

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% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% 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: álcool butílico, água e ácido acético glacial (50:10:40).

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de escina em álcool metílico, 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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 com anisaldeído SR, aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente cinco minutos. Examinar sob a luz visível.

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

Parte superior da placa	
	Zona de coloração rosa
	Zona de coloração amarela
Escina: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
	Zona de coloração rosa
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9267 a 0,9434.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 60% (v/v) a 63% (v/v).

Álcool metílico e álcool isopropílico (5.4.2.2.1). Cumpre o teste.

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.

Solvente A: clorofórmio, ácido clorídrico 0,1 M e álcool *n*-propílico (50:30:20). Usar fase inferior.

Solução amostra: transferir 10,00 mL da tintura para um balão de fundo redondo. Evaporar até resíduo em rotaevaporador 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 álcool *n*-propílico e 50 mL de clorofórmio ao funil de separação, agitar vigorosamente, por dois 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 dois minutos e separar a fase orgânica separada (fase inferior). Reunir as fases orgânicas em um balão de fundo redondo e evaporar até resíduo, em rotaevaporador. 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, completando o volume para 50 mL com o mesmo solvente.

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. Completar o volume e homogeneizar. 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; considerando a pureza da substância de referência;

m = massa em gramas da tintura utilizada, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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