

*Tampão pH 3,5*: dissolver 68,0 g de fosfato de potássio monobásico em 1000 mL de água e ajustar o pH para  $3,5 \pm 0,1$ , com ácido fosfórico.

*Fase móvel*: mistura de água, acetonitrila e *Tampão pH 3,5* (55:43:2).

*Solução amostra*: dissolver uma quantidade exatamente pesada da amostra em *Fase móvel* para obter solução a 200 µg/mL. Proteger esta solução da luz.

*Solução padrão*: dissolver uma quantidade exatamente pesada de cetoprofeno SQR em *Fase móvel* para obter solução a 200 µg/mL. Proteger esta solução da luz.

Injetar replicatas de 20 µL da *Solução padrão*. A eficiência da coluna não é menor que 2250 pratos teóricos. O fator de cauda para o pico do cetoprofeno não deve ser maior que 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados não é maior que 5,0%.

*Procedimento*: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução amostra* e da *Solução padrão*, registrar os cromatogramas por, no mínimo, três vezes o tempo de retenção do cetoprofeno, e medir as áreas correspondentes aos picos de impurezas. Calcular a porcentagem de cada impureza presente. Não mais que 0,2% de cada impureza individual é encontrada, e a soma de todas as impurezas não é superior a 1,0% da área do cetoprofeno obtida com a *Solução amostra*.

**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 g da amostra. Dessecar em estufa a 60° C, sob pressão reduzida, por 4 horas. No máximo 0,5%.

**Cinzas sulfatadas (5.2.10)**. Determinar em 1 g de amostra. No máximo 0,1%.

## DOSEAMENTO

Pesar, exatamente, cerca de 0,2 g da amostra, previamente dessecada, transferir para erlenmeyer de 250 mL e dissolver em 25 mL de etanol. Adicionar 25 mL de água e 0,5 mL de vermelho de fenol SI. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M SV. Alternativamente, determinar o ponto final potenciométricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M SV equivale a 25,428 mg de  $C_{16}H_{14}O_3$ .

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

## ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

## CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-inflamatório.

## CHAPÉU-DE-COURO

### *Echinodorus folium*

*Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltl.) Micheli – ALISMATACEAE

A droga vegetal é constituída pelas folhas secas contendo, no mínimo, 2,8% de derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico, expressos em verbascosídeo ( $C_{29}H_{36}O_{15}$ , 624,6).

## CARACTERÍSTICAS

**Características organolépticas**. As folhas secas possuem odor característico e sabor amargo.

## DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

Folhas simples, coriáceas, cordiformes, com base cordada e ápice agudo a arredondado. Lâmina foliar de dimensões variadas, dependendo da condição ambiental, de 10 cm a 35 cm de comprimento e 20 cm 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, relativamente ásperos pela presença de tricomas estrelados. Ductos secretores translúcidos são abundantes por toda a lâmina foliar, por vezes visualizados sem auxílio de lentes.

## DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Lâmina foliar com epiderme uniestratificada recoberta por cutícula delgada dotada de pequenas papilas que aparecem como pontos brilhantes na microscopia óptica, também presentes no pecíolo. Lâmina anfiestomática, com estômatos no mesmo nível que as demais células epidérmicas, paralelocíticas, com células-guarda alongadas, contando com dois pares de células subsidiárias adjacentes, sendo a mais proximal alongada e esguia, por vezes visualizadas com certa dificuldade devido ao pouco contraste obtido em suas paredes. Em vista frontal, em ambas as faces da lâmina, estão células epidérmicas comuns com formatos e dimensões variadas, cujas paredes anticlinais podem ser relativamente retas até sinuosas, embora este último formato seja mais comum na face abaxial. Sobre as nervuras não ocorrem estômatos e as células epidérmicas são retangulares, por vezes muito alongadas em relação ao maior eixo da folha. Também sobre as nervuras estão tricomas pluricelulares, estrelados. Em secções transversais verifica-se que as células epidérmicas são volumosas e as câmaras sub-estomáticas são amplas. O mesofilo está composto por apenas uma camada de parênquima paliçádico, com células pouco alongadas, e parênquima esponjoso, cujas células apresentam pequenas expansões braciiformes. As nervuras de maior calibre

são biconvexas, com curvatura mais expressiva junto à face abaxial, contando com aerênquima em abundância, o qual forma amplas lacunas por toda a extensão da estrutura. Nestas lacunas, dispostas transversalmente, estão trabéculas de células braciiformes com reentrâncias espessadas, permitindo a formação de espaços intercelulares triangulares. Por todo o aerênquima estão dispostos ductos secretores. Na nervura principal estão três feixes vasculares de maior calibre, colaterais, em arco aberto com bordos elevados, com pequena lacuna no protoxilema, parcialmente envoltos por calotas de fibroesclerídes, longas e com paredes lignificadas. Dispostos concêntricamente, estão entre 8 a 11 feixes vasculares menos calibrosos, também em arco aberto, mas contando com esclerênquima apenas junto ao floema. As nervuras de menor calibre, dispostas no mesófilo, são colaterais com calota de poucos elementos esclerenquimáticos em ambos os pólos de tecidos condutores. Uma única camada de células parenquimáticas, volumosas e delgadas, compõe a bainha dos feixes vasculares. O pecíolo apresenta células epidérmicas poliédricas, alongadas longitudinalmente. Em secção transversal verifica-se que esta porção foliar está preenchida por aerênquima, com as mesmas características da nervura principal, inclusive os ductos secretores e trabéculas com células braciiformes. Diversas células deste aerênquima estão repletas de grãos de amido. Os feixes vasculares mais calibrosos (de um a dois) estão dispostos na região central do pecíolo, com três grupos concêntricos de feixes vasculares, menos calibrosos em direção à periferia, semelhantes ao da nervura principal, mas contando com uma lacuna de protoxilema de grandes dimensões. Como na nervura principal, os feixes de menor calibre apresentam esclerênquima apenas junto ao pólo floemático. Tanto nos tecidos da lâmina foliar quanto do pecíolo não foram detectadas reações positivas para polifenóis (cloreto férrico a 10% (p/v)) ou substâncias lipídicas (Sudan IV).

## DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DO PÓ

O pó atende a todas as características estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: fragmentos de epiderme da lâmina foliar, com estômatos paralelocíticos e células epidérmicas de contornos sinuosos, recobertas por cutícula ornamentada; feixes de fibroesclerídes associados a células com pequenas expansões braciiformes, do parênquima esponjoso; conjuntos de células tabulares, alongadas longitudinalmente; células braciiformes com reentrâncias espessadas, que compõem as trabéculas da nervura principal e pecíolo, ocorrem em abundância.

## IDENTIFICAÇÃO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (5.2.17.1), utilizando sílica-gel F<sub>254</sub>, com espessura de 250 µm, como suporte, e mistura de acetato de etila, tolueno, ácido fórmico e água (100:10:10:1), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 10 µL da *Solução (1)* e 5 µL das *Soluções (2), (3) e (4)*, separadamente, preparadas antes do uso, como descrito a seguir.

*Solução (1)*: turbolisar, exatamente, cerca de 10 g da droga vegetal moída em 100 mL de etanol a 70% (v/v) durante 15 minutos, com intervalos de 5 minutos, de forma que a temperatura não exceda 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 (2)*: pesar cerca de 1 mg de ácido cafeico e dissolver em 1 mL de metanol.

*Solução (3)*: pesar cerca de 1 mg de isorientina e dissolver em 1 mL de metanol.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e deixar secar em capela de exaustão. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR e deixar secar em capela de exaustão. A mancha de coloração acastanhada obtida com a *Solução (1)*, com Rf de aproximadamente 0,90, corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*. Logo abaixo dessa, é obtida uma mancha esverdeada, com Rf de aproximadamente 0,82, na região do cromatograma da *Solução (1)*. No quadrante inferior do cromatograma, a mancha de coloração amarela intensa obtida com a *Solução (1)*, com Rf de 0,28, corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (3)*, referente à isorientina. Imediatamente abaixo dela, é obtida na região do cromatograma da *Solução (1)* outra mancha de coloração amarela intensa, com Rf de 0,22, que corresponde à swertia-japonina.

## ENSAIOS DE PUREZA

**Material estranho (5.4.2.2).** No máximo 2,0%.

**Água (5.4.2.3).** No máximo 9,0%.

**Cinzas totais (5.4.2.4).** No máximo 11,0%.

**Cinzas sulfatadas (5.2.10).** No máximo 13,0%.

## 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, exatamente, 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. Levantar 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 balão volumétrico. Completar o volume com etanol 50% (v/v).

*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 nitrato 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) e completar o volume com etanol 50% (v/v).

*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) e completar o volume com etanol 50% (v/v).

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. Calcular o teor de derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico, expresso em porcentagem de verbascosídeo, segundo a expressão a seguir. Considerar a absortividade específica do verbascosídeo igual a 185.

$$TA = \frac{A \times 1000}{185 \times m}$$

em que

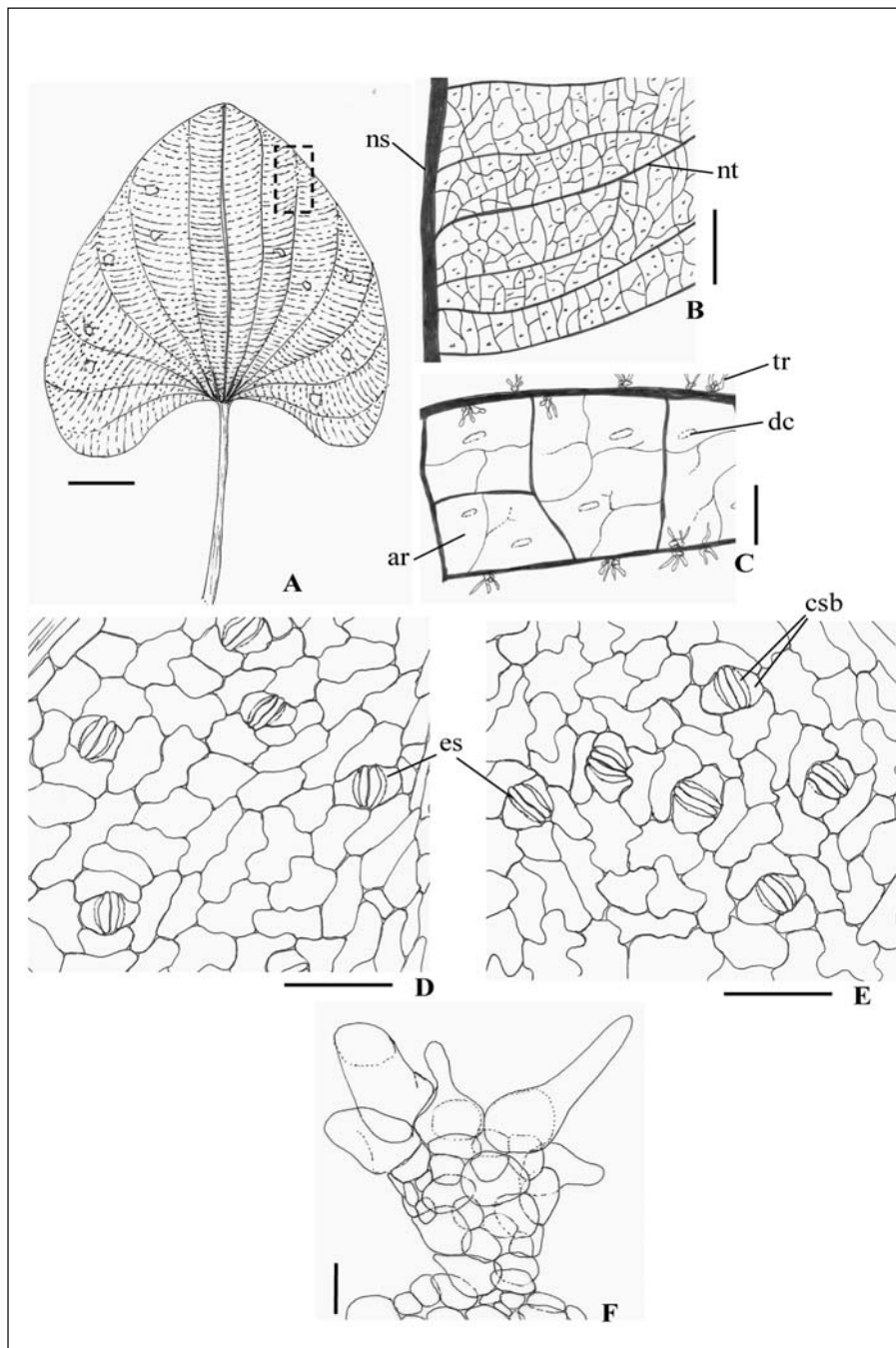
*TA* = teor de derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico, expresso em verbascosídeo (%);

*A* = absorvância da *Solução amostra*;

*m* = massa da amostra utilizada no ensaio, em gramas, considerando a determinação de água.

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

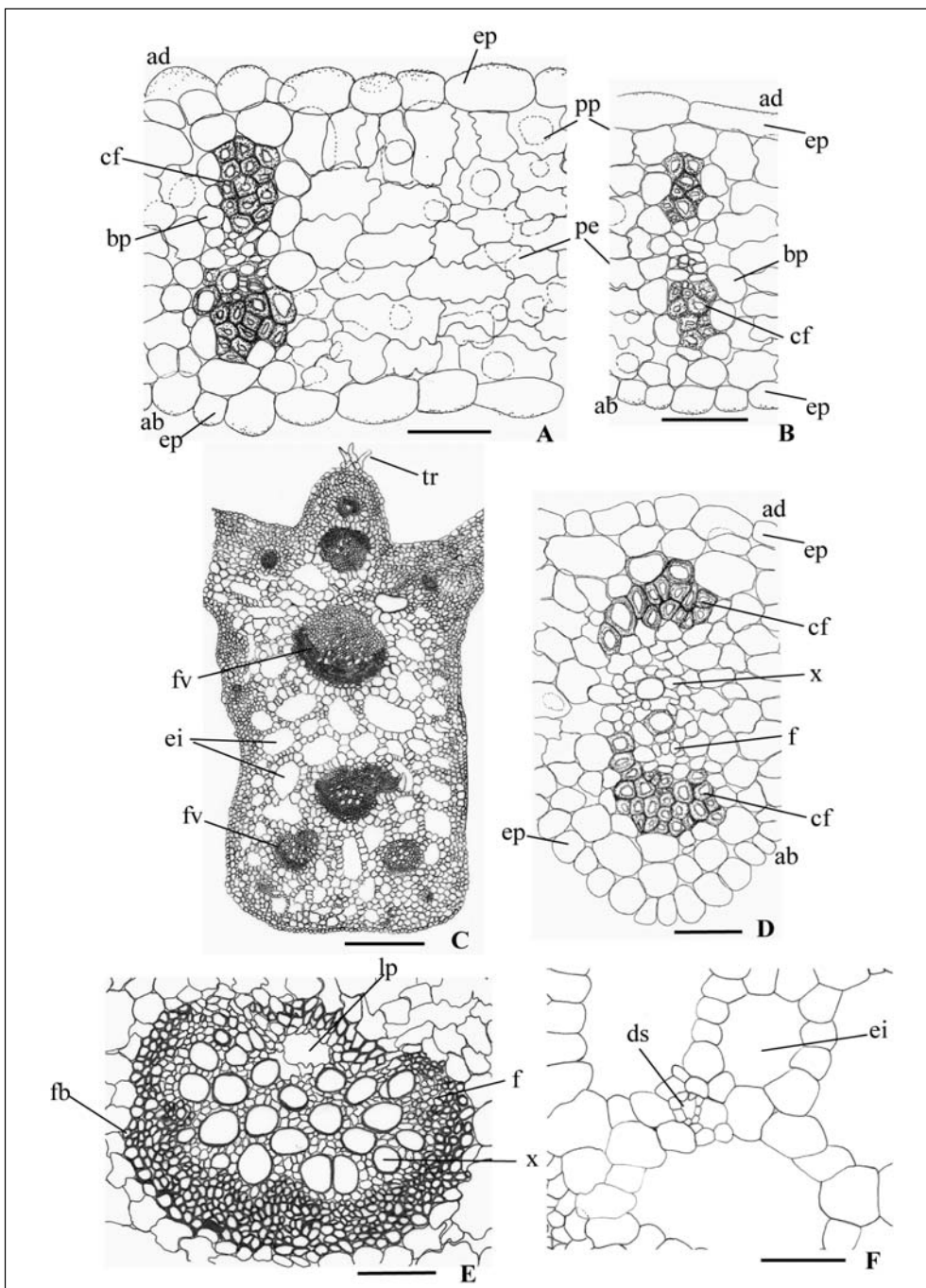
Em recipientes bem fechados, ao abrigo da luz e do calor.



**Figura 1** – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltld.) Micheli

Complemento da legenda da **Figura 1**. As escalas correspondem em **A** a 8 cm, em **B** a 5 mm, em **C** a 1 mm, em **D** e **E** a 100  $\mu$ m, em **F** a 50  $\mu$ m.

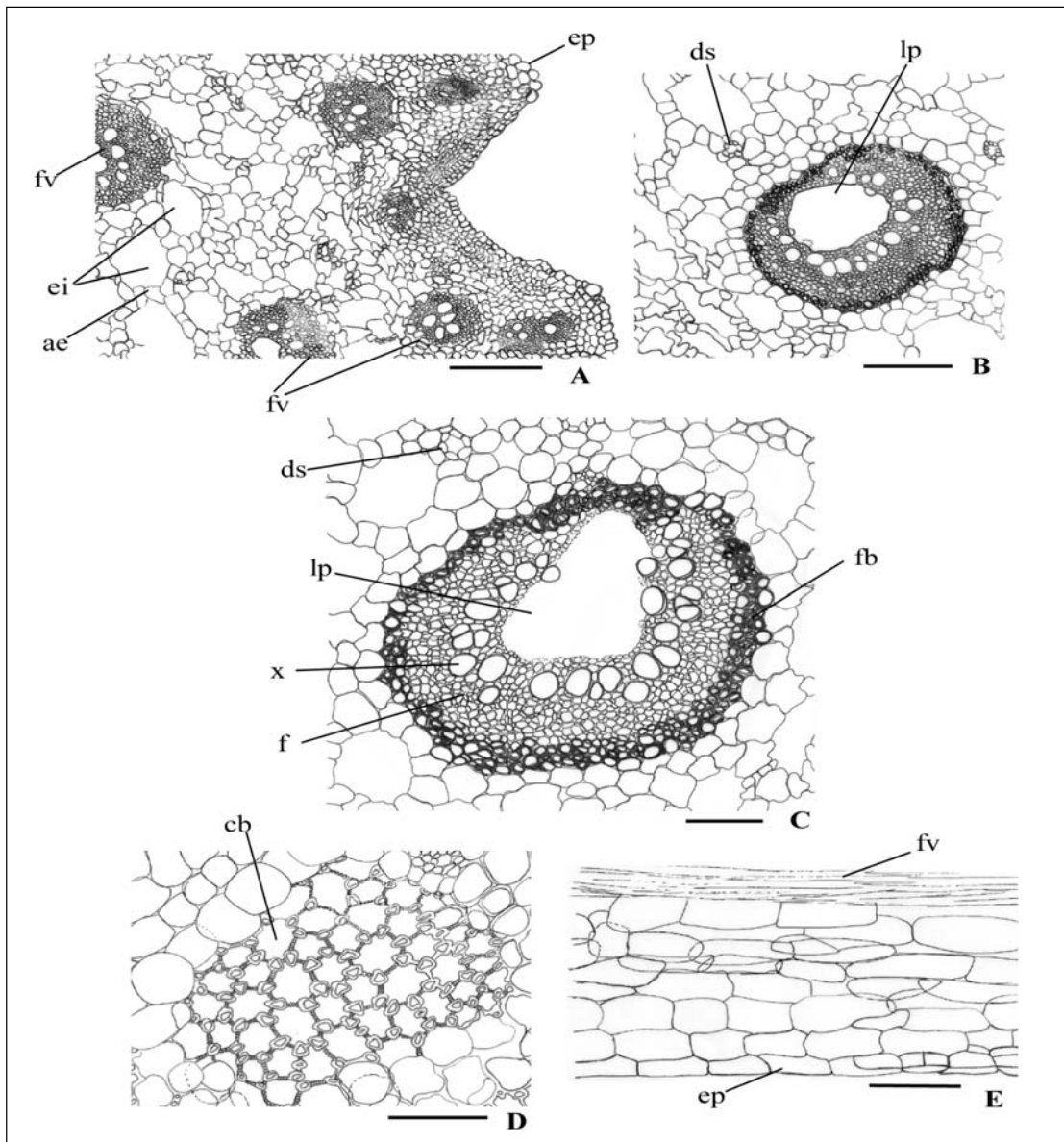
**A** – aspecto geral da folha, em vista frontal. **B** – detalhe parcial de nervura secundária (ns) e de nervuras terciárias (nt) destacadas em **A**. **C** – detalhe de algumas aréolas e terminações vasculares da lâmina foliar: aréola (ar); ducto secretor (dc); tricoma estrelado (tr). **D** – detalhe 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 de *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltld.) Micheli

Complemento da legenda da **Figura 2**. As escalas correspondem em **A, B e D** a 50  $\mu\text{m}$ , em **C** a 500  $\mu\text{m}$ , em **E e F** a 100  $\mu\text{m}$ .

**A** – detalhe de porção do mesofilo 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 paliádico (pp). **B** – detalhe de porção do mesofilo 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 paliádico (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 mesofilo, 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); fibrosclereídes (fb); lacuna do protoxilema (lp); xilema (x). **F** – detalhe de porção do aerênquima na região da nervura principal, em secção transversal: ducto secretor (ds); espaço intercelular (ei).



**Figura 3** – Aspectos microscópicos de *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schtdl.) Micheli

Complemento da legenda da **Figura 3**. As escalas correspondem em **A e B** a 200  $\mu\text{m}$ ; em **C, D e E** a 100  $\mu\text{m}$ .

**A a D** – seções 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: ducto secretor (ds); lacuna do protoxilema (lp). **C** – detalhe de um feixe vascular, na região central do pecíolo: ducto secretor (ds); floema (f); fibroesclereide (fb); lacuna do protoxilema (lp); xilema (x). **D** – detalhe das trabéculas do pecíolo: célula braciforme (cb). **E** – detalhe parcial do aerênquima em seção longitudinal: epiderme (ep); feixe vascular (fv).