticulares (ese); clorênquima (cl); núcleo (nu); **B₃**. fragmento de parênquima; núcleo (nu); **B₄**. fragmentos de antera; (a) porção côncava; (b) porção convexa; (c) fragmento da camada fibrosa da antera; grão de pólen (gp); **B₅**. grãos de pólen; (a) isolados; (b) agrupados; **B₆**. porção de elemento traqueal com espessamento parietal helicoidal.

SABUGUEIRO-DO-BRASIL, flor

Sambucus australis flos

A droga vegetal consiste de flores secas de *Sambucus australis* Cham. & Schltdl., contendo, no mínimo, 2,0% de flavonoides totais, expressos em quercetina e, no mínimo, 0,80% de rutina.

CARACTERÍSTICAS

As flores secas têm odor leve e aromático característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Flores amareladas pela dessecação, pentâmeras ou tetrâmeras, estaminadas, com estames longos ou pistiladas, com estames curtos, medindo 7 a 10 mm de diâmetro, cada uma apresentando três diminutas brácteas verdes, distribuídas no pedicelo e/ou receptáculo em diferentes alturas, visíveis com lente de aumento. Brácteas papilosas com tricomas tectores e glandulares na porção basal da face adaxial. Botões florais globosos, esbranquiçados ou amarronzados, medindo 1 a 3 mm de diâmetro. Cálice com sépalas amarelo-esverdeadas, triangular-ovaladas, medindo 1,0 a 1,5 mm de comprimento e 1 mm de largura na porção basal, levemente soldadas entre si na base, com tricomas tectores e glandulares abundantes na porção basal da face adaxial e sem dentes marginais. Corola amarelada, rotada, com pétalas soldadas entre si na base em um curto tubo. Pétalas ovaladas a elípticas, de ápice retrorso, medindo 2,5 a 5,0 mm de comprimento e 1,5 a 3,0 mm de largura. Androceu formado por cinco ou quatro estames, dispostos alternadamente às pétalas, com filetes aderidos ao tubo da corola. Anteras ditecas, extrorsas, dorsifixas, oblongas, deiscentes nas flores estaminadas e indeiscentes nas flores pistiladas, de coloração amarela, com 1 mm de comprimento. Filetes glabros e cilíndricos, curtos nas flores pistiladas, com 1 a 2 mm de comprimento e longos nas flores estaminadas, com 3 a 4 mm de comprimento. Ovário ínfero, soldado ao tubo calicino, pentacarpelar ou tetracarpelar, raro tricarpelar, pentalocular ou tetralocular, raro trilocular, com carpelos bem demarcados, com um rudimento seminal por lóculo, de placentação axial. Gineceu globoso e papiloso, com um curto estilete e estigma pentalobado. Um disco anelado e proeminente envolve a base do gineceu.

B. Descrição microscópica

Brácteas, sépalas e pétalas são anfiestomáticas, hipoestomáticas e anfi-hipoestomáticas respectivamente; os estômatos são do tipo anomocítico; em vista frontal, a cutícula apresenta estrias; tricomas tectores e glandulares ocorrem na base da face adaxial; em secção transversal, a cutícula é estriada, a epiderme é uniestratificada e o mesofilo é homogêneo; gotas lipídicas esféricas ocorrem em todos os tecidos, exceto no xilema. Idioblastos de oxalato de cálcio ausentes. Nas pétalas ocorrem cinco, raro quatro nervuras paralelas, as secundárias partindo da principal, ramificadas ou não; a epiderme apresenta células papilosas, menos proeminentes nas regiões dos bordos; grãos de amido elipsoides estão presentes no mesofilo. O filete, em vista frontal, possui cutícula estriada. A antera, em secção transversal, possui epiderme papilosa, o tapete é uniestratificado e o endotécio é formado por duas a três camadas de células fibrosas, com pontoações evidentes. O grão de pólen é prolato, tricolporado, com 18 a 34 µm de diâmetro, com superfície reticulada. O gineceu é formado por cinco, quatro ou raro três carpelos e cada cavidade apresenta um rudimento seminal; em secção transversal, o tecido parenquimático da parede carpelar é compacto, formado por células ricas em cloroplastídios

e gotas lipídicas; o parênquima mais interno é desprovido de cloroplastídios; as células epidérmicas do estigma são extremamente papilosas. Difere de *Sambucus nigra* por esta apresentar idioblastos de aspecto enegrecido, contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de areia cristalina visíveis nas brácteas, sépalas e pétalas, além de geralmente três carpelos no ovário.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para as flores desta espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração amarelo-esverdeada; fragmentos de epiderme com cutícula estriada de sépalas ou de pétalas papilosas; fragmentos de epiderme com estômatos anomocíticos; células-guarda isoladas; fragmentos de epiderme com tricomas tectores, de diferentes tipos; raros tricomas tectores e glandulares isolados ou partes destes; porções de tecidos com gotas lipídicas; parte de elementos traqueais de espessamento helicoidal; fragmentos de epiderme da antera, extremamente papilosa; fragmentos da camada fibrosa da antera; numerosos grãos de pólen como os descritos; grãos de pólen isolados ou agrupados, ou associados a fragmentos de anteras e à epiderme de diversas peças; porções de estigma com epiderme papilosa; porções de brácteas; porções do bordo de sépalas, de pétalas e de brácteas.

D. Descrição macroscópica das impurezas

Os pedicelos da própria espécie são considerados estranhos; são esbranquiçados pela dessecação, longitudinalmente sulcados, medindo 1 a 6 mm de comprimento, com tricomas tectores e glandulares.

E. Descrição microscópica das impurezas

O pedicelo, em vista frontal, apresenta cutícula estriada, células epidérmicas retangulares, estômatos anomocíticos e na porção basal, tricomas tectores e glandulares; em secção transversal, apresenta proeminências e reentrâncias acentuadas, cutícula estriada, epiderme uniestratificada, seguida geralmente por uma camada de colênquima tabular, seguido por um parênquima com amplos espaços intercelulares; o sistema vascular é formado por até 12 feixes colaterais, dispostos em forma de anel; a região medular é preenchida por parênquima com células de paredes delgadas; cloroplastídios ocorrem nos parênquimas; grãos de amido e gotas lipídicas ocorrem em todos os tecidos.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metiletilcetona, água, ácido fórmico anidro (50:30:10:10)

Solução amostra: transferir 0,5 g da amostra moída (355) para um béquer e adicionar 5 mL de metanol. Sonicar por 10 minutos. Centrifugar a 1000 x g por 5 minutos.

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

Procedimento: aplicar na placa, separadamente, 4 µL da *Solução amostra* e 4 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma por 6 cm. Remover a placa e deixar secar ao ar. Aquecer em estufa a 100 °C por 5 minutos e nebulizar com uma solução de ácido difenilbórico aminoetil éster a 1g/L em acetato de etila, em seguida com uma solução de macrogol 400 a 5 g/L em cloreto de metileno. Deixar secar por 30 minutos. Examinar sob a luz do dia e a seguir sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após exame sob a luz do dia e sob a luz ultravioleta em 365 nm, na ordem. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Hiperosídeo: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração laranja
Rutina: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração amarelo escuro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de coloração azul fluorescente	Zona de coloração azul fluorescente intensa 2 zonas de coloração azul fluorescente intensa
Hiperosídeo: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração laranja fluorescente
Ácido Clorogênico: zona de coloração azul fluorescente	Zona de coloração azul fluorescente intensa
Rutina: zona de coloração amarelo escuro	Zona de coloração laranja fluorescente
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

G. Proceder conforme descrito em *Doseamento para Rutina*. O pico majoritário do cromatograma corresponde à rutina; observa-se um pico com tempo de retenção inferior com características de ácido cafeoilquínico e três picos após a rutina, sendo que todos apresentam espectro de absorção no ultravioleta semelhante à rutina.

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 8% de pedicelos grosseiros e outros materiais estranhos. No máximo, 15% da amostra com coloração alterada (enegrecida).

Água (5.4.1.4). No máximo 10%.

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

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 teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Flavonoides totais

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções descritas a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da droga pulverizada (800 µm) e colocar em balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 0,25 mL de solução aquosa de metenamina a 0,5% (p/v), 10 mL de acetona e 0,5 mL de ácido clorídrico. Aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Filtrar a mistura para balão volumétrico de 25 mL. Retomar o resíduo da droga e algodão ao mesmo balão de fundo redondo, adicionar 7 mL de acetona. Aquecer, sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar em algodão para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Repetir a operação, retornando o resíduo da droga e o algodão para o balão de fundo redondo, adicionar 7 mL de acetona e aquecer sob refluxo, durante 10 minutos. Filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL. Após resfriamento, à temperatura ambiente, completar o volume com acetona e homogeneizar. Para funil de separação, transferir 10 mL dessa solução, 10 mL de água e 10 mL de acetato de etila, extrair e repetir o processo por mais duas vezes, porém, utilizando 6 mL de acetato etila. Reunir as fases de acetato de etila, lavá-las em funil de separação com duas porções de 15 mL de água e transferi-las para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com acetato de etila e homogeneizar.

Solução amostra: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL, adicionar 1 mL de solução de cloreto de alumínio a 2% (p/v), completar o volume com solução de ácido acético a 5% (p/v) em metanol e homogeneizar.

Solução branco: transferir 10 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 25 mL e completar o volume com solução de ácido acético a 5% (p/v) em metanol.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 425 nm 30 minutos após seu preparo, utilizando a *Solução branco* para o ajuste do zero. Calcular o teor de flavonoides totais, expresso como quercetina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TQ = \frac{A \times 15625}{500 \times m \times (100 - P_d)}$$

em que,

TQ = teor de flavonoides totais, expresso em quercetina (%);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas da droga vegetal; e

Pd = teor de água (%).

Rutina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 356 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (4 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/minuto.

Fase móvel (1): água, acetonitrila e ácido trifluoracético (95:5: 0,01).

Fase móvel (2): acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,01).

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1) %</i>	<i>Fase móvel (2) %</i>	Sistema de eluição
0 – 7	90→70	10→30	gradiente linear
7 – 8	70→0	30→100	gradiente linear
8 – 11	0	100	isocrático
11 – 12	0→90	100→10	gradiente linear
12 – 18	90	10	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da droga seca e moída (800 µm), colocar em frasco de vidro e agitar por turbólise, velocidade 3, durante 5 minutos, com 5 mL de etanol a 80% (v/v). Filtrar em papel de filtro, sob vácuo, para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar em membrana e diluir 50 µL em 0,95 mL de mistura de acetonitrila e água (1:9). Homogeneizar.

Solução referência: dissolver 5 mg de rutina SQR em 10 mL de metanol.

Soluções para curva analítica: diluir uma alíquota de 2,5 mL da *Solução referência* em balão volumétrico de 25 mL de modo a obter solução a 50 µg/mL. Diluir alíquotas de 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, 2,5 mL, 3 mL, 3,5 mL, 4 mL e 4,5 mL em balão volumétrico de 5 mL, com metanol, de modo a obter concentrações de 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 30 µg/mL, 35 µg/mL, 40 µg/mL e 45 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções para 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 5 minutos para a rutina. Calcular o teor de rutina na amostra a partir da equação da

reta obtida com a curva analítica. O resultado é expresso pela média das determinações em gramas de rutina por 100 gramas da droga (%), considerando o teor de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

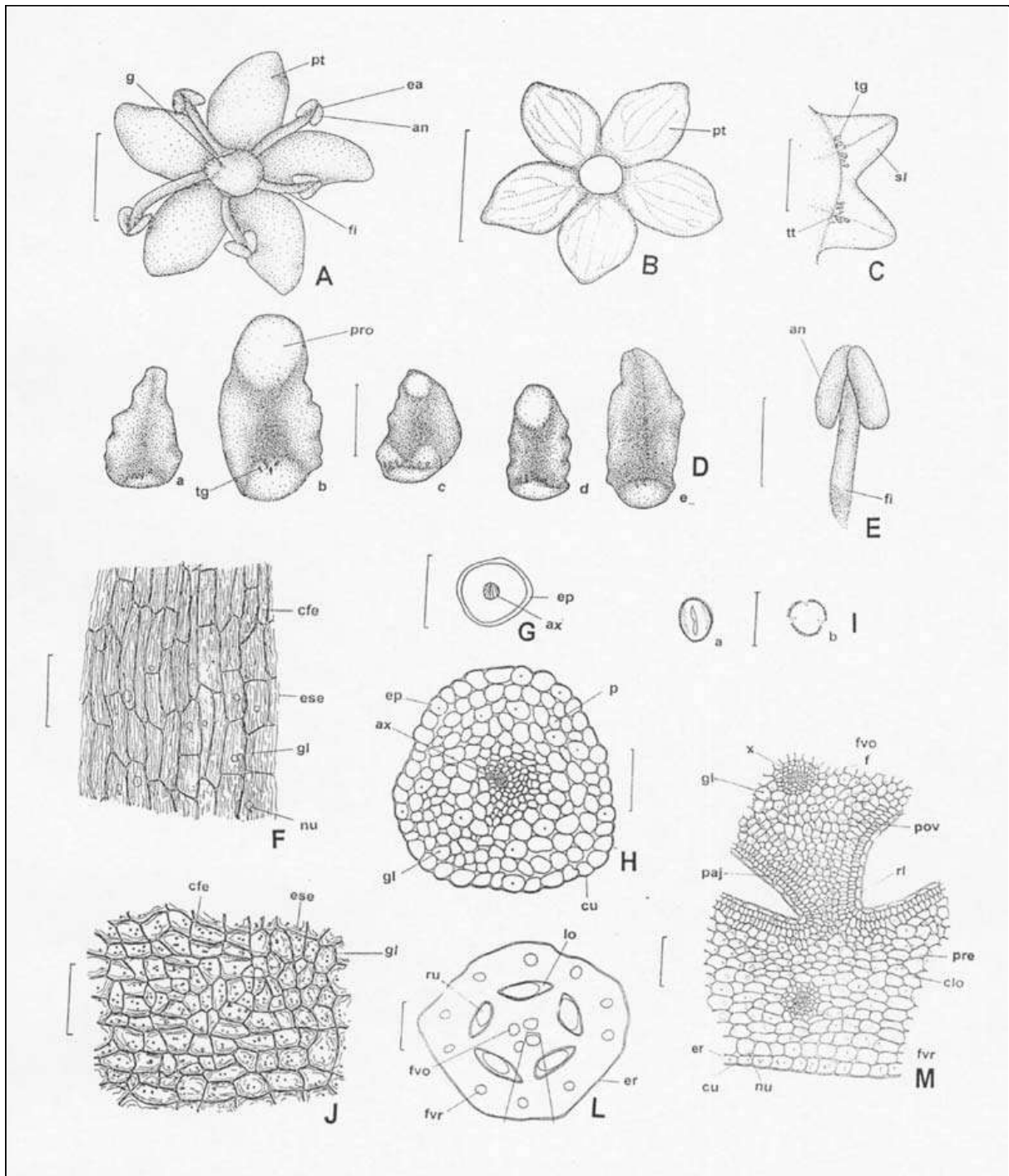


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schtdl.

As réguas correspondem em A e E a 2,5 mm; em B a 5 mm; em C e D a 1,0 mm; em F, H, J e M a 100 µm; em G e L a 400 µm; em I a 30 µm.

A – aspecto geral da flor estaminada, em vista frontal: antera (an); estame (ea); filete (fi); gineceu (g); pétala (pt). **B** – aspecto geral da corola desprendida, em vista frontal: pétala (pt). **C** – aspecto geral de parte do cálice, mostrando a face adaxial de duas sépalas, em vista frontal: sépala (sl); tricoma glandular (tg); tricoma tector (tt). **D** – aspecto geral da face adaxial de brácteas, em vista frontal, evidenciando suas distintas formas: bráctea triangular (a); brácteas elípticas (b, c); brácteas oblongas (d, e); proeminência apical (pro); tricoma glandular (tg). **E** – aspecto geral do estame em posição lateral: antera (an); filete (fi). **F** – detalhe de porção da epiderme do filete, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **G** – esquema geral do filete, em secção transversal: epiderme (ep); agrupamento xilemático (ax). **H** – detalhe do filete em secção transversal: agrupamento xilemático (ax); epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima (p); cutícula estriada (cu). **I** – esquema geral grão de pólen: vista polar (a); vista equatorial (b). **J** – detalhe de porção da epiderme de receptáculo, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl). **L** – esquema geral do receptáculo e do ovário, em secção transversal: epiderme do receptáculo (er); feixe vascular do ovário (fvo); feixe vascular do receptáculo (fvr); lóculo (lo); rudimento

seminal (ru). **M** – detalhe de porção do receptáculo e do ovário, em secção transversal, conforme destacado em **L**: cutícula estriada (cu); cloroplastídio (clo); epiderme do receptáculo (er); feixe vascular do ovário (fvo); feixe vascular do receptáculo (fvr); gota lipídica (gl); núcleo (nu); parênquima de células justapostas (paj); parênquima do ovário (pvo); parênquima do receptáculo (pre); revestimento do lóculo (rl); xilema (x).

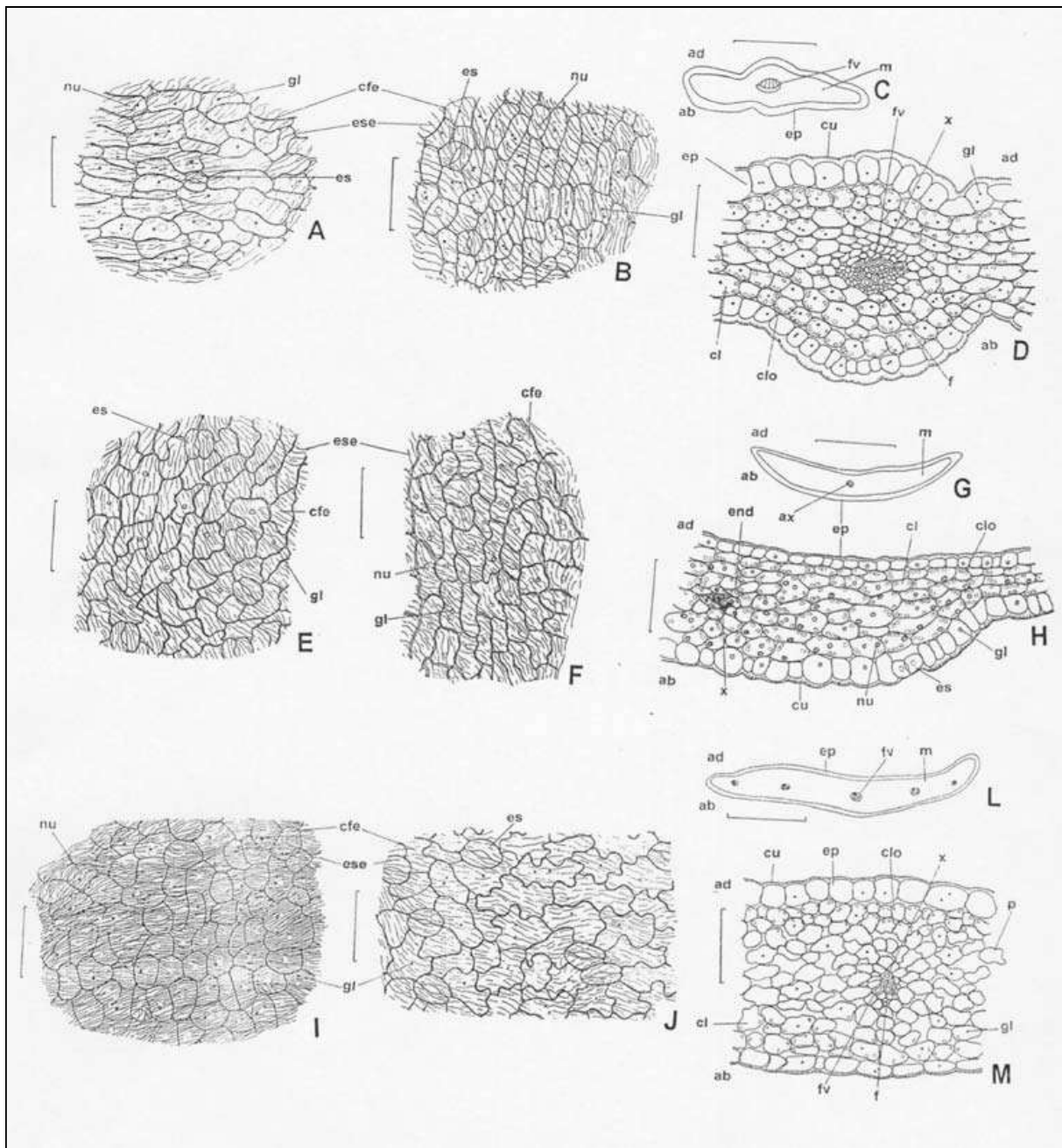


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schldl.

As régua correspondem em **A, B, D, E, F, H, I, J** e **M** a 100 μ m; em **C** e **G** a 400 μ m; em **L** a 800 μ m.

A – detalhe de porção da face adaxial da epiderme da bráctea, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **B** – detalhe de porção da face abaxial da epiderme da bráctea, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **C** – esquema geral da bráctea, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); feixe vascular (fv); mesofilo (m). **D** – detalhe da região da nervura principal da bráctea, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula estriada (cu); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); gota lipídica (gl); xilema (x). **E** – detalhe de porção da face adaxial da epiderme da sépala, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **F** – detalhe de porção da face abaxial da epiderme da sépala, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **G** – esquema geral da sépala, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); agrupamento xilemático (ax); epiderme (ep); mesofilo (m). **H** – detalhe de porção da sépala, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula estriada

(cu); endoderme (end); epiderme (ep); estômato (es); gota lipídica (gl); núcleo (nu); xilema (x). **I** – detalhe de porção da face adaxial da epiderme da pétala, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); núcleo (nu). **J** – detalhe de porção da face abaxial da epiderme da pétala, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl). **L** – esquema geral da pétala, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); epiderme (ep); feixe vascular (fv); mesofilo (m). **M** – detalhe de porção da pétala, na região da nervura principal, em secção transversal: face abaxial (ab); face adaxial (ad); clorênquima (cl); cloroplastídio (clo); cutícula estriada (cu); epiderme (ep); floema (f); feixe vascular (fv); gota lipídica (gl); parênquima (p); xilema (x).

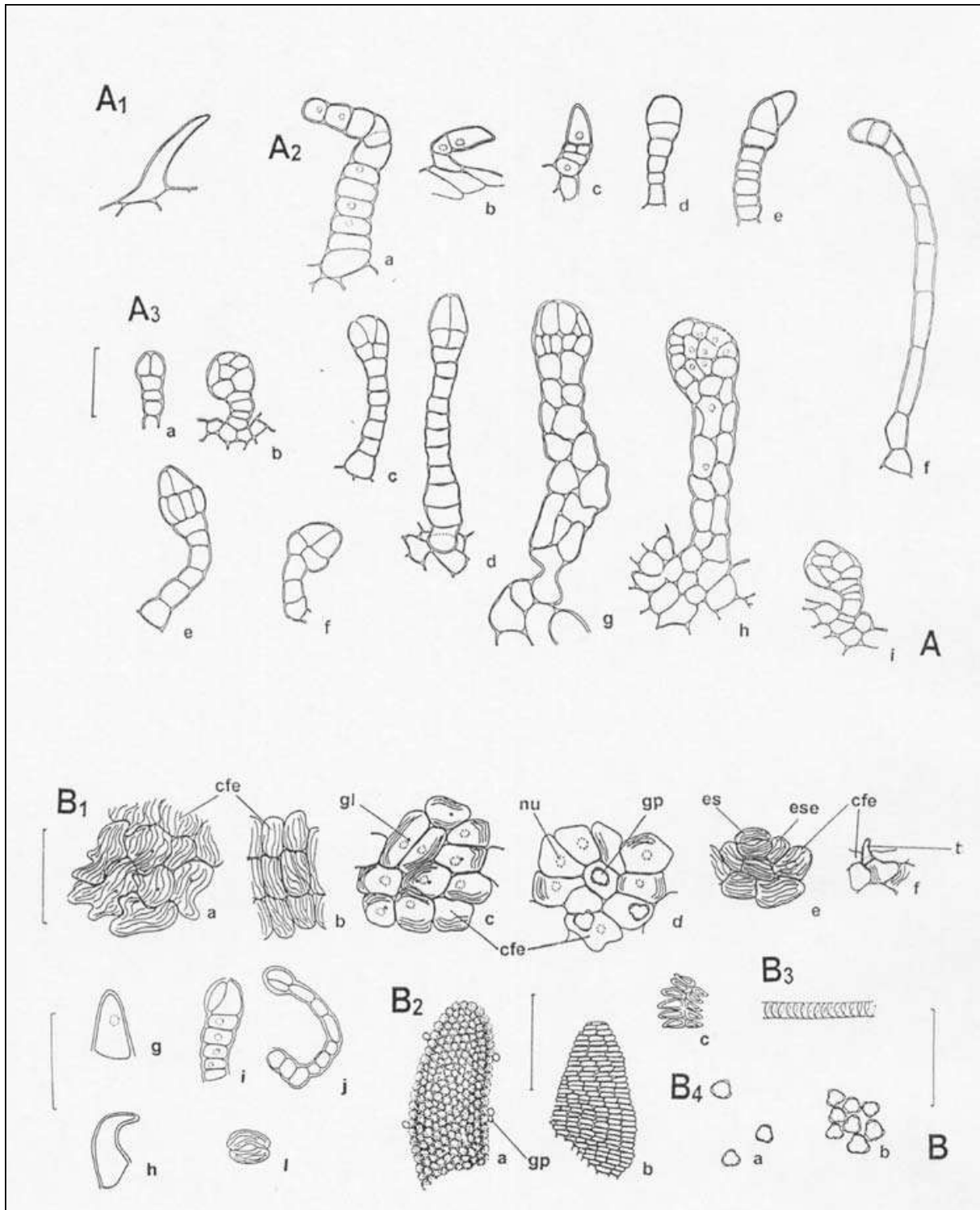


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schldl.

As réguas correspondem em **A**, **B1**, **B2 c** e em **B3** a **B5** a 100 µm; em **B2 a** e **b** a 400 µm.

A – detalhe de tricomas ocorrentes em brácteas, sépalas e pétalas: **A1** = tricoma tector unicelular; **A2** = tricomas tectores pluricelulares; **A3** = tricomas glandulares. **B** – detalhes do pó. **B1** = porções de epiderme (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, l):

fragmentos de epiderme em vista frontal (a, b, c, d, e) e em vista lateral (f), porções de tricomas tectores (g, h), porções de tricomas glandulares com cabeça pluricelular (i, j), células-guarda isoladas (l); célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); estrias epicuticulares (ese); gota lipídica (gl); grão de pólen (gp); núcleo (nu); tricoma tector (tt). **B₂** = fragmentos da antera: porção convexa (a), porção côncava (b), fragmento da camada fibrosa de antera (c); grão de pólen (gp). **B₃** = porção de elemento traqueal com espessamento helicoidal. **B₄** = grãos de pólen: isolados (a), agrupados (b).

SALGUEIRO-BRANCO, casca *Salicis cortex*

A droga vegetal consiste de cascas secas inteiras ou fragmentadas dos ramos jovens de *Salix alba* L., contendo, no mínimo, 1,5% de derivados de salicina expressos em salicina (C₁₃H₁₈O₇, 286, 28).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

A casca, obtida de ramos com dois a três anos, apresenta-se em fragmentos irregulares coriáceos, flexíveis, alongados e levemente acanalados, de comprimento, largura e espessura variados. A superfície externa é reluzente-lustrosa, lisa ou estriada longitudinalmente nas cascas jovens, castanho-escura. A superfície interna é finamente estriada longitudinalmente, fibrosa, parda. A fratura é curta na porção exterior e fibrosa na porção interior.

B. Descrição microscópica

Em vista frontal, as células do súber são geralmente poligonais e de paredes retilíneas, com coloração castanho-escura, às vezes amarelada. Em secção transversal, o córtex possui cutícula extremamente espessa e a porção externa da casca é variável: 1) primeira camada epidérmica uniestratificada, com células quadrangulares pequenas, de paredes espessas, seguida por cinco a seis camadas de colênquima tabular, de células alongadas, dispostas tangencialmente e contendo cloroplastídios, seguido por parênquima com células de variadas formas e de paredes espessas; ou 2) camada epidérmica externa, com as mesmas características da descrita anteriormente, seguida pelo colênquima e parênquima, ambos com células arredondadas e de paredes espessas; ou 3) presença de periderme, com várias camadas de células justapostas ou quase, seguidas por parênquima como descrito anteriormente. O parênquima cortical externo é pluriestratificado, com células de paredes espessas, apresentando cloroplastídios e drusas de oxalato de cálcio; raramente ocorrem cristais prismáticos, células pétreas isoladas ou agrupadas ou células contendo compostos fenólicos. O parênquima cortical interno apresenta agrupamentos de fibras distribuídos aleatoriamente, células com menor quantidade de cristais e cloroplastídios e raramente agrupamentos de células pétreas. O floema é rico em compostos fenólicos e sempre é acompanhado por agrupamentos de fibras. O câmbio apresenta internamente um tecido formado por células de paredes delgadas e reduzido número de camadas, com grande quantidade de grãos de amido e idioblastos contendo compostos fenólicos. Em secção longitudinal, as características do súber e da região cortical externa são similares às descritas para a secção transversal. A região cortical interna mostra raios parenquimáticos muitas vezes alargados, com fibras e células parenquimáticas de paredes espessadas.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. Examinar ao microscópio utilizando hidrato de cloral a 50% (p/v). São características: coloração castanho-pálida; fragmentos de súber, em vista frontal; fragmentos de parênquima, com células de paredes espessadas, em vista frontal; fibras isoladas ou porções de seus agrupamentos, em secção longitudinal; fragmentos de parênquima cortical com células de forma poligonal e de paredes espessas, com drusas, em secção transversal; porção de fibras associadas a idioblastos cristalíferos, em secção longitudinal; fragmentos de parênquima com células de paredes espessadas, com distribuição radial e com porções de câmbio; fragmentos de câmbio, em secção transversal; cristais prismáticos e drusas de oxalato de cálcio.

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄ (0,250 mm).

Fase móvel: acetato de etila, metanol e água (77:13:10).

Solução amostra (1): aquecer 0,5 g da amostra pulverizada (500 µm), com 10 mL de metanol, em banho-maria, sob refluxo, a aproximadamente, 50 °C por 10 minutos. Esfriar e filtrar.

Solução amostra (2): adicionar a 5 mL da *Solução amostra (1)*, 1 mL da solução de carbonato de sódio anidro 50 mg/mL. Aquecer em banho-maria a, aproximadamente 60 °C, sob refluxo, por 10 minutos. Esfriar e filtrar.

Solução referência: dissolver 2 mg de salicina em 1 mL de metanol.

Procedimento: aplicar na 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. A seguir, nebulizar a placa com solução de ácido sulfúrico 5% (v/v) em metanol e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 10 a 15 minutos.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Salicina: zona de fluorescência violeta avermelhada	Zona de coloração violeta avermelhada Zona de coloração violeta avermelhada Zona de fluorescência violeta avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 3% de ramos com diâmetro superior a 10 mm. No máximo, 2% de outros materiais estranhos.

Água (5.4.1.4). No máximo 11%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 10%.

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

Salicina

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (4 µm), mantida a temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/ minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: água, acetonitrila e ácido trifluoracético (97:3:0,05).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,3 g da droga seca e moída (355 μm) juntar 25 mL de metanol e aquecer sob refluxo, durante 30 minutos. Esfriar e filtrar. Retomar o resíduo com 25 mL de metanol e tratar como descrito anteriormente. Reunir os filtrados e evaporar sob pressão reduzida até secura. Retomar o resíduo com 2 mL de metanol, adicionar 2 mL de hidróxido de sódio 0,1 M e aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 1 hora a cerca de 60 °C, com agitação frequente. Esfriar, adicionar 0,25 mL de ácido clorídrico M, completar a 5 mL com uma mistura de metanol e água (50:50) e homogeneizar.

Solução referência: dissolver 10 mg de salicina em 10 mL de acetonitrila.

Soluções para curva analítica: diluir alíquotas de 40 μL , 45 μL , 50 μL , 55 μL e 60 μL da *Solução referência* para 100 μL com *Fase móvel*, de modo a obter concentrações de 0,40 mg/mL, 0,45 mg/mL, 0,50 mg/mL, 0,55 mg/mL e 0,60 mg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 μL das *Soluções para 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 6 minutos para a salicina. Calcular o teor de salicina na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica. O resultado é expresso pela média das determinações em gramas de salicina por 100 gramas da droga (%), considerando o teor de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

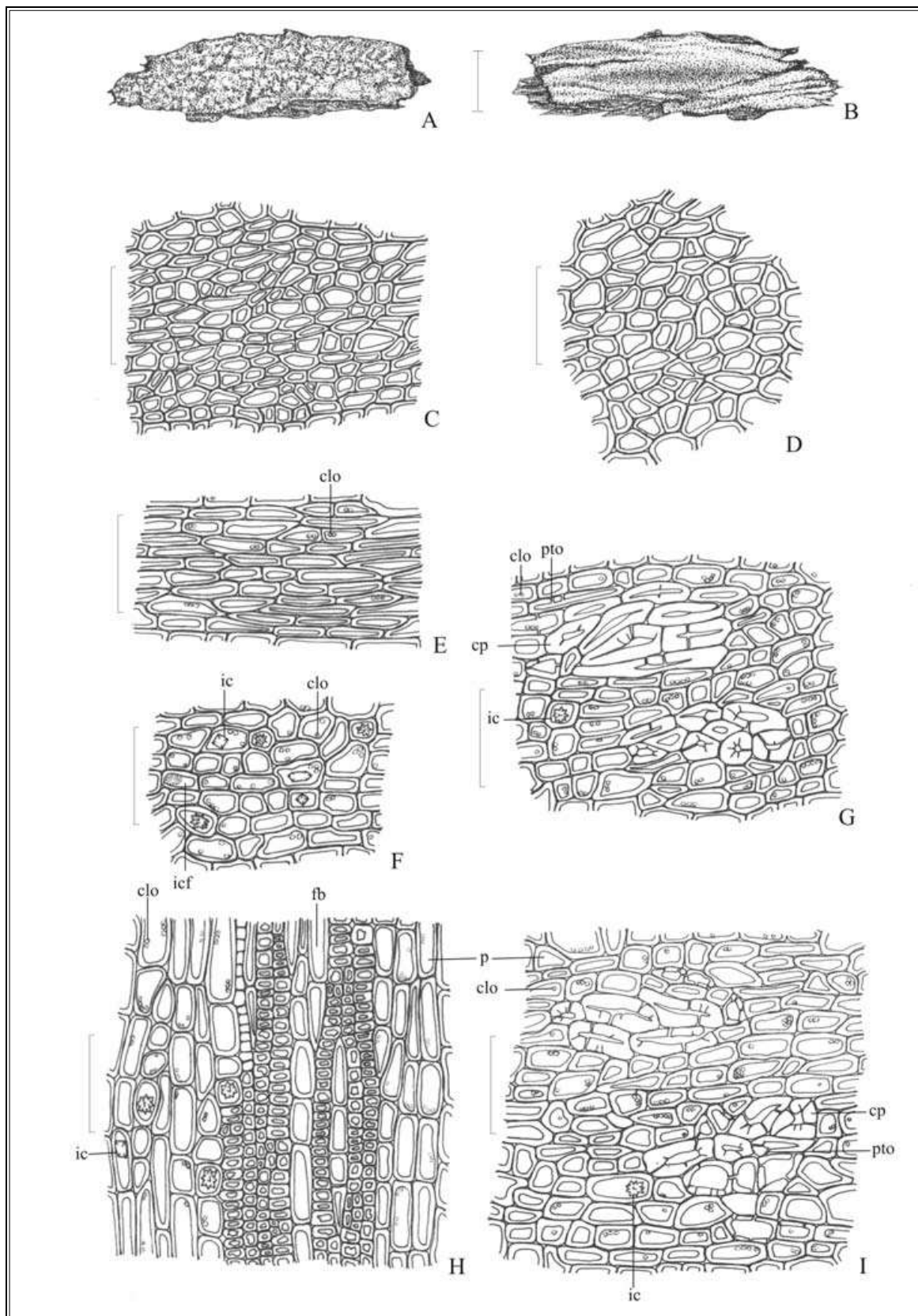


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Salix alba* L.

As escalas correspondem em **A** e **B** a 5 mm, em **C** a **I** a 100 μ m.

A – aspecto geral de porção da superfície externa da casca, em vista frontal. **B** – aspecto geral de porção da superfície interna da casca, em vista frontal. **C** – detalhe do súber, na região de coloração marrom, em vista frontal. **D** – detalhe do súber, na região de coloração amarelada, em vista frontal. **E** – porção de colênquima em secção transversal; cloroplastídeo (clo). **F** – detalhe de porção do parênquima, mostrando idioblastos cristalíferos com monocristais, cristais prismáticos e drusas, e com compostos fenólicos, em secção transversal; idioblasto contendo compostos fenólicos (icf); cloroplastídeo

(clo); idioblasto cristalífero (ic). **G** – detalhe de porção do parênquima, mostrando agrupamento de células pétreas, em secção transversal; cloroplastídio (clo); célula pétreia (cp); idioblasto cristalífero (ic); pontoação (pto). **H** – detalhe de porção do córtex, em secção longitudinal; cloroplastídio (clo); fibra (fb); idioblasto cristalífero (ic); parênquima (p). **I** – detalhe de porção do córtex, mostrando o parênquima e células pétreas em secção longitudinal; cloroplastídio (clo); célula pétreia (cp); idioblasto cristalífero (ic); parênquima (p); pontoação (pto).

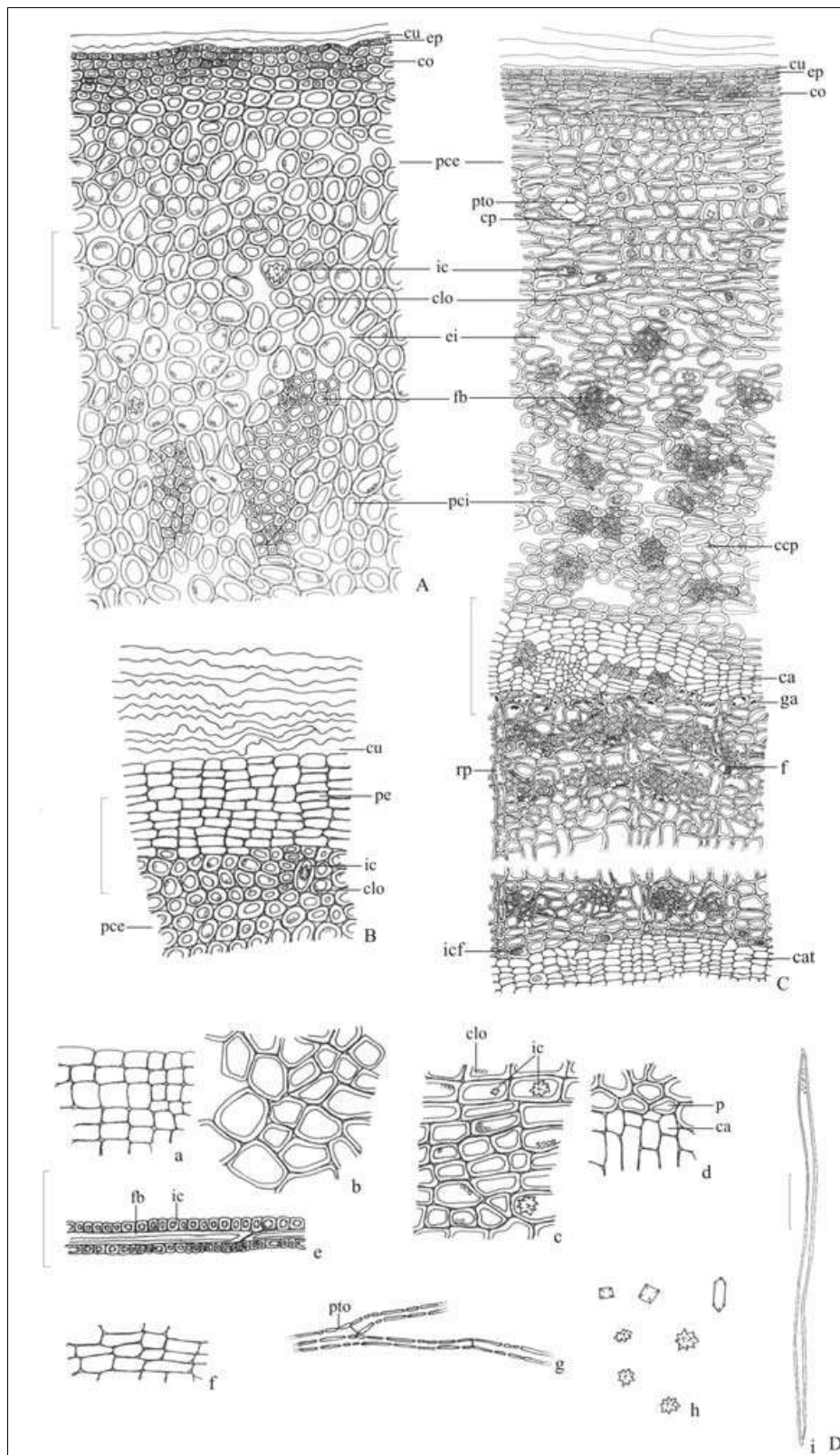


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Salix alba* L.

As escalas correspondem em **A**, **B** e **D** (a - h) a 100 µm, em **C** e **D** (i) a 200 µm.

A – detalhe de porção externa do córtex, em secção transversal; cloroplastídio (clo); colênquima (co); cutícula (cu); epiderme (ep); espaço intercelular (ei); idioblasto cristalífero (ic); fibra (fb); parênquima cortical externo (pce); parênquima cortical interno (pci). **B** – detalhe de porção do córtex, mostrando revestimento formado por periderme, em secção transversal; cutícula (cu); cloroplastídio (clo); idioblasto cristalífero (ic); parênquima cortical externo (pce); periderme (pe). **C** – detalhe do córtex, em secção transversal; câmbio (ca); câmbio interno (cat); cloroplastídio (clo); colênquima (co); célula pétrea (cp); cutícula (cu); epiderme (ep); espaço intercelular (ei); floema (f); fibra (fb); grãos de amido (ga); idioblasto cristalífero (ic); idioblasto contendo compostos fenólicos (icf); parênquima (p); parênquima cortical externo (pce); parênquima cortical interno (pci); pontoação (pto); raio parenquimático (rp). **D** – detalhes do pó. porção do súber, em vista frontal (a); porção de parênquima, em vista frontal (b); porção de parênquima, mostrando idioblastos cristalíferos, em secção transversal (c); porção de parênquima e de câmbio, em secção longitudinal (d); porção de fibras associadas a idioblastos cristalíferos, em secção longitudinal (e); porção do câmbio, em secção transversal (f); porção de fibras agrupadas, em secção longitudinal (g); cristais de oxalato de cálcio, isolados (h); fibra isolada, em secção longitudinal. (i); cloroplastídio (clo); idioblasto cristalífero (ic); câmbio (ca); parênquima (p); fibra (fb); idioblasto cristalífero (ic); pontoação (pto).

SENE, folha *Sennae folium*

A droga vegetal consiste de folíolos secos de *Senna alexandrina* Mill. (syn. *Cassia acutifolia* Delile, *Cassia angustifolia* Vahl, *Cassia senna* L.) contendo, no mínimo, 2,5% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B, e 0,6% de senosídeo B ($C_{42}H_{38}O_{20}$; 862,74) e 0,5% de senosídeo A ($C_{42}H_{38}O_{20}$; 862,74).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folíolos inteiros, com lâmina assimétrica, lanceolada ou ovalado-lanceolada, de ápice agudo, obtuso, raro retuso ou retuso-mucronado e base desigual, aguda a obtusa, margem levemente revoluta. Folíolos cartáceos, quebradiços, de coloração amarelo-pálido a verde-grisáceo claro e verde-oliva pálido, com face abaxial mais clara, de 0,6 a 5,0 cm de comprimento e 0,2 a 1,5 cm de largura; lâmina pilosa em ambas as faces; tricomas tectores cônicos, geniculados, em maior quantidade na face abaxial, especialmente na nervura principal; venação camptódroma-broquidódroma, com nervuras de maior ordem chegando até a margem e nervura principal proeminente na face abaxial. Peciólulo grosso e curto, normalmente curvo para a face abaxial, com até 0,1 cm de comprimento e até 0,1 cm de largura; face adaxial cilíndrica ou côncava, com duas costelas laterais, face abaxial convexa; tricomas iguais aos da lâmina, antrorsos.

B. Descrição microscópica

Folíolo isobilateral, anfiestomático, com estômatos paracíticos, às vezes anisocíticos ou anomocíticos, medindo de 20 a 35 μ m de comprimento. Em vista frontal, a epiderme apresenta células poligonais de paredes anticlinais espessas e retas, cobertas por cutícula lisa. Os tricomas tectores são unicelulares, cônicos, geniculados, com cutícula verrucosa, com 100 a 350 μ m de comprimento. As células epidérmicas se distribuem em roseta em torno da base dos tricomas. Em secção transversal, a cutícula é espessa e a epiderme uniestratificada, com células de diferentes formas e de paredes periclinais espessas, com idioblastos contendo monocristais prismáticos. Algumas células epidérmicas contêm mucilagem, sendo que essas células são originadas por outras que se dividiram tangencialmente em duas, a célula interna é que contém a mucilagem. O parênquima paliçádico é

formado por uma camada de células em ambas as faces. Neste parênquima são observados grãos de amido; o parênquima esponjoso contém drusas de oxalato de cálcio. No bordo da lâmina ocorre colênquima subepidérmico uniestratificado ou parênquima paliçádico seguidos por idioblastos contendo monocristais prismáticos isolados, além de pequenos feixes vasculares colaterais com grande quantidade de fibras nos polos. O feixe vascular principal é acompanhado externamente por fibras e por idioblastos cristalíferos contendo monocristais prismáticos. Gotas lipídicas, em pequena quantidade, ocorrem em todos os tecidos. O peciólulo, em vista frontal, apresenta cutícula lisa e raros estômatos. Em secção transversal, a cutícula é espessa, a epiderme é uniestratificada, seguida de colênquima anelar, parênquima cortical com idioblastos contendo drusas; endoderme com grande quantidade de grãos de amido; sistema vascular formado por dois pequenos feixes colaterais na região das costelas e geralmente um único feixe colateral bem desenvolvido na região central, envolto por bainha fechada de fibras, ou vários feixes distribuídos em forma de anel aberto para a face adaxial, todos envoltos por bainha de fibras, a qual apresenta externamente células contendo monocristais prismáticos. Gotas lipídicas ocorrem em todos os tecidos.

C. Descrição microscópica do pó

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração verde-acinzentada a verde-amarelada; porções de tricomas tectores, em vista lateral; fragmentos de epiderme com estômatos, em vista frontal; fragmentos da epiderme com estômatos e com tricomas, em vista frontal; porções de epiderme mostrando a região de inserção do tricoma, em vista frontal; fragmentos da epiderme sobre região da nervura principal, com estômatos, em vista frontal e com cristais do tipo drusas, visíveis por transparência; fragmentos da epiderme do peciólulo, em vista frontal; células epidérmicas, em secção transversal; idioblastos cristalíferos e agrupamentos de fibras, em secção longitudinal; porções de elementos traqueais, em secção longitudinal; porções do mesofilo, conforme descrito, em secção transversal; porção dos parênquimas de assimilação em secção transversal e do feixe vascular, em secção longitudinal; porção de feixe vascular, em secção longitudinal; cristais do tipo prismático e drusas isolados.

D. Descrição das impurezas

A raque, se presente como impureza, mede de 2,5 a 13,0 cm de comprimento e até 0,1 cm de largura, é cilíndrica ou côncava na face adaxial com duas costelas bem desenvolvidas, e convexa na face abaxial; cicatrizes da inserção dos folíolos bem definidas. Em secção transversal, o sistema vascular é formado por três a oito feixes colaterais e o conjunto envolto por bainha contínua de fibras de pequeno calibre; um feixe vascular menor ocorre em cada uma das costelas, com calota de fibras externa ao floema.

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, álcool *n*-propílico, água e ácido acético glacial (40:40:30:1).

Solução amostra: adicionar a 0,5 g da droga moída 5 mL de mistura de etanol e água (1:1). Aquecer à ebulição. Filtrar.

Solução referência: dissolver separadamente 2,5 mg de senosídeo A e 2,5 mg de senosídeo B em 1 mL de metanol e 1 mL de água, aquecer ligeiramente, se necessário.

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 placa, deixar secar

ao ar. Nebulizar com ácido nítrico a 25% e aquecer a 120 °C durante 10 minutos. Deixar esfriar e nebulizar a placa com solução de hidróxido de potássio a 5% (p/v) até o aparecimento de manchas.

Resultados: no esquema abaixo estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

Parte superior da placa	
Senosídeo A: zona de coloração castanho avermelhado	Zona de castanho avermelhado Zona de castanho avermelhado Zona de castanho avermelhado
Senosídeo B: zona de coloração castanho avermelhado	Zona de castanho avermelhado
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 2,0%, correspondente às raques foliares.

Água (5.4.1.4). No máximo 10,0%.

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

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.

Resíduo de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Derivados hidroxiantracênicos

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no visível (5.2.14)*. Preparar as soluções como descrito a seguir.

Solução estoque: pesar, com exatidão, cerca de 0,15 g da droga pulverizada (180 µm) em balão de fundo redondo com boca esmerilhada, adicionar 30 mL de água, misturar e pesar o conjunto. Aquecer em manta de aquecimento, sob refluxo, durante 15 minutos. Deixar esfriar, pesar e restabelecer o peso inicial com água e filtrar desprezando os 10 mL iniciais. Transferir 10 mL do filtrado para um funil de separação de 50 mL, adicionar uma gota de ácido clorídrico 2 M e lavar com três porções de 5 mL de clorofórmio. Rejeitar a fase clorofórmica. Centrifugar a fase aquosa durante 10 minutos a 700 × g. Transferir 4 mL do líquido sobrenadante para balão de fundo redondo com boca esmerilhada. Ajustar o pH da solução para 7,0 a 8,0 com cerca de 80 µL de solução de carbonato de sódio a 5% (p/v). Adicionar 8 mL de solução de cloreto férrico a 10,5% (p/v). Misturar e aquecer, sob refluxo, em banho-maria durante 20 minutos. Adicionar 0,4 mL de ácido clorídrico concentrado e manter o aquecimento por 20 minutos, agitar frequentemente, até dissolução do precipitado. Resfriar a solução e transferir para funil de separação de 50 mL, extrair com 10 mL e duas vezes com 7 mL de éter etílico, previamente utilizado para lavar o balão de fundo redondo. Reunir os extratos etéreos e lavar com duas porções de 10 mL de água. Transferir a camada etérea para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com éter etílico e homogeneizar.

Solução amostra: evaporar 5 mL da *Solução estoque*, em banho-maria, até resíduo. Suspender o resíduo com 5 mL de acetato de magnésio a 0,5% (p/v) em metanol. Filtrar se necessário.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 515 nm imediatamente após o seu preparo, utilizar metanol para ajuste do zero. Calcular o teor de derivados hidroxiantracênicos, calculado como senosídeo B, utilizando 240 como valor de absorvância específica, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TSB} = \frac{A \times 0,781}{m}$$

em que,

TSB = derivados hidroxiantracênicos %;

A = absorvância medida para a *Solução amostra*; e

m = massa em gramas da amostra, considerando a determinação de água.

Senosídeo B e senosídeo A

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 270 nm; pré-coluna empacotada com sílica octadecilsilanizada, coluna de 150 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica octadecilsilanizada (4 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,9 mL/minuto.

Fase móvel (1): água e ácido trifluoracético (100:0,08).

Fase móvel (2): acetonitrila.

Tempo (minutos)	<i>Fase móvel (1) %</i>	<i>Fase móvel (2) %</i>	Sistema de eluição
0 – 12	86	14	isocrático
12 – 19	86→77	14→23	gradiente linear
19 – 28	77→70	23→30	gradiente linear
28 – 31	70→0	30→100	gradiente linear
31 – 33	0	100	isocrático

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da droga seca e moída (180 µm) e colocar em tubo de centrífuga. Adicionar 5 mL de solução de bicarbonato de sódio 0,05% (p/v) e levar ao banho de ultrassom durante 10 minutos. Centrifugar por 20 minutos a $700 \times g$. Separar e transferir o sobrenadante para balão volumétrico de 5 mL, completar o volume e homogeneizar. Filtrar o sobrenadante em membrana. Diluir 50 µL da solução resultante em 150 µL de água.

Solução referência: dissolver 10 mg da mistura de senosídeo A SQR e senosídeo B SQR em 10 mL de metanol.

Soluções para curva analítica: diluir uma alíquota de 2,5 mL da *Solução referência*, em balão volumétrico de 25 mL, de modo a obter solução a 50 µg/mL. Diluir alíquotas de 2 mL, 2,5 mL, 3 mL, 3,5 mL, 4 mL e 4,5 mL, em balões volumétricos de 5 mL, com metanol, de modo a obter concentrações de 20 µg/mL, 25 µg/mL, 30 µg/mL, 35 µg/mL, 40 µg/mL e 45 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL das *Soluções para 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 18,0 minutos para o senosídeo B e 20,7 minutos para o senosídeo A. Calcular o teor de senosídeo B e senosídeo A na amostra a partir da equação da reta obtida com a curva analítica. O resultado é expresso pela média das determinações em gramas de senosídeo B e senosídeo A por 100 gramas da droga (%), considerando o teor de água.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

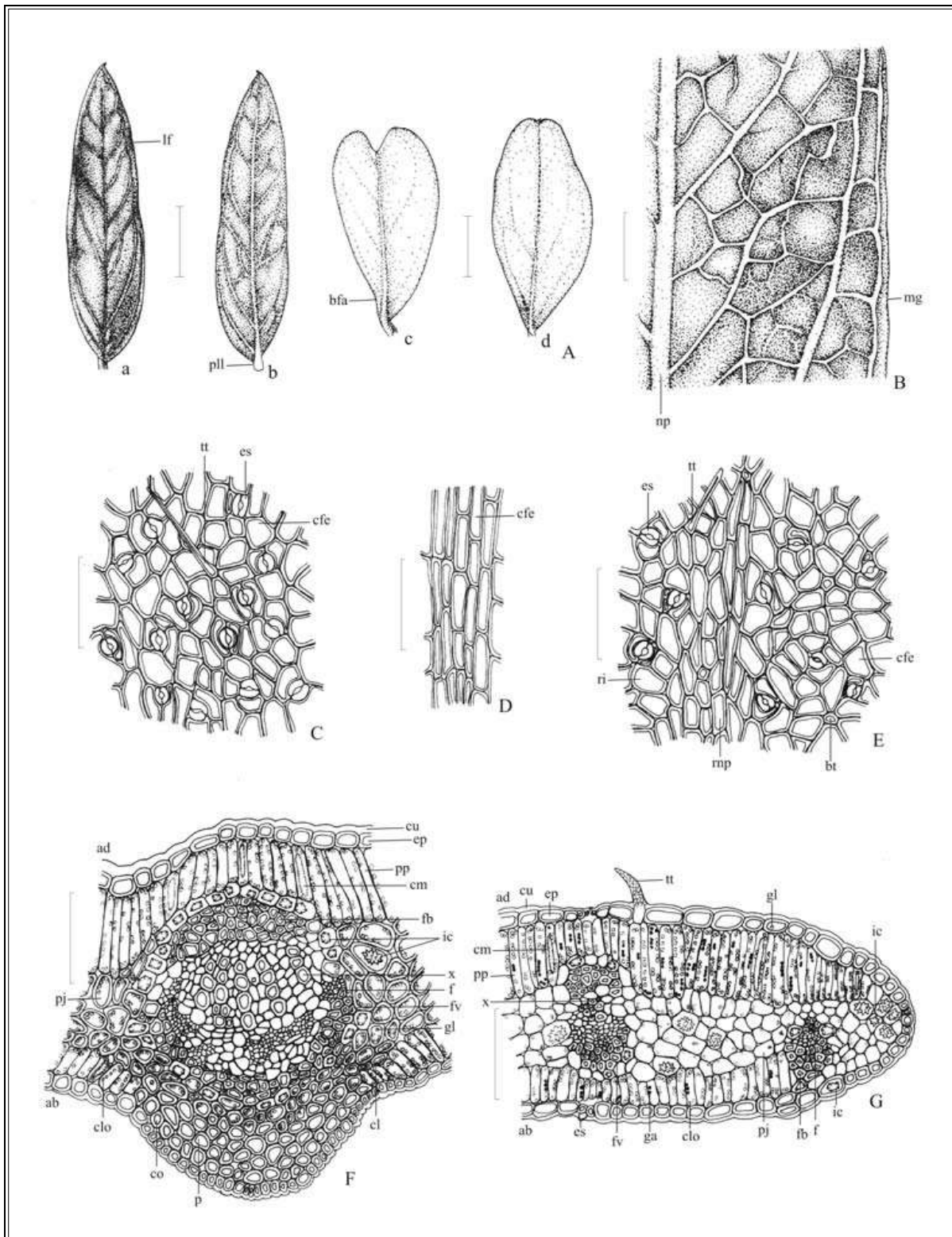


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

As escalas correspondem em **A (a, b e d)** a 5 mm; em **A (c)** a 4 mm; em **B** a 1 mm; em **C, D, E, F e G** a 100 μ m.

A – aspecto geral de diferentes formas de folíolos; **a** – face adaxial de folíolo com ápice agudo: lâmina foliar (lf); **b** – face abaxial do mesmo folíolo: peciólulo (pll); **c** – face abaxial de folíolo com ápice retuso: base foliar assimétrica (bfa); **d** – face abaxial de folíolo com ápice retuso-mucronado. **B** – detalhe parcial da venação do folíolo na região da nervura principal até a margem: margem (mg); nervura principal (np). **C** – detalhe da epiderme voltada para a face adaxial, na região intercostal, em vista frontal: tricoma tector (tt); estômato (es); célula fundamental (cfe). **D** – detalhe da epiderme voltada para a face adaxial, na região da nervura principal, em vista frontal: célula fundamental (cfe). **E** – detalhe da epiderme voltada para a face abaxial, na região intercostal e na região da nervura principal, em vista frontal: base do tricoma (bt); célula fundamental (cfe); estômato (es); região intercostal (ri); região da nervura principal (rnp); tricoma tector (tt). **F** – detalhe da região da nervura principal, em secção transversal: face adaxial (ad); cutícula (cu); epiderme

(ep); parênquima paliçádico (pp); célula contendo mucilagem (cm); fibra (fb); idioblasto cristalífero (ic); xilema (x); floema (f); feixe vascular (fv); gota lipídica (gl); clorênquima (cl); parênquima (p); colênquima (co); cloroplastídio (clo); face abaxial (ab); parênquima esponjoso (pj). **G** – detalhe da região intercostal e do bordo, em secção transversal: face adaxial (ad); cutícula (cu); epiderme (ep); tricoma tector (tt); gota lipídica (gl); idioblasto cristalífero (ic); floema (f); fibra (fb); parênquima esponjoso (pj); cloroplastídio (clo); grão de amido (ga); feixe vascular (fv); estômato (es); face abaxial (ab); xilema (x); parênquima paliçádico (pp); célula contendo mucilagem (cm).

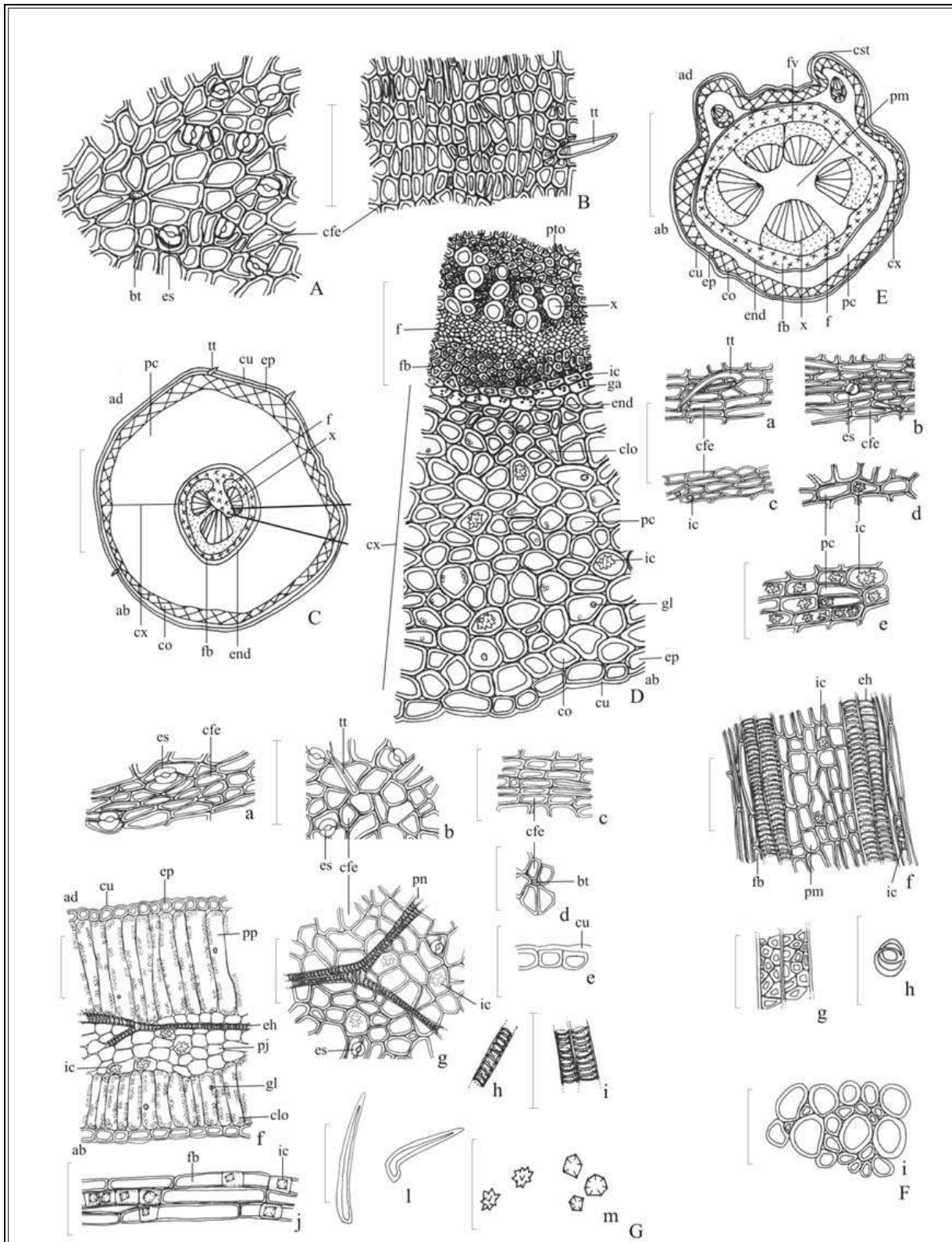


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

As escalas correspondem em **A, B, D, F (a – i) e G (a – m)** a 100 µm; em **C e E** a 400 µm.

A – detalhe da epiderme do peciólulo voltada para a face adaxial, em vista frontal: base do tricoma tector mostrando células epidérmicas com distribuição radial em torno de sua base (bt); estômato (es); célula fundamental da epiderme (cfe). **B** – detalhe da epiderme do peciólulo voltada para a face abaxial, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); tricoma tector (tt). **C** – representação esquemática do peciólulo, em secção transversal: face adaxial (ad); parênquima cortical (pc); tricoma tector (tt); cutícula (cu); epiderme (ep); floema (f); xilema (x); endoderme (end); fibra (fb); colênquima (co); córtex (cx); face abaxial (ab). **D** – detalhe do peciólulo, em secção transversal, conforme destacado em **C**: pontoação (pto); xilema (x); floema (f); fibra (fb); idioblasto cristalífero (ic); grão de amido (ga); endoderme (end); cloroplastídio (clo); parênquima cortical (pc); gota lipídica (gl); epiderme (ep); face abaxial (ab); cutícula (cu); colênquima (co); córtex (cx). **E** – representação esquemática da impureza, correspondente à raque, em secção transversal: face adaxial (ad); feixe vascular (fv); costela (CST); parênquima medular (pm); córtex (cx); parênquima cortical (pc); floema (f); xilema (x); fibra (fb); endoderme (end); colênquima (co); epiderme (ep); cutícula (cu); face abaxial (ab). **F** (**a** – **f**) – detalhes do pó das impurezas correspondentes à raque (**a** – detalhe de porção da epiderme com tricoma tector, em vista frontal): tricoma tector (tt); célula fundamental da epiderme (cfe); estômato (es); idioblasto cristalífero (ic); parênquima cortical (pc); elemento traqueal, com espessamento helicoidal, em secção longitudinal (eh); fibra (fb); parênquima medular (pm). **G** – detalhes do pó do folíolo; **a** – detalhe de porção de epiderme da lâmina, sob a região da nervura principal, em vista frontal: estômato (es), célula fundamental da epiderme (cfe); **b** – detalhe de porção epiderme da lâmina, com estômatos e tricoma tector, em vista frontal: tricoma tector (tt), estômato (es), célula fundamental da epiderme (cfe); **c** – detalhe de porção da epiderme do peciólulo, voltada para a face abaxial, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe); **d** – detalhe de porção da epiderme da lâmina, mostrando base do tricoma tector, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe), base do tricoma (bt); **e** – detalhe de porção da epiderme da lâmina, em secção transversal: cutícula (cu); **f** – detalhe de porção da região intercostal, em secção transversal: face adaxial (ad), cutícula (cu), epiderme (ep), parênquima paliçádico (pp), elemento traqueal, com espessamento helicoidal, em secção longitudinal (eh); parênquima esponjoso (pj), idioblasto cristalífero (ic), gota lipídica (gl), cloroplastídio (clo), face abaxial (ab); **g** – detalhe de fragmento de epiderme mostrando porção de nervura, estômatos e idioblastos cristalíferos, por transparência, em vista frontal: célula fundamental da epiderme (cfe), porção de nervura (pn), idioblasto cristalífero (ic), estômato (es); **h** – detalhe de porção de elemento traqueal, com espessamento helicoidal, em secção longitudinal, isolado; **i** – detalhe de porção de elementos traqueais agrupados, com espessamento helicoidal, em secção longitudinal; **j** – detalhe de porção agrupamento de fibras associadas a idioblastos cristalíferos, em secção longitudinal: fibra (fb), idioblasto cristalífero (ic); **l** – porções de tricomas tectores isolados, em vista lateral; **m** – detalhe de cristais isolados do tipo drusas e monocristais prismáticos.

MONOGRAFIAS

PRODUTOS BIOLÓGICOS

INCLUSÃO

HEPARINA SÓDICA BOVINA	963
VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS, POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA) E HAEMOPHILUS INFLUENZAE b (CONJUGADA)	973
VACINA INFLUENZA (ANTÍGENO DE SUPERFÍCIE, INATIVADA)	975
VACINA INFLUENZA (ANTÍGENO DE SUPERFÍCIE, INATIVADA)	978
VACINA SARAMPO, CAXUMBA, RUBÉOLA E VARICELA (ATENUADA)	981

REVISÃO

SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE)	984
SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE) E ANTILAQUÉTICO	986
SORO ANTIBOTULÍNICO (TRIVALENTE)	987
SORO ANTICROTÁLICO	989
SORO ANTIDIFTÉRICO	990
SORO ANTIELAPÍDICO (BIVALENTE).....	992
SORO ANTIESCORPIÔNICO	993
SORO ANTILONÔMICO	994
SORO ANTITETÂNICO	996
VACINA BCG	998
VACINA FEBRE AMARELA (ATENUADA)	1000
VACINA POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA)	1002
VACINA VARICELA (ATENUADA)	1004

INCLUSÃO

HEPARINA SÓDICA BOVINA

A heparina sódica bovina é extraída a partir da mucosa intestinal bovina e contém cadeias polissacarídicas heterogêneas e de peso molecular variado. É composta em sua maioria por unidades de α -D-glucosamina N,6 sulfato e ácido idurônico 2-O-sulfato. As unidades de α -D-glucosamina apresentam padrão mais heterogêneo de sulfatação em comparação com a heparina suína. Em especial observamos maior proporção de unidades de α -glucosamina não sulfatada na posição 6. Possui atividade anticoagulante pela inibição de diversos fatores do sistema de coagulação, prolongando o tempo de coagulação do sangue. Isso ocorre principalmente por meio da potencialização da inativação do fator Xa e da trombina pela antitrombina. Contém, no mínimo, 100 unidades de atividade antifator IIa por mg de heparina, respectivamente, em relação à substância dessecada. A razão da atividade antifator Xa pela atividade antifator IIa deve ser $1,0 \pm 0,1$. Como critério de aceitação para cada ensaio realizado para a atividade antifator IIa e Xa, a potência calculada com base no peso seco deve estar compreendida entre 90 e 110% da potência declarada. Os animais dos quais a heparina é extraída devem preencher os requisitos sanitários para a espécie em questão e o processo de produção deve garantir a remoção ou inativação de agentes infecciosos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Cumpre as exigências descritas em *Doseamento*, segundo os métodos I ou II de **Atividade antifator Xa** e de **Atividade antifator IIa**.

B. Utilizar a técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear unidimensional de próton. Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Solução padrão: preparar solução em concentração de, no mínimo, 20 mg/mL de heparina (SQR) em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de ácido trimetilsililpropiónico de sódio. Pode ser utilizado um padrão interno de referência de heparina de mucosa intestinal bovina.

Solução para adequação do sistema: preparar solução a 1% (p/p) de condroitim sulfato supersulfatado SQR em *solução padrão*.

Solução amostra: preparar solução em concentração de, no mínimo, 20 mg/mL da amostra em óxido de deutério 99,9% com 0,02% (p/v) de ácido trimetilsililpropiónico de sódio.

Procedimento: na análise das amostras deve-se utilizar um espectrômetro de ressonância magnética nuclear de, no mínimo, 500 MHz, tempo de aquisição mínimo de 2 s, tempo de repetição (tempo de espera mais tempo de aquisição) mínimo de 4s. O ensaio deve ser realizado sob a temperatura constante de 35 °C com um programa de supressão de água. A janela espectral deve ser, no mínimo, de 10 a -2 ppm. Para todas as amostras, o grupo metila do composto trimetilsililpropiónico deve ser referenciado em 0,00 ppm. Os espectros obtidos devem ser similares ao da *Solução padrão*.

Adequação do sistema: os deslocamentos químicos correspondentes às regiões N-acetil da heparina e do condroitim sulfato supersulfatado na *Solução para a adequação do sistema* devem ser observados em $2,05 \pm 0,03$ ppm e $2,16 \pm 0,03$ ppm, respectivamente. Os deslocamentos químicos dos sinais correspondentes ao H1 e H2 das unidades de α -glucosamina 6- e N-disulfatadas (A1 e A2), ao H1 do ácido α -idurônico 2-sulfatado (I1), ao H1 das unidades de α -glucosamina N-sulfatada (C1) e ao grupamento metil da α -glucosamina N-acetilada (CH₃) da solução padrão estão presentes em 5,40;

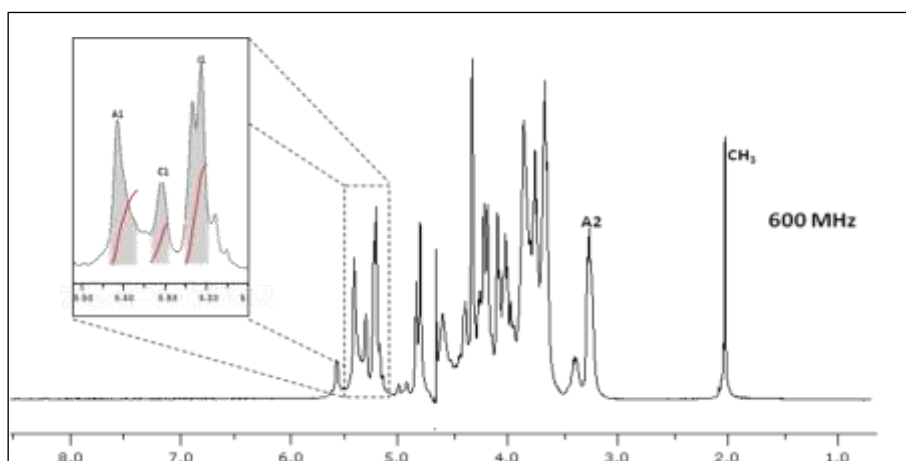
3,28; 5,22; 5,31 e 2,05 ppm, respectivamente. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar mais do que $\pm 0,03$ ppm.

Critério de aceitação das amostras: os deslocamentos químicos dos sinais A1, C1, I1, A2 e CH₃ devem ser observados a 5,40; 5,31; 5,22; 3,28 e 2,05 ppm, respectivamente. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar de $\pm 0,03$ ppm. As integrais dos sinais A1, C1, I1 devem ser obtidos conforme a orientação dos painéis da **Figura 1**. Os espectros de heparina sódica bovina apresentam dois sinais de I1, mas devem ser integrados em conjunto. Espectrômetros de maior resolução mostram a separação de A1 em dois sinais (como exemplificado no painel B da **Figura 1**), mas também devem ser integrados em conjunto. A integral de A1 é tomada como referência. Proceder ao cálculo de acordo com a fórmula:

$$\frac{C1 \times 100}{A1} = 42 - 58$$

Obrigatoriamente, o valor obtido deve estar entre 42 e 58. Nenhum sinal não identificado no espectro, na região de 0,10 – 2,00; 2,10 – 3,20 e 5,70 – 8,00 ppm, deve ultrapassar 4% da altura do sinal A1 (5,40 ppm). Não deve ser observado o deslocamento químico em $2,16 \pm 0,03$ ppm, correspondentes às regiões *N*-acetil do condroitim sulfato supersulfatado.

A



B

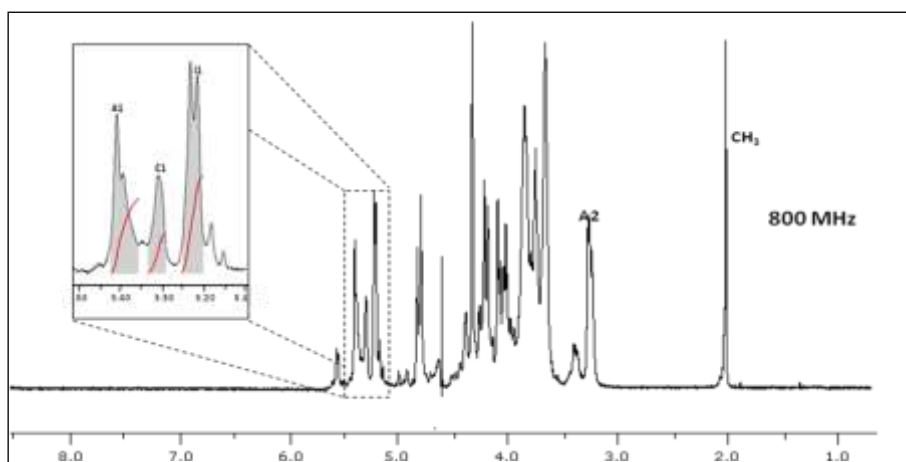


Figura 1 – Heparina sódica bovina analisada em espectrômetro.

Painel A – 600 MHz; Painel B – 800 MHz. Os sinais designados como A1 e A2 correspondem ao H1 e H2 das unidades de α -glucosamina 6- e N-disulfatadas em 5,40 e 3,28 ppm, respectivamente; o sinal I1 corresponde ao H1 do ácido α -idurônico 2-sulfatado em 5,21 ppm; C1 corresponde ao H1 das unidades

de α -glucosamina *N*-sulfatada em 5,31 ppm; e metil da glucosamina *N*-acetilada em 2,05 ppm. Os valores de ppm observados para cada sinal não devem variar além de $\pm 0,03$ ppm. Pelos “inserts” percebe-se a expansão das regiões entre 5,10 e 5,50 ppm dos mesmos espectros, para orientar a integração dos sinais A1, C1 e I1.

C. Utilizar a técnica de cromatografia líquida de troca iônica para detecção e separação de possíveis contaminantes da heparina sódica bovina como: dermatam sulfato, condroitim sulfato e condroitim sulfato supersulfatado. Utilizar cromatógrafo provido com detector ultravioleta. A leitura pode ser realizada a 202 nm ou 215 nm, desde que atenda à adequação do sistema. Utilizar uma pré-coluna de 50,0 mm de comprimento e 2,0 mm de diâmetro interno empacotada com resina Ionpac AG11 HC (9 μ m); coluna de 250 mm de comprimento e 2,0 mm de diâmetro interno, empacotada com Ionpac AS11 HC (9 μ m), mantida a 40 °C; fluxo da fase móvel de 0,5 mL/min.

Preparar as soluções conforme descrito a seguir.

Eluente A: preparar solução de TRIS a 20 mM. Ajustar pH para 7,4 com ácido clorídrico diluído.

Eluente B: preparar solução de TRIS a 20 mM e NaCl a 2,5 M. Ajustar pH para 7,4 com ácido clorídrico diluído.

Gradiente da fase móvel: adotar sistema de gradiente de 0 a 2,5 M de NaCl, como descrito na tabela a seguir:

<i>Tempo (min)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 – 4	83,4	16,6	Isocrática
4 – 22	83,4-0	16,6-100	Gradiente linear
22 – 40	0	100	Isocrática

Solução de referência de heparina sódica bovina: solubilizar heparina de mucosa intestinal bovina na concentração de 4,0 mg/mL na fase móvel A no momento de realizar o ensaio (**Figura 2C**).

Solução de adequação do sistema: solubilizar sulfato de dermatam SQR e condroitim sulfato supersulfatado SQR na concentração de 0,6 mg/mL e 0,4 mg/mL, respectivamente na *Solução de referência de heparina sódica bovina* na concentração de escolha, no momento de realizar o ensaio (**Figuras 2B e 2C**).

Solução amostra: solubilizar a amostra-teste na concentração de 4,0 mg/mL na fase móvel A.

Procedimento: injetar 50 μ L de cada uma das três soluções citadas acima para determinação do perfil de eluição. O pico obtido no cromatograma com a *Solução amostra* deve ser semelhante em forma e tempo de retenção ao pico obtido com a *Solução de referência de heparina bovina* (**Figura 2A**). O tempo de retenção da heparina sódica bovina é cerca de 18 minutos.

Adequação do sistema: a retenção relativa com referência à heparina sódica bovina (tempo de retenção = cerca de 18 minutos) é de 0,9 para o dermatam sulfato e 1,2 para o condroitim sulfato supersulfatado. Na *Solução de adequação do sistema* a relação entre a altura do pico do dermatam sulfato e o vale (linha de base entre os picos de dermatam sulfato e heparina bovina) é de, no mínimo, 1,3. A heparina bovina, em contraste com a suína (ver monografia específica), elui na cromatografia líquida de troca iônica como um pico mais largo e menos resolvido em relação ao dermatam sulfato. Isso demanda atenção especial na análise para atender aos critérios de adequação do sistema.

Critérios de aceitação: não detectar a presença de condroitim sulfato supersulfatado e a quantidade de dermatam sulfato deve ser inferior a 4% dos glicosaminoglicanos totais. Não podem existir outros picos além do pico referente à heparina e ao dermatam sulfato.

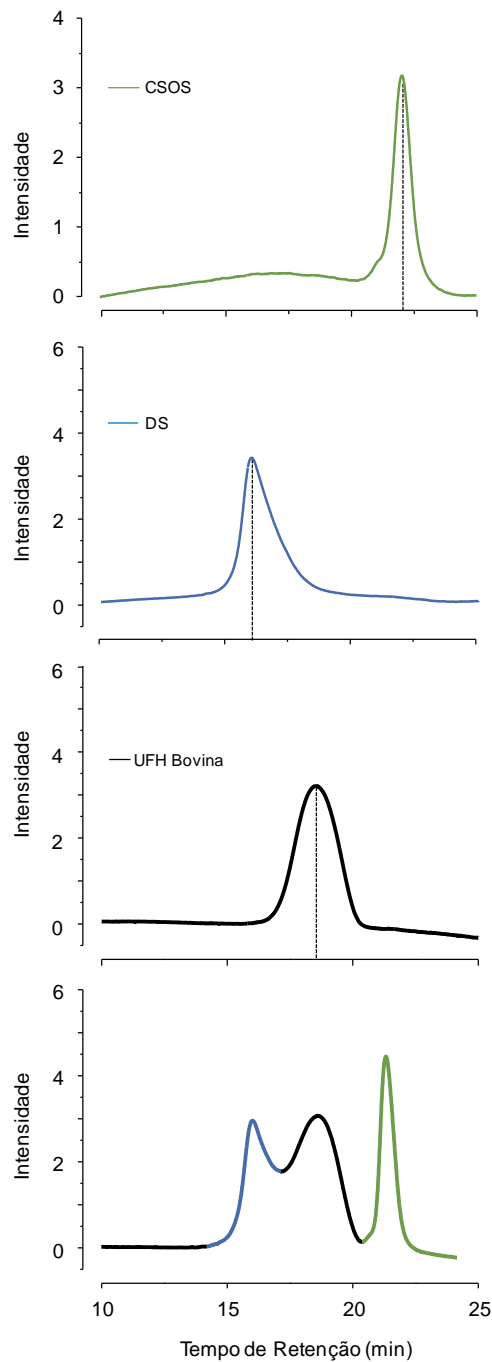


Figura 2 – Perfil de eluição da heparina sódica bovina na cromatografia líquida em coluna de troca iônica

Perfil de eluição do condroitim sulfato supersulfatado, dermatam sulfato e heparina bovina em cromatografia de troca iônica. Foram aplicadas 20 μg de CSOS (A), 30 μg de DS (B), 200 μg de heparina bovina (C) e uma mistura contendo as mesmas quantidades de cada polissacarídeo (D). Os tempos de retenção são iguais para as amostras analisadas separadamente ou misturadas.

CARACTERÍSTICAS

Características físicas. Pó branco ou quase branco, higroscópico.

Solubilidade. Solúvel em água.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 5,0 a 8,0. Determinar em solução aquosa a 1% (p/v).

Proteínas.

A. Adicionar cinco gotas de ácido tricloroacético a 20% (p/v) em 1 mL de solução aquosa da amostra a 1% (p/v). Não deve haver formação de precipitado ou turbidez.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria no ultravioleta, visível, e infravermelho (5.2.14)*.

Solução A: misturar dois volumes de hidróxido de sódio 1% com dois volumes de carbonato de sódio 5% e diluir para cinco volumes com água.

Solução B: misturar dois volumes de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 1,25% com dois volumes de tartarato de sódio ($\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 2,98% e diluir para cinco volumes com água.

Solução C: misturar um volume da *Solução B* com 50 volumes da *Solução A*.

Solução D: diluir adequadamente o reagente fosfomolibdotúngstico em água de modo que as soluções amostra e padrão tenham o valor de pH $10,25 \pm 0,25$ após adição das *Soluções C e D*.

Solução amostra: preparar solução da amostra de concentração de 5 mg/mL em água.

Solução referência: preparar solução de albumina bovina R (cerca de 96% de proteína) de concentração de 100 mg/mL em água. Fazer diluições com água de maneira a obter no mínimo cinco soluções referência tendo concentrações de proteína distribuídas uniformemente na faixa de 5 µg/mL a 100 µg/mL.

Procedimento: adicionar 5 mL da *Solução C* para cada 1 mL das *Soluções referências, Solução amostra* e branco (água), respectivamente. Deixar em repouso por 10 min. Adicionar 0,5 mL da *Solução D*, misturar e deixar em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos. Medir as absorvâncias das soluções a 750 nm, utilizando a solução branco para ajuste do zero.

Curva de calibração: a relação da absorvância e concentração de proteína não é linear, contudo, se a faixa de concentração utilizada para traçar a curva padrão for suficientemente pequena, em último caso se aproximará da linearidade. Construir uma curva padrão, plotando as absorvâncias das soluções referência contra suas concentrações, utilizando regressão linear, traçar uma reta linear de melhor ajuste aos pontos plotados. Determinar a concentração de proteína na solução amostra, através de sua absorvância e da curva padrão. No máximo 0,5% em relação à substância dessecada.

Impurezas nucleotídicas. Dissolver 40 mg em 10 mL de água. A absorvância é medida a 260 nm e o resultado não deve ser superior a 0,15.

Nitrogênio (5.3.3.2). Utilizar o *Método I, macrodeterminação*. No mínimo, 1,5% e, no máximo, 2,5% de nitrogênio, calculado em relação à substância dessecada.

Sódio. Entre 10,5% a 13,5% de sódio determinado conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção atômica (5.2.13.1)*.

Metais pesados (5.3.2.3). Utilizar o *Método I*. No máximo, 0,003% (30 ppm).

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em estufa a vácuo a 60 °C por três horas. No máximo, 8%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo, 0,03 UE/UI de heparina sódica bovina.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Método I

Atividade antifator IIa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4: dissolver quantidades de tris (hidroximetil) aminometano para obter concentração de 20 mM, cloreto de sódio para 150 mM em água destilada contendo polietilenoglicol 8000 a 0,1%. Se necessário, ajustar o pH para 7,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução de antitrombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina humana conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar. Diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução 0,02 UI/mL (equivalente a 40 nM) de antitrombina humana.

Solução de fator IIa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de modo a obter solução a 2,0 UI/mL (equivalente a 20 nM) de fator IIa humano.

Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano: dissolver quantidade de dicloridrato de H-D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida (H-D-Phe-Pip-Arg-pNA.2HCl) em água destilada estéril obtendo solução 2,0 mM. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 mM. Proceder ao abrigo de luz direta.

Solução de parada: preparar uma solução a 50% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: para os ensaios de doseamento utilizar heparina (SQR), não importando seu tecido de origem. Reconstituir o conteúdo da ampola de heparina SQR conforme recomendado pelo fabricante e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, de forma a obter pelo menos dez soluções com concentração variando entre 0,1 e 0,0001 UI/mL de atividade anti-IIa.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da *Solução padrão*.

Procedimento: dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição “endpoint”*.

Medição cinética: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. Executar o teste em microplacas e realizar a leitura espectrofotométrica a 405 nm em um leitor de microplacas a 37 °C. O ensaio deve ser realizado com cada solução de heparina SQR e *Solução amostra* em duplicata. Em cada poço da microplaca, adicionar 40 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* ou da solução amostra, 25 µL da *Solução de antitrombina* e 10 µL da *Solução de fator IIa humano*. Após dois minutos de incubação a 37 °C, adicionar 25 µL da *Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano*. Registrar a absorvância medida em 405 nm contra o branco durante 5 minutos. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina, utilizando 40 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*.

Medição “endpoint”: proceder como descrito na *Medição cinética*. Após a adição da *Solução de substrato cromogênico para fator IIa humano*, esperar quatro minutos e parar a reação com a adição de 50 µL de *Solução de parada*.

Os modelos estatísticos para análise da relação entre inclinação das retas ou sobre paralelismo podem ser usados dependendo do melhor modelo que descreva a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, calcular a regressão da absorvância ou mudança de absorvância/minuto contra as concentrações em logaritmo das soluções de amostra e das soluções padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina sódica bovina em UI/mg, de base seca.

Relação entre Inclinação das Retas: para cada série, calcular a regressão da absorvância em logaritmo ou o logaritmo das alterações na absorção/minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência da heparina sódica bovina em UI/mg, de base seca.

Crterios de aceitação: a potência das heparinas sódicas bovinas deve apresentar, no mínimo, 100 UI da atividade antifator IIa por mg.

Atividade antifator Xa

Proceder conforme descrito em *Atividade antifator IIa*, com exceção da *Solução de fator IIa humano* que deve ser trocada por *Solução de fator Xa humano* e da *Solução de substrato cromogênico* dicloridrato de H-D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida (H-D-Phe-Pip-Arg-pNA.2HCl) que deve ser trocada pela *Solução de substrato cromogênico* dicloridrato de N- α -benziloxicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-4-nitroanilida (N- α -Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA.2HCl. O tampão a ser utilizado nesse ensaio é *tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4*, porém com adição de cloreto de cálcio 10 mM. Preparar a *Solução de fator Xa humano* e a *Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano* como descrito a seguir.

Solução de fator Xa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* com adição de cloreto de cálcio, de modo a obter solução a 1,0 UI/mL (equivalente a 20 nM).

Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano: dissolver quantidade de dicloridrato de N- α -benziloxycarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-4-nitroanilida (N- α -Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA.2HCl) em água destilada estéril obtendo solução 2,0 mM. Antes do uso, diluir em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 7,4* de modo a obter a solução 0,4 mM. Proceder ao abrigo de luz direta.

Proceder com as análises estatísticas e cálculos indicados em *Atividade antifator IIa*.

Critérios de aceitação: a potência da heparina bovina sódica deve apresentar, no mínimo, 100 UI da atividade antifator IIa por mg. A razão da atividade antifator Xa/antifator IIa deve ser, no mínimo, 0,9, e, no máximo, 1,1.

B. Método II

Atividade antifator IIa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4: dissolver 6,10 g de tris (hidroximetil) aminometano, 10,20 g de cloreto de sódio, 2,80 g edetato de sódio e, se necessário, 0 a 10,0 g de polietilenoglicol 6000 e/ou 2,0 g de albumina sérica bovina ou humana em 800 mL de água destilada. Ajustar o pH para 8,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio e completar com água para 1000 mL.

Solução de antitrombina: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar e diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de antitrombina a 5,0 UI/mL. Diluir com o mesmo tampão para se obter uma concentração de 0,125 UI/mL.

Solução de trombina humana: reconstituir o conteúdo da ampola de trombina humana (fator IIa) em água destilada para uma concentração de 20 UI/mL e diluir em *Tampão tris(hidroximetil)aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de trombina a 5,0 UI/mL.

Solução de substrato cromogênico: diluir um substrato cromogênico de trombina para teste amidolítico em água para que se obtenha 1,25 mM.

Solução de parada: preparar uma solução a 20% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: reconstituir o conteúdo da ampola de heparina sódica padrão de referência primário ou secundário e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de forma a obter pelo menos quatro soluções com concentração variando entre 0,005 e 0,03 UI/mL.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da solução padrão.

Procedimento: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. O ensaio deve ser realizado com cada solução de heparina e solução amostra em duplicata. Os tubos devem ser identificados de acordo com o número de replicatas a serem testadas. Distribuir os brancos nas colunas de forma que representem o comportamento dos reagentes durante o ensaio. O branco é o teste realizado na ausência da adição de heparina, utilizando 50-100 μ L de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*.

Todas as soluções de reagentes, padrão e amostra em teste devem ser pré-aquecidas a 37 °C por 15 minutos antes de serem adicionadas nos tubos. Transferir para cada um dos tubos plásticos, separadamente, um volume fixo (por exemplo, 50-100 µL) de cada uma das diferentes diluições de *Solução padrão*, ou *Solução amostra* ou *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*. Adicionar em cada um dos tubos um volume dobrado da *Solução de antitrombina* (100-200 µl). Homogeneizar todos os tubos, suavemente, sem produzir bolhas, e incubar a 37 °C por, no mínimo, um minuto. Adicionar em cada tubo 25-50 µL da *Solução de trombina humana* e incubar a 37 °C por, no mínimo, um minuto. Adicionar 50-100 µL da *Solução de substrato cromogênico*, homogeneizar.

Dois diferentes tipos de medições podem ser realizados, a *Medição cinética* e a *Medição “endpoint”*.

Medição “endpoint”: parar a reação após um minuto com 50-100 µL de solução de parada. Registrar a absorbância de cada solução a 405 nm. O desvio padrão relativo entre as leituras obtidas com o branco deve ser de menos do que 10%.

Medição cinética: registrar a mudança na absorbância para cada solução durante um minuto, medida em 405 nm. Expressar como mudança na absorção por minuto ($\Delta OD/min$) das soluções e dos brancos, os quais devem apresentar valores superiores devido à ausência de heparina. O desvio padrão relativo entre as leituras obtidas com o branco deve ser de menos do que 10%.

Cálculos: os modelos estatísticos para análise da relação ente inclinação das retas ou sobre paralelismo podem ser usados dependendo do modelo que descreva melhor a correlação entre a concentração e a resposta.

Ensaio sobre paralelismo: para cada série, determinar a regressão da absorbância ou mudança de absorbância/minuto contra o logaritmo das concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de linhas paralelas. Expressar a potência da heparina sódica bovina em UI/mg de base seca.

Relação entre inclinação das retas: para cada série, determinar a regressão do logaritmo da absorbância ou o logaritmo das alterações na absorção/minuto contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções de padrões e calcular a potência da amostra utilizando métodos estatísticos para ensaios de relação entre inclinação das retas. Expressar a potência da heparina bovina sódica em UI/mg, de base seca.

Crêterios de aceitação: a potência da heparina sódica bovina deve apresentar, no mínimo, 100 UI da atividade antifator IIa por mg.

Atividade antifator Xa

Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4: dissolver quantidades de tris (hidroximetil) aminometano, ácido edético ou edetato de sódio, e cloreto de sódio em água destilada contendo polietilenoglicol 6000 a 0,1% para se obter concentrações de 0,050 M; 0,075 M e 0,175 M, respectivamente. Se necessário, ajustar o pH para 8,4 com solução diluída de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

Solução de antitrombina: reconstituir o conteúdo da ampola de antitrombina conforme recomendado pelo fabricante. Homogeneizar e diluir com *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a obter uma solução de antitrombina a 1,0 UI/mL.

Solução de fator Xa humano: reconstituir o conteúdo do frasco conforme recomendado pelo fabricante. Diluir a solução obtida em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de modo a

obter uma solução que resulte em 0,65 a 1,25 de absorvância a 405 nm quando testada como descrito abaixo, substituindo os 30 µL de solução de amostra por 30 µL de solução tampão pH 8,4.

Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano: diluir em água um substrato cromogênico para teste amidolítico, específico para o fator Xa, para que se obtenha uma concentração de 1 mM.

Solução de parada: preparar uma solução a 20% (v/v) de ácido acético em água.

Solução padrão: reconstituir o conteúdo da ampola de heparina sódica padrão de referência primário ou secundário e misturar levemente até completa dissolução. A partir da solução reconstituída, preparar diluições em solução *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4*, de forma a obter pelo menos cinco soluções com concentração variando entre 0,03 e 0,375 UI/mL de atividade antifator Xa.

Solução amostra: dissolver quantidade da amostra em *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4* de modo a obter soluções com atividades aproximadamente iguais às da solução padrão.

Procedimento: os volumes descritos podem ser adaptados para realização do ensaio em tubos ou microplacas, mantendo as proporções entre as preparações de padrão, amostra em teste e reagentes. Transferir 120 µL de *Tampão tris (hidroximetil) aminometano pH 8,4* para tubos plásticos mantidos a 37 °C. Em cada tubo, separadamente, adicionar 30 µL das diferentes diluições da *Solução padrão* ou da *Solução amostra*. Adicionar em cada tubo 150 µL da *Solução de antitrombina* pré-aquecida a 37 °C por 15 minutos, homogeneizar e incubar por dois minutos. Adicionar 300 µL da *Solução de fator Xa humano* pré-aquecida a 37 °C por 15 minutos, homogeneizar e incubar por dois minutos. Adicionar 300 µL da *Solução de substrato cromogênico para fator Xa humano* pré-aquecida a 37 °C por 15 minutos, homogeneizar e, após incubar por dois minutos, adicionar em cada tubo 150 µL da *Solução de parada* e misturar. Para zerar o espectrofotômetro, preparar um branco, adicionando os reagentes em ordem inversa, a partir da *Solução de parada* até a adição final de 150 µL do *Tampão tris (hidroximetil) nometano pH 8,4*, omitindo a *Solução padrão* e *Solução amostra*. Registrar a absorvância medida em 405 nm contra o branco.

Cálculos: determinar os valores do logaritmo da absorvância contra as concentrações das soluções de amostra e das soluções padrões. Calcular a atividade da amostra usando os métodos estatísticos para o ensaio de relação entre inclinação das retas. Calcular a atividade antifator Xa segundo a equação:

$$P = (S_A/S_P)$$

Em que:

P = potência da heparina sódica bovina em UI/mg de base seca;

S_A = inclinação da reta para a *Solução amostra*;

S_P = inclinação da reta para a *Solução padrão*;

Expressar a atividade antifator Xa da heparina sódica bovina em UI/mg, de base seca.

Crítérios de aceitação: calcular a relação da atividade do antifator Xa contra a potência do antifator IIa (antifator Xa / antifator IIa), que deve estar compreendida entre 0,9 e 1,1.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anticoagulante.

VACINA ADSORVIDA DIFTERIA, TÉTANO, PERTUSSIS, POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA) E *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* b (CONJUGADA) Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis, poliomyelitidis typus I, II, III adsorbatum et haemophili stirpe b conjugatum

A vacina adsorvida difteria, tétano, pertussis, poliomielite 1, 2 e 3 (inativada) e *Haemophilus influenzae* b (conjugada) é uma vacina combinada composta de anatoxinas diftérica e tetânica, suspensão de células inteiras mortas de *Bordetella pertussis*, cepas de poliovírus humano tipos 1, 2 e 3 cultivados em células e inativadas por um método adequado e poliribosil-ribitol fosfato (PRP) purificado de *Haemophilus influenzae* b covalentemente ligado a uma proteína carreadora; diluídos em solução salina tamponada e adsorvidos pelo hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, podendo conter um conservante. O produto pode ser apresentado com o componente *Haemophilus influenzae* b em um frasco-ampola separado, o qual é misturado aos outros componentes da vacina imediatamente antes do uso.

Componente diftérico: a anatoxina diftérica purificada cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico: a anatoxina tetânica purificada cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Toxóide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis: a vacina pertussis cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*.

Componente poliomielite: a vacina poliomielite cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada)*.

Componente polissacarídeo: cumpre as especificações de produção e controles descritos na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*.

Os ensaios realizados em cada um dos componentes devem manter consistência em um número adequado de lotes da vacina combinada reconstituída antes do uso. Para controles de rotina subsequentes, os testes realizados nesses componentes devem ser desenvolvidos sem a mistura com o componente *Haemophilus influenzae* b.

O método de produção é validado para “demonstrar” que o produto deve cumprir com o teste de toxicidade inespecífica estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

Nos ensaios de potência na vacina combinada, podem ser utilizadas vacinas de referência monocomponentes. Caso isso não seja possível devido à interação entre os componentes da vacina combinada, ou diferença na composição entre a vacina de referência monocomponente e a vacina sob

teste; um lote de vacina combinada que tenha mostrado efetividade em estudo clínico ou então um lote representativo é usado como vacina de referência. Na produção de um lote representativo é necessário seguir rigorosamente o processo de produção utilizado para o lote testado em estudo clínico. A vacina de referência pode ser estabelecida por um método adequado que não interfere no procedimento do ensaio.

As vacinas produto acabado a granel são preparadas separadamente, sendo uma delas pela adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica, células inteiras mortas de *B. pertussis* e poliomielite, e a outra com o componente *Haemophilus influenzae b*. O produto também pode ser formulado pela adsorção, em compostos de alumínio, de quantidades determinadas de anatoxinas diftérica e tetânica, células inteiras mortas de *B. pertussis*, PRP conjugado e poliomielite. Um preservativo antimicrobiano adequado pode ser adicionado no produto. Antes do envase, amostras do produto são submetidas aos controles de esterilidade, pH, toxicidade específica para pertussis, formaldeído residual, preservativo antimicrobiano, alumínio, polissacarídeo residual e determinação de atividade imunogênica para os componentes diftérico, tetânico e pertussis.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Dissolver a amostra da vacina adsorvida com citrato de sódio a pH 9,0 para se obter solução a 10% (p/v). Manter a 37 °C por aproximadamente 16 horas e centrifugar. Utilizar o líquido sobrenadante para identificar cada um dos componentes, diftérico ou tetânico. Suspende o precipitado para identificar o componente pertussis. Outros métodos adequados podem ser utilizados para separação do adjuvante.

Componente diftérico. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*.

Componente tetânico. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Toxóide tetânico adsorvido*.

Componente pertussis. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*.

Componente poliomielite. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada)*.

Componente *Haemophilus influenzae b*. Proceder conforme descrito em *Identificação* na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar o pH na amostra da vacina líquida contendo todos os antígenos ou, no caso do componente haemophilus liofilizado, o pH deve ser determinado após a reconstituição com o diluente adequado. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* das monografias de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*, *Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada)* e *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* das monografias de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*, *Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada)* e *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*.

DOSEAMENTO

Componente diftérico

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Vacina adsorvida difteria e tétano infantil*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente tetânico

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Toxóide tetânico adsorvido*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente pertussis

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Vacina adsorvida difteria, tétano e pertussis*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Componente poliomielite

Proceder conforme descrito em *Doseamento* na monografia de *Vacina poliomielite 1, 2 e 3 (inativada)*.

Componente Haemophilus influenzae b

Proceder conforme descrito em *Concentração de PRP* na monografia de *Vacina Haemophilus influenzae b (conjugada)*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA INFLUENZA (ANTÍGENO DE SUPERFÍCIE, INATIVADA) **Vaccinum influenzae inactivatum ex corticis antigeniis praeparatum**

A vacina influenza (antígeno de superfície, inativada) é uma suspensão de antígenos do vírus da gripe composta por diferentes cepas do vírus *influenza*, fracionado e purificado, cuja composição é

atualizada a cada ano. É apresentada como suspensão aquosa homogênea e levemente opalescente se estiver adicionada de um adjuvante.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) avalia mundialmente as evidências epidemiológicas da influenza e recomenda as cepas que devem compor a vacina.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente primário, do qual se origina o lote-semente secundário ou de trabalho por meio de passagens em ovos embrionados de galinha SPF (livre de micro-organismos contaminantes) ou em células suscetíveis. O lote de trabalho deve ser avaliado quanto à esterilidade e micoplasmas. Além disso, a cepa viral tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano.

A replicação do vírus pode ser realizada por inoculação na cavidade alantoide de ovos embrionados de galinha, livre de patógenos específicos, ou em cultura de células suscetíveis, provenientes de uma criação reconhecidamente sadia. Se a produção da vacina ocorrer em ovos embrionados, 2% e no mínimo 20 ovos são separados para controle. Ao final da produção da vacina, esses ovos não-infectados com a cepa vacinal têm que demonstrar ausência de patógenos específicos para aves.

O líquido alantoide é recolhido dos ovos após um período de incubação a uma temperatura que favoreça a replicação de cada cepa viral. As suspensões de cada tipo de vírus são coletadas e processadas separadamente. Em seguida, elas são tratadas por um processo de reconhecida eficácia que permita inativar o vírus sem alterar sua imunogenicidade.

As partículas virais são purificadas por centrifugação ou outro processo estabelecido e fragmentadas em subunidades por meio de procedimentos aprovados. Posteriormente, devem ser submetidas a uma purificação complementar e a suspensão monovalente resultante pode conter um agente antimicrobiano adequado.

As suspensões monovalentes são submetidas aos controles requeridos antes de ser preparado o produto a granel.

Inativação viral. Proceder conforme descrito em *Inativação viral*, em *Ensaio de segurança biológica*.

Antígeno hemaglutinina. A determinação do teor de hemaglutinina é baseada na reação *in vitro* de antígeno-anticorpo por *Imunodifusão radial simples* (5.6).

Antígeno neuraminidase. Detectar o tipo de antígeno neuraminidase por métodos enzimáticos ou imunológicos.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Agentes de fragmentação e purificação. Realizar determinação da concentração residual dos agentes de fragmentação e purificação utilizados, por meio de método adequado e validado. O limite máximo deve ser aprovado pela autoridade regulatória nacional no registro do produto.

Pureza. Utilizar *Eletroforese em gel de poliacrilamida*, conforme descrito em *Eletroforese* (5.2.22), ou outro método aprovado. Devem ser detectados predominantemente antígenos de hemaglutinina e neuraminidase.

Quantidades estabelecidas dos produtos monovalentes são misturadas de modo a originar o produto acabado a granel, que só poderá ser envasado quando aprovado nos testes de controle de qualidade.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia *Vacinas para uso humano*.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Imunodifusão radial simples (5.6)* ou em outro *Método imunológico (5.6)*, utilizando soros específicos dos componentes virais.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Cumpre o teste. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proteína total (5.3.3.2). Cumpre o teste. No máximo 40 µg por cepa viral e 120 µg por dose humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia *Vacinas para uso humano*. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Agente de inativação. Realizar determinação da concentração residual do agente de inativação viral por meio de método adequado e validado. Se forem utilizadas soluções de formaldeído ou betapropiolactona, os limites máximos devem ser de, respectivamente, 200 ppm e 0,1% (v/v). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Adjuvante. Determinar o teor da substância utilizada como adjuvante por método validado e aprovado pela autoridade regulatória nacional. A concentração deve estar na faixa que demonstrou ser efetiva em estudos clínicos. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Cumpre o teste. No máximo 100 UE por dose humana.

Ovoalbumina. Determinar o teor de ovoalbumina por *Método imunológico (5.6)* adequado, utilizando como referência uma preparação padrão de ovoalbumina. No máximo 1µg por dose humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes dos envase.

Inativação viral. Inocular 0,2 mL da amostra na cavidade alantoide de cada um de, pelo menos, 10 ovos embrionados de galinha. Após incubação à temperatura 33-37 °C por três dias devem sobreviver pelo menos 80% dos embriões. Coletar de cada ovo contendo embrião sobrevivente cerca de 1,0 mL de líquido alantoide e misturá-los. Inocular 0,2 mL da mistura em cada um de 10 ovos embrionados e incubar a 33-37 °C por três dias. Coletar cerca de 1 mL do líquido alantoide de cada ovo e realizar

individualmente um teste de hemaglutinação para detectar hemaglutininas decorrentes de crescimento viral. Não deve haver reação positiva no líquido alantoide em qualquer uma das séries de diluição.

DOSEAMENTO

Conteúdo de hemaglutinina

A determinação do teor de hemaglutinina é baseada na reação *in vitro* de antígeno-anticorpo por *Imunodifusão radial simples (5.6)*.

Preparar um gel de ágar a 1% (p/v) contendo soro anti-hemaglutinina específico para a cepa em teste e distribuir 27 mL em uma placa de vidro ou em filme plástico com superfície hidrofílica de 12 cm x 12 cm. Após pelo menos 2 horas à temperatura de 2 °C a 8 °C em câmara úmida, perfurar no gel 49 cavidades equidistantes de 4 mm de diâmetro.

Tratar a amostra em teste e a hemaglutinina de referência com detergente zwitteriônico, sob agitação, por 30 minutos. Preparar uma série de três diluições, em triplicata, da hemaglutinina de referência e da amostra em teste. Preencher aleatoriamente os orifícios com 20 µL das soluções de antígeno e da amostra em teste. Incubar em câmara úmida à temperatura de 20 °C a 25 °C por 16 a 20 horas, sobre uma superfície perfeitamente nivelada. Lavar com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) e secar as placas. Proceder à coloração com azul de Coomassie a 0,15 % (p/v) ou com outro corante adequado. Medir os diâmetros perpendiculares dos halos de precipitação para cada um dos orifícios com o auxílio de lupa graduada ou outro método adequado. Calcular o teor de hemaglutinina pela comparação entre as curvas do diâmetro médio para cada diluição da amostra em teste e do antígeno de referência, utilizando método de regressão múltipla ou outro método estatístico adequado. No mínimo, 15 µg.

O teste será considerado válido se o intervalo de confiança ($P = 0,95$) estiver compreendido entre 80 e 125% da concentração de hemaglutinina estimada para cada cepa. O limite inferior do intervalo de confiança ($P = 0,95$) é no mínimo 80% da concentração nominal declarada para cada cepa.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpra o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA INFLUENZA (FRAGMENTADA, INATIVADA) **Vaccinum influenzae inactivatum ex virorum fragmentis praeparatum**

A vacina influenza (fragmentada, inativada) é uma suspensão de antígenos do vírus da gripe composta por diferentes cepas do vírus *influenza*, fracionado e purificado, cuja composição é atualizada a cada ano. É apresentada como suspensão aquosa homogênea e levemente opalescente se estiver adicionada de um adjuvante.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) avalia mundialmente as evidências epidemiológicas da influenza e recomenda as cepas que devem compor a vacina.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente primário, do qual se origina o lote-semente secundário ou de trabalho por meio de passagens em ovos embrionados de galinha SPF (livre de micro-organismos contaminantes) ou em células suscetíveis. O lote de trabalho deve ser avaliado quanto à esterilidade e micoplasmas. Além disso, a cepa viral tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano.

A replicação do vírus pode ser realizada por inoculação na cavidade alantoide de ovos embrionados de galinha, livre de patógenos específicos, ou em cultura de células suscetíveis, provenientes de uma criação reconhecidamente sadia. Se a produção da vacina ocorrer em ovos embrionados, 2% e não menos que 20 ovos são separados para controle. Ao final da produção da vacina, estes ovos não-infectados com a cepa vacinal têm que demonstrar ausência de patógenos específicos para aves.

O líquido alantoide é recolhido dos ovos após um período de incubação a uma temperatura que favoreça a replicação de cada cepa viral. As suspensões de cada tipo de vírus são recolhidas e processadas separadamente. Em seguida elas são tratadas por um processo de reconhecida eficácia que permita inativar o vírus sem alterar sua imunogenicidade. O vírus é purificado por centrifugação ou por outro processo estabelecido e, posteriormente, fragmentado por meio de agentes tensoativos adequados. As partículas fragmentadas são adicionadas em suspensão que pode conter um agente antimicrobiano adequado.

As suspensões monovalentes são submetidas aos controles requeridos antes de ser preparado o produto a granel.

Inativação viral. Proceder conforme descrito em *Inativação viral em Testes de segurança biológica*.

Antígeno hemaglutinina. A determinação do teor de hemaglutinina é baseada na reação *in vitro* de antígeno-anticorpo por *Imunodifusão radial simples (5.6)*.

Antígeno neuraminidase. Detectar o tipo de antígeno neuraminidase por métodos enzimáticos ou imunológicos.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Agentes de fragmentação e purificação. Realizar determinação da concentração residual dos agentes de fragmentação e purificação utilizados, por meio de método adequado e validado. O limite máximo deve ser aprovado pela autoridade regulatória nacional no registro do produto.

Quantidades estabelecidas dos produtos monovalentes são misturadas de modo a originar o produto acabado a granel, que só poderá ser envasado quando aprovado nos testes de controle de qualidade.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

O produto é envasado em recipientes adequados, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e seus controles estão indicados na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

Proceder ao ensaio de *Imunodifusão radial simples* ou outro *Método imunológico* (5.6), utilizando soros específicos dos componentes virais.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Cumpre o teste. Os limites devem ser determinados pelo histórico no registro do produto.

Determinação de volume (5.1.2). Cumpre o teste.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proteína total (5.3.3.2). Cumpre o teste. No máximo 100 µg por cepa viral e 300 µg por dose humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Timerosal. Proceder conforme descrito na monografia *Vacinas para uso humano*. O limite deve ser determinado pelo histórico da eficácia no registro do produto e não pode ultrapassar 115% do valor declarado na composição da vacina. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Agente de inativação. Realizar determinação da concentração residual do agente de inativação viral por meio de método adequado e validado. Se forem utilizadas soluções de formaldeído ou betapropiolactona, os limites máximos devem ser de, respectivamente, 200 ppm e 0,1% (v/v). É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Adjuvante. Determinar o teor da substância utilizada como adjuvante por método validado e aprovado pela Autoridade Regulatória Nacional. A concentração deve estar na faixa que se demonstrou ser efetiva em estudos clínicos. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Cumpre o teste. No máximo 100 UE por dose humana.

Ovoalbumina. Determinar o teor de ovoalbumina por *Método imunológico* (5.6) adequado, utilizando como referência uma preparação padrão de ovoalbumina. No máximo 1µg por dose humana. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes dos envase.

Inativação viral. Inocular 0,2 mL da amostra na cavidade alantoide de cada um de, pelo menos, 10 ovos embrionados de galinha. Após incubação à temperatura 33-37 °C por 3 dias, pelo menos 80% dos embriões devem sobreviver. Coletar de cada ovo contendo embrião sobrevivente cerca de 1,0 mL de líquido alantoide e misturá-los. Inocular 0,2 mL da mistura em cada um de 10 ovos embrionados e incubar a 33-37 °C por 3 dias. Coletar cerca de 1 mL do líquido alantoide de cada ovo e realizar individualmente um teste de hemaglutinação para detectar hemaglutininas decorrentes de crescimento viral. Não deve haver reação positiva no líquido alantoide em qualquer uma das séries de diluição.

DOSEAMENTO

Conteúdo de hemaglutinina. A determinação do teor de hemaglutinina é baseada na reação *in vitro* de antígeno-anticorpo por *Imunodifusão radial simples* (5.6).

Preparar um gel de ágar a 1% (p/v) contendo soro anti-hemaglutinina específico para a cepa em teste e distribuir 27 mL em uma placa de vidro ou em filme plástico com superfície hidrofílica de 12 cm x 12 cm. Após pelo menos duas horas à temperatura de 2 °C a 8 °C em câmara úmida, perfurar no gel 49 cavidades equidistantes de 4 mm de diâmetro.

Tratar a amostra em teste e a hemaglutinina de referência com detergente zwitteriônico, sob agitação, por 30 minutos. Preparar uma série de três diluições, em triplicata, da hemaglutinina de referência e da amostra em teste. Preencher aleatoriamente os orifícios com 20 µL das soluções de antígeno e da amostra em teste. Incubar em câmara úmida à temperatura de 20 °C a 25 °C por 16 a 20 horas, sobre uma superfície perfeitamente nivelada. Lavar com solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v) e secar as placas. Proceder à coloração com azul de Coomassie a 0,15% (p/v) ou com outro corante adequado. Medir os diâmetros perpendiculares dos halos de precipitação para cada um dos orifícios com o auxílio de lupa graduada ou outro método adequado. Calcular o teor de hemaglutinina pela comparação entre as curvas do diâmetro médio para cada diluição da amostra em teste e do antígeno de referência, utilizando método de regressão múltipla ou outro método estatístico adequado. No mínimo 15 µg.

O teste será considerado válido se o intervalo de confiança ($P = 0,95$) estiver compreendido entre 80 e 125% da concentração de hemaglutinina estimada para cada cepa. O limite inferior do intervalo de confiança ($P = 0,95$) é no mínimo 80% da concentração nominal declarada para cada cepa.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpra o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA SARAMPO, CAXUMBA, RUBÉOLA E VARICELA (ATENUADA)

Vaccinum parotiditis et rubellae et morbillorum et varicellae vivum

A vacina é constituída de mistura dos vírus vivos atenuados da caxumba, rubéola, sarampo e varicela. É apresentada sob a forma liofilizada e, após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea transparente, podendo surgir coloração devido à presença de indicador de pH.

Os componentes são produzidos conforme descrito nas monografias específicas.

As suspensões virais de cada componente são misturadas e o produto a granel é submetido ao controle de esterilidade.

O produto é envasado em recipientes adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Reconstituir a vacina com diluente apropriado e misturar com anticorpos específicos para os vírus da caxumba, rubéola, sarampo e varicela. Quando a vacina é misturada com quantidades de anticorpos

suficientes para neutralizar três componentes, o quarto componente deve apresentar ECP na cultura de células suscetíveis.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. O limite máximo deve garantir que o produto mantenha sua estabilidade, de acordo com o registro submetido à autoridade regulatória nacional.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

DOSEAMENTO

As linhagens celulares e antissoros específicos devem assegurar que a potência de cada vírus seja determinada sem interferência dos outros três componentes. Diluir pelo menos três frascos da vacina a ser analisada e uma amostra da vacina de referência em duplicata, em intervalos de, no máximo, $1,0 \log_{10}$ em meio de cultura adequado.

Proceder conforme descrito nas monografias de *Vacina sarampo, caxumba, rubéola (atenuada)* e *Vacina varicela (atenuada)*. Para a determinação ser considerada válida, é necessário que: (a) o intervalo de confiança ($P = 0,95$) da concentração estimada da vacina de referência para a duplicata combinada seja menor do que $\pm 0,3 \log_{10}$ CCID₅₀; (b) a potência da vacina de referência varie no máximo $0,5 \log_{10}$ CCID₅₀ para os vírus do sarampo, caxumba e rubéola e $0,5 \log_{10}$ UFP para o vírus da varicela, do seu título estabelecido.; (c) o número de CCID₅₀ seja decrescente em relação às diluições crescentes.

O ensaio deve ser repetido se o intervalo de confiança ($P = 0,95$) da concentração combinada da concentração viral da vacina for maior do que $0,3 \log_{10}$ CCID₅₀ (sarampo, caxumba, rubéola) e $0,3 \log_{10}$ UFP (varicela); os dados obtidos dos ensaios válidos somente podem ser combinados por métodos estatísticos adequados para calcular a concentração viral da amostra. O intervalo de confiança ($P = 0,95$) da concentração combinada deve ser no máximo $0,3 \log_{10}$ CCID₅₀ (sarampo, caxumba, rubéola) e $0,3 \log_{10}$ UFP (varicela). Outros métodos de ensaio podem ser utilizados, desde que justificados e aprovados pelas autoridades regulatórias nacionais. No entanto, caso a vacina seja dosada pelo método descrito acima, deve cumprir com os requisitos já estabelecidos.

A potência da vacina é, no mínimo, $10^{3,7}$ CCID₅₀/dose para o vírus da caxumba e $10^{3,0}$ CCID₅₀/dose para os vírus do sarampo e da rubéola. A concentração mínima do vírus da varicela deve ser aprovada pelas autoridades regulatórias, de acordo com os estudos de eficácia e segurança descritos no registro da vacina.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado para os componentes: sarampo; caxumba e rubéola em paralelo ao *Doseamento*. Incubar uma amostra da vacina a 37 °C por sete dias e analisar conforme método descrito para a potência do produto. A vacina pode perder no máximo $1 \log_{10}$ CCID₅₀/dose, em relação ao título determinado na amostra conservada em condições adequadas de temperatura, para cada tipo viral. Além disso, não pode ter título inferior ao estabelecido para aprovação da determinação da potência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpra o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

REVISÃO

SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE) Immunoserum bothropicum

O soro antibotrópico (pentavalente) é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com antígeno do gênero *Bothrops*, composto por venenos das serpentes *Bothrops jararaca*; *Bothrops jararacussu*; *Bothrops moojeni*; *Bothrops alternatus* e *Bothrops neuwiedi*. Cumpre as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém em cada mililitro imunoglobulinas suficientes para neutralizar 5 mg do veneno de referência de *B. jararaca*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno de *B. jararaca*.

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária - Dose Efetiva 50% (DE50) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *B. jararaca*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 °C. O veneno é padronizado pela determinação da Dose Letal 50% (DL50).

Determinação da DL50 do veneno: reconstituir a preparação liofilizada de veneno para determinada concentração peso por volume, com solução fisiológica 0,85% (p/v). Efetuar diluições em progressão geométrica com o mesmo diluente, utilizando fator de diluição constante, não superior a 1,5, e igualando os volumes finais. Inocular, por via intraperitoneal, um volume de 0,5 mL por camundongo de cada diluição em grupos de, no mínimo, 10 camundongos albinos suíços de 18 g a 22 g. Observar

os animais até 48 horas após a inoculação e registrar o número de mortos em cada diluição. Calcular a DL₅₀ utilizando método estatístico adequado. A faixa de resposta (porcentagem de mortes) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada, formando a curva de regressão que deve apresentar relação linear. Os limites de confiança não devem ser amplos, indicando melhor precisão do ensaio, quanto menores forem os seus limites. Expressar o resultado em microgramas de veneno por 0,5 mL.

Determinação da potência do soro: efetuar diluições progressivas da amostra em solução fisiológica 0,85% (p/v), utilizando fator de diluição constante, não superior a 1,5, de maneira que o volume final após a mistura com a dose desafio de veneno seja idêntico em todos os tubos de ensaio. Reconstituir e diluir o *Veneno de referência* com solução fisiológica 0,85% (p/v) e adicionar em cada tubo volume constante, de modo que cada dose a ser inoculada por animal contenha 5 DL₅₀. Homogeneizar e incubar a mistura a 37 °C por 60 minutos. Inocular, por via intraperitoneal, um volume de 0,5 mL por camundongo de cada mistura em grupos de, no mínimo, oito camundongos albinos suíços de 18 a 22 g. Observar os animais até 48 horas após a inoculação e registrar o número de vivos em cada mistura da amostra em teste. Calcular a Dose Efetiva 50% (DE₅₀) em microlitros, utilizando método estatístico adequado. A faixa de resposta produzida (porcentagem de sobrevivência) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada, formando a curva de regressão que deve apresentar relação linear. Os limites de confiança não devem ser amplos, indicando melhor precisão do ensaio, quanto menores forem os seus limites. Calcular a potência em miligramas por mililitro da amostra, segundo a expressão:

$$Potência \left(\frac{mg}{mL} \right) = \frac{T_v - 1}{DE_{50}} \times DL_{50} \text{ do veneno}$$

Em que

T_v = número de DL₅₀ utilizadas por camundongo na dose teste do veneno.

No mínimo 5 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIBOTRÓPICO (PENTAVALENTE) E ANTI LAQUÉTICO

Immunoserum bothropicum-laqueticum

O soro antibotrópico (pentavalente) e laquético é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com venenos de *Bothrops jararaca*; *Bothrops jararacussu*; *Bothrops moojeni*; *Bothrops alternatus*; *Bothrops neuwiedi* e *Lachesis muta*. Cumpre com as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém em cada mililitro imunoglobulinas suficientes para neutralizar 5 mg e 3 mg dos venenos de referência de *B. jararaca* e *L. muta*, respectivamente.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígenos venenos de *B. jararaca* e *L. muta*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Fração botrópica

Determinar a potência conforme descrito na monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente)*. No mínimo 5 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Fração laquética

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *L. muta*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 °C. O veneno é padronizado considerando a determinação da Dose Letal 50% (DL₅₀).

Determinação da DL₅₀ do veneno: proceder conforme descrito em *Determinação da DL₅₀ do veneno* na monografia de *Soro antibotrópico (pentavalente)*.

Determinação da potência do soro: proceder conforme descrito em *Determinação da potência do soro* na monografia de *Soro antitoxinotrópico (pentavalente)*.

No mínimo 3 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIBOTULÍNICO (TRIVALENTE) **Immunoserum botulinicum**

O soro antitoxinotrópico (trivalente) é uma solução que contém imunoglobulinas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados contra toxinas tipo A, tipo B e tipo E produzidas pelo *Clostridium botulinum*. Cumprir as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, no mínimo, 375 UI, 275 UI e 425 UI de antitoxina para cada um dos tipos A, B e E, respectivamente.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígenos as toxinas tipos A, B e E produzidas pelo *C. botulinum*.

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária para proteger os animais utilizados na prova contra os efeitos letais de uma dose teste de cada um dos

tipos de toxinas de referência. A dose do soro em teste é comparada com a dose da *Antitoxina botulínica de referência* necessária para conferir a mesma proteção.

Antitoxinas botulínicas de referência: os padrões internacionais de referência das antitoxinas dos tipos A, B ou E são distribuídos aos laboratórios de produção e controle em ampolas que contêm soro equino hiperimune liofilizado, que especificamente neutraliza a toxina botulínica do tipo a que se refere. A equivalência do padrão internacional em unidades internacionais é estabelecida periodicamente pela Organização Mundial da Saúde.

Determinação da dose teste de toxina (L+/10): proceder conforme descrito em *Determinação da dose teste de toxina (L+/10)* da monografia de *Soro antitetânico* ou extrapolando os valores para L+ ou L+/100. As misturas (toxina+antitoxina) são incubadas à temperatura ambiente ou a 22 ± 2 °C por 60 minutos.

Determinação da potência do soro: diluir a toxina referência para uma dose de L+/10, com solução de gelatina fosfatada (0,2% de gelatina dissolvida em tampão fosfato de sódio dibásico 0,05 M, pH 6,5 e autoclavada a 120 °C durante 15 minutos). A uma série de tubos de ensaio, distribuir um volume constante de toxina botulínica diluída. Adicionar volumes variáveis da amostra. Igualar os volumes para 5 mL com o mesmo diluente. Homogeneizar e incubar à temperatura ambiente ou a 22 ± 2 °C por 60 minutos. Inocular em cada camundongo albino suíço ou NIH de 18 a 22 g, por via intraperitoneal, um volume de 0,5 mL em grupos de, no mínimo, oito camundongos por mistura. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos. Nas mesmas condições descritas e paralelamente, realizar a prova com a *Antitoxina botulínica de referência*, com o objetivo de verificar-se a validade da prova e estabelecer correlação no cálculo do título. Determinar as doses efetivas 50% (DE₅₀) da amostra e da *Antitoxina botulínica de referência*, utilizando um método estatístico adequado. Para a determinação ser considerada válida é necessário que: (a) a faixa de resposta produzida (DE₅₀) esteja entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão que deve apresentar uma relação linear; (b) os limites de confiança ($P = 0,95$) devem estar entre 50% e 200% da potência calculada. Calcular a potência do soro em teste, segundo a expressão:

$$\text{Potência} \left(\frac{\text{UI}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{DE}_{50} \text{ da amostra testada}}{\text{DE}_{50} \text{ da antitoxina de referência}} \times \frac{\text{UI}}{\text{mL}} \text{ da antitoxina de referência}$$

No mínimo 375 UI/mL, 275 UI/mL e 425 UI/mL de antitoxina para cada um dos tipos A, B e E, respectivamente. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTICROTÁLICO

Immunoserum crotalicum

O soro anticrotálico é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com veneno de *Crotalus durissus*. Cumpre com as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar 1,5 mg de veneno de referência de *C. durissus terrificus*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno de *C. durissus terrificus*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *C. durissus terrificus*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 °C. O veneno é padronizado pela determinação da Dose Letal 50% (DL₅₀).

Determinação da DL₅₀ do veneno: proceder conforme descrito em *Determinação da DL₅₀ do veneno* da monografia de *Soro antiofídico (pentavalente)*.

Determinação da potência do soro: proceder conforme descrito em *Determinação da potência do soro* da monografia de *Soro antiofídico (pentavalente)*.

No mínimo 1,5 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpra o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIDIFTÉRICO **Immunoserum diphthericum**

O soro antidiftérico é uma solução que contém imunoglobulinas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados contra a toxina produzida pelo *Corynebacterium diphtheriae*. Cumpra as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, no mínimo, 1000 UI de antitoxina.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno a toxina do *C. diphtheriae*.

B. Atende aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária para proteger os animais utilizados na prova contra os efeitos letais de uma dose teste da *Toxina diftérica de referência*. A dose do soro em teste é comparada com a dose da *Antitoxina diftérica de referência* necessária para conferir a mesma proteção.

Antitoxina diftérica de referência: o padrão internacional de referência da antitoxina diftérica é distribuído aos laboratórios de produção e controle em ampolas que contêm soro equino hiperimune liofilizado, que especificamente neutraliza a toxina diftérica. O título nominal do padrão de referência secundário deve ser aferido, periodicamente, em unidades internacionais contra o padrão de referência internacional.

Toxina diftérica de referência: é preparada a partir de filtrados estéreis de sobrenadantes de cultivos líquidos de *C. diphtheriae*. O filtrado deve ser concentrado, purificado por métodos físicos ou químicos e liofilizado. Após a reconstituição da toxina, adicionar solução salina glicerinada e armazenar a -20 °C.

Determinação da dose teste de toxina (L+): diluir a *Antitoxina diftérica de referência* para 5 UI/mL, com solução fisiológica a 0,85% (p/v). Diluir a *Toxina diftérica de referência* para concentração conhecida, com solução fisiológica a 0,85% (p/v). Em uma série de tubos de ensaio, adicionar volumes variáveis de toxina e volume constante da *Antitoxina diftérica de referência* diluída. Igualar os volumes com solução fisiológica a 0,85% (p/v). Homogeneizar e incubar a 37 °C por 60 minutos. Inocular em cada cobaia de 250 g a 350 g, por via subcutânea, com volume que contenha 1 UI de *Antitoxina diftérica de referência* em grupos de, no mínimo, quatro cobaias por mistura. Observar os animais até 96 horas e registrar o número de mortos em cada diluição. O L+ (limite morte) ou dose teste da toxina é a menor quantidade de toxina, que, quando combinada com 1 UI de *Antitoxina diftérica de referência*, provoca a morte dos animais no período de observação estipulado.

Determinação da potência do soro: diluir a *Toxina diftérica de referência* com solução fisiológica a 0,85% (p/v) para uma dose de 10 L+. Em uma série de tubos de ensaio, distribuir volumes variáveis da amostra. Adicionar 1 mL da *Toxina diftérica de referência* diluída. Igualar os volumes para 10 mL com o mesmo diluente. Homogeneizar e incubar as misturas a 37 °C por 60 minutos. Inocular uma dose de 2 mL em cada uma das cobaias de 250 g a 350 g, por via subcutânea, em grupos de, no mínimo, quatro cobaias por mistura. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de mortos. Nas mesmas condições descritas e paralelamente, realizar a prova com a *Antitoxina diftérica de referência*, com o objetivo de verificar a validade da prova e estabelecer correlação no cálculo do título. Determinar as doses efetivas 50% (DE₅₀) da amostra e da *Antitoxina diftérica de referência*, utilizando um método estatístico adequado. Para a determinação ser considerada válida é necessário que: (a) a faixa de resposta produzida (DE₅₀) esteja entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão que deve apresentar uma relação linear; (b) os limites de confiança ($P = 0,95$) devem estar entre 50% e 200% da potência calculada. Calcular a potência do soro em teste, segundo a expressão:

$$\text{Potência} \left(\frac{\text{UI}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{DE}_{50} \text{ da amostra testada}}{\text{DE}_{50} \text{ da antitoxina de referência}} \times \frac{\text{UI}}{\text{mL}} \text{ da antitoxina de referência}$$

No mínimo 1000 UI/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Alternativamente, pode ser utilizado um método in vitro, como ELISA ou teste em célula VERO, desde que sejam validados contra o teste de soroneutralização descrito.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIELAPÍDICO (BIVALENTE)

Immunoserum elapidicum

O soro antielapídico (bivalente) é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com veneno de *Micrurus frontalis* e *Micrurus corallinus*. Cumpre as especificações e testes descritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar 1,5 mg do veneno de referência de *M. frontalis*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno de *M. frontalis*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *Micrurus frontalis*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 °C. O veneno é padronizado pela determinação da Dose Letal 50% (DL₅₀).

Determinação da DL₅₀ do veneno: proceder conforme descrito em *Determinação da DL₅₀ do veneno* da monografia de *Soro antitoxico (pentavalente)*.

Determinação da potência do soro: proceder conforme descrito em *Determinação da potência do soro* da monografia de *Soro antitoxico (pentavalente)*.

No mínimo 1,5 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpra o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTIESCORPIÔNICO **Immunoserum escorpionicum**

O soro antiescorpiônico é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com antígeno do gênero *Tityus serrulatus*. Cumpra as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar 1,0 mg do veneno de referência de *Tityus serrulatus*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno de *T. serrulatus*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger animais suscetíveis contra os efeitos letais de uma dose fixa do *Veneno de referência*.

Veneno de referência: mistura homogênea de venenos que representam a distribuição geográfica da espécie *Tityus serrulatus*. Deve ser liofilizado e mantido a -20 °C. O veneno é padronizado pela determinação da Dose Letal 50% (DL₅₀).

Determinação da DL₅₀ do veneno: proceder conforme descrito em *Determinação da DL₅₀ do veneno* da monografia de *Soro antiofídico (pentavalente)*.

Determinação da potência do soro: proceder conforme descrito em *Determinação da potência do soro* da monografia de *Soro antitoxínico (pentavalente)*.

No mínimo 1,0 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTILONÔMICO **Immunoserum lonomicum**

O soro antilonômico é uma solução que contém imunoglobulinas específicas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados com extrato de *Lonomia obliqua*. Cumprir as especificações e controles prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém, em cada mililitro, imunoglobulinas suficientes para neutralizar 0,35 mg de veneno de referência de *L. obliqua*.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno veneno do extrato das cerdas de *Lonomia obliqua*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária (Dose Efetiva 50%) para proteger os animais suscetíveis contra a incoagulabilidade sanguínea provocada por uma dose fixa do veneno de *L. obliqua*.

Veneno de referência: veneno extraído de *L. obliqua* por maceração das cerdas com solução salina tamponada. Após a centrifugação do extrato, o sobrenadante contendo o veneno é distribuído em frascos e deve ser mantido a -20 °C. O veneno é padronizado pela determinação da Dose de Incoagulabilidade 50% (DI₅₀).

Determinação da DI₅₀ do veneno: efetuar diluições do *Veneno de referência* com solução fisiológica a 0,85% (p/v), utilizando fator de diluição constante de 1:1 a 1:5, e igualando os volumes finais com o mesmo diluente. Inocular, por via intraperitoneal, 0,5 mL por camundongo, de cada diluição, em grupos de, no mínimo, seis camundongos BALB/c, machos, de 18 g a 22 g. Observar os animais por duas horas após a inoculação e coletar, com o auxílio de pipeta Pasteur, aproximadamente, 300 µL de sangue por punção do plexo retro-orbital. Transferir para tubo de ensaio e determinar o tempo de coagulação por observação visual. O tempo máximo de coagulação é de dois minutos. As amostras de sangue que não formam coágulo no intervalo de tempo estipulado são consideradas como incoaguláveis. Registrar o número de animais com ausência de coagulação sanguínea e o total de animais sangrados. Calcular a DI₅₀ utilizando método estatístico adequado. A faixa de resposta (porcentagem de incoaguláveis) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste, formando a curva de regressão em que deve existir relação linear. Os limites de confiança não devem ser amplos, indicando melhor precisão do ensaio, quanto menores forem os seus limites. Expressar o resultado em microgramas de veneno por 0,5 mL.

Determinação da potência do soro: efetuar diluições progressivas da amostra em solução fisiológica a 0,85% (p/v), utilizando fator de diluição constante de 1:1 a 1:5, de maneira que o volume final após a mistura com a dose desafio de 3 DI₅₀ do *Veneno de referência* seja idêntico em todos os tubos de ensaio. Homogeneizar e incubar a mistura a 37 °C por 60 minutos. Inocular, por via intraperitoneal, 0,5 mL por camundongo, de cada mistura, em grupos de pelo menos seis camundongos BALB/c, machos, de 18 g a 22 g. Observar os animais até duas horas após a inoculação e, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, coletar aproximadamente 300 µL de sangue por punção do complexo retro-orbital. Transferir para tubo de ensaio e determinar o tempo de coagulação por observação visual. As amostras de sangue que formam coágulo no intervalo de até dois minutos são consideradas como coaguláveis. Registrar o número de animais nos quais ocorre coagulação sanguínea e o total de animais sangrados. Calcular a Dose Efetiva 50% (DE₅₀) em microlitros, utilizando método estatístico adequado. A faixa de resposta (porcentagem de coaguláveis) deve estar entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste, formando a curva de regressão que deve apresentar relação linear. Os limites de confiança não devem ser amplos, indicando melhor precisão do ensaio, quanto menores forem seus limites. Calcular a potência, em miligramas por mililitro, segundo a expressão:

$$\text{Potência} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{T_v - 1}{DE_{50}} \times DI_{50} \text{ do veneno}$$

Em que

T_v = número de DI₅₀ utilizada por camundongo na dose teste do veneno.

O título da potência é expresso em miligramas de veneno neutralizados por mL da amostra. No mínimo 0,35 mg/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SORO ANTITETÂNICO

Immuno serum tetanicum ad usum humanum

O soro antitetânico é uma solução que contém imunoglobulinas purificadas, obtidas a partir de plasma de animais hiperimunizados contra a toxina produzida pelo *Clostridium tetani*. Cumprir as especificações e testes prescritos na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*. Contém em cada mililitro, no mínimo, 1000 UI de antitoxina.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito no teste **A.** de *Identificação* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*, utilizando como antígeno a toxina de *C. tetani*.

B. Satisfaz aos requisitos descritos em *Doseamento*.

CARACTERÍSTICAS

Proceder conforme descrito em *Características* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proceder conforme descrito em *Ensaio físico-químico* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Proceder conforme descrito em *Testes de segurança biológica* da monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

DOSEAMENTO

Com o ensaio de potência da amostra tem-se como objetivo determinar a dose neutralizante necessária para proteger os animais utilizados na prova contra os efeitos letais de uma dose teste da *Toxina tetânica de referência*. A dose do soro em teste é comparada com a dose da *Antitoxina tetânica de referência* necessária para conferir a mesma proteção.

Antitoxina tetânica de referência: o padrão de referência da antitoxina tetânica é uma preparação de soro equino hiperimune liofilizado, que especificamente neutraliza a toxina tetânica. O título nominal do padrão de referência secundário deve ser aferido, periodicamente, em unidades internacionais contra o padrão de referência internacional.

Toxina tetânica de referência: é preparada a partir de filtrados estéreis de sobrenadantes de cultivos líquidos de *C. tetani* incubados durante cinco a sete dias. O filtrado deve ser concentrado, purificado por métodos físicos ou químicos e liofilizado. Após a reconstituição, adicionar solução salina glicerinada e armazenar a -20 °C.

Determinação da dose teste de toxina (Lp/10): diluir a *Antitoxina tetânica de referência* para 1 UI/mL, com solução fisiológica a 0,85% (p/v). Diluir a toxina para uma determinada concentração, em solução fisiológica contendo peptona a 1% (p/v). Em uma série de tubos de ensaio, adicionar volumes variáveis de toxina e um volume constante da antitoxina de referência diluída. Igualar os volumes com o mesmo diluente da toxina. Homogeneizar e incubar a 37 °C por 60 minutos. Inocular em cada camundongo albino suíço de 17 g a 22 g, por via subcutânea, com volume que contenha 0,1 UI de *Antitoxina tetânica de referência* em grupos de, no mínimo, 10 camundongos por mistura. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de animais paráliticos por mistura. O *Lp/10* (limite paralisante por 10) ou dose teste da toxina é a menor quantidade de toxina que, quando combinada com 0,1 UI de *Antitoxina tetânica de referência*, provoca a paralisia dos animais no período de observação estipulado.

Determinação da potência do soro: diluir a *Toxina tetânica de referência* com solução fisiológica tamponada contendo peptona a 1% (p/v) para uma dose de 10 *Lp/10*. A uma série de tubos de ensaio, distribuir volumes variáveis da amostra. Adicionar 1 mL da *Toxina tetânica de referência* diluída e igualar os volumes para 2 mL com o mesmo diluente. Homogeneizar e incubar as misturas a 37 °C por 60 minutos. Inocular em cada camundongo albino suíço de 17 g a 22 g, por via subcutânea, um volume de 0,2 mL em grupos de, no mínimo, 10 camundongos por mistura. Observar os animais até 96 horas após a inoculação e registrar o número de animais paráliticos. Nas mesmas condições descritas e paralelamente, realizar a prova com a *Antitoxina tetânica de referência*, com o objetivo de verificar-se a validade da prova e estabelecer correlação no cálculo do título. Determinar as doses efetivas médias (DE_{50}) da amostra e da *Antitoxina tetânica de referência*, utilizando um método estatístico adequado. Para a determinação ser considerada válida é necessário que: (a) a faixa de resposta produzida (DE_{50}) esteja entre a maior e a menor diluição utilizada na amostra teste e padrão, formando a curva de regressão que deve apresentar uma relação linear; (b) os limites de confiança ($P = 0,95$) devem estar entre 50% e 200% da potência calculada. Calcular a potência do soro em teste, segundo a expressão:

$$\text{Potência} \left(\frac{\text{UI}}{\text{mL}} \right) = \frac{DE_{50} \text{ da amostra testada}}{DE_{50} \text{ da antitoxina de referência}} \times \frac{\text{UI}}{\text{mL}} \text{ da antitoxina de referência}$$

No mínimo 1000 UI/mL. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Alternativamente, pode ser utilizado um método *in vitro*, como ELISA ou ToBI (toxin-binding inhibition test), desde que sejam validados contra o teste de soroneutralização descrito.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpra o estabelecido na monografia de *Soros hiperimunes para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA BCG

Vaccinum BCG

A vacina BCG liofilizada é uma vacina viva obtida a partir do cultivo do Bacilo de Calmette e Guérin, cepa atenuada de *Mycobacterium bovis*, de inocuidade e eficácia reconhecidas, para conferir proteção ao homem contra a tuberculose. O liofilizado é massa bacilar dessecada, com consistência de pó, de cor esbranquiçada ou amarelo pálido, que reconstituída, é ligeiramente turva e de aspecto homogêneo.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente, podendo ser realizados no máximo oito subcultivos a partir da cepa original. A cepa selecionada deve conservar sua estabilidade e manter seu caráter não-patogênico tanto para o homem quanto para animais de experimentação. Essa vacina deve ser produzida por equipe em boas condições de saúde, que não trabalhe com agentes infecciosos e, em particular, com cepas virulentas de *Mycobacterium tuberculosis*.

O lote-semente de trabalho deve cumprir com os seguintes requisitos.

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste, exceto pela presença de micobactérias.

Identidade. Identificar as bactérias como *Mycobacterium bovis* BCG, utilizando-se técnicas microbiológicas e de biologia molecular, como amplificação de ácido nucléico.

Micobactérias virulentas. Cumpre o teste descrito para o produto final.

A bactéria é inoculada em meio de cultura apropriado, isento de substâncias que possam causar reações tóxicas e/ou alérgicas ao ser humano. Os cultivos e o meio de cultura de cada recipiente são examinados visualmente quanto ao aspecto, apresentando véu bacteriano na superfície e meio de cultura límpido. Os cultivos são transferidos para novo meio e, após crescimento, são testados quanto à esterilidade e avaliados visualmente quanto à transparência do meio e aspecto do véu bacteriano. Após a filtração do véu bacteriano, esse é ressuscitado em meio apropriado e submetido aos testes de respiração bacteriana, opacidade e esterilidade. A suspensão bacteriana é diluída para o número apropriado de doses e, antes de proceder ao envase, o produto é avaliado quanto ao número de unidades formadoras de colônias e esterilidade. O produto é envasado em ampolas ou frascos-ampola de vidro âmbar classe farmacêutica, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

IDENTIFICAÇÃO

Observar por microscopia esfregaço obtido após a reconstituição da vacina e corado pela técnica de Ziehl-Nielsen. São detectados somente bacilos álcool-ácido resistentes. Como complemento, observar a morfologia das colônias semeadas no meio de Lowenstein-Jensen, utilizado no *ensaio microbiológico* (unidades formadoras de colônias). As colônias são rugosas, predominantemente espalhadas e não-pigmentadas. Alternativamente, podem ser utilizadas técnicas de biologia molecular.

CARACTERÍSTICAS

pH (5.2.19). Determinar após a reconstituição da vacina com diluente apropriado. Os limites devem estar de acordo com o histórico do registro do produto.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 3%.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

Micobactérias virulentas. Reconstituir o conteúdo das ampolas com o diluente recomendado, de forma a se obter 50 doses humanas. Inocular volume de 1 mL em cada uma de seis cobaias, pesando de 250 g a 400 g, por via subcutânea, na região abdominal, do lado direito. Manter os animais em observação por 42 dias. Ao final do período, pesar, sacrificar e necropsiar os animais. Examinar o local da inoculação, os gânglios regionais, inguinais, axilares, mediastínicos, lombares, portal e demais órgãos, em particular os pulmões, fígado, baço e rins.

Nenhuma cobaia pode apresentar evidência de tuberculose progressiva e, pelo menos, 2/3 dos animais têm que sobreviver ao final do período de observação, com ganho de peso. Repetir o teste se mais que 1/3 dos animais morrerem ou perderem peso. O ensaio pode ser omitido no produto final se foi obtido resultado satisfatório no produto a granel.

Reatividade cutânea. Reconstituir uma amostra e preparar diluições 1:10 e 1:100, utilizando o diluente recomendado. Inocular, por via intradérmica, 0,1 mL de cada uma das diluições no flanco esquerdo de quatro cobaias albinas de mesmo sexo, com peso mínimo de 350 g cada. Os animais têm que apresentar reação tuberculínica negativa, bem como não podem ter sofrido tratamento que possa dar falso negativo. Proceder conforme descrito para a vacina de referência, inoculando o mesmo animal no flanco direito. Observar os animais por quatro semanas e realizar leituras semanais do diâmetro das lesões encontradas nos pontos de inoculação. Ao final do período de observação, calcular, para cada diluição correspondente, a média das quatro leituras da vacina e da vacina de referência. A vacina cumpre o requisito se a reação produzida pela amostra é semelhante à da vacina de referência. O ensaio no produto final pode ser omitido se foi realizado no lote-semente de trabalho e em cinco lotes finais consecutivos derivados do mesmo lote-semente.

ENSAIO MICROBIOLÓGICO

Número de unidades formadoras de colônias (UFC)

Reconstituir cinco ampolas da vacina com diluente recomendado, tendo o cuidado de adicioná-lo suavemente para evitar a formação de espuma. Transferir o conteúdo das ampolas para um único tubo de ensaio, homogeneizar e proceder três diluições, de modo a obter número ótimo de colônias em torno de 40, desprezando as contagens superiores a 100. Inocular em meio Lowenstein-Jensen, utilizando cinco tubos para cada uma das duas diluições mais concentradas e 10 tubos para a mais diluída. Vedar os tubos e incubar na posição vertical à temperatura de 37 °C, por quatro semanas. Analisar em paralelo uma amostra da vacina de referência e expressar os resultados em UFC/mL. A faixa de aceitação deve estar de acordo com o histórico do registro do produto submetido à autoridade regulatória nacional, sendo que o limite máximo não deve ultrapassar quatro vezes o limite definido como o mínimo.

Se for utilizada a bioluminescência ou qualquer outro método, o mesmo deve ser validado contra o método de contagem de viáveis.

TERMOESTABILIDADE

Incubar cinco ampolas da vacina à temperatura de 37 °C por quatro semanas e proceder conforme *Ensaio microbiológico*. Comparar os resultados obtidos com os das amostras mantidas à temperatura de 2 °C a 8 °C. O número de UFC/mL não pode ser inferior a 20% de UFC/mL da vacina mantida entre 2 °C e 8 °C.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpra o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA FEBRE AMARELA (ATENUADA)

Vaccinum febris flavae vivum

A vacina contra febre amarela é constituída de vírus vivos atenuados e apresentada sob a forma liofilizada. Após a reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente primário da estirpe 17D, do qual, por meio de passagens em ovos embrionados de galinha SPF (livre de micro-organismos contaminantes), se origina o lote-semente secundário.

Cada lote-semente primário de vírus deve ser submetido aos testes de identificação, agentes adventícios (esterilidade bacteriana e fúngica; micoplasmas e micobactérias), vírus da leucose aviária e inoculação em macacos para verificar viscerotropismo, imunogenicidade e neurotropismo.

Cada lote-semente secundário de vírus deve ser submetido aos testes de identificação, agentes adventícios (inoculação em cobaias e camundongos, esterilidade bacteriana e fúngica, micoplasmas e micobactérias, cultivo celular e vírus aviários), vírus da leucose aviária e inoculação em macacos para verificar viscerotropismo, imunogenicidade e neurotropismo.

A replicação do vírus é realizada em ovos embrionados de galinha, livre de patógenos específicos, ou em cultura de células suscetíveis. Se a produção da vacina ocorrer em ovos embrionados, 2% e não menos que 20 ovos não infectados com a cepa vacinal têm que demonstrar ausência de patógenos específicos para aves.

A suspensão viral é clarificada por método adequado para remoção de resíduos celulares e algumas substâncias estabilizadoras que, comprovadamente, não alteram a eficácia e segurança do produto, podem ser adicionadas. Nenhuma proteína de origem humana pode ser adicionada em qualquer etapa de produção. A suspensão viral ou a mistura de suspensões virais individuais são testadas quanto à identificação, esterilidade bacteriana e fúngica, micoplasmas, micobactérias e concentração viral.

Testes em cultura de células para outros agentes adventícios. Inocular 5 mL da amostra dos extratos dos ovos controles em culturas de células de rim de macaco e em fibroblastos de embrião de galinha. Incubar as células à temperatura de 36 ± 1 °C e observar por 14 dias. Não deve ser evidenciada a presença de quaisquer agentes adventícios e, no mínimo, 80% das culturas celulares devem permanecer viáveis.

Vírus aviários. Inocular 0,1 mL dos extratos dos ovos controles pela via alantoica em cada um de 10 ovos SPF embrionados de 9 a 10 dias. Proceder da mesma forma, inoculando no saco vitelino, 10 ovos SPF embrionados de cinco a sete dias. Ao final de sete dias de incubação, pelo menos 80% dos ovos inoculados devem permanecer viáveis, assim como não devem ser evidenciados agentes hemaglutinantes e/ou patologias macroscópicas típicas nos embriões e membranas cório-alantoicas.

Após a formulação, o produto acabado a granel é analisado quanto à esterilidade; concentração de vírus e nitrogênio proteico.

Conteúdo de nitrogênio proteico (5.3.3.2). No máximo, 0,25 mg por dose, antes da adição de qualquer estabilizante.

O produto é envasado em recipiente adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e seus controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

A vacina, quando neutralizada com soro contendo anticorpo específico para o vírus da febre amarela, inibe a formação de unidades formadoras de “plaque” UFP em células suscetíveis conforme descrito em *Doseamento*. Métodos moleculares como, sequenciamento e amplificação de ácido nucleico, podem ser utilizados.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. O limite máximo deve garantir que o produto mantenha sua estabilidade, de acordo com o registro submetido à autoridade regulatória nacional.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Cumpre o teste. No máximo 5 UE por dose humana.

Ovoalbumina residual. Determinar o teor de ovoalbumina por *Método imunológico (5.6)* adequado, utilizando como referência uma preparação padrão de ovoalbumina. A vacina é considerada satisfatória se o conteúdo de ovoalbumina residual for menor ou igual a 5 µg/dose.

DOSEAMENTO

Uma vacina de referência calibrada em Unidades Internacionais (UI) deve ser utilizada para a determinação do título do inóculo viral e no ensaio de potência da vacina.

Pelo menos três frascos de vacina liofilizada e um de vacina referência são submetidos ao método de unidades formadoras de “plaque” (UFP). Diluir a vacina aplicando-se fator 4 e inocular pelo menos duas diluições em, no mínimo, três orifícios em placa de seis orifícios contendo monocamada de células Vero previamente semeadas. A concentração da linhagem celular pode variar de 100 000 a 300 000 células por mL, conforme o dia de sua utilização. Após adsorção por período de até 90

minutos à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$, em ambiente de CO_2 a 5%, adicionar um meio de cultura contendo agarose ou carboximetilcelulose em concentração adequada. Incubar as placas por cinco a sete dias, à temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$, em ambiente de CO_2 a 5%. Após o período de incubação, retirar o meio de crescimento, fixar as células com formaldeído e corar com um corante vital.

Calcular a média do número de “plaques” dos frascos da vacina em teste e da vacina de referência, por meio de métodos estatísticos comprovados. Comparar a concentração viral da vacina em teste com aquela da vacina de referência e expressar o resultado em Unidades Internacionais (UI) por dose. A potência mínima deve ser de $3,0 \log_{10}$ UI por dose. Para a determinação ser considerada válida, é necessário que: (a) no controle de cultura de células haja monocamada inalterada; (b) a variação de potência entre as três amostras da vacina seja no máximo $0,3 \log_{10}$ UI; (c) a potência da vacina de referência varie no máximo $0,5 \log_{10}$ UI do seu título estabelecido (d) o número de UFP seja decrescente em relação às diluições crescentes. O ensaio deve ser repetido se não cumprir os requisitos. Outros métodos de ensaio podem ser utilizados, desde que justificados e aprovados pelas autoridades regulatórias nacionais. No entanto, caso a vacina seja dosada pelo método descrito acima, deve cumprir com os requisitos já estabelecidos.

TERMOESTABILIDADE

O teste é realizado em paralelo ao *Doseamento*. Incubar, pelo menos, dois frascos de vacina por 14 dias a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ e analisar conforme descrito em *Doseamento*. A vacina pode perder no máximo $1 \log_{10}$ UI em relação ao título determinado na amostra conservada em condições adequadas de temperatura. Além disso, ter título no mínimo igual ao especificado para a potência do produto.

Cumpra o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA POLIOMIELITE 1, 2 E 3 (INATIVADA) Vaccinum poliomyelitidis inactivatum

A vacina poliomielite inativada é constituída de mistura de poliovírus tipos 1, 2 e 3 inativados e apresentada como um líquido transparente, podendo **surgir** coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e cada um dos sorotipos presentes pode ter no máximo 10 subcultivos a partir do lote original. A replicação do vírus é realizada em cultura de células suscetíveis e a suspensão viral é identificada e controlada quanto à esterilidade. Após clarificação da suspensão viral por método adequado, para remoção de resíduos celulares, cada suspensão viral é concentrada e purificada. A suspensão de cada tipo de vírus é identificada, avaliada quanto à esterilidade, micoplasmas e concentração de vírus. A inativação de cada suspensão viral é realizada separadamente, por um método apropriado como a adição de agentes químicos em condições adequadas. O agente químico mais utilizado é o formaldeído. Antes da mistura dos três tipos de poliovírus inativados e da adição de conservante e outras substâncias, cada suspensão de vírus é avaliada quanto à efetividade da inativação. Após a mistura dos três poliovírus e antes do envase, são realizados controles de ausência de partículas infectivas em células suscetíveis, esterilidade e concentração de conservante.

A vacina é envasada em recipientes adequados, rotulada e submetida aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

Atende aos requisitos descritos em *Doseamento*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Proteína. Utilizar o método de Kjeldahl (5.3.3.2) ou outro método adequado e validado. No máximo 10 µg/dose.

Formaldeído residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. No máximo 200 ppm. É facultada ao produtor a utilização do resultado obtido no produto antes do envase.

Albumina bovina. No máximo 50 ng por dose humana, determinado por *Método imunoquímico (5.6)*.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). No máximo 5 UE por dose.

DOSEAMENTO

Utilizar método imunoenzimático de sensibilidade comprovada para avaliação da concentração do antígeno D de cada um dos três sorotipos de poliovírus presentes na vacina. Avaliar vacina de referência em paralelo.

A potência é expressa em unidades de antígeno D por dose para os poliovírus tipos 1, 2 e 3 e seus limites mínimos devem estar de acordo com o histórico do registro do produto, aprovados pela autoridade regulatória nacional.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumprir o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

VACINA VARICELA (ATENUADA)

Vaccinum varicellae vivum

A vacina é constituída de vírus vivos atenuados da varicela e apresentada sob a forma liofilizada. Após reconstituição com diluente apropriado, tem aspecto de suspensão homogênea, transparente, podendo demonstrar coloração devido à presença de indicador de pH.

A produção da vacina é baseada no sistema de lote-semente e a cepa de vírus utilizada na produção da vacina tem que demonstrar imunogenicidade adequada e segurança para o ser humano, e não pode induzir neuropatogenia em macacos suscetíveis ao vírus da varicela.

A replicação do vírus é realizada em cultura de célula diploide humana suscetível e a suspensão viral é submetida aos testes de identificação, esterilidade, concentração viral e agentes adventícios. Após a clarificação da suspensão viral por método adequado para remoção de resíduos celulares, podem ser adicionadas algumas substâncias estabilizadoras que comprovadamente não alteram a eficácia e segurança do produto. O produto clarificado é submetido aos controles de identificação e concentração viral.

Antes do envase e liofilização, o produto é analisado quanto à esterilidade. O produto é então envasado em recipientes adequados, liofilizado, rotulado e submetido aos controles requeridos.

Outras informações relativas aos critérios de produção e seus controles estão indicadas na monografia de *Vacinas para uso humano*.

IDENTIFICAÇÃO

A vacina, quando neutralizada com soro contendo anticorpo específico para o vírus da varicela, inibe a formação de unidades formadoras de “plaque” (UFP) em células suscetíveis conforme descrito em *Doseamento*.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Umidade residual. Proceder conforme descrito na monografia de *Vacinas para uso humano*. O limite máximo deve garantir que o produto mantenha sua estabilidade, de acordo com o registro submetido à autoridade regulatória nacional.

TESTES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Pelo menos três frascos de vacina liofilizada e um de vacina referência são submetidos ao método de unidades formadoras de “plaque” (UFP). A concentração viral da vacina de referência é estabelecida com base em dados históricos de cada laboratório e deve ser monitorada por gráfico controle. Diluir as amostras da vacina e inocular em placas ou frascos contendo monocamada de cultura de célula diploide humana suscetível.

Calcular a concentração viral individual para cada frasco de vacina e para cada replicata da vacina de referência por métodos estatísticos validados, a qual é expressa em \log_{10} UFP/dose. Para a determinação ser considerada válida é necessário que (a) o intervalo de confiança ($P = 0,95$) da concentração estimada da vacina de referência para as três replicatas combinadas seja menor do que

$\pm 0,3 \log_{10}$ UFP; (b) a potência da vacina de referência varie, no máximo, $0,5 \log_{10}$ UFP do seu título estabelecido.

O ensaio deve ser repetido se o intervalo de confiança ($P = 0,95$) da concentração viral combinada da vacina for maior do que $\pm 0,3 \log_{10}$ UFP; dados obtidos dos ensaios válidos somente podem ser combinados por métodos estatísticos adequados para calcular a concentração viral da amostra. O intervalo de confiança ($P = 0,95$) da concentração viral combinada é, no máximo, $\pm 0,3 \log_{10}$ UFP.

Outros métodos de ensaio podem ser utilizados, desde que justificados e aprovados pelas autoridades regulatórias nacionais. No entanto, caso a vacina seja dosada pelo método descrito acima, deve cumprir com os requisitos já estabelecidos.

A potência mínima deve ser aprovada pelas autoridades regulatórias, de acordo com os estudos de eficácia e segurança descritos no registro da vacina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Cumpra o estabelecido na monografia de *Vacinas para uso humano*.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

MONOGRAFIAS

RADIOFÁRMACOS

INCLUSÃO

MEDRONATO DE SÓDIO (^{99m}Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL.....	1007
PENTETATO DE SÓDIO (^{99m}Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL	1009
PERTECNETATO DE SÓDIO (^{99m}Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL	1011

INCLUSÃO

MEDRONATO DE SÓDIO (^{99m}Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL Technetii (^{99m}Tc) medronati solutio iniectionis

$[\text{}^{99m}\text{Tc}](\text{CH}_6\text{O}_8\text{P}_2)_n$
medronato de sódio (^{99m}Tc); 09794
MDP- ^{99m}Tc ; metilenodifosfonato de sódio (^{99m}Tc)
[121524-79-6]

Contém no mínimo 90% e, no máximo, 110% de medronato de sódio (^{99m}Tc), expresso em MBq/mL (mCi/mL), na data e hora indicadas no rótulo.

DESCRIÇÃO

Solução estéril, límpida e incolor do complexo formado entre o tecnécio- 99m , da solução injetável de pertecnetato de sódio (^{99m}Tc), e o medronato de sódio, em presença de um agente redutor. A atividade presente em outras formas químicas que não sejam o complexo não deve ultrapassar 10% da atividade total. Pode conter conservantes, antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes e soluções tampão adequadas.

IDENTIFICAÇÃO

- A. O produto deve atender aos requisitos do teste de Identificação Radionuclídica e de Pureza Radionuclídica da monografia *Pertecnetato de sódio (^{99m}Tc), solução injetável*.
- B. Examinar o cromatograma obtido no ensaio de pureza radioquímica. A distribuição da atividade contribui para a identificação da preparação.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 8,0.

Pureza radioquímica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em papel (5.2.17.2)*, do tipo ascendente.

Solução amostra: a solução injetável de medronato de sódio (^{99m}Tc) a ser analisada.

A: Fase estacionária: utilizar uma tira de papel cromatográfico.
Fase móvel: solução de cloreto de sódio a 0,9% (p/v).

Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 μL de uma diluição da *Solução amostra*, adequada para a sensibilidade do equipamento de detecção. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que permita a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O pertecnetato livre e o medronato de sódio (^{99m}Tc) migram com a frente do solvente (R_f 0,9-1,0). O tecnécio- 99m na forma coloidal fica retido no ponto de origem (R_f 0,0-0,1).

B: Fase estacionária: utilizar uma tira de papel cromatográfico.

Fase móvel: acetona.

Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 µL de uma diluição da *Solução amostra*, adequada para a sensibilidade do equipamento de detecção. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que permita a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O pertecnetato livre migra com a frente do solvente (Rf 0,9-1,0). O medronato de sódio (99m Tc) e o tecnécio-99m na forma coloidal ficam retidos no ponto de origem (Rf 0,0-0,1).

O percentual de atividade correspondente à soma dos percentuais de atividade das impurezas nos cromatogramas obtidos nos testes A, tecnécio-99m na forma coloidal, e B, pertecnetato livre, não deve exceder 10,0%.

ENSAIOS BIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Deve conter menos que 175 UE/V, sendo V o volume máximo injetado em mL, na data ou hora de vencimento.

Distribuição biológica. Administrar por via intravenosa um volume máximo de 0,2 mL, equivalente a, no máximo, 0,05 mg de medronato de sódio, na veia caudal ou safena de três ratos (150-250 g). Medir a atividade da seringa antes e após a administração. Eutanasiar os animais uma hora após a injeção e remover cuidadosamente um fêmur, o fígado e os rins. Extirpar a cauda, se a veia caudal foi utilizada para a injeção. Determinar o percentual de radioatividade em cada órgão segundo a expressão:

$$(A/B) \times 100$$

Em que

A é a radioatividade do órgão e B é a radioatividade total, que equivale à diferença entre as duas medidas da seringa menos a atividade da cauda.

Deve ser encontrado, no mínimo, 1% de radioatividade no fêmur e, no máximo, 5% no fígado ou nos rins, em, no mínimo, dois dos três animais.

RADIOATIVIDADE

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos (9)*. Utilizar sistema de contagem apropriado e calibrado, determinando a radioatividade em Bq (Ci) ou seus múltiplos e submúltiplos, por unidade de volume.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos (9)*. Manter em recipiente perfeitamente fechado, em blindagem de proteção para radiação.

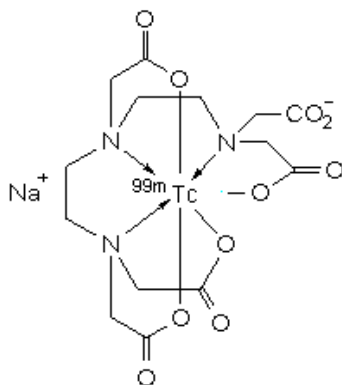
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

USO

Diagnóstico.

PENTETATO DE SÓDIO (99m Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL
Technetii (^{99m}Tc) pentetatis solutio iniectionis



[^{99m}Tc]C₁₄H₁₈N₃NaO₁₀; 510,2 g/mol

pentetato de sódio (99m Tc); 09748

[N, N-bis{2-[bis(carboxilmetil)amino]etil}glicinato(5-)}][^{99m}Tc]tecnato(1-) de sódio;

DTPA-99mTc

[65454-61-7]

Contém, no mínimo, 90% e, no máximo, 110% de pentetato de sódio (99m Tc), expresso em MBq/mL (mCi/mL), na data e hora indicadas no rótulo.

DESCRIÇÃO

Solução estéril, límpida e incolor do complexo formado entre o tecnécio-99m, da solução injetável de pertecnato de sódio (99m Tc), e o pentetato de sódio, em presença de um agente redutor. A atividade presente em outras formas químicas que não sejam o complexo não deve ultrapassar 10% da atividade total. Pode conter conservantes, antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes e soluções tampão adequadas.

IDENTIFICAÇÃO

- C. O produto deve atender aos requisitos do teste de Identificação Radionuclídica e de Pureza Radionuclídica da monografia *Pertecnato de sódio (99m Tc), solução injetável*.
- D. Examinar o cromatograma obtido no ensaio de pureza radioquímica. A distribuição da atividade contribui para a identificação da preparação.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 3,8 a 7,5.

Pureza radioquímica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em papel (5.2.17.2)*, do tipo ascendente.

Solução amostra: a solução injetável de pentetato de sódio (^{99m}Tc) a ser analisada.

A: Fase estacionária: utilizar uma tira de papel cromatográfico.

Fase móvel: solução de cloreto de sódio a 0,9 % (p/v).

Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 µL de uma diluição da *Solução amostra*, adequada para a sensibilidade do equipamento de detecção. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que possibilite a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O pertecnetato livre e o pentetato de sódio (^{99m}Tc) migram com a frente do solvente (Rf 0,9-1,0). O tecnécio-99m na forma coloidal fica retido no ponto de origem (Rf 0,0-0,1).

B: Fase estacionária: utilizar uma tira de papel cromatográfico.

Fase móvel: acetona.

Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 µL de uma diluição da *Solução amostra*, adequada para a sensibilidade do equipamento de detecção. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que possibilite a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O pertecnetato livre migra com a frente do solvente (Rf 0,9-1,0). O pentetato de sódio (^{99m}Tc) e o tecnécio-99m na forma coloidal ficam retidos no ponto de origem (Rf 0,0-0,1).

O percentual de atividade correspondente à soma dos percentuais de atividade das impurezas nos cromatogramas obtidos nos testes A, tecnécio-99m na forma coloidal, e B, pertecnetato livre, não deve exceder 10,0%.

ENSAIOS BIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Deve conter menos que 175 UE/V, sendo V o volume máximo injetado em mL, na data ou hora de vencimento.

Distribuição biológica. Administrar por via intravenosa um volume máximo de 0,2 mL de solução injetável de pentetato de sódio (^{99m}Tc) na veia caudal ou safena de três ratos (150-250 g). Medir a atividade da seringa antes e após a administração. Extirpar a cauda, se a veia caudal foi utilizada para a injeção. Determinar o percentual de radioatividade em cada órgão segundo a expressão:

$$(A/B) \times 100$$

Em que

A é a radioatividade do órgão e B é a radioatividade total, que equivale à diferença entre as duas medidas da seringa menos a atividade da cauda.

Duas horas após a injeção, a soma das porcentagens de radioatividade encontradas na urina e na bexiga deve ser maior do que 85% da radioatividade injetada e menos do que 1% da atividade injetada deve ser encontrada no fígado em não menos de dois dos três animais.

RADIOATIVIDADE

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos (9)*. Utilizar sistema de contagem apropriado e calibrado, determinando a radioatividade em Bq (Ci), ou seus múltiplos e submúltiplos, por unidade de volume.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos (9)*. Manter em recipiente perfeitamente fechado, em blindagem de proteção para radiação.

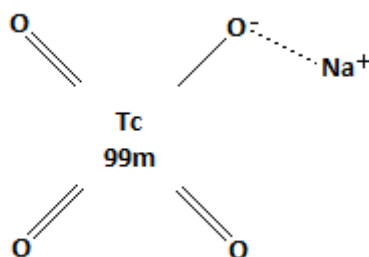
ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

USO

Diagnóstico.

PERTECNETATO DE SÓDIO (^{99m}Tc), SOLUÇÃO INJETÁVEL Technetii (^{99m}Tc) solutio iniectabilis



$\text{Na}[^{99m}\text{Tc}]\text{O}_4$; 185,89 g/mol
pertechnetato de sódio (^{99m}Tc); 09750
ácido pertécnico ($\text{H}^{99m}\text{TcO}_4$), sal sódico
[23288-60-0]

Contém no mínimo 90% e, no máximo, 110% de pertechnetato de sódio (^{99m}Tc), expresso em MBq/mL (mCi/mL), na data e hora indicadas no rótulo.

DESCRIÇÃO

Solução estéril, límpida e incolor de pertechnetato de sódio (^{99m}Tc), preparada a partir da adição de solução isotônica de cloreto de sódio. A solução injetável de pertechnetato de sódio (^{99m}Tc) é obtida por separação química, a partir de uma preparação de molibdênio-99.

No mínimo 95% da atividade deve corresponder ao tecnécio-99m na forma do íon pertechnetato.

O tecnécio-99m é um radionuclídeo formado pela desintegração do molibdênio-99, tem uma meia-vida física de 6,007 horas e emite radiação gama.

O molibdênio-99 é um isótopo radioativo, obtido a partir dos produtos de fissão do urânio ou de irradiação neutrônica do molibdênio enriquecido em molibdênio-98.

IDENTIFICAÇÃO

O espectro gama, obtido com um sistema de espectrometria gama devidamente calibrado, deve corresponder ao do tecnécio-99m quanto às suas energias e intensidades, como indicado em *Radiofármacos (9)*. O fóton gama principal do tecnécio-99m tem uma energia de 140 keV.

ENSAIOS DE PUREZA

pH (5.2.19). 4,0 a 8,0.

Pureza química.

Alumínio

Nota: *determinar quando, na obtenção da solução injetável de pertecnetato de sódio (^{99m}Tc), a separação for efetuada através de uma coluna de alumina.*

Solução amostra: diluir 1 mL da solução injetável de pertecnetato de (^{99m}Tc) de sódio até 2,5 mL, com água.

Solução de referência: preparar ao mesmo tempo que a *Solução amostra* e utilizar 2 mL de solução padrão de alumínio (2 ppm Al).

Preparação da solução padrão de Al: dissolver em água 35,17 mg de sulfato de alumínio e potássio dodecaidratado, pesados com exatidão, e diluir até 1000 mL. Cada mL dessa solução contém 2 µg de Al.

Procedimento: em um tubo de ensaio de 12 mm de diâmetro interno, misturar 1 mL de solução tampão de acetato 0,5 M, pH 4,6 e 2 mL da *Solução amostra*. Adicionar 50 µL de uma solução de cromazurol de 10 g por litro. Após três minutos, a cor da solução não deve ser mais intensa do que a de uma solução de referência. A concentração de alumínio no eluato deve ser no máximo 5 ppm.

Metiletilcetona

Nota: *determinar, se a separação for feita por meio de extração líquido-líquido na preparação da solução injetável.*

Procedimento: adicionar 1 mL da solução injetável em um recipiente adequado e diluir com água até 20 mL. Acrescentar 2 mL de hidróxido de sódio M, misturar e, em seguida, gotear 2 mL de iodo 0,1 M, misturando novamente. Ao mesmo tempo, desenvolver uma preparação padrão adicionando 1 mL de uma solução de metiletilcetona (1 em 1000) em um recipiente similar e diluindo com água até 20 mL. Acrescentar 2 mL de hidróxido de sódio M, misturar e, em seguida, gotear 2 mL de iodo 0,1 M, misturando novamente. Após dois minutos, a turbidez da *Solução amostra* não deve exceder à da preparação padrão (0,1%).

Pureza radionuclídica

Ensaio preliminar: obter uma estimativa aproximada, antes de usar a solução injetável de pertecnetato de sódio (^{99m}Tc), utilizando um volume de solução de tecnécio-99m que contenha cerca de 370

MBq (10 mCi) e determinar sua atividade com um ativímetro devidamente calibrado e utilizando a escala de tecnécio-99m, como indicado em *Radiofármacos (9)*. Registrar a atividade medida. Medir a atividade de molibdênio-99 na mesma *Solução amostra*, alterando a escala do ativímetro para a do molibdênio-99 e colocando a *Solução amostra* dentro da blindagem de chumbo de 6 mm de espessura, necessários para a referida determinação. A atividade de molibdênio-99 deve ser, no máximo, 0,15 kBq por MBq (0,15 µCi por mCi) de tecnécio-99m, da medida previamente determinada.

Ensaio de pureza na solução teste decaída: guardar uma amostra de solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc) a ser analisada, durante intervalo suficiente (três a cinco dias) para que a radioatividade do tecnécio-99m decresça e possibilite a detecção de impurezas radionuclídicas. Todas as medições de atividade deverão se referir à data e hora da administração. Obter o espectro de radiação gama a partir da solução teste utilizando um sistema de espectrometria gama de alta resolução.

Para a solução injetável preparada a partir de tecnécio-99m derivado do precursor molibdênio-99 como resultado do bombardeamento neutrônico do molibdênio estável, proceder aos ensaios abaixo:

MOLIBDÊNIO-99: a presença de molibdênio-99 na solução injetável é evidenciada por seu espectro característico de raios gama. Os fotopicos mais proeminentes desse radionuclídeo possuem energias de 0,181; 0,740 e 0,780 MeV. A atividade de molibdênio-99 deve ser, no máximo, 0,15 kBq por MBq (0,15µCi por mCi) de tecnécio-99m, por dose administrada de solução injetável, no momento da administração.

OUTRAS IMPUREZAS RADIONUCLÍDICAS EMISSORAS DE RAIOS GAMA: a atividade total de outras impurezas radionuclídicas emissoras de raios gama não deve exceder 0,5 kBq por MBq (0,5 µCi por mCi) de tecnécio-99m, nem 92 kBq (2,5 µCi) por dose administrada de solução injetável, no momento da administração.

Para a solução injetável preparada a partir de tecnécio-99m derivado do precursor molibdênio-99 obtido como resultado da fissão de urânio, proceder aos ensaios a seguir.

MOLIBDÊNIO-99: a solução injetável deve atender aos requisitos estabelecidos para solução injetável preparada por irradiação de molibdênio estável com nêutrons (ver anteriormente).

IODO-131: o fotopico mais proeminente desse radionuclídeo tem uma energia de 0,364 MeV. A atividade de iodo-131 deve ser, no máximo, 0,05 kBq por MBq (0,05 µCi por mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

RUTÊNIO-103: o fotopico mais proeminente desse radionuclídeo tem uma energia de 0,497 MeV. A atividade de rutênio-103 deve ser, no máximo, 0,05 kBq por MBq (0,05 µCi por mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

ESTRÔNCIO-89: determinar a presença de estrôncio-89 na solução injetável utilizando um sistema de contagem adequado para a detecção de radiação corpuscular. O estrôncio-89 se desintegra por emissão beta, com uma energia máxima de 1,463 MeV. A atividade de estrôncio-89 deve ser, no máximo, 0,0006 kBq por MBq (0,0006 µCi por mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

ESTRÔNCIO-90: determinar a presença de estrôncio-90 na solução injetável utilizando um sistema de contagem adequado para a detecção de radiação corpuscular. O estrôncio-90 se desintegra por emissão beta, com uma energia máxima de 0,546 MeV. A atividade de estrôncio 90 deve ser, no máximo, 0,00006 kBq por MBq (0,00006 µCi por mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

OUTRAS IMPUREZAS RADIONUCLÍDICAS: as atividades de outras impurezas radionuclídicas emissoras de raios gama e beta devem corresponder a, no máximo, 0,01% no momento da administração. A atividade alfa total deve ser, no máximo, 0,001 Bq por 1 MBq (ou 0,001 μ Ci por 1 mCi) de tecnécio-99m, no momento da administração.

Pureza radioquímica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em papel (5.2.17.2)*, do tipo ascendente.

Solução amostra: diluir a solução injetável de pertecnetato de sódio (99m Tc) com água para obter uma concentração radioativa adequada ao sistema de detecção do equipamento.

Fase estacionária: utilizar uma tira de papel cromatográfico.

Fase móvel: metanol e água (85:15).

Procedimento: aplicar sobre a tira de papel, de 2 a 5 μ L da *Solução amostra*. Desenvolver o cromatograma imediatamente e por um período de tempo suficiente, que possibilite a separação das espécies, e deixar secar ao ar. Determinar a distribuição da atividade utilizando um detector apropriado. O valor de R_f correspondente ao íon pertecnetato encontra-se entre 0,9 e 1,0. No mínimo 95% da atividade total deve corresponder ao íon pertecnetato.

ENSAIOS BIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS

Esterilidade (5.5.3.2.1). Cumpre o teste.

Endotoxinas bacterianas (5.5.2.2). Deve conter menos que 175 UE/V, sendo V o volume máximo injetado em mL, na data ou hora de vencimento.

RADIOATIVIDADE

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos (9)*. Utilizar sistema de contagem apropriado e calibrado, determinando a radioatividade em Bq (Ci) ou seus múltiplos e submúltiplos, por unidade de volume.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Proceder conforme descrito em *Radiofármacos (9)*. Manter em recipiente perfeitamente fechado, em blindagem de proteção para radiação.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

USO

Diagnóstico.



ANVISA
Agência Nacional de Vigilância Sanitária

MINISTÉRIO DA
SAÚDE

