

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.