

EUCALIPTO, folha

Eucalypti folia

A droga consiste de folhas maduras, secas, íntegras ou rasuradas de *Eucalyptus globulus* Labill., contendo, no mínimo, 2,0% 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

A amostra satisfaz 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 pulverizada (355 µm) (5.2.11) em 5 mL de tolueno durante dois a três 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 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 um minuto.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
	Zona de coloração castanho-violácea
1,8-Cineol: zona de coloração castanho-violácea intensa	Zona de coloração castanho-violácea intenso
	Zona de coloração castanho-violácea
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3,0%. 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 6,0%.

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.

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 xileno 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. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

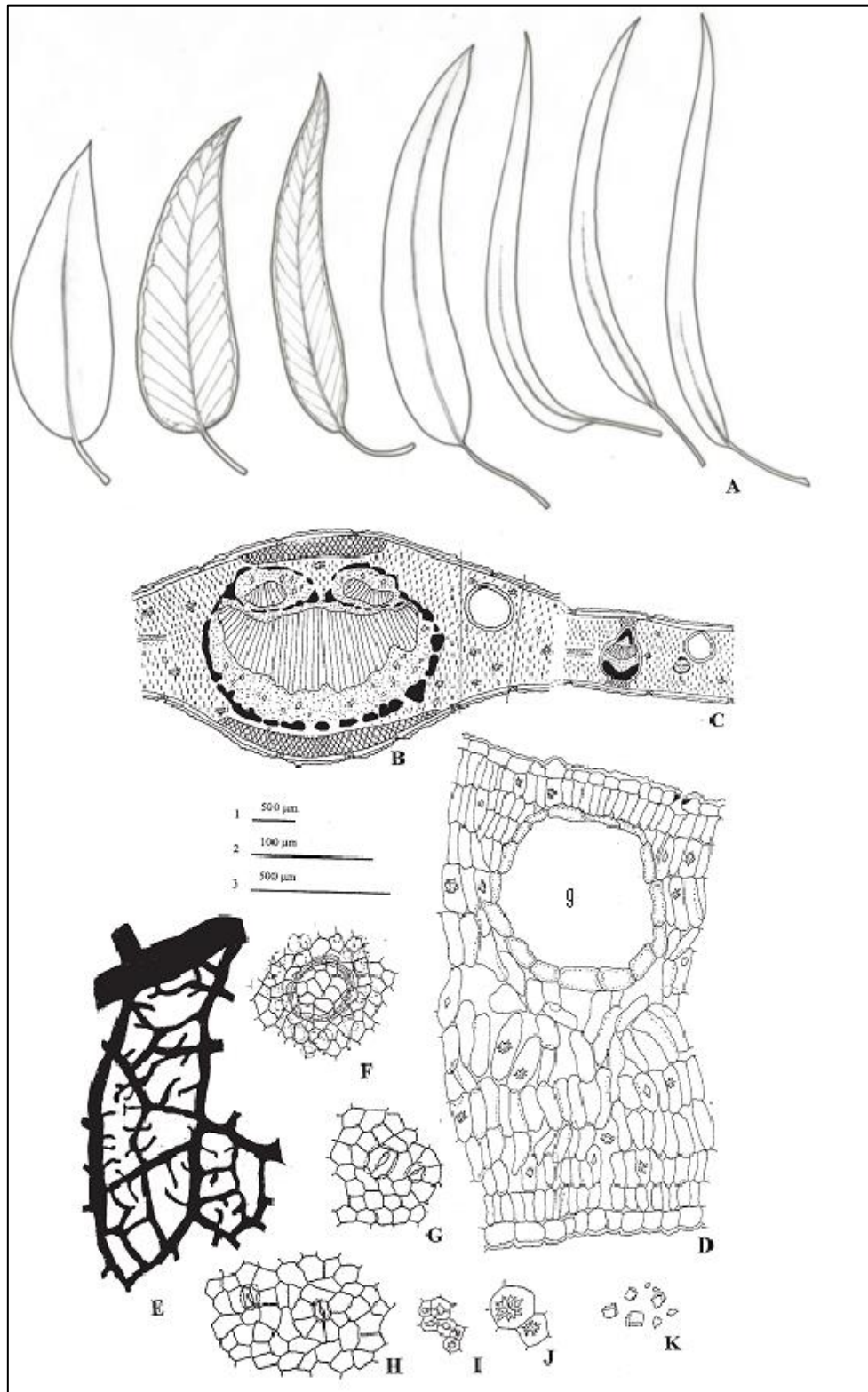


Figura 1–Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Eucalyptus globulus* Labill.

As escalas correspondem em 1 a E; 2 a D e F-J; 3 a B e C.

A – morfologia da folha. B-D – seção transversal da lâmina foliar. B – esquema da nervura principal. C – esquema do mesófilo 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 seção transversal. J – células de parênquima, com drusas. K – cristais do tipo maclas, isolados.

FUNCHO-AMARGO, fruto

Foeniculi amarus fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *vulgare*, contendo, no mínimo, 4,0% (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 esses 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 esses 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 esse 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

A amostra satisfaz 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 (80:20).

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.

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 três minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: anetol, no mínimo 60%; fenchona, no máximo 15%; e estragol, no máximo 5%.

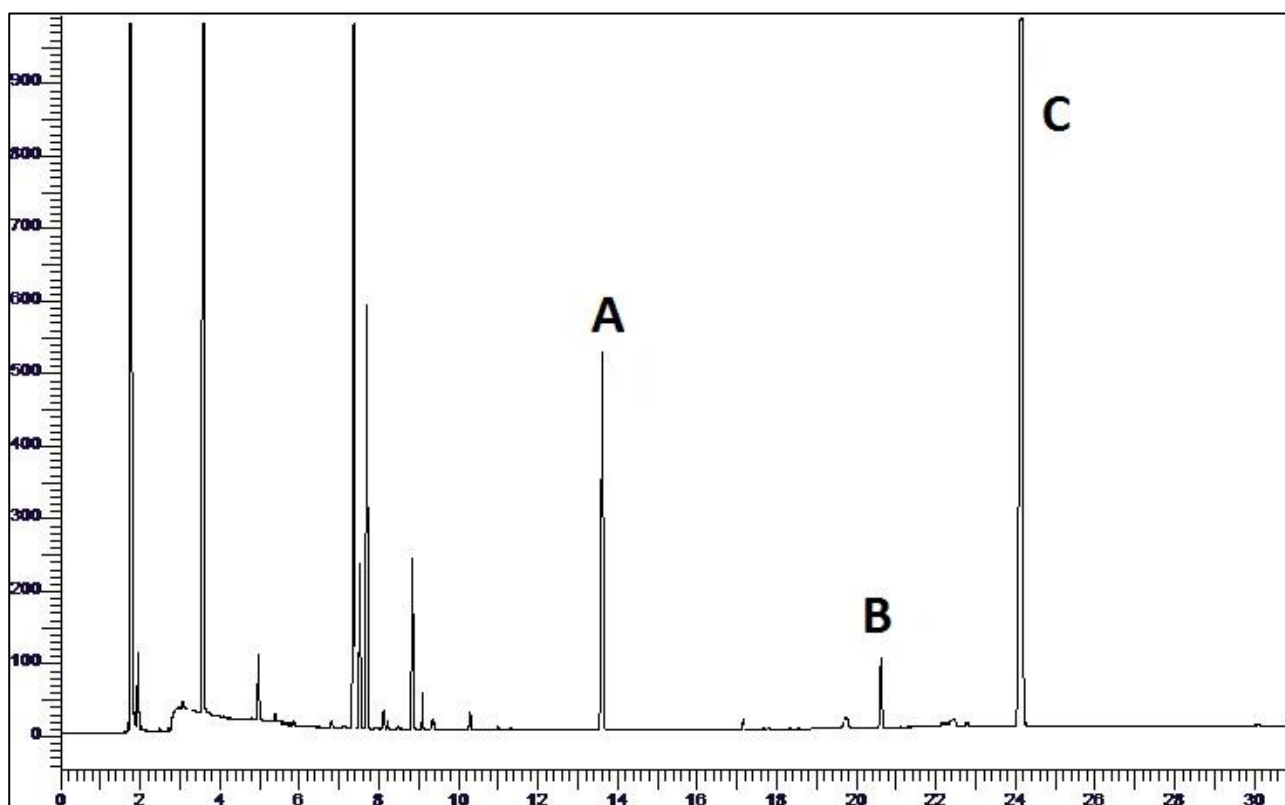


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *vulgare* por cromatografia gasosa. A - fenchona; B - estragol e C - anetol.

TESTES

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

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 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.

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 xileno 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 duas horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

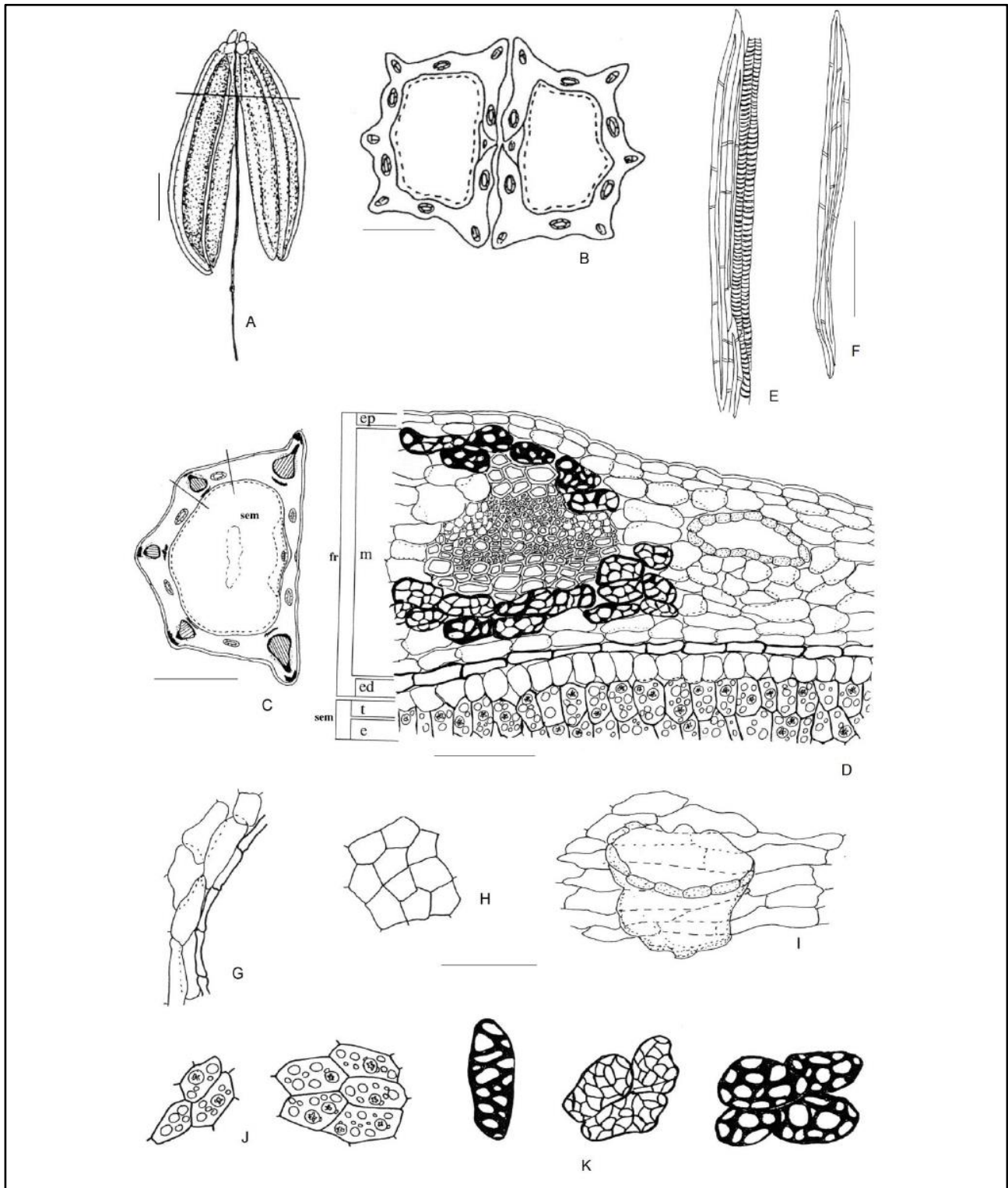


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare*

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.

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, 2,0% (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 esses 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 essas 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 esse 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

A amostra satisfaz 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, que 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 (80:20).

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 três minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: anetol, no mínimo 80,0%; estragol, no máximo 10,0%; e fenchona, no máximo 7,5%.

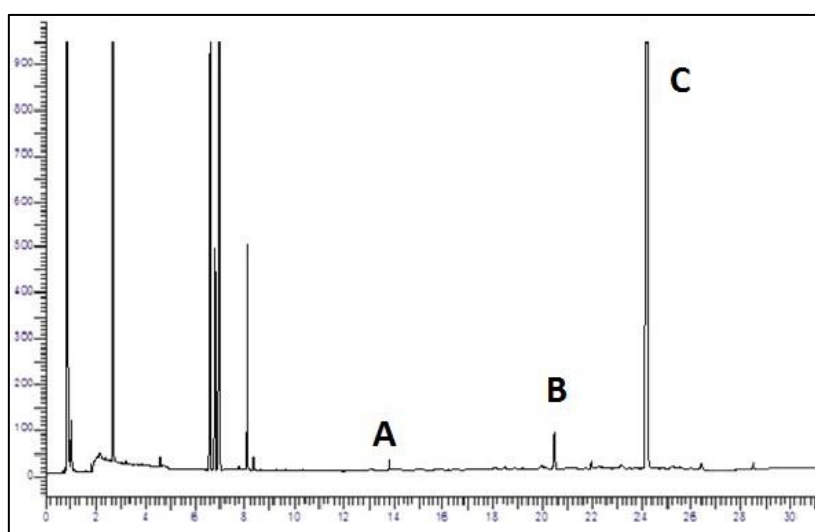


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *dulce* (Mill.) Thellung por cromatografia a gás. A - fenchona, B - estragol e C - anetol.

TESTES

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

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 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.

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 xileno no tubo graduado. Reduzir o fruto de funcho a pó grosseiro ($\leq 1400 \mu\text{m}$) (5.2.11). Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 10 g da droga seca. Destilar durante duas horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

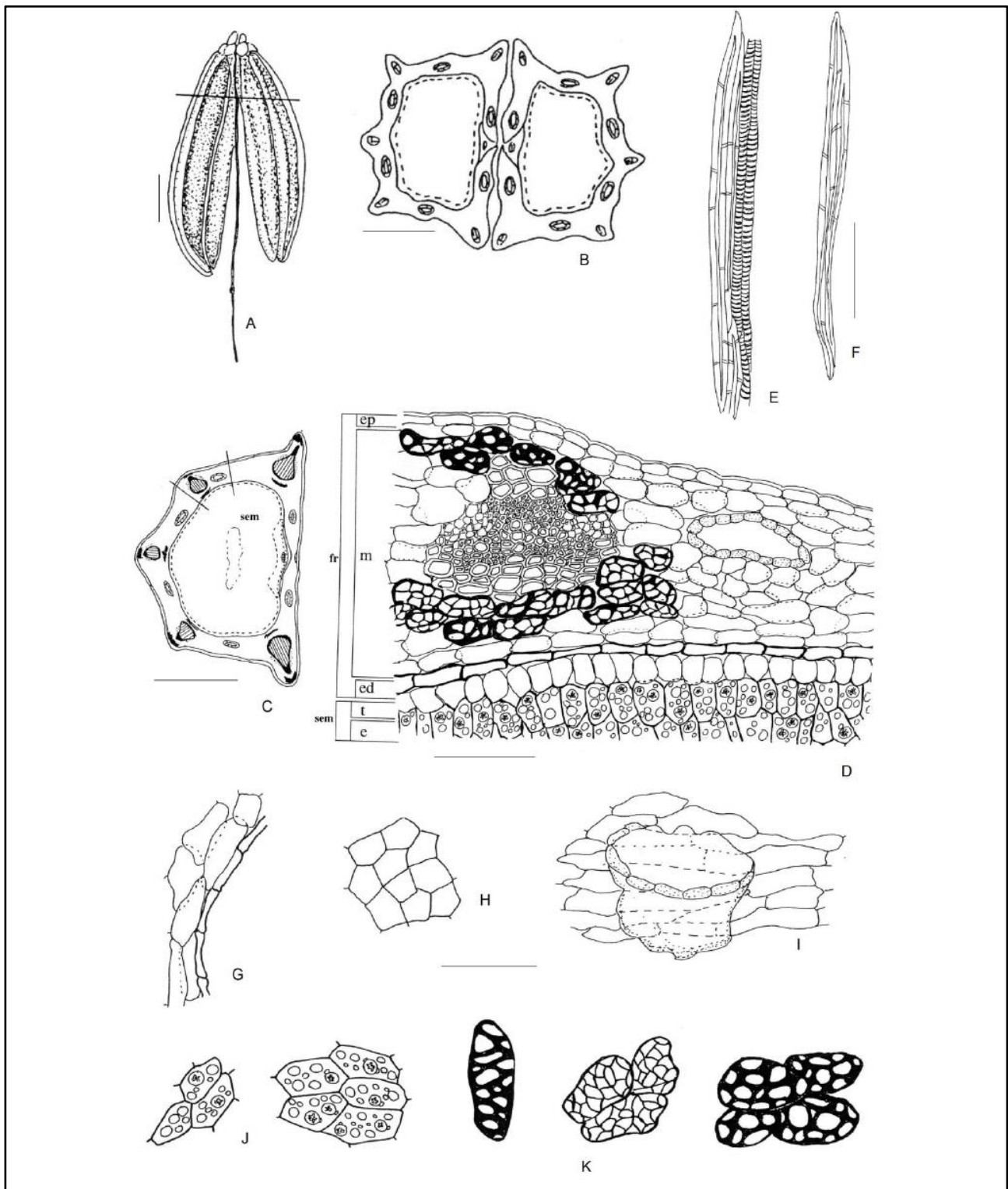


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare*

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 castanhus. **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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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, álcool metílico e água (77:15:8).

Solução amostra: aquecer durante 10 minutos, 1 g da droga vegetal pulverizada (355 µm) (5.2.11) com 10 mL de álcool metílico 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 álcool metílico.

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, após 30 minutos. Nebulizar com solução de anisaldeído.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de 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, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Harpagosídeo: zona de fluorescência azul-escuro	Zona de fluorescência azul-escuro
	Zona de fluorescência azul-claro
	Zona de fluorescência azul-escuro
	Zona de fluorescência azul-escuro
	Zona de fluorescência azul-claro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

<i>Parte superior da placa</i>	
Harpagosídeo: zona de coloração marron-esverdeado	Zona de coloração azul-escuro
	Zona de coloração azul-claro
	Zona de coloração verde-escuro
	Zona de coloração marron-esverdeado
	Zona de coloração verde claro
	Zona de coloração verde-acinzentado
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. No máximo 12,0%. Utilizar 2 g da droga pulverizada (355 µm) (5.2.11) a 105 °C durante duas horas.

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 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 µm) (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

Harpagosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta 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 álcool metílico (50:50)

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,50 g da droga pulverizada (355 µm) (5.2.11), adicionar 50 mL de álcool metílico e extrair sob agitação magnética durante uma 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 álcool metílico e aquecer, sob refluxo, durante uma hora. Após o resfriamento, filtrar. Lavar o condensador duas vezes com 5 mL álcool metílico 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 álcool metílico e transferir para o balão volumétrico de 100 mL reservado. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Diluir uma alíquota de 3,0 mL para 10 mL com álcool metílico. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Curva analítica: construir uma curva analítica com a substância de referência harpagosídeo em álcool metílico, com, no mínimo, cinco concentrações, na faixa entre 3 e 40 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

$$TH = \frac{C_a \times 333 \times 100}{m \times 1000000}$$

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, considerando pureza da substância de referência;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;

333 = fator de diluição da *Solução amostra*;

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g);

1000000 = fator de conversão de µg para g.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

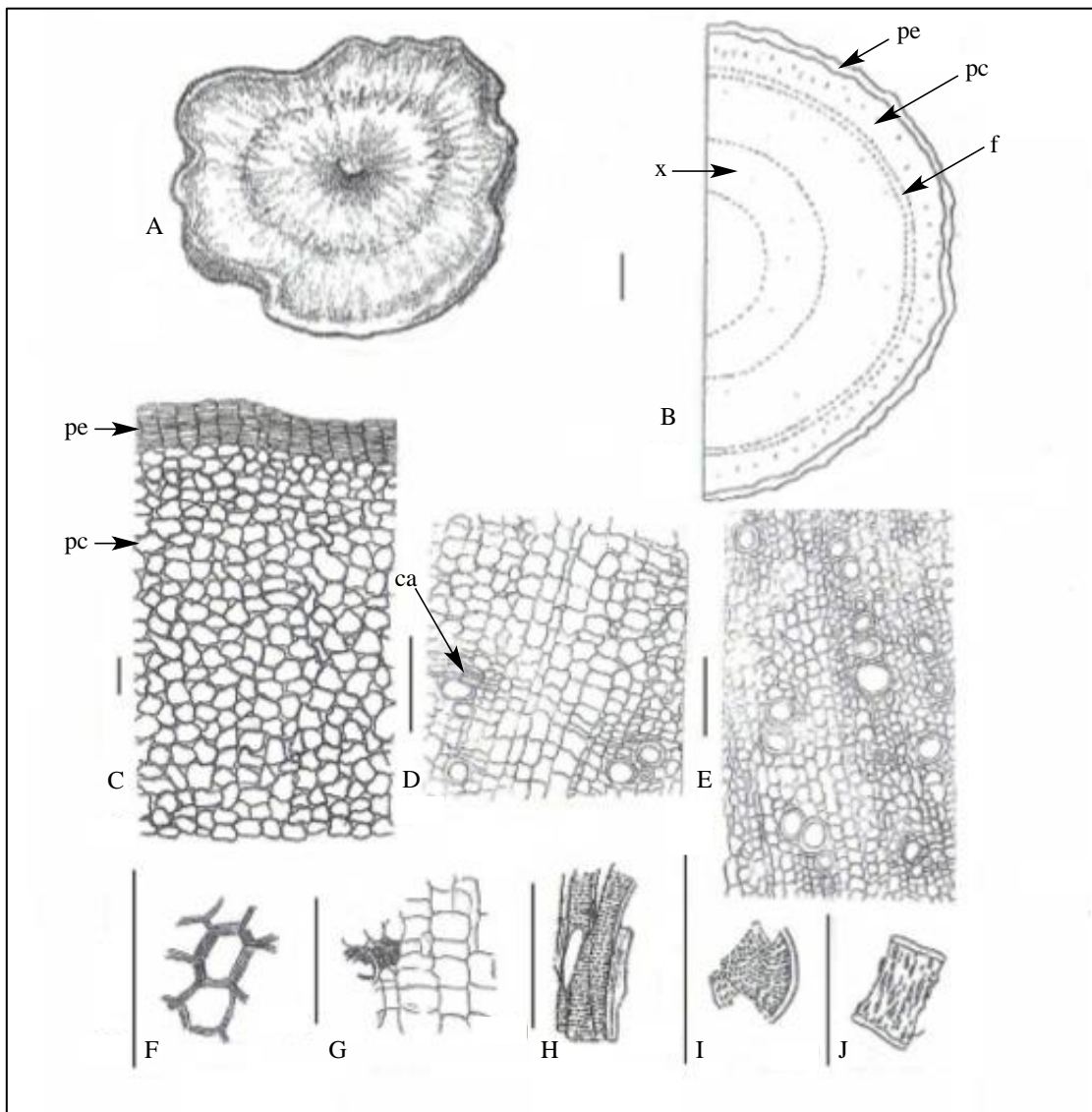


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meissn.

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, 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 exibe 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. Essa 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

A amostra satisfaz 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, álcool metílico e água (77:15:8).

Solução amostra: adicionar 10 mL de álcool metílico em 1 g da droga pulverizada (355 µm) (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 álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): preparar uma solução a 280 µg/mL de gentiopicrosído em álcool metílico.

Solução referência (2): preparar uma solução a 1200 µg/mL de amarogentina em álcool metílico.

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 um minuto.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Amarogentina: zona de coloração castanho	Zona de coloração castanho de fraca intensidade
Gentiopicrosído: zona de coloração castanho	Zona de coloração castanho
<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 2,0%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. No máximo 12,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 4,0%.

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.

Eluente (A): água e ácido trifluoracético (100:0,006).

Eluente (B): acetonitrila.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga vegetal seca e pulverizada (355 µm) (5.2.11) em tubo de centrífuga de 50 mL. Adicionar 6 mL de álcool etílico a 70% (v/v), uma barra magnética, e agitar durante 30 minutos. Centrifugar o conjunto por sete minutos a 2000 × g. Transferir o líquido sobrenadante, quantitativamente, para balão volumétrico de 10 mL. Extrair novamente o resíduo da droga com 4 mL de álcool etílico 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 álcool etílico a 70% (v/v) e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de gentiopicrosídeo em álcool metílico para obter solução a 0,32 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 oito minutos. Calcular o teor de gentiopicrosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TG = \frac{C_r \times A_a \times 10 \times 100}{A_r \times m_a}$$

em que,

TG = teor de gentiopicrosídeo % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* g/mL, considerando pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente ao gentiopicrosídeo na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente ao gentiopicrosídeo na *Solução amostra*;

m_a = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

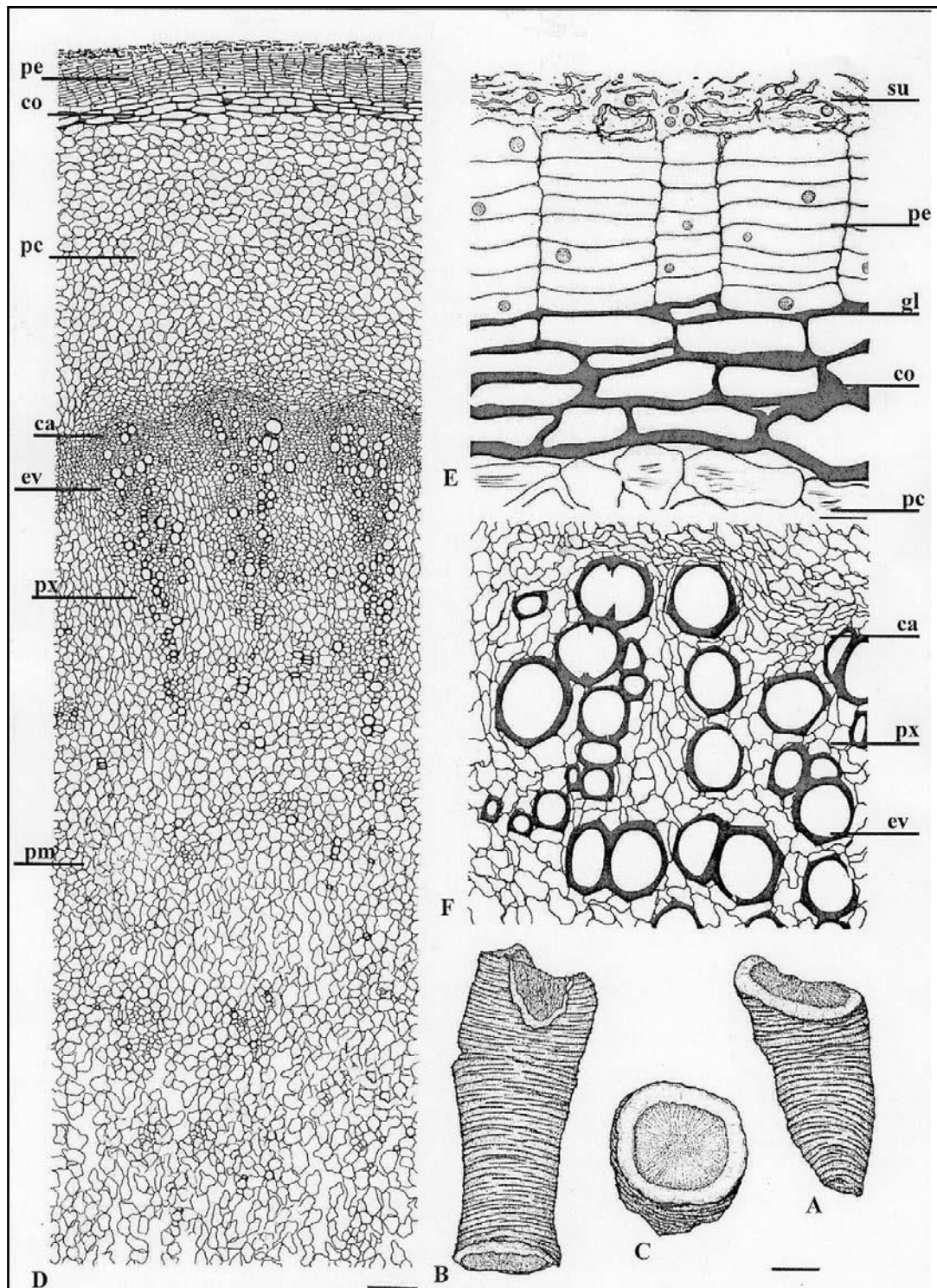


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Gentiana lutea* L.

As escalas correspondem: em A até C a 2 cm, em D a 150 μm , em E e F a 50 μm .

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).

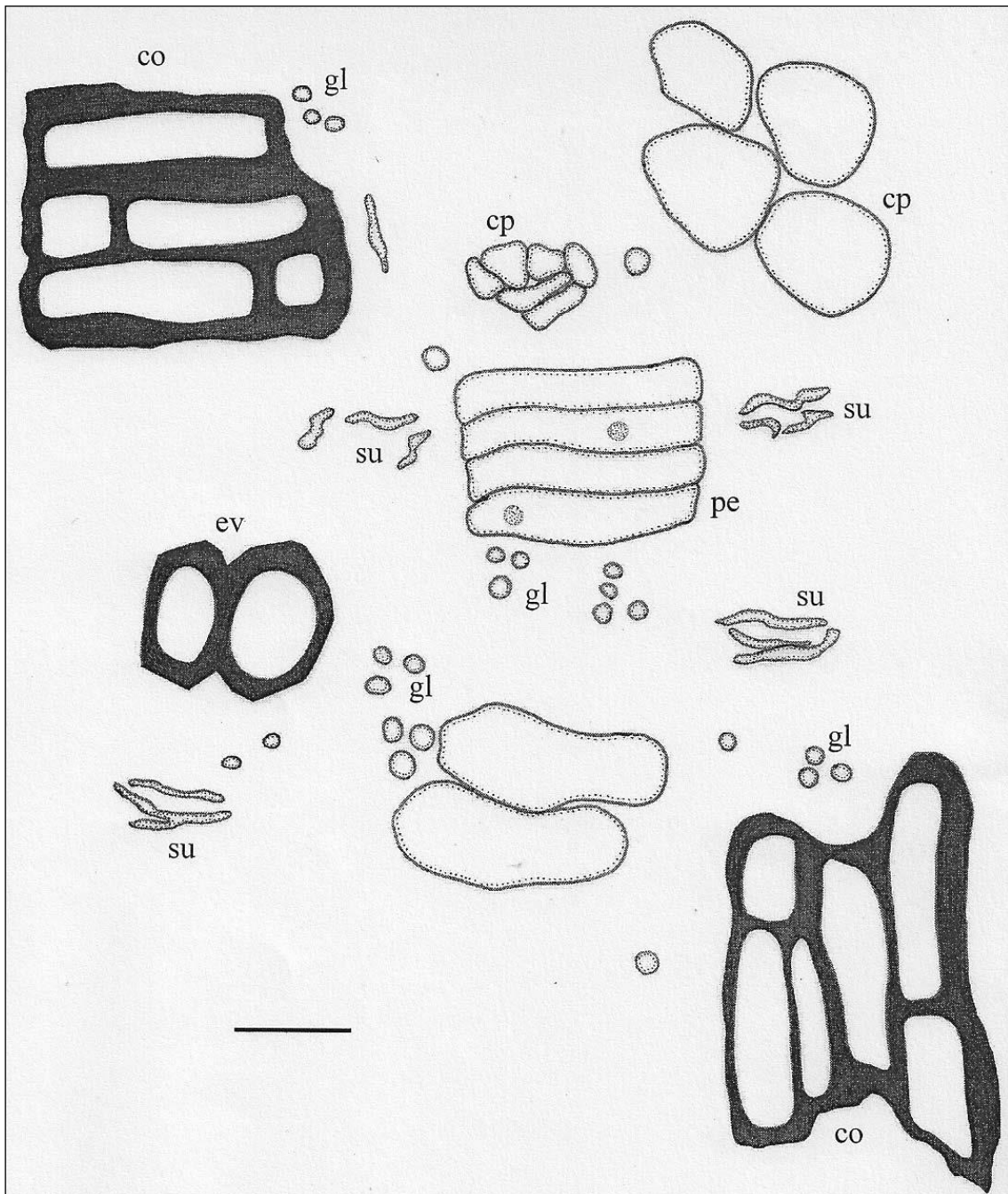


Figura 2 - Aspectos microscópicos do pó em *Gentiana lutea* L.

A escala corresponde a 50 μ m.

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).

GENGIBRE, rizoma

Zingiberis rhizoma

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

CARACTERÍSTICAS

Os rizomas apresentam odor forte, picante e característico.

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

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

B. Descrição microscópica

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

C. Descrição microscópica do pó

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

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

Fase estacionária: sílica-gel GF₂₅₄.

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

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

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

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

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

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

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

TESTES

Água (5.2.20.2). No máximo 12%.

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

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

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

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

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

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

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

DOSEAMENTO**Gingeróis**

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 282 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm),

mantida à temperatura ambiente (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Pequenos ajustes no fluxo e gradiente poderão ser necessários com a troca de aparelhagem e coluna cromatográfica.

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

Eluente (B): acetonitrila.

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

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

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

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

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

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

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

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

em que,

TG = teor de gingeróis % (p/p);

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

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

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

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

Shogaóis

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 282 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto. Pequenos ajustes no fluxo e gradiente poderão ser necessários com a troca de aparelhagem e coluna cromatográfica.

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

Eluente (B): acetonitrila.

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

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

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

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

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

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

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

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

em que,

TS = teor de shogaóis % (p/p);

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

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

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

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

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

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

Em que:

R = resolução dos picos;

tr₁ = tempo de retenção do primeiro pico;

tr₂ = tempo de retenção do segundo pico;

wr₁ = largura do primeiro pico medida a meia altura;

wr₂ = largura do segundo pico medida a meia altura.

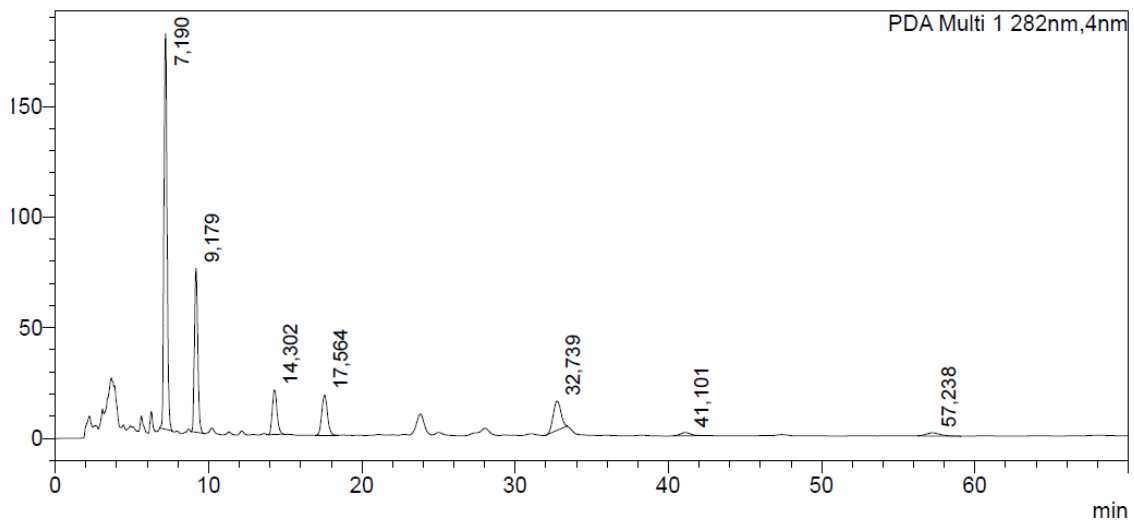


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo de extrato etanólico de *Zingiber officinale* em 282 nm. Em tempo de retenção (tr) de aproximadamente sete minutos, visualiza-se o pico referente ao 6-gingerol; em tr nove minutos, capsaicina; em tr 14 minutos, 8-gingerol; em tr 17 minutos, 6-shogaol; em tr 32 minutos,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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e calor.

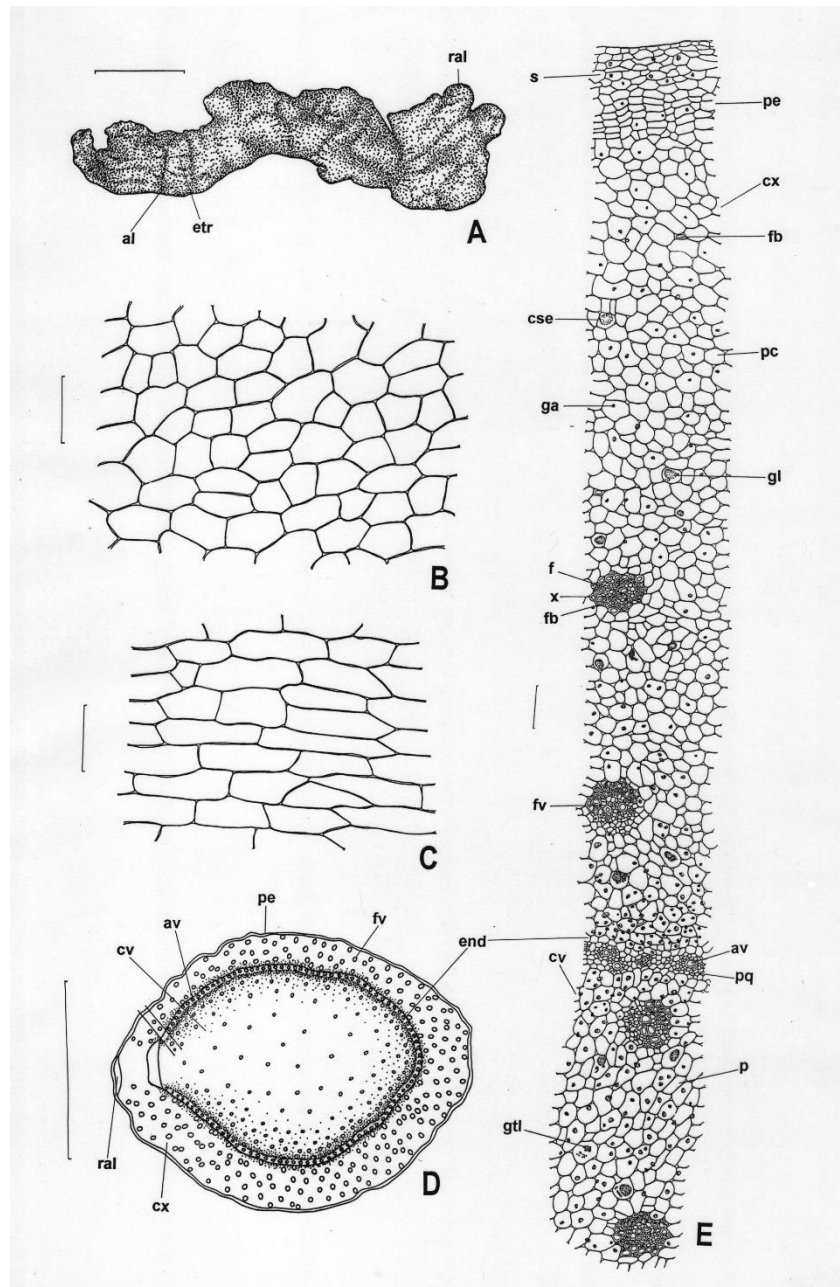


Figura 2 - Aspectos macroscópicos e microscópicos do rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe.

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

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

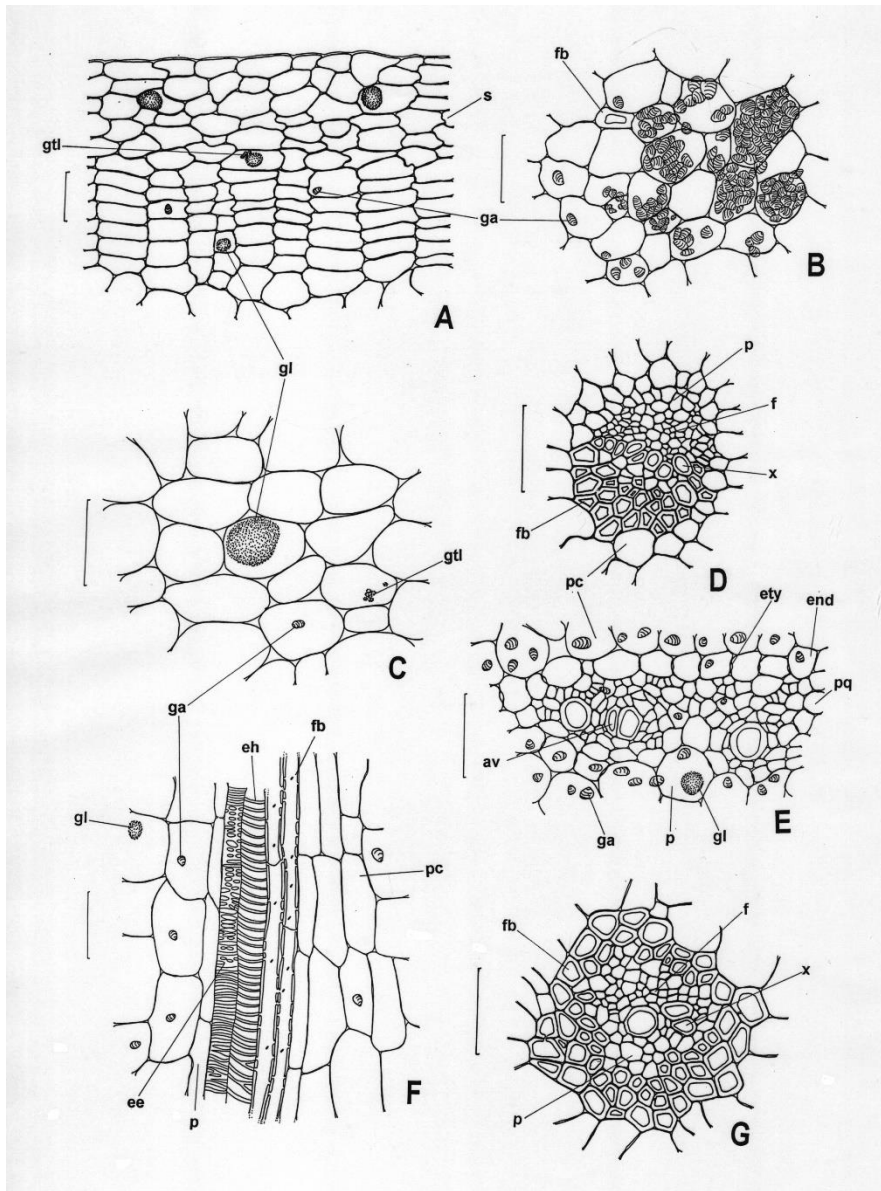


Figura 3 - Aspectos microscópicos do rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe.

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

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

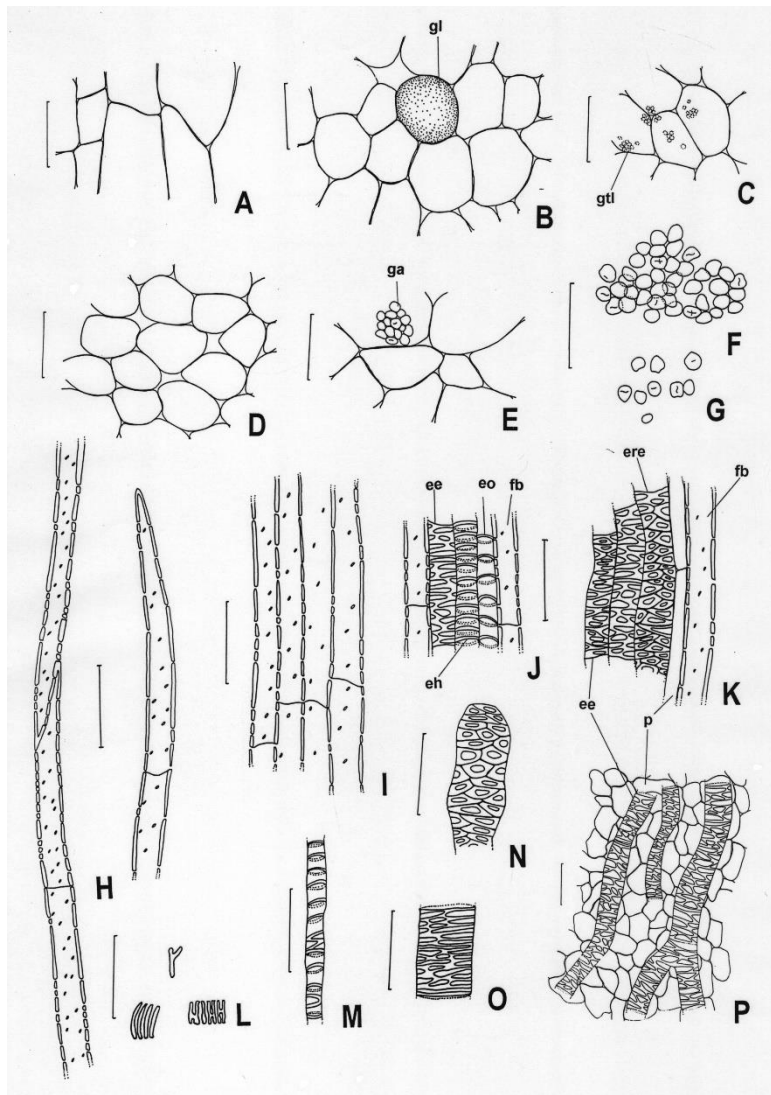


Figura 4 - Aspectos microscópicos do pó de *Zingiber officinale* Roscoe.

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

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

GOIABEIRA, folha

Guajavae folium

A droga vegetal consiste de folhas secas de *Psidium guajava* L., contendo, no mínimo 10,0% 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 a 15 cm de comprimento e 3 a 6 cm de largura; ápice obtuso ou acuminado, base obtusa e margem inteira; áreas translúcidas pouco aparentes; lâminas discolores, 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, hipostomática; 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 nesse 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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, álcool metílico, 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 álcool metílico 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 álcool metílico.

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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Quercetina: zona de coloração amarela	Zona de coloração verde azulada
	Zona de coloração alaranjada
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:

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 - 3	85 → 55	15 → 45	gradiente linear
3 - 8	55	45	isocrática
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 pulverizada (355 µm) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 50 mL. Adicionar 10 mL de álcool metílico 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*.

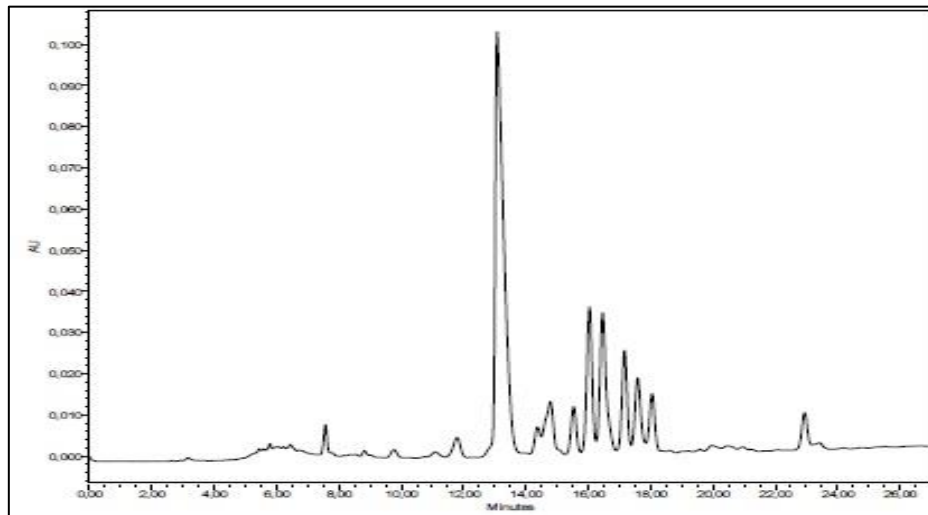


Figura 1– Perfil ilustrativo do extrato metanólico das folhas de *Psidium guajava* L.

TESTES

Água (5.2.20.2). Método azeotrópico. No máximo 12,0%.

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 9,0%.

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

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

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 pulverizada (355 µm) (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, diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio

SR e homogeneizar. Determinar a absorvância em 715 nm (A_1), exatamente três 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, diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Determinar a absorvância em 715 nm (A_2), exatamente três 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 três 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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times 13,12}{A_3 \times m}$$

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*;

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

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 μ m), mantida a temperatura de (22 \pm 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 1,0 mL/minuto.

Eluente (A): água e ácido fórmico (100:0,1).

Eluente (B): álcool metílico.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 – 3	60	40	isocrática
3 – 15	60 \rightarrow 0	40 \rightarrow 100	gradiente linear
15 – 16	0 \rightarrow 60	100 \rightarrow 40	gradiente linear
16 – 21	60	40	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga vegetal seca e pulverizada (355 μ m) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 20 mL de álcool metílico 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 álcool metílico 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 esse 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 de filtro contendo sulfato de sódio anidro, para um novo balão de fundo redondo de 100 mL. Realizar esse processo de extração mais quatro vezes, totalizando 50 mL. Evaporar a fase orgânica obtida até obter resíduo totalmente seco. Suspender o resíduo com álcool metílico 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 álcool metílico a 50% (v/v). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de quercetina em álcool metílico para obter solução a 1 mg/mL. Diluir a solução com álcool metílico a 50% (v/v) para obter solução com concentração de 0,038 mg/mL. 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 a área sob o pico referente à quercetina. O tempo de retenção médio é de aproximadamente nove 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, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente à quercetina na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente à quercetina na *Solução amostra*;

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

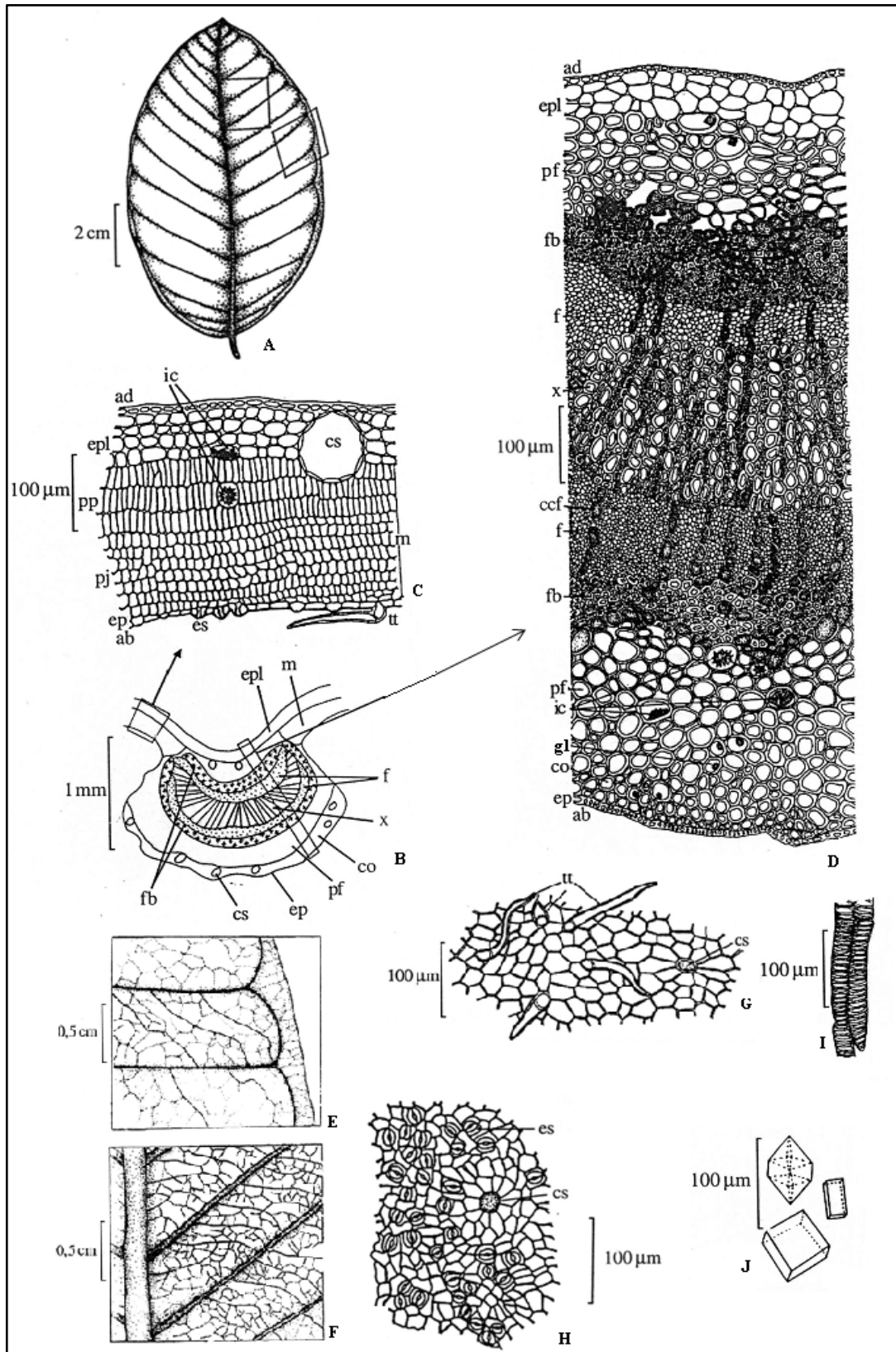


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Psidium guajava* L.

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 μ m.

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 a 15 cm de comprimento e 4 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 hipostomática 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 paliádico 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 álcool etílico 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 álcool metílico.

Revelador: dissolver 10 g de hidróxido de potássio em 100 mL de álcool etílico.

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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Cumarina: zona de fluorescência azul-esverdeada	Zona de fluorescência azul-esverdeada
Ácido <i>o</i> -cumárico: zona de fluorescência azul-esverdeada	Zona de fluorescência azul-esverdeada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* No máximo 13,0%.

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 16,0%.

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.

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 álcool metílico (53:47).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga seca e pulverizada (500) (5.2.11) e transferir, quantitativamente, para balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico a 50% (v/v). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de cumarina em álcool metílico para obter a concentração de 10 µg/mL. 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. 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, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente à cumarina na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente à cumarina na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

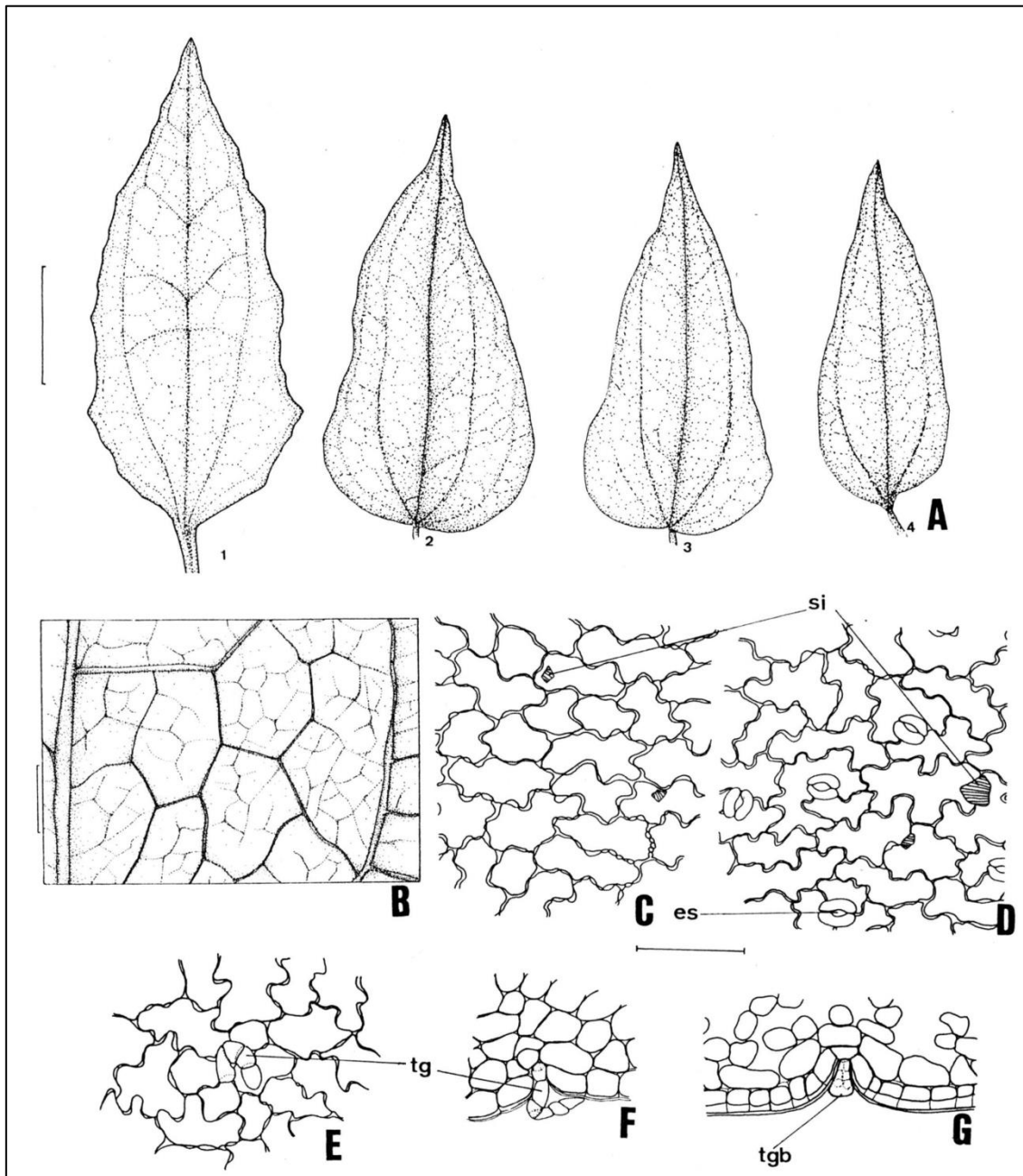


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e da microscopia do pó em *Mikania laevigata* Sch.Bip. ex Baker

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 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 seção transversal, com um tricoma glandular; tricoma glandular (tg). **G** - detalhe de porção do mesofilo, voltado para a face abaxial, em seção transversal, mostrando tricoma glandular bisseriado (tgb).

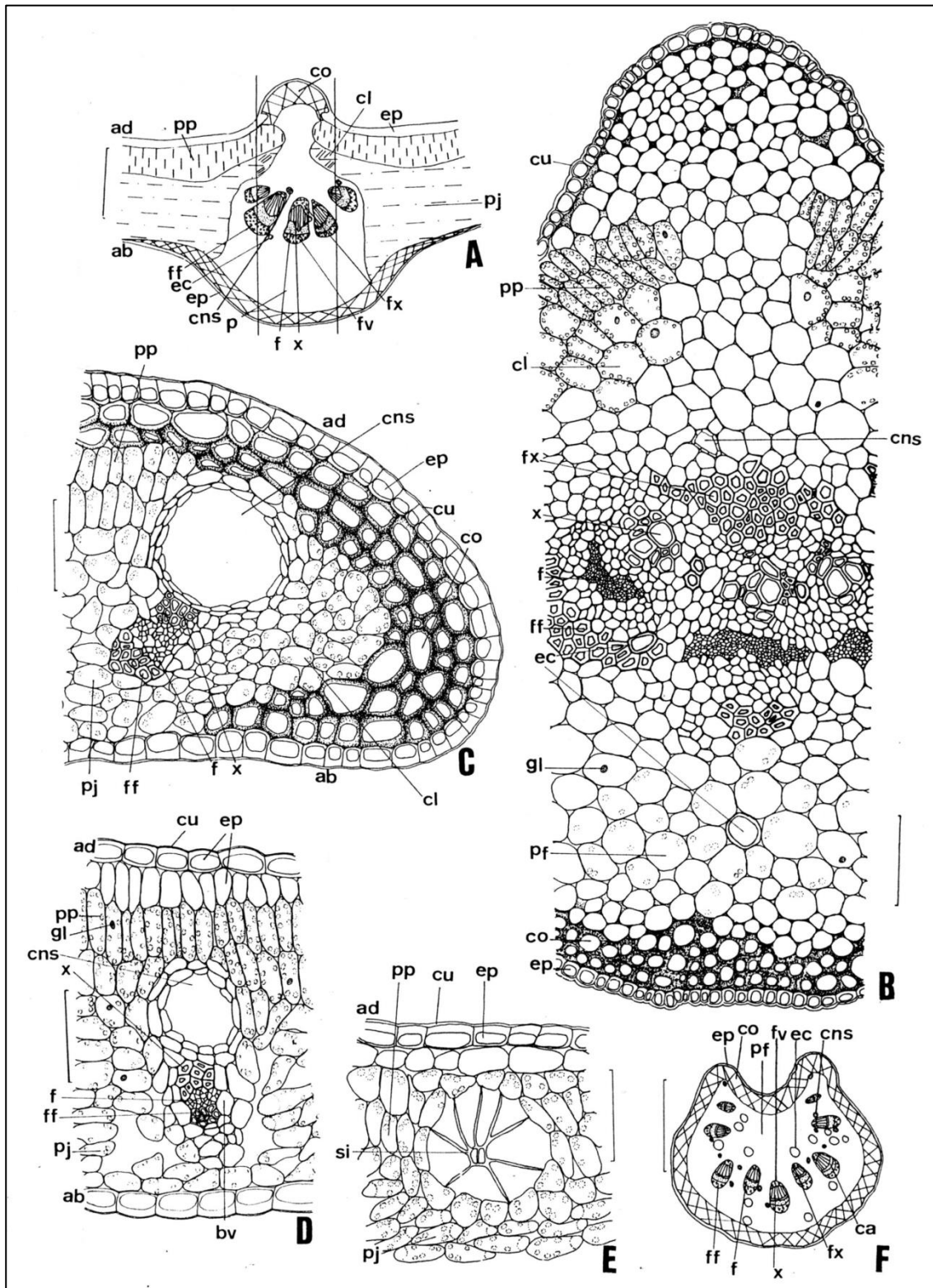


Figura 2 – Aspectos microscópicos em *Mikania laevigata* Sch.Bip. ex Baker

As escalas correspondem: em **A** a 300 μm ; em **B**, **C**, **D** e **E** a 100 μm ; 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 (pf); parênquima esponjoso (pj); 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 (pj);

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, semente

Paulliniae semen

A droga vegetal consiste de sementes secas, desprovidas de arilo e tegumento (casquilho) de *Paullinia cupana* Kunth, contendo, no mínimo, 4,0% de taninos totais, no mínimo, 5,0% de metilxantinas, e, no mínimo, 3,5% de cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$, 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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 carnoso, 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 parda-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. Essas 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 (70:30:5).

Solução amostra: pesar 1 g da droga pulverizada 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 álcool metílico.

Solução referência: solução a 1 mg/mL de catequina em álcool metílico.

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 três minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Catequina: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração castanha
<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, álcool metílico e água (10:1,4:1).

Solução amostra: agitar 1 g da droga em 3 mL de hidróxido de amônio a 25% (v/v) e 40 mL de cloreto de metileno durante 15 minutos. Filtrar e levar à secura uma alíquota de 5 mL, em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico e proceder a análise cromatográfica.

Solução referência: solução a 1 mg/mL de cafeína em álcool metílico.

Revelador (1): solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em álcool etílico.

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 álcool etílico, e, em seguida, com solução de iodo SR.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Cafeína: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração pardo-castanha
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. No máximo 12,0%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 3,0%, incluindo o casquilho.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 2,0%, 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 pulverizada (500 μm) (5.2.11), 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 três 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 e homogeneizar. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR, diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. 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, completar o volume com água e homogeneizar. Diluir 5 mL dessa solução em balão volumétrico de 100 mL com água e homogeneizar. Misturar 5 mL dessa solução com 2 mL do reagente ácido fosfotúngstico SR, diluir em balão volumétrico de 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. 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, expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 utilizada, considerando a perda por dessecação;

m_2 = massa em gramas, de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

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 μ m) (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) e homogeneizar. Transferir uma alíquota de 1 mL desta solução para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) e homogeneizar.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de cafeína em ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) para obter solução a 11 μ g/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 μ g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

m = massa em gramas da amostra utilizada, 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 octadecilsilano (4 μ m); fluxo da *Fase móvel* de 0,6 mL/minuto. Sistema isocrático.

Fase móvel: água, álcool metílico e ácido trifluoracético (70:30:0,005).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,100 g da droga vegetal seca e pulverizada (500 µm) (5.2.11) em balão de fundo redondo. Adicionar 15 mL de álcool etílico 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 álcool etílico a 70% (v/v), sob refluxo, durante 10 minutos. Após resfriamento, filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool etílico a 70% (v/v) e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de cafeína em álcool metílico para obter solução a 130 µg/mL. 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. O tempo de retenção médio para o pico da cafeína é de 8 minutos e 30 segundos. 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, considerando a pureza da substância de referência;

A_a = área sob o pico correspondente à cafeína na *Solução amostra*;

A_r = área sob o pico correspondente à cafeína na *Solução referência*;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

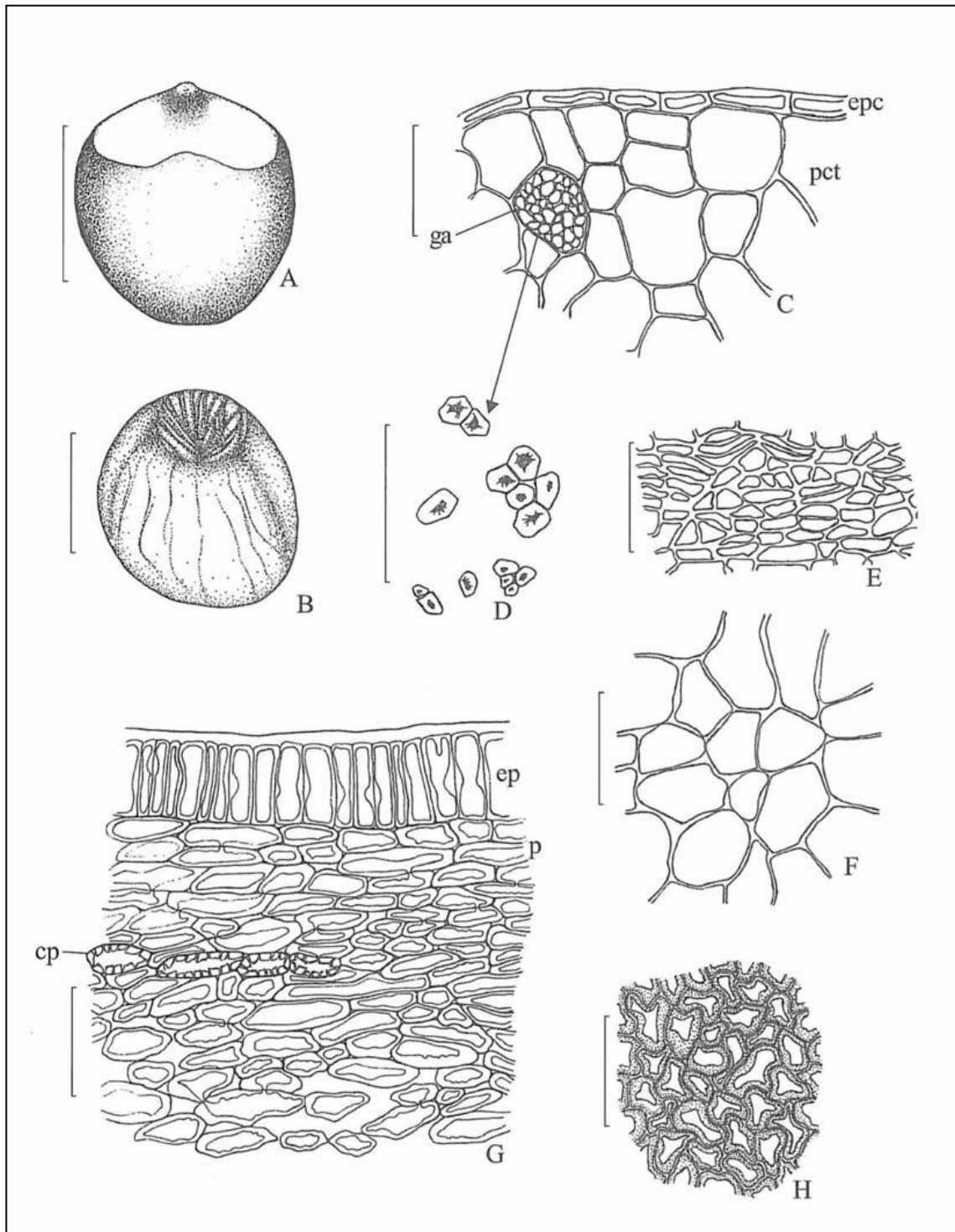


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Paullinia cupana* Kunth

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, folha

Hamamelidis folium

A droga vegetal consiste de folhas secas, inteiras ou fragmentadas de *Hamamelis virginiana* L., contendo, no mínimo, 3,0% 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 penínérvea, com nervura principal saliente na face abaxial, nervuras secundárias alternas e retílineas, 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 hipoestomática 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. Astrosclereídes atravessam o mesofilo, podendo alcançar de uma epiderme à outra. Os feixes vasculares de menor calibre e da nervura principal estão envoltos por uma bainha com cristais prismáticos e, geralmente, contêm fibras esclerenquimáticas ou esclereídes associadas aos tecidos vasculares.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz 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 tufos (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 g da droga vegetal, adicionar 10 mL de álcool metílico 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 álcool metílico e proceder a análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido gálico em álcool metílico, para obter uma concentração de 1000 µg/mL

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de hamamelitanino em álcool metílico, 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 álcool etílico. Examinar a placa sob a luz visível.

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

<i>Parte superior da placa</i>		
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentado		Zona de coloração azul acinzentado
		Zona de coloração verde
	Hamamelitanino: zona de coloração azul-acinzentado	Zona de coloração azul-acinzentado
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* No máximo 14,0%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo 7,0%.

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

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2,0%.

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.

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 e homogeneizar. 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, completar o volume com solução de carbonato de sódio SR e homogeneizar. 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 de filtro com 125 mm de diâmetro. Diluir 5 mL desse 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 SR e homogeneizar. 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, 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 SR e homogeneizar. 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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 utilizada, considerando a perda por dessecação;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

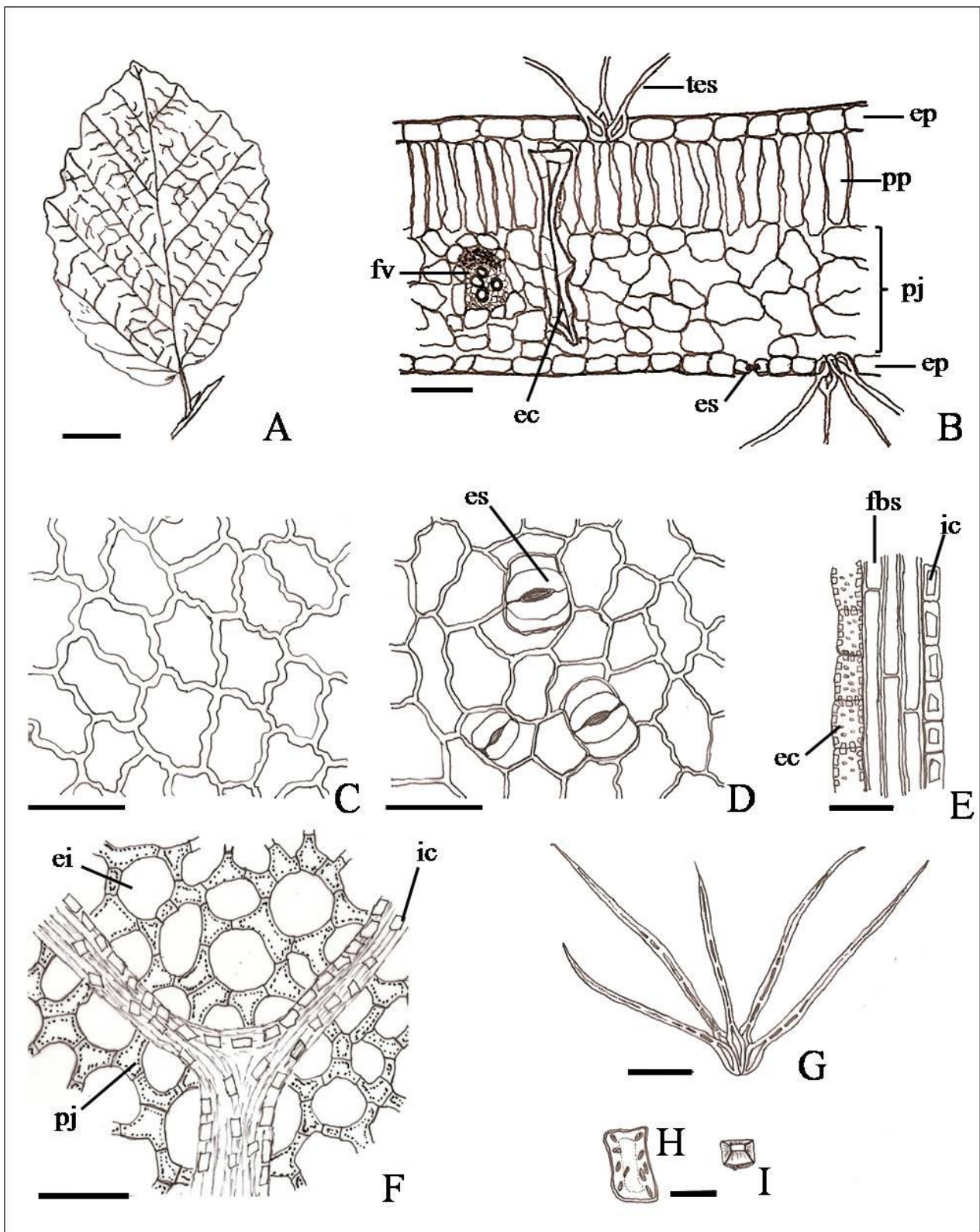


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Hamamelis virginiana* L.

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 paliádico (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.

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 (C₂₁H₂₁NO₆, 383,39) e, no mínimo, 3,0% de berberina (C₂₀H₁₈NO₄, 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 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

A amostra satisfaz 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 álcool metílico (20:80). Sonicar durante 10 minutos e filtrar. Lavar o resíduo duas vezes com 2 mL de álcool metílico. 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 álcool metílico.

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 solução de iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR e examiná-la novamente.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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 2,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 10,0%.

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.

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 hidróxido de amônio a 1% (v/v) em álcool etílico. 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 hidróxido de amônio a 1% (v/v) em álcool etílico, 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 hidróxido de amônio a 1% (v/v) em álcool etílico. Evaporar o filtrado até secura, sob pressão reduzida, em banho-maria a 55 °C. Dissolver o resíduo em *Fase móvel*, num balão volumétrico de 50 mL, completar o volume e homogeneizar. Diluir 1 mL da solução obtida para 50 mL, utilizando a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver 10 mg de cloridrato de hidrastina e 10 mg de cloreto de berberina em álcool metílico, 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 álcool metílico 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.

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 o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

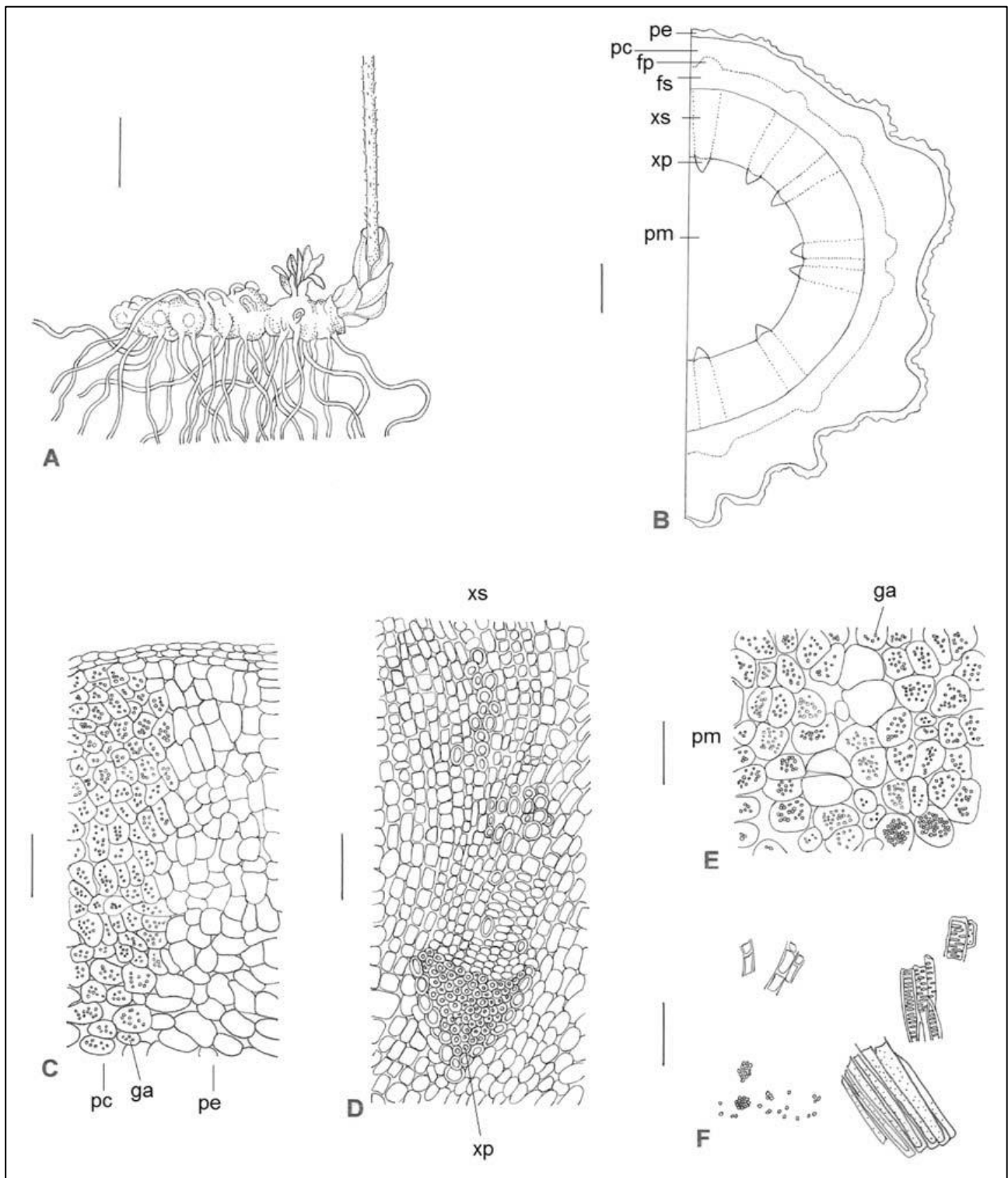


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Hydrastis canadensis* L.

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-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 contituído 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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 anticliniais 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 mL de acetato de etila.

Solução referência: 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 a 254 nm. Nebulizar com vanilina sulfúrica SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante um minuto. Após visualização, aquecer durante mais três minutos.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de zonas, obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após exame sob a luz ultravioleta, nebulização com o revelador e aquecimento durante um minuto, e, aquecimento durante mais três minutos, respectivamente. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

Parte superior da placa	
Carvona e pulegona: zona de fluorescência castanho-avermelhado	Zona de fluorescência castanho-avermelhado
	Zona de fluorescência azul
Solução referência	Solução amostra

Parte superior da placa	
	Zona de coloração violeta avermelhado
Acetato de mentila: zona de coloração violeta-azulado	Zona de coloração violeta-azulado
1,8-Cineol: zona de coloração violeta-claro	Zona de coloração violeta-claro
Pulegona: zona de coloração verde-acastanhado	Zona de coloração verde-acastanhado
Carvona: zona de coloração rosa-claro	Zona de coloração rosa claro
Mentol: zona de coloração azul a violeta intenso	Zona de coloração azul Zona de coloração azul a violeta intenso
	Zona de coloração azul
Solução referência	Solução amostra

Parte superior da placa	
	Zona de coloração violeta avermelhado
Acetato de mentila: zona de coloração violeta-azulado	Zona de coloração violeta-azulado
1,8-Cineol: zona de coloração violeta-claro	Zona de coloração violeta-claro
Pulegona: zona de coloração verde-acastanhado	Zona de coloração verde-acastanhado
Carvona: zona de coloração rosa-claro	Zona de coloração rosa claro
Mentol: zona de coloração azul a violeta intenso	Zona de coloração azul a violeta intenso
Solução referência	Solução amostra

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 xileno no tubo graduado. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil a partir de 50 g da droga pulverizada. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

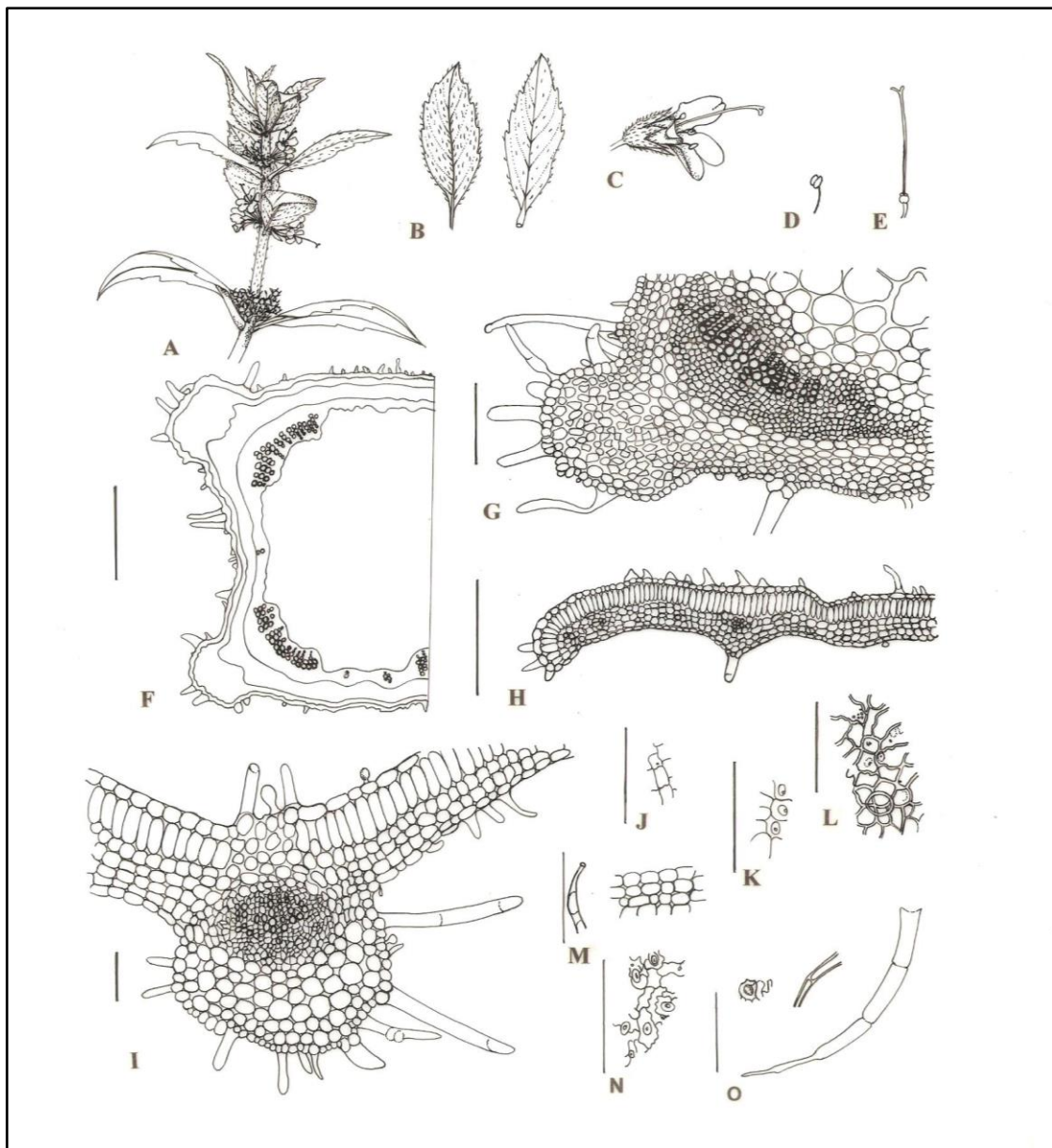


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Mentha arvensis* L.

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 diafíticos com células subsidiárias semelhantes às demais células epidérmicas.

HORTELÃ-PIMENTA, folha

Menthae piperitae folium

A droga vegetal consiste de folhas secas, inteiras, quebradas, cortadas ou pulverizadas de *Mentha* × *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 cm de comprimento e 1 a 5 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 três a quatro 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

A amostra satisfaz 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 crispa 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 cinco a 10 minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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 10,0% 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

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 no tubo de ensaio. Utilizar planta seca rasurada. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o

rendimento por 100 g de droga (v/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

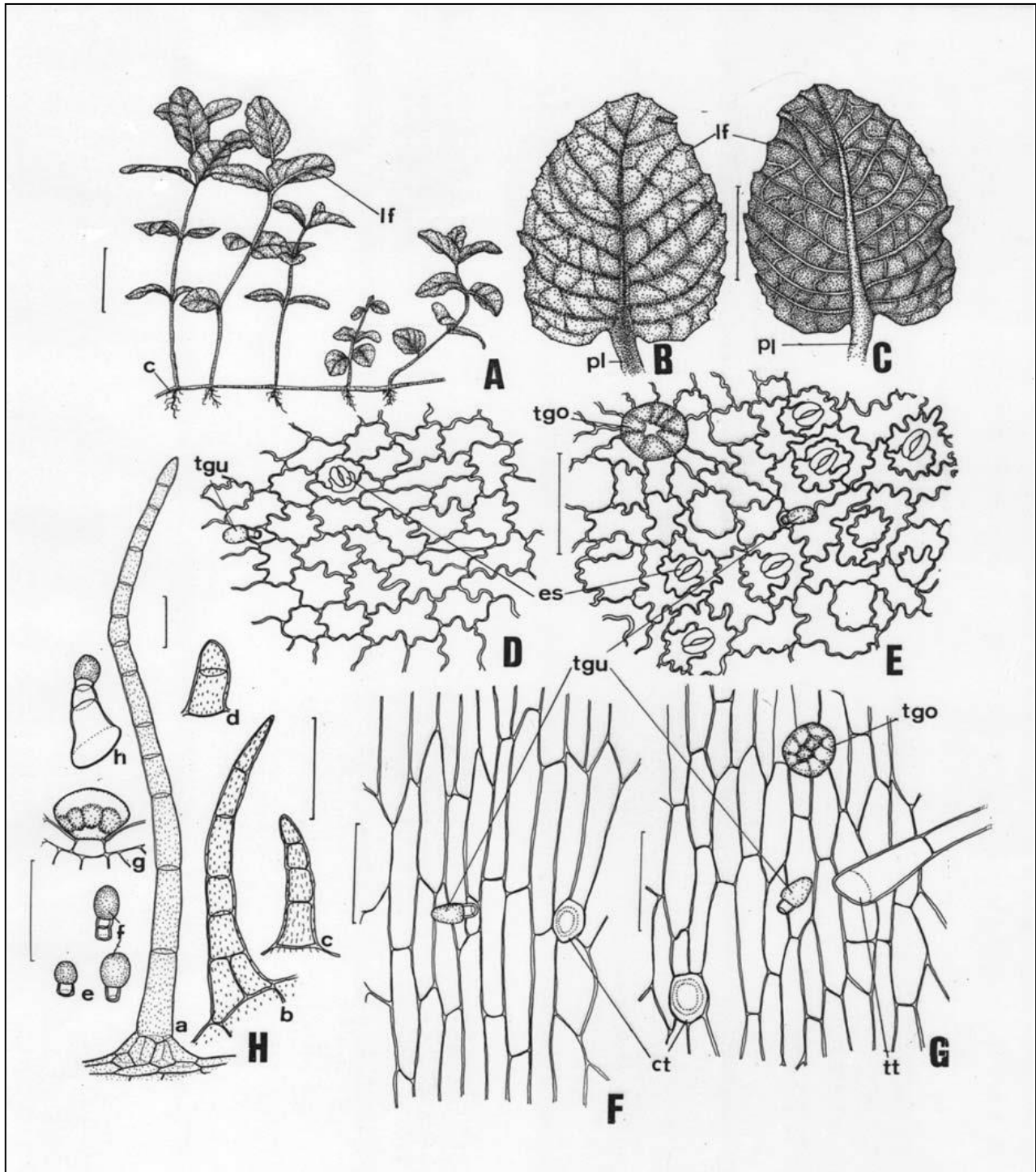


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Mentha x piperita* L.

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).

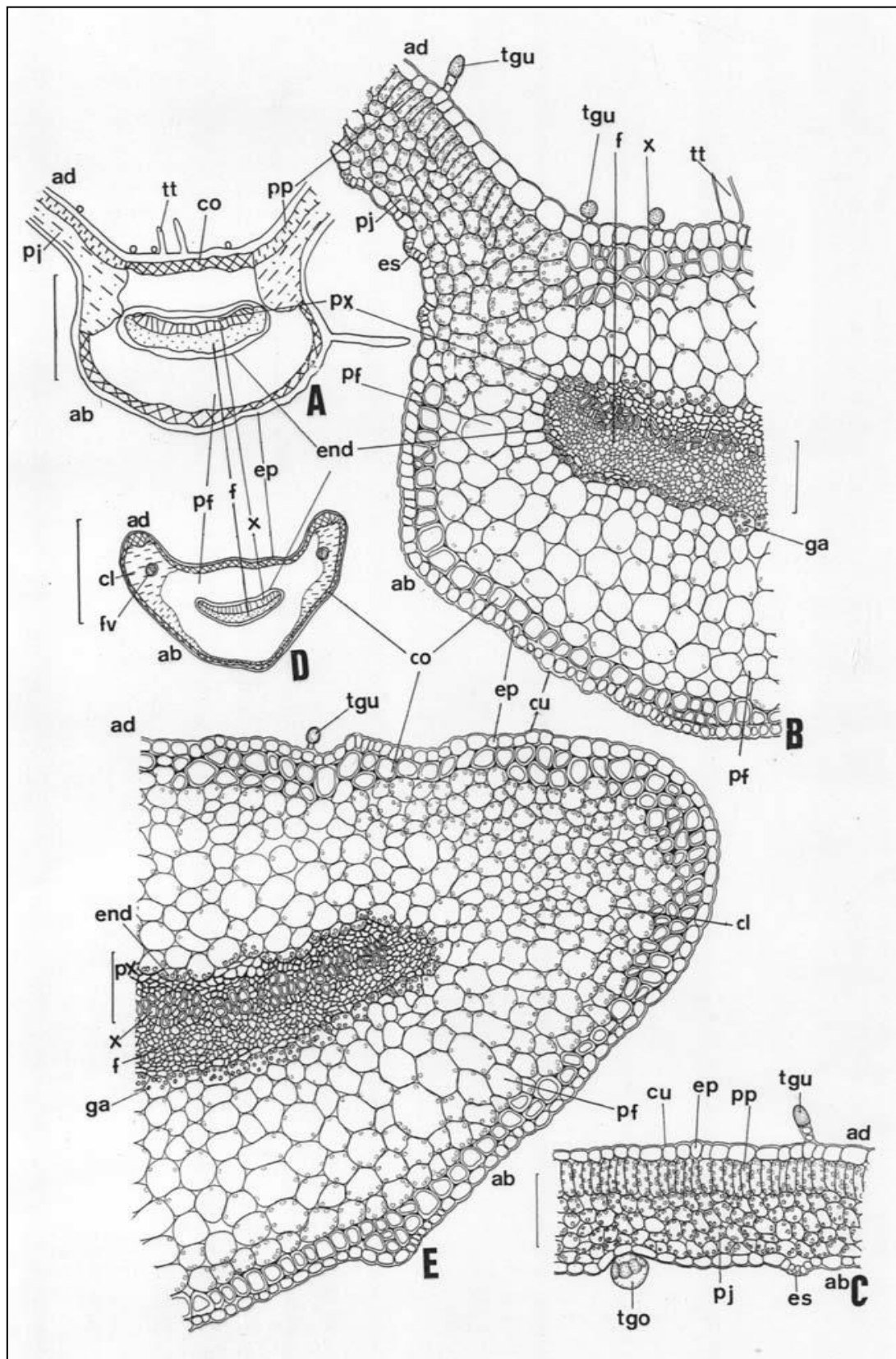


Figura 2 – Aspectos microscópicos em *Mentha × piperita* L.

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).

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 cm de espessura e 3 a 6 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanho-amarelada a esbranquiçada; fibras esclerenquimáticas libriformes; 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 pulverizada, acrescentar 20 mL da mistura álcool metílico 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 álcool metílico.

Revelador: dissolver 0,5 g de timol em 95 mL de álcool etílico 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 *Revelador*, deixar secar ao ar e aquecer a 100 °C durante dois minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
D-Maltose: zona de coloração rósea-amarronzada	Zona de coloração rósea-amarronzada 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 1,0%.

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

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

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). 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.

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 2,0 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, completar o volume com água e homogeneizar. 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, completar o volume com água e homogeneizar. 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, completar o volume com água e homogeneizar. 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:

$$\text{TPT} = \frac{A_1 \times m_2 \times 363,64}{m_1 \times A_2}$$

em que,

TPT = teor de polissacarídeos totais expressos em D-maltose % (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 utilizada, considerando a perda por dessecação;

m_2 = massa em gramas da D-maltose, considerando a pureza da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

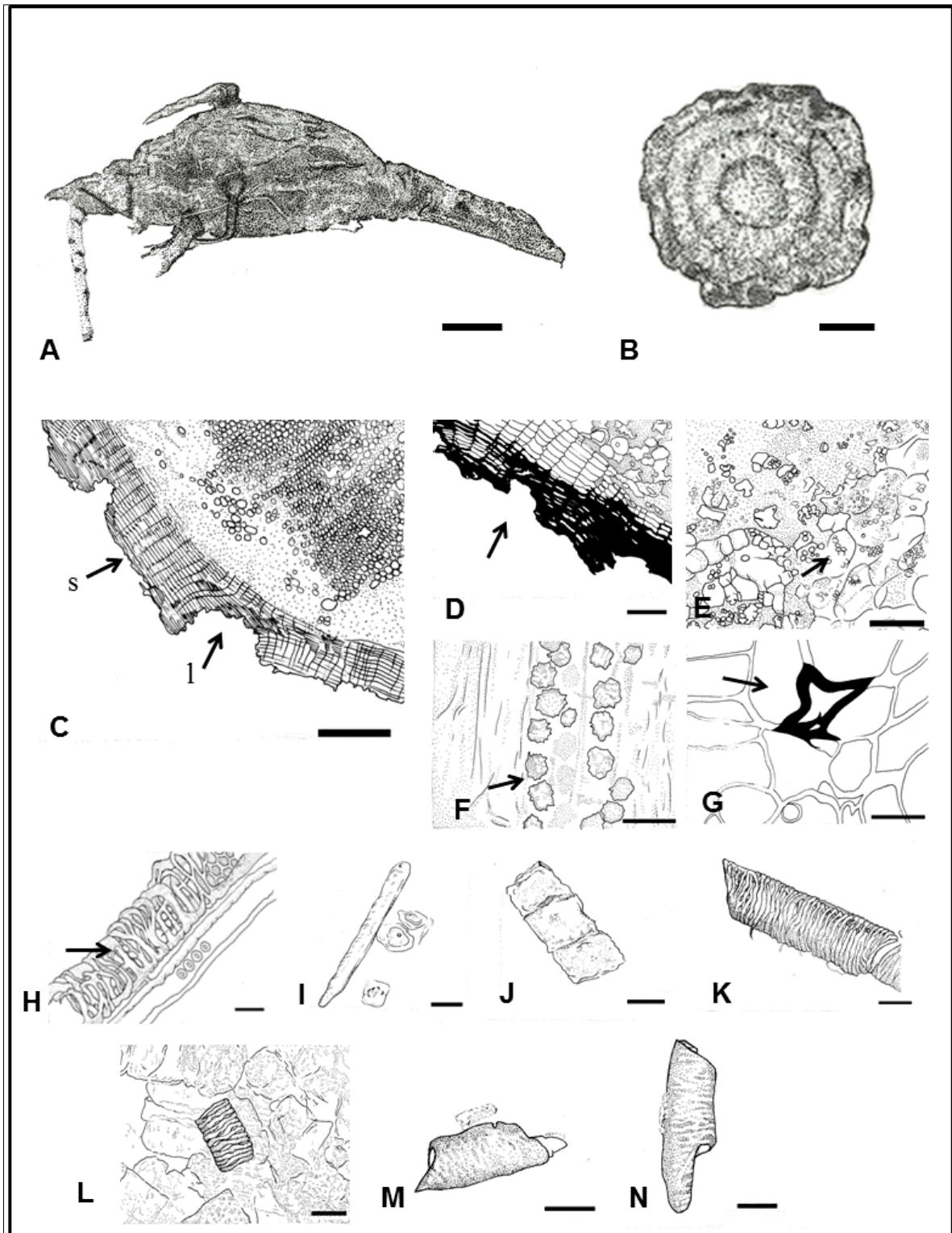


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Operculina macrocarpa* (L.) Urb.

As escalas correspondem em **A** e **B** a 1 cm; **C** e **D** a 100 μm ; **E**, **F**, **G**, **H**, **I**, **J**, **K**, **L**, **M** e **N** a 25 μm .

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 (syn. *Caesalpinia ferrea* Mart.), contendo, no mínimo, 8,0% de taninos totais e, no mínimo, 0,02% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

As cascas caulinares, quando secas, apresentam-se em fragmentos levemente curvos, variáveis em tamanho, com 9 a 13 cm de comprimento, 1,5 a 4 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 nesse 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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 álcool metílico durante cinco minutos. Filtrar e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada	Zona de coloração marron 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 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 álcool etílico. 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 álcool metílico 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 (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* No máximo 13,0%.

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

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

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.

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 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: 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, 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. 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, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol em balão volumétrico de 100 mL com água, completar o volume 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 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_3) após 30 minutos, utilizando água para ajuste do zero.

Calcular o teor de taninos totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

em que,

TT = teor de taninos totais 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 utilizada, considerando a perda por dessecação;

m₂ = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

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.

Eluente (A): ácido trifluoracético a 0,05% (v/v).

Eluente (B): ácido trifluoracético a 0,05% em álcool metílico (v/v).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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	isocrática

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 e homogeneizar. 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

$$TA = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times 200 \times 100$$

em que,

TA = teor de ácido gálico % (p/p);

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

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

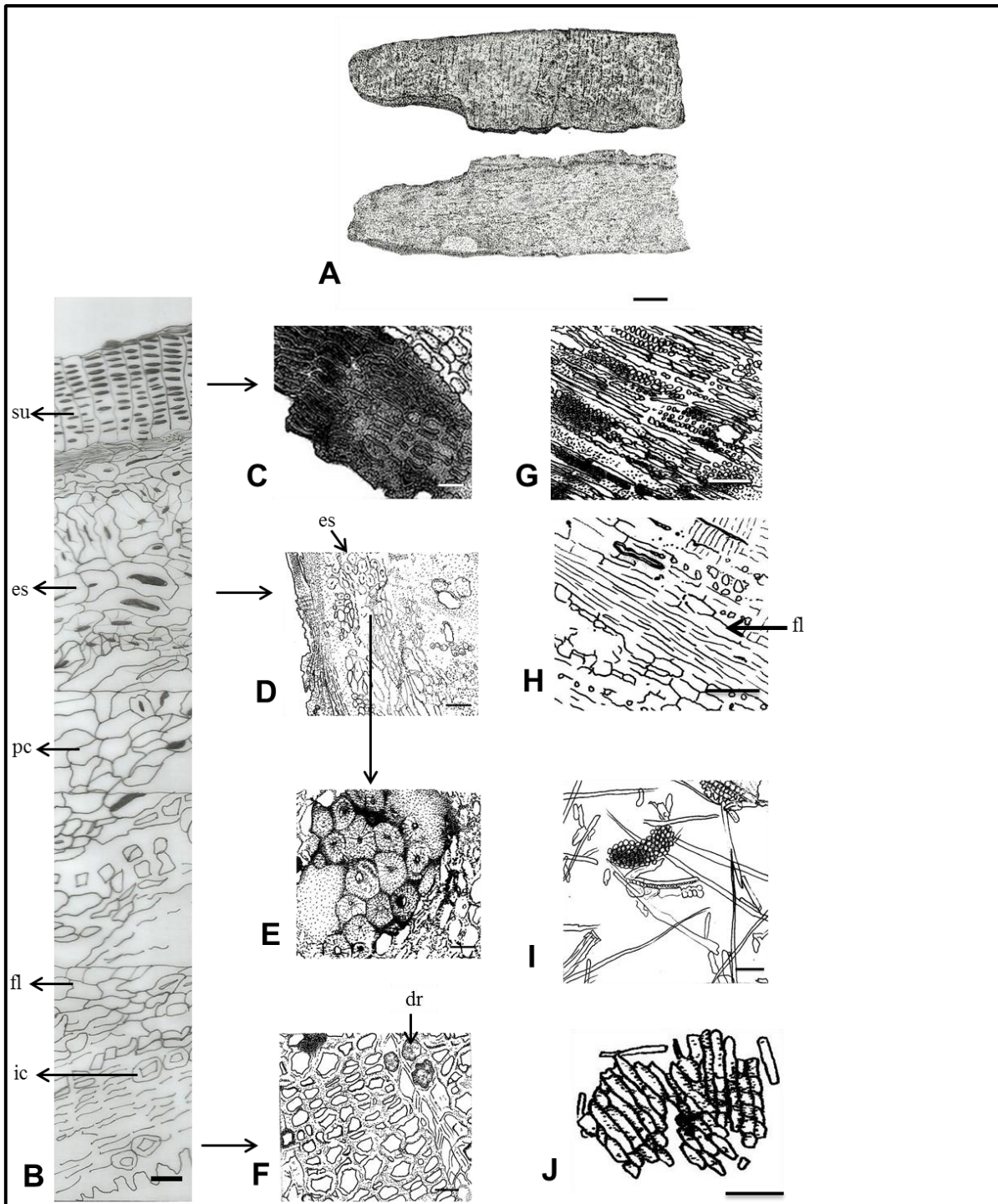
A_a = área sob o pico correspondente ao ácido gálico na *Solução amostra*;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;

200 = fator de diluição.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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



**Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Libidibia ferrea* (Mart.)
L.P.Queiroz**

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; **B** a 25 µm, **C, D, F e G** a 100 µm; **E, H, 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 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 (syn. *Caesalpinia ferrea* Mart.), contendo, no mínimo, 9,0% de taninos totais e, no mínimo, 1,0% de ácido gálico (C₇H₆O₅, 170,12).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Legumes dessecados, de coloração castanha-escura, ligeiramente reniformes a oblongos, achatados, com extremidades levemente pontiagudas, medindo 6 a 8 cm de comprimento, 2 a 4 cm de largura e cerca de 1 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

A amostra satisfaz 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 libriiformes; 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 álcool etílico 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 álcool metílico.

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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentada	Zona de coloração azul-acinzentada
	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 álcool etílico. 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 álcool metílico 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 1,0%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. No máximo 14,0%.

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.

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 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: diluir 5 mL da *Solução estoque* 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_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 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, imediatamente antes do uso, 50 mg de pirogalol em balão volumétrico de 100 mL 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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

em que,

TT = teor de taninos totais 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 utilizada, considerando a perda por dessecação;

m₂ = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

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.

Eluente (A): ácido trifluoracético a 0,05% (v/v).

Eluente (B): ácido trifluoracético a 0,05% em álcool metílico (v/v).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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	isocrática

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 e homogeneizar. 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 minutos e 30 segundos. Calcular o teor de ácido gálico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times 250 \times 100$$

em que,

TA = teor de ácido gálico % (p/p);

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

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 utilizada, considerando a perda por dessecação;

250 = fator de diluição.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

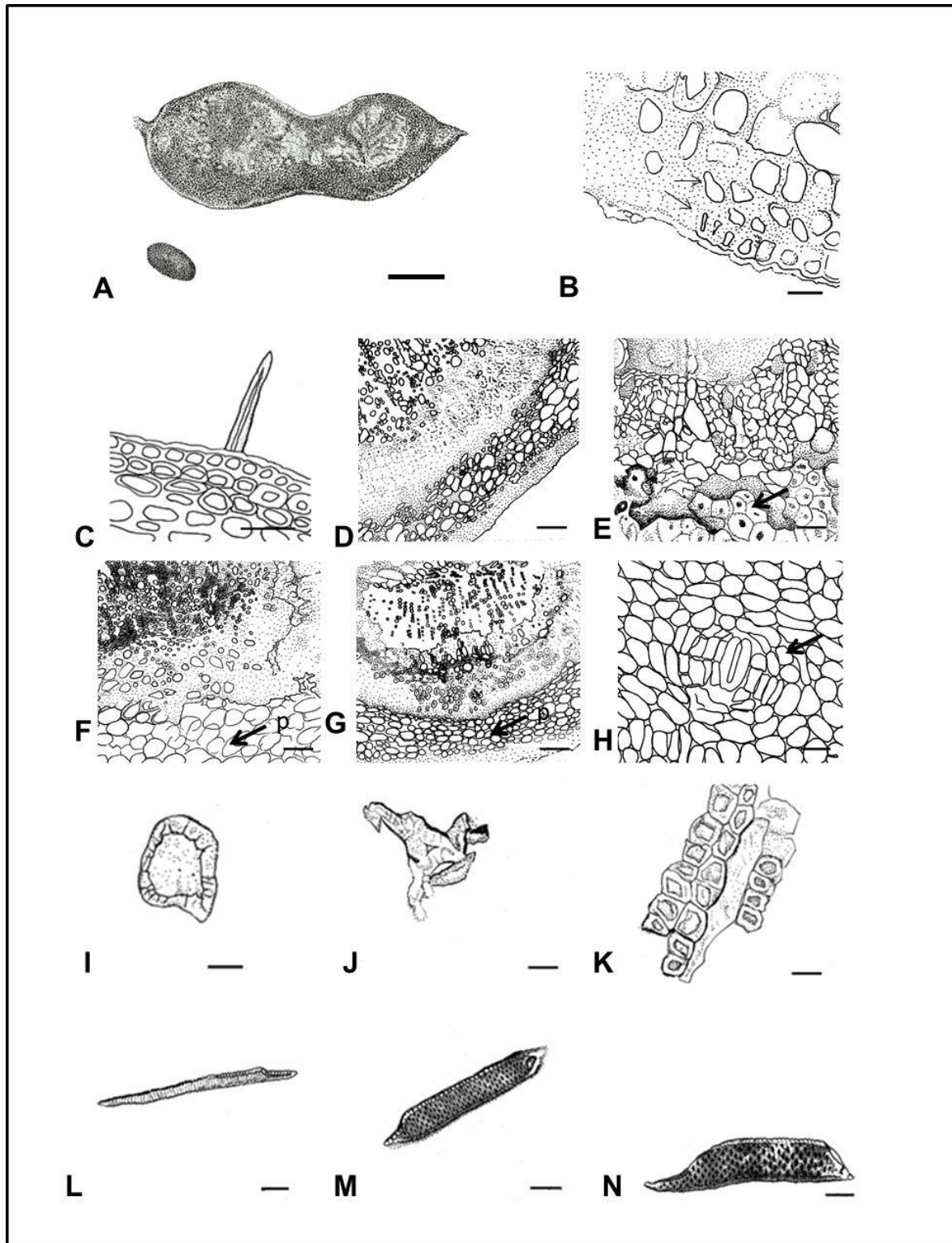


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó do fruto em *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P.Queiroz

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B** e **G** a 100 μm ; **C**, **D**, **E**, **F** e **H** a 25 μm ; **I**, **J**, **K**, **L**, **M** e **N** a 25 μm .

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** – macrosclereíde. **J** – esclereíde ramificado. **K** – células parenquimáticas contendo cristais prismáticos. **L** – fibras esclerenquimáticas librifórmicas. **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, 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 cm de comprimento e até 4 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 anticlinais 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 dessas, 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 desse 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 nesse 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

A amostra satisfaz 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 pulverizada (710 µm) (5.2.11), 10 mL de álcool metílico. 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 álcool metílico.

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 álcool metílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

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

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de fluorescência azul claro	Zona de fluorescência azul clara
	Zona de fluorescência azul claro
Naringina: zona de fluorescência verde intensa	Zona de fluorescência azul clara
	Zona de fluorescência azul claro
	Zona de fluorescência verde intensa
	Zona de fluorescência vermelha
	Zona de fluorescência laranja
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Água (5.2.20.2). *Método azeotrópico.* No máximo 10,0%. Determinar em 20,0 g da amostra pulverizada (355 µm) (5.2.11).

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 no tubo graduado. Utilizar droga vegetal pulverizada (710 µm) (5.2.11). Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 15 g da droga em pó. Destilar durante 90 minutos. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

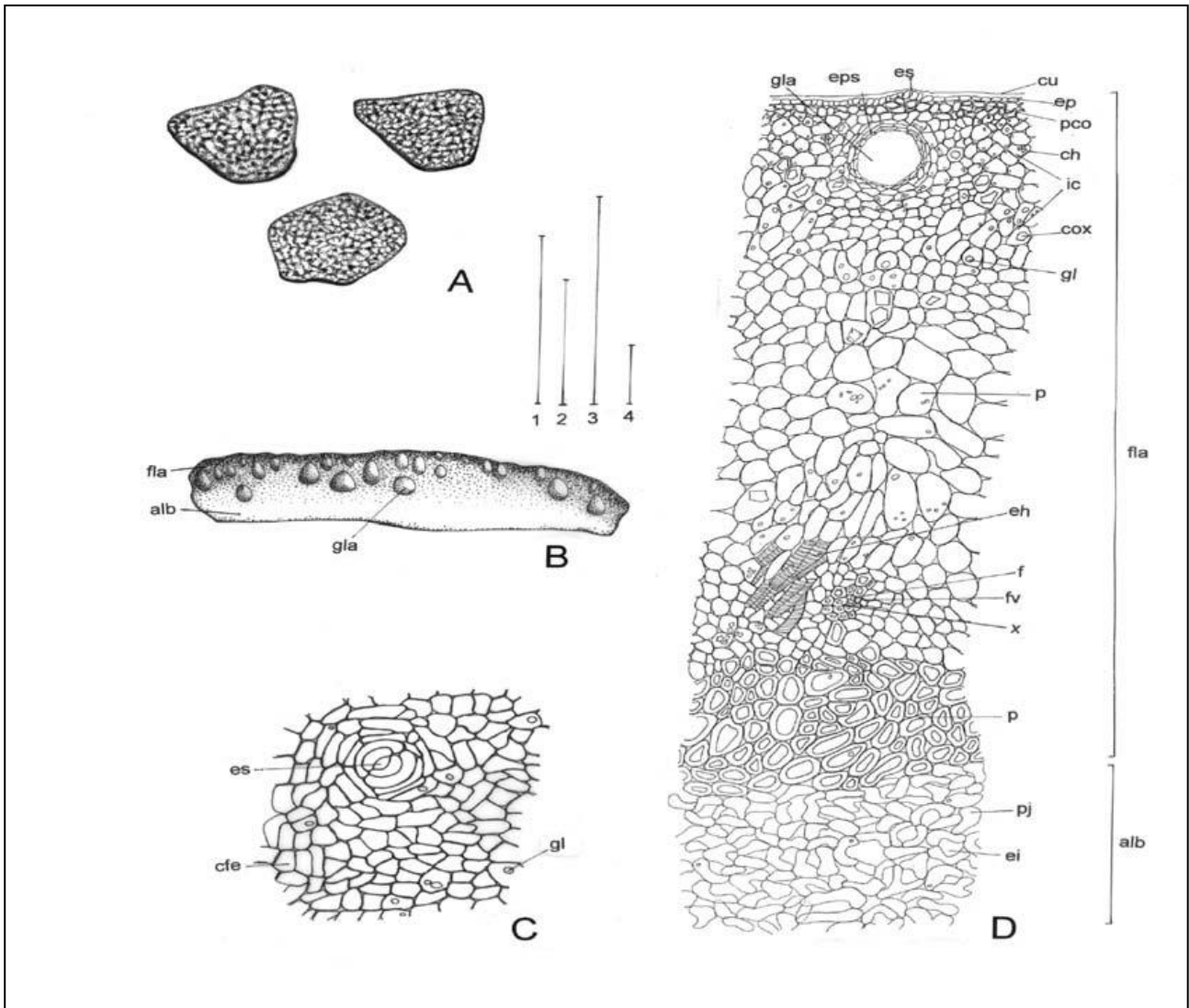


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium*

As escalas correspondem em **A** a 1 cm (régua 1); em **B** a 0,5 cm (régua 2); em **C** a 100 μ m (régua 3); em **D** a 100 μ m (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).

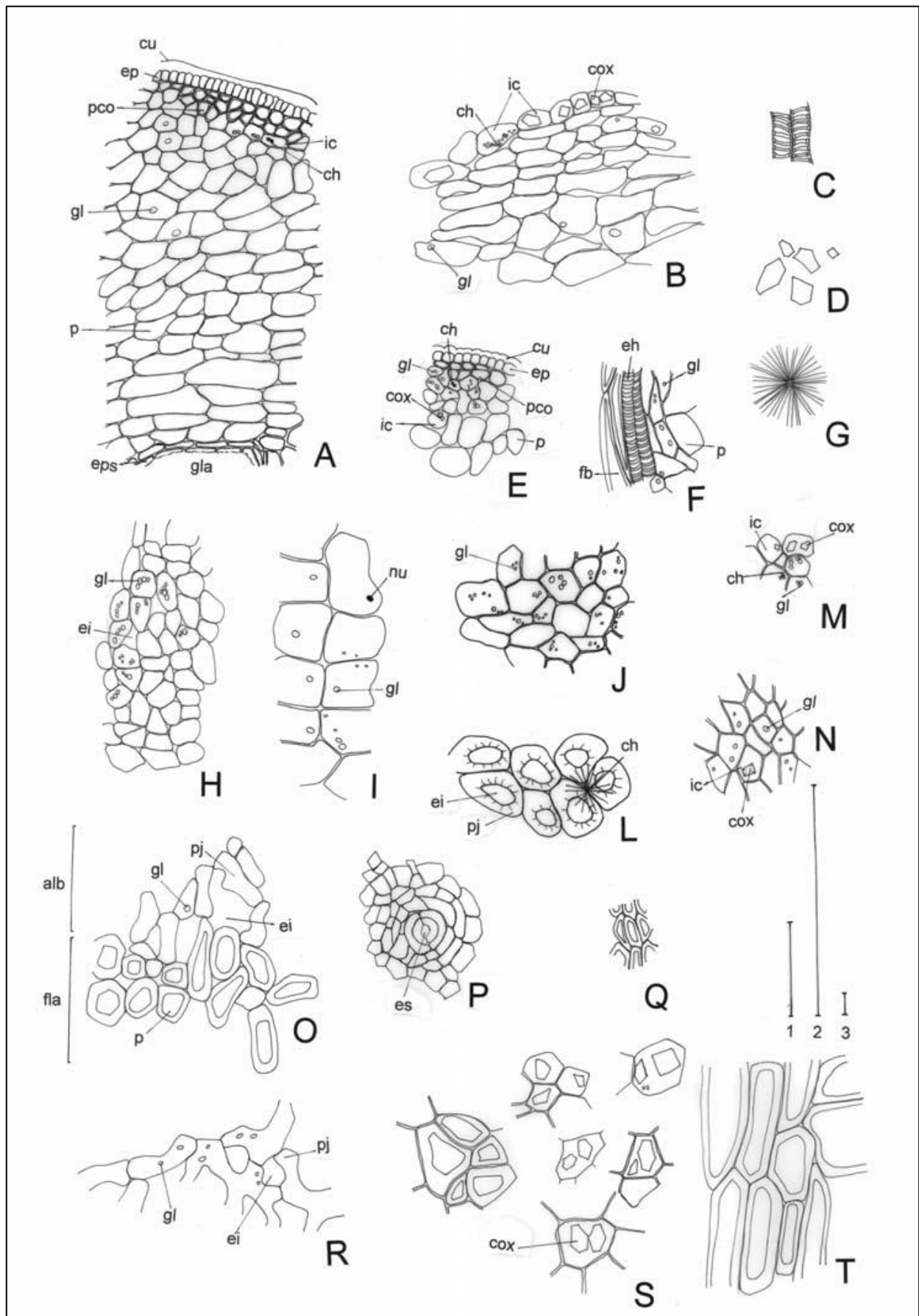


Figura 2 – Aspectos microscópicos e macroscópicos do pó em *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium*

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.

MACELA, flor
Achyroclines flos

A droga vegetal consiste de inflorescências secas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., contendo, no mínimo, 3,0% 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 de 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 a 7 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-parda a amarelo-avermelhada. Brácteas externas de 2,5 a 3 mm de comprimento; brácteas medianas de 3,5 a 4,5 mm de comprimento; brácteas internas de 3 a 7 mm de comprimento, todas com tricomas tectores simples, lanosos, de 2 a 3 mm de comprimento e/ou tricomas glandulares apenas no seu terço inferior externo. Flores marginais três a seis, pistiladas, com corola filiforme, de 3 a 4,5 mm de comprimento, dentada ou partida no ápice, com tricomas glandulares na porção apical externa; estilete filiforme, bifido, 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 a 4,5 mm de comprimento; tubo ligeiramente dilatado na base e limbo pentadentado, dentes com tricomas glandulares na face externa; androceu com cinco estames, epipétalos, inseridos na metade inferior da corola, com anteras sinânteras, de 1,5 a 2 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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 álcool metílico e agitar durante 20 minutos. Filtrar e secar o filtrado em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência (1): preparar solução com concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ de quercetina em álcool metílico.

Solução referência (2): preparar uma solução com concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ de luteolina em álcool metílico.

Solução referência (3): preparar uma solução com concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ de 3-O-metilquercetina em álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com difenilborato de aminoetanol SR, e, em seguida, com solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool metílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm, após, no mínimo duas horas.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução referência (3)*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Luteolina: zona de fluorescência laranja	Zona de fluorescência laranja
3-O-Metilquercetina: zona de fluorescência amarela	Zona de fluorescência amarela
Quercetina: zona de fluorescência laranja	Zona de fluorescência laranja
Solução referência	Solução amostra

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

Fase estacionária: sílica gel GF₂₅₄.

Fase móvel: acetato de etila, álcool metílico, água (100: 17:10).

Solução amostra: agitar 0,1 g da droga em 15 mL de álcool metílico durante 20 minutos. Filtrar e secar o filtrado em banho-maria. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência: preparar solução com concentração de 200 µg/mL de ácido clorogênico em álcool metílico.

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 macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool metílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
	Zona de coloração castanha Zona de fluorescência 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 2,0%. É permitida a presença de pedúnculos e pedicelos das inflorescências, em um comprimento de até 3 cm e correspondendo a um valor máximo de 1,0% do peso seco do conjunto.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. No máximo 12,5%.

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.

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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico a 80% (v/v) e homogeneizar. Diluir alíquota de 10 mL dessa solução em balão volumétrico de 25 mL completando com álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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:

$$TF = \frac{A \times FD}{m \times 561}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expressos em quercetina % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

FD = fator de diluição;

561 = coeficiente de absorção específica da quercetina;

m = massa em gramas da amostra utilizada, 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.

Eluente (A): água e ácido trifluoracético (100:0,006).

Eluente (B): acetonitrila.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 - 5	72 → 65	28 → 35	gradiente linear
5 - 13	65	35	isocrática
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	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,15 g da droga seca e pulverizada (850 µm) (5.2.11) em balão de fundo redondo de 100 mL. Adicionar 15 mL de álcool etílico 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 álcool etílico a 80% (v/v), durante 15 minutos. Esfriar e filtrar para o mesmo balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool etílico a 80% (v/v) e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver quantidade exatamente pesada de quercetina em álcool metílico para obter solução a 54 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (2): dissolver quantidade exatamente pesada de 3-*O*-metilquercetina em álcool metílico para obter solução a 40 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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, considerando a pureza da substância de referência;

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*;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

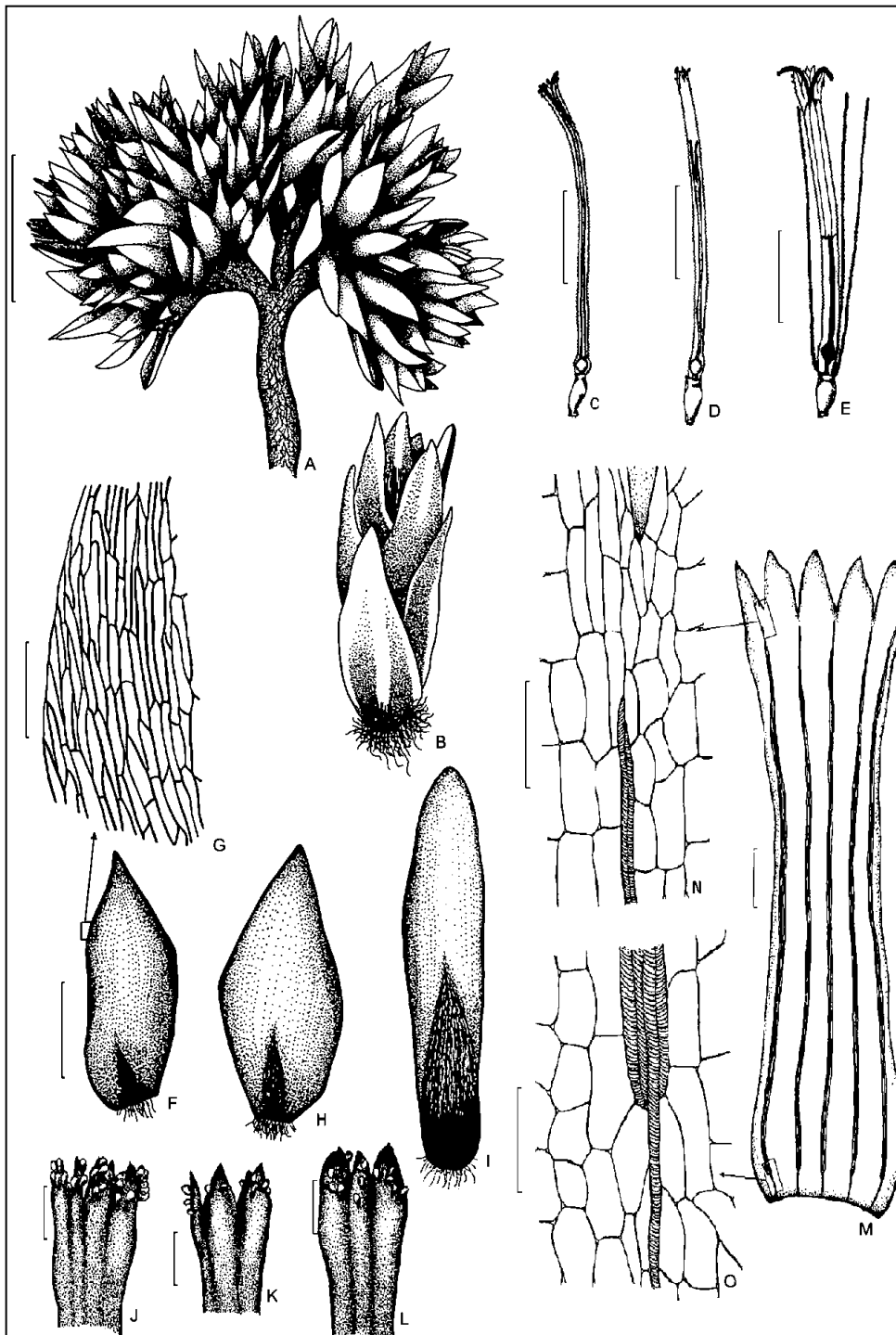


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

As escalas correspondem em A a 5 mm, B, C, D, E, F, H e I a 1 mm, G a 100 μm , J, K e L a 200 μm , M a 300 μm , N e O a 50 μm .

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.

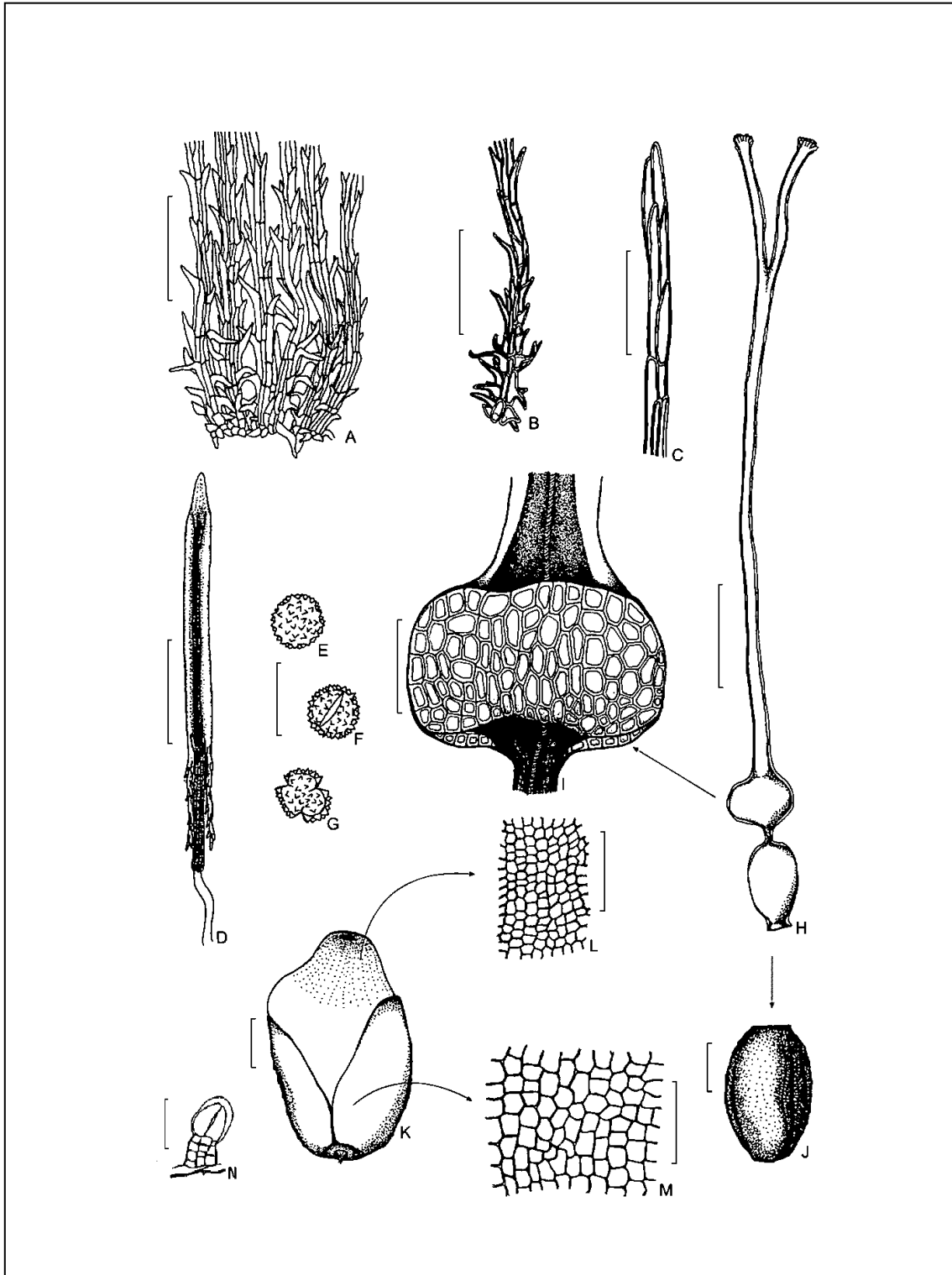


Figura 2 – Aspectos macroscópicos e microscópicos do pó em *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

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; calículo 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, estiletos 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

A amostra satisfaz 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: álcool butílico, água e ácido acético (60:30:15).

Solução amostra: pesar 1,0 g da droga vegetal, adicionar 10 mL de álcool etílico a 60% (v/v) 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 álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de vermelho de quinaldina em álcool etílico absoluto, para obter a concentração de 0,5 g/L.

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. Examinar a placa sob a luz visível.

Resultado: 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	
Vermelho de quinaldina: zona de coloração vermelha	Zona de coloração violeta Zona de coloração violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. No máximo 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 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 álcool etílico 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.

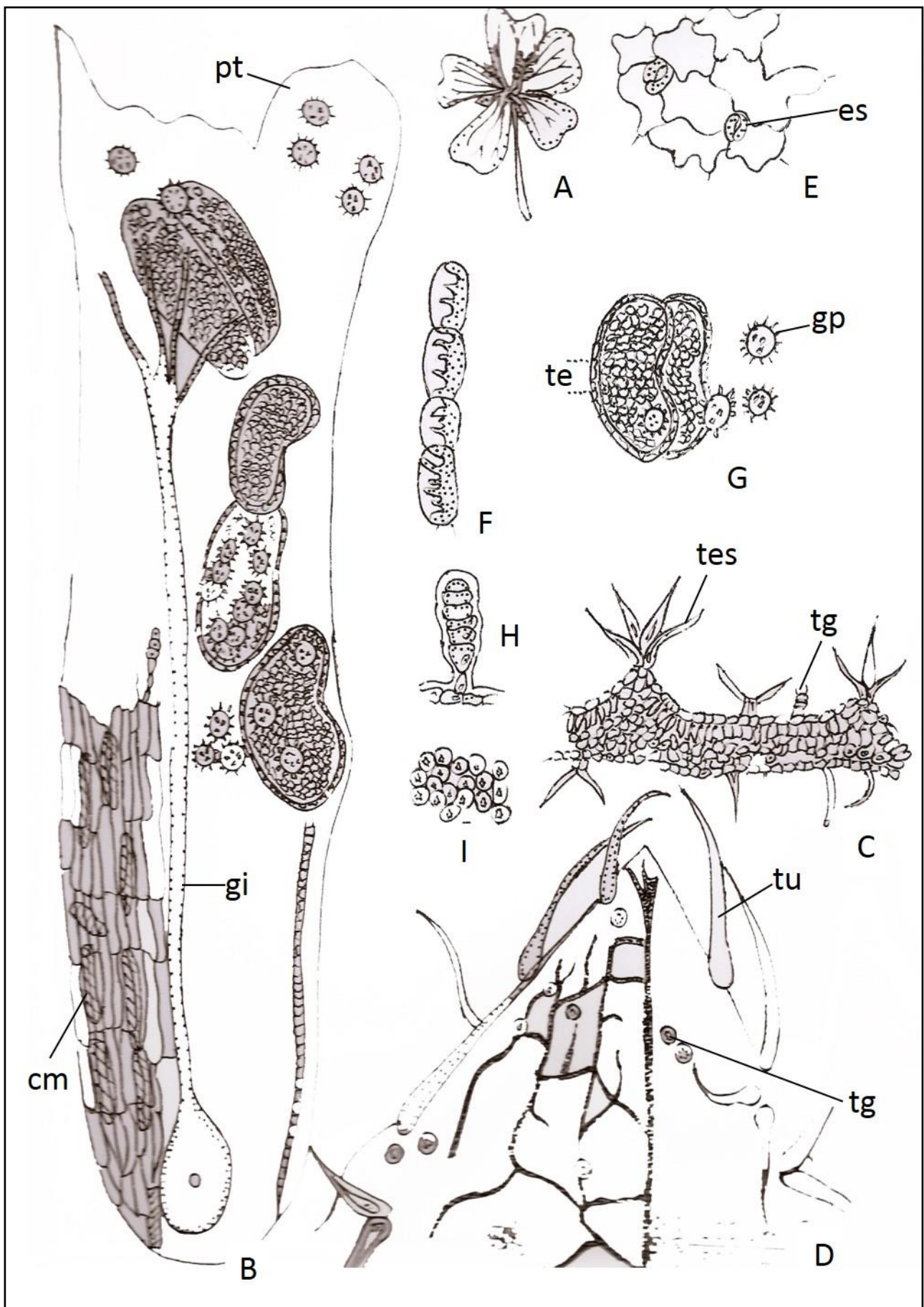


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Malva sylvestris* L.

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.

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 essa apresenta folha inteira, margem lisa, nervação peninérvea, desprovida de tricomas tectores na região da nervura principal.

B. Descrição microscópica

Folhas hipostomáticas 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

A amostra satisfaz 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 (60:20:10:10).

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 álcool etílico e água (1:1). Filtrar.

Solução referência: soluções a 1 mg/mL de isovitexina, isoorientina em álcool metílico.

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 difenilborato de aminoetanol SR, seguido de solução de macrogol 4000 a 5% (p/v) em álcool metílico. 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
	Zona de fluorescência verde
Isovitexina: zona de fluorescência amarelo-esverdeado	Zona de fluorescência amarelo esverdeado
	Zona de fluorescência azul
Isoorientina: zona de fluorescência amarela	Zona de fluorescência amarela
	Zona de fluorescência verde
	Zona de fluorescência verde
	Zona de fluorescência verde-claro
	Zona de fluorescência amarela
<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.

Eluente (A): ácido fosfórico a 0,05% (v/v).

Eluente (B): acetonitrila.

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

(minutos)			
0 – 15	90 → 80	10 → 20	gradiente linear
15 – 30	80	20	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da droga seca e pulverizada (180 µm) (5.2.11) e colocar em balão volumétrico de 50 mL. Adicionar aproximadamente 30 mL de solução de álcool etílico 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 suspender em uma mistura álcool metílico e água (1:1) a uma concentração de 2 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 álcool etílico e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com a mesma solução e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 álcool etílico e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com a mesma solução e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 isoorientina e isovitexina, respectivamente; apresenta ainda um pico adicional bastante intenso não identificado em 0,80.

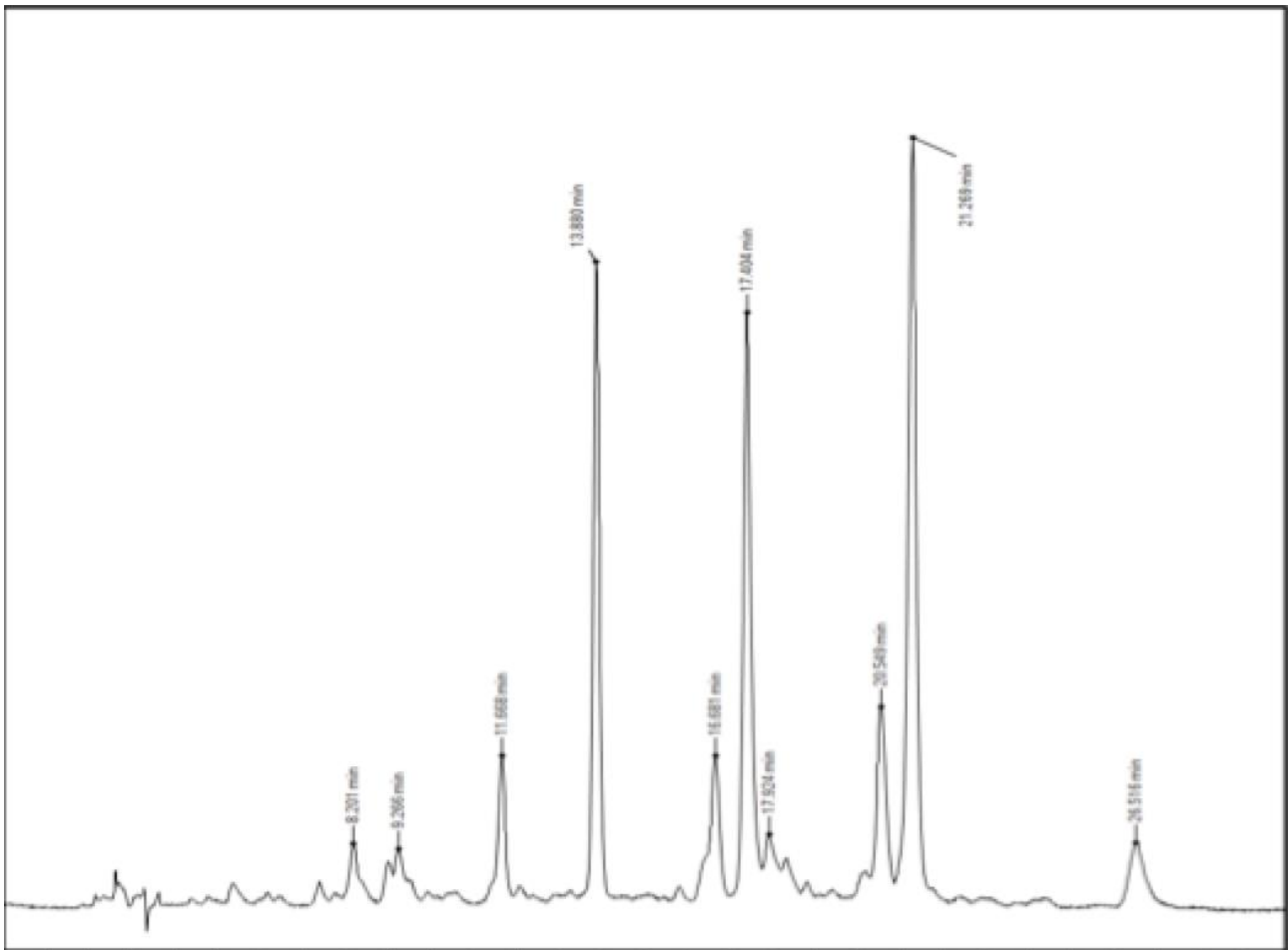


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo do perfil da *solução amostra de Passiflora edulis Sims*.

TESTES

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

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. 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 (5.4.1.8). Utilizar 1 g da droga pulverizada (180 µm) (5.2.11). 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;

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) (5.2.11) e colocar em balão de fundo redondo de 50 mL. Adicionar 20 mL de álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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, expressos em apigenina, em porcentual (p/p), segundo a expressão:

$$TF = \frac{A \times 625}{m \times 365,3}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expressos em apigenina % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

625 = fator de diluição;

365,3 = coeficiente de absorção específica da apigenina;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

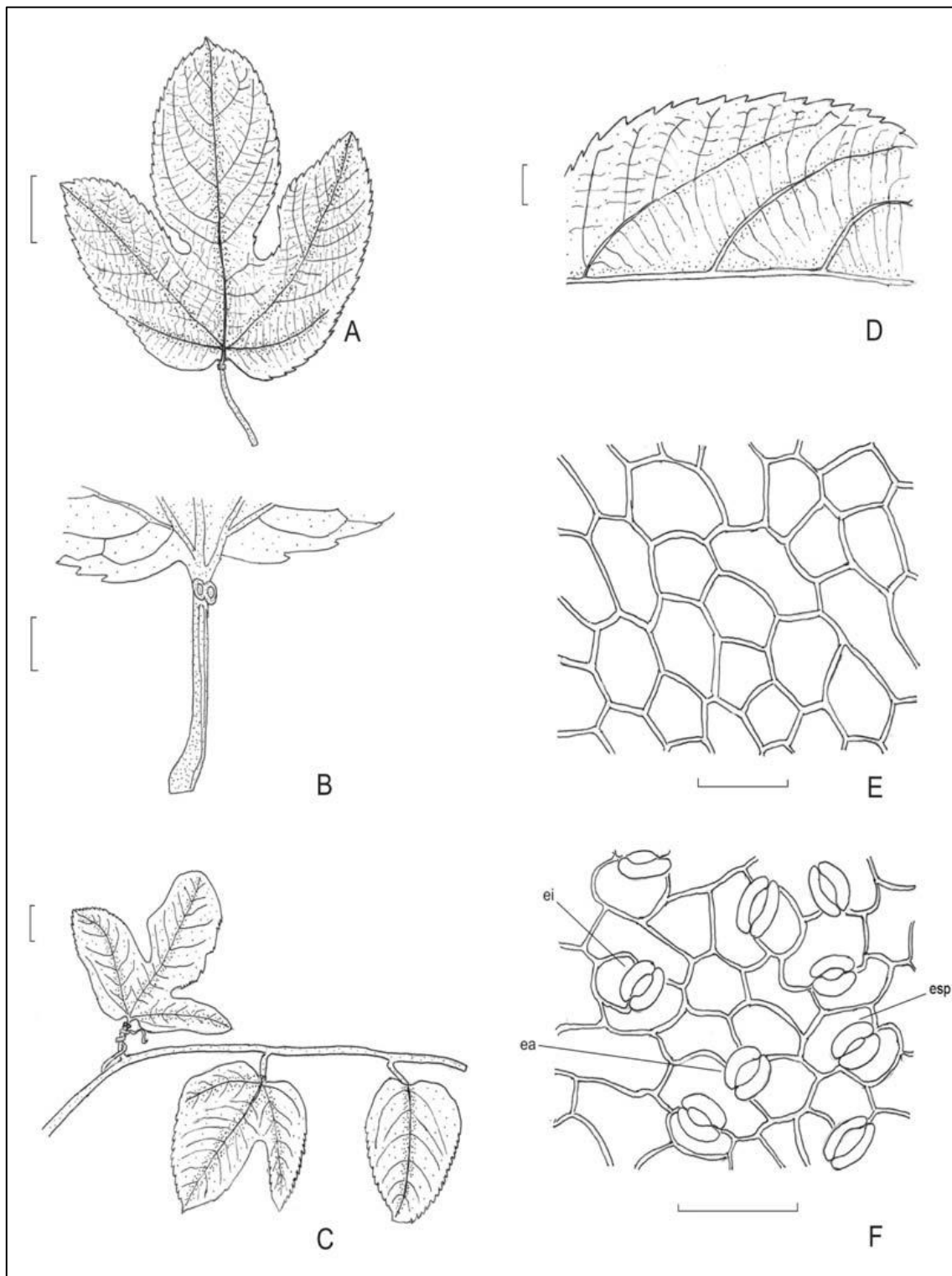


Figura 2 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Passiflora edulis* Sims

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).

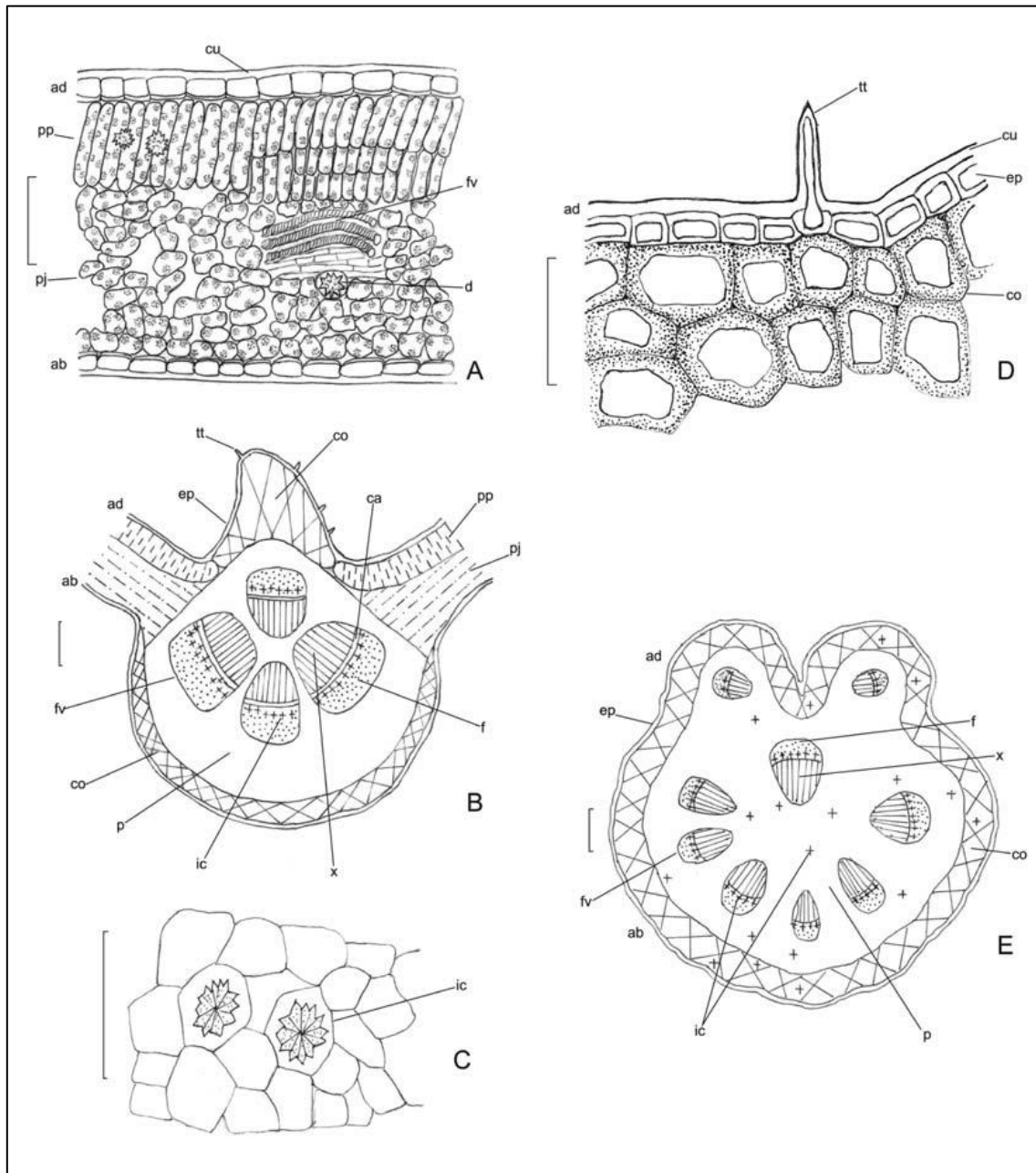


Figura 3 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Passiflora edulis* Sims

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 hipostomáticas 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 paliádico 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

A amostra satisfaz 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 álcool etílico e água (1:1). Filtrar.

Solução referência: soluções a 1 mg/mL de isovitexina, isoorientina em álcool metílico.

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 solução de macrogol 4000 a 5% (p/v) em álcool metílico. 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 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	
Isovitexina: zona de fluorescência amarelo esverdeado Isoorientina: zona de fluorescência azulada	Zona de fluorescência verde amarelada Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência verde Zona de fluorescência verde-amarelada 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.

Eluente (A): ácido fosfórico a 0,05% (v/v).

Eluente (B): acetonitrila.

Tempo (minutos)	Eluente (A) %	Eluente (B) %	Eluição
0 – 15	90 → 80	10 → 20	gradiente linear
15 – 30	80	20	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,5 g da droga seca e pulverizada (180 µm) (5.2.11) e colocar em balão volumétrico de 50 mL. Adicionar aproximadamente 30 mL de solução de álcool etílico 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 suspender em uma mistura álcool metílico e água (1:1) a uma concentração de 2 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 álcool etílico e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com mesma solução e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 álcool etílico e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com mesma solução e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 álcool etílico e água (1:1). Homogeneizar em banho de ultrassom durante 10 minutos. Completar o volume com mesma solução. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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.

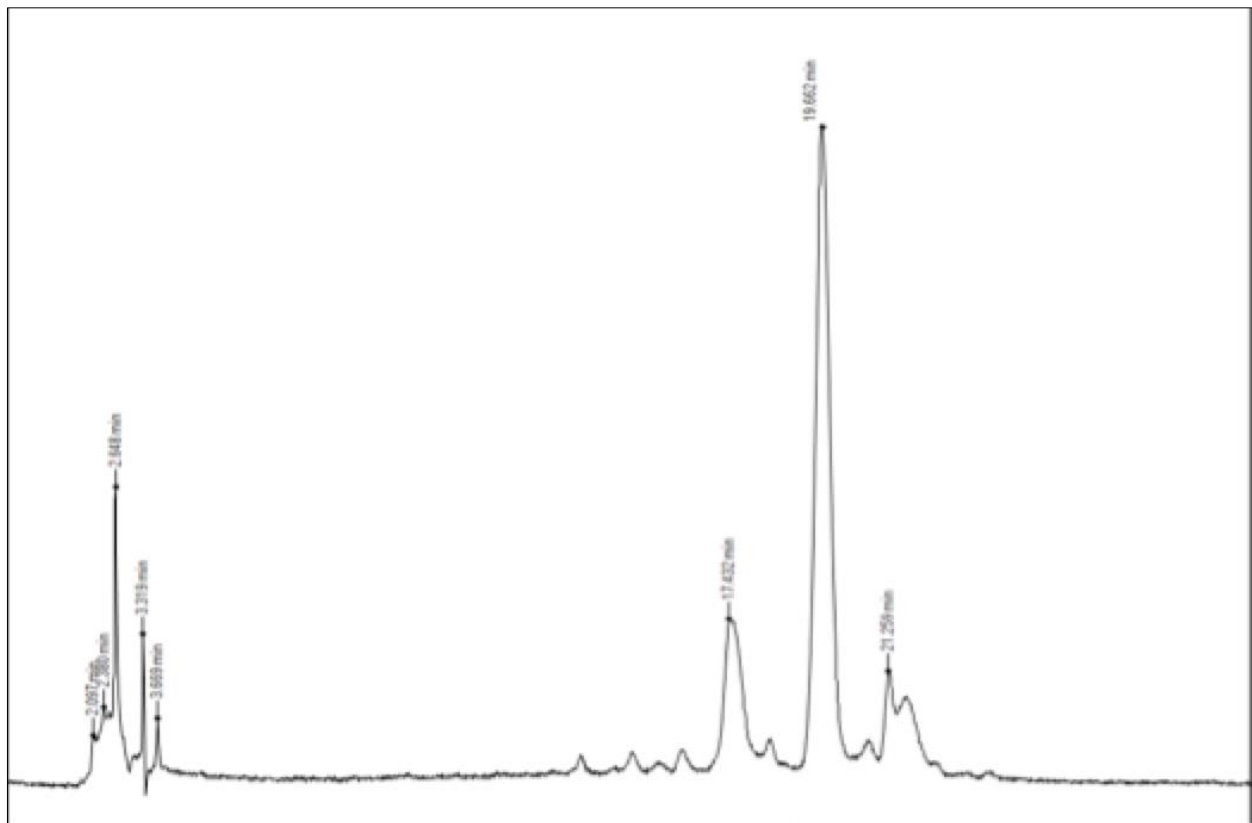


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo do perfil da *solução amostra* de *Passiflora alata* Curtis.

TESTES

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

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. 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 (5.4.1.8). Utilizar 0,1 g da droga pulverizada (180 µm) (5.2.11). 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;

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) (5.2.11) e colocar em balão de fundo redondo de 50 mL. Adicionar 20 mL de álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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, segundo a expressão:

$$TF = \frac{A \times 625}{m \times 365,3}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expressos em apigenina % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

625 = fator de diluição;

365,3 = coeficiente de absorção específica da apigenina;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

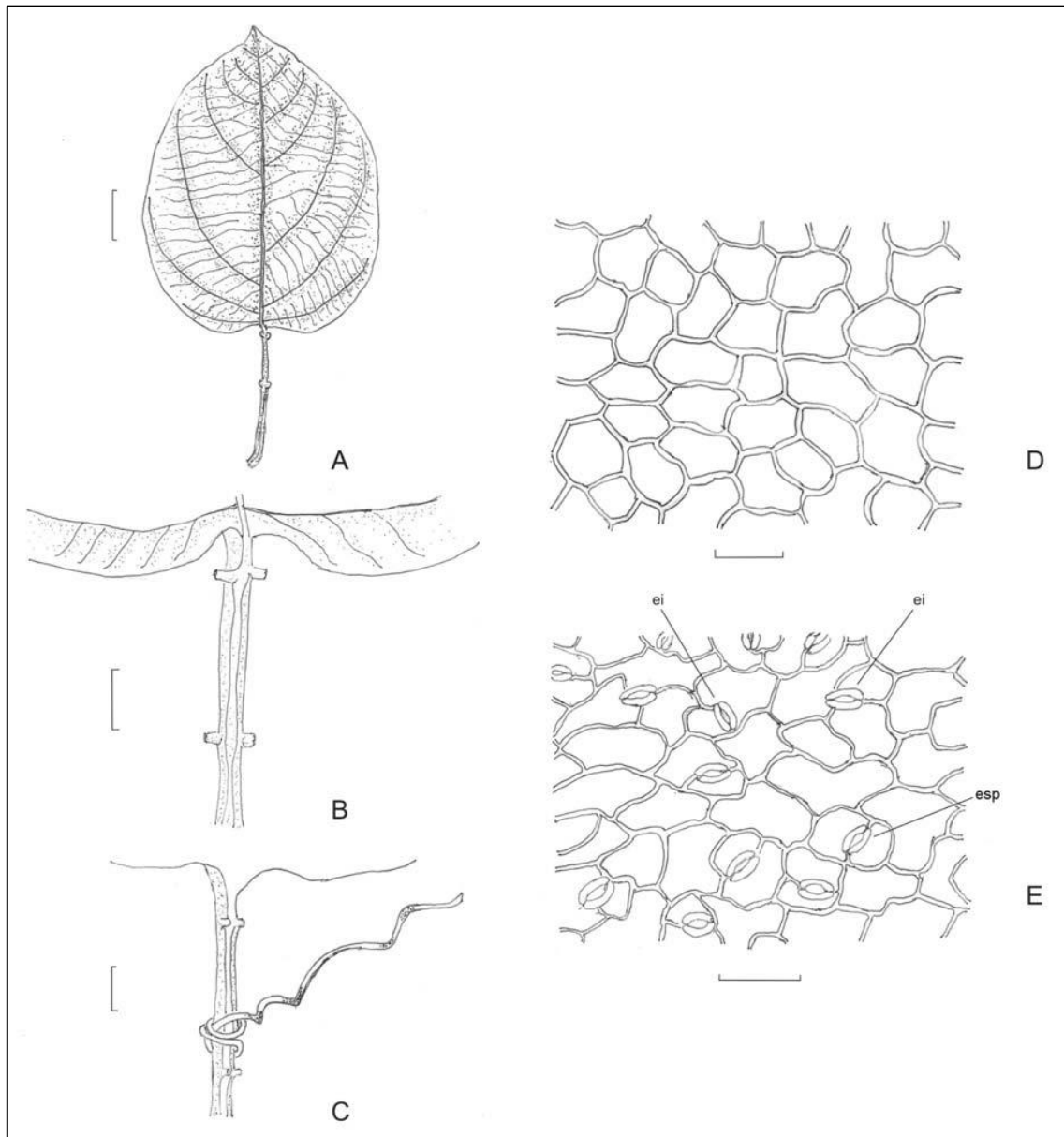


Figura 2 - Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Passiflora alata* Curtis

As escalas correspondem em **A** a 3 cm; em **B** e **C** a 1 cm; em **D** e **E** a 50 μm .

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).

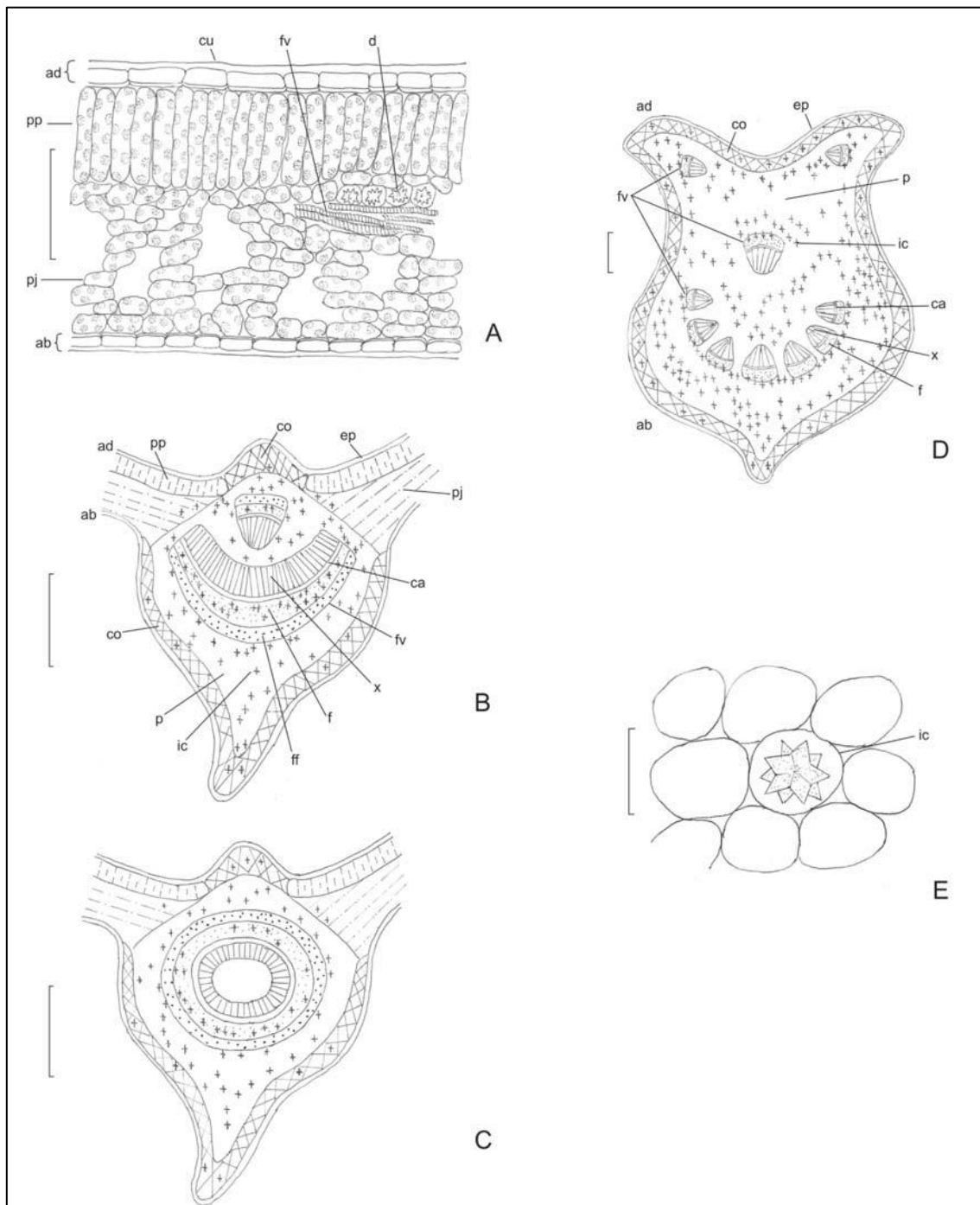


Figura 3 - Aspectos microscópicos em *Passiflora alata* Curtis

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 duas a quatro 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

A amostra satisfaz 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 subsféricos, 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: acetona, água e solução concentrada de amônia (90:7:3).

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 álcool metílico.

Solução padrão: dissolver 50 mg de sulfato de hiosciamina em 9 mL de álcool metílico. Dissolver 15 mg de bromidrato de escopolamina em 10 mL de álcool metílico. 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 álcool metílico e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com solução de 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 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	
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.

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* No máximo 12,0%.

Cinzas totais (5.4.1.5.1). No máximo 13,0%.

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.

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) (5.2.11) e umedecer com 5 mL de solução de hidróxido de amônio 6 M. Adicionar 10 mL de álcool etílico 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 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 1 mL 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 solução de hidróxido de amônio 6 *M* 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:

$$TA = \frac{57,88 \times (20 - v)}{(100 - d) \times m}$$

em que,

TA = teor de alcaloides expressos em hiosciamina % (p/p);

v = volume em mililitros de hidróxido de sódio 0,02 *M* utilizado;

m = massa em gramas da amostra utilizada;

d = perda por dessecação, em porcentagem.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

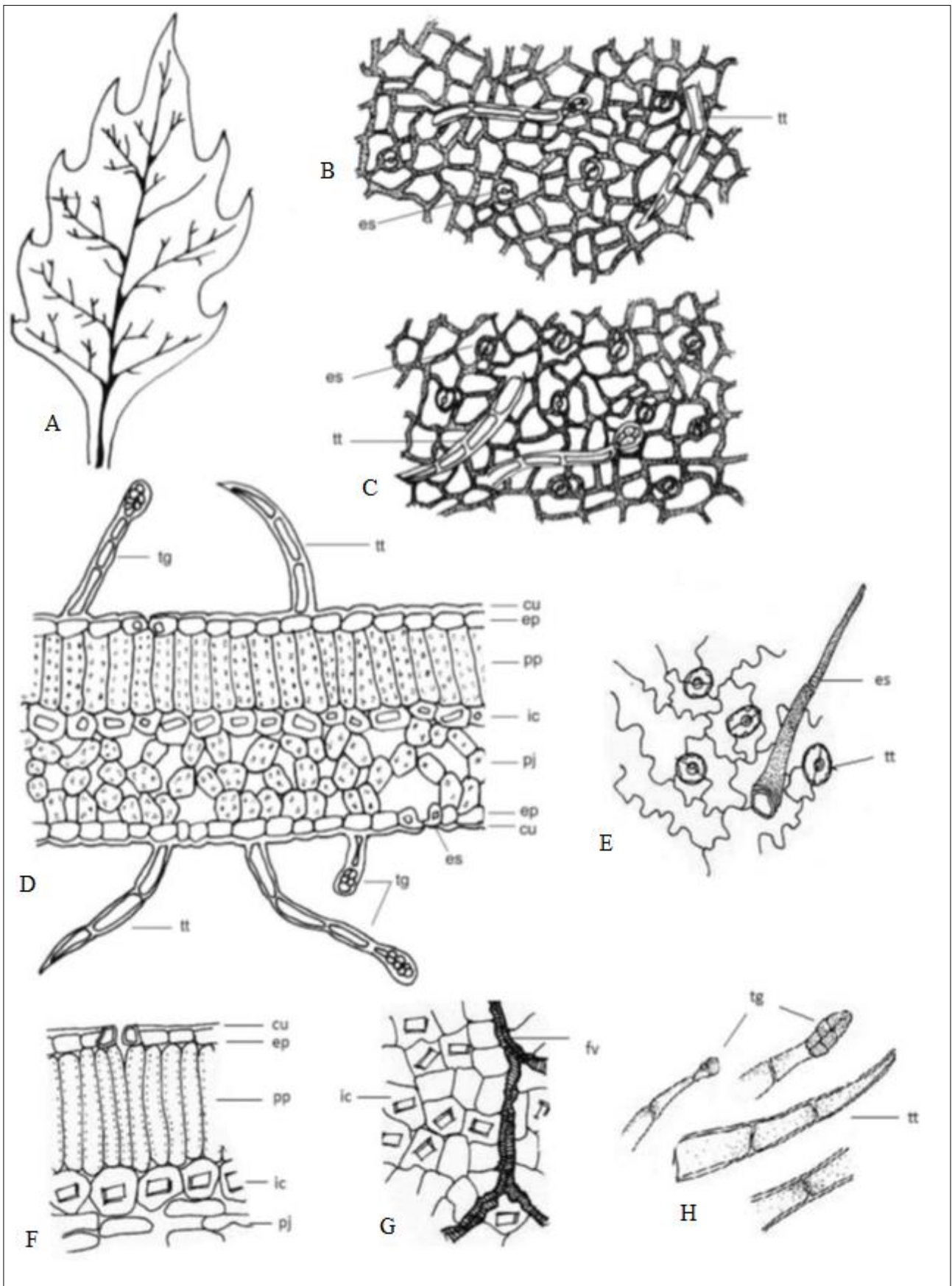


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Hyoscyamus niger* L.

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 dois ou três, 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 três a cinco feixes colaterais, cada um deles envolvido por endoderme; o floema pode apresentar células pétreas junto às fibras.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração esverdeada; fragmentos de epiderme foliar com células de paredes anticliniais 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 mantêm 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. Esses 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 pulverizada para balão de fundo redondo de 250 mL, adicionar 100 mL de água. Adicionar 0,5 mL de xileno no tubo graduado 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, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
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
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

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 pulverizada (355 µm), em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante duas 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 integração manual ou eletrônica pelo método de normalização. 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 de menor peso molecular;

tr_x = tempo de retenção do constituinte “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano com “n” carbonos;

tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n + 1” carbonos.

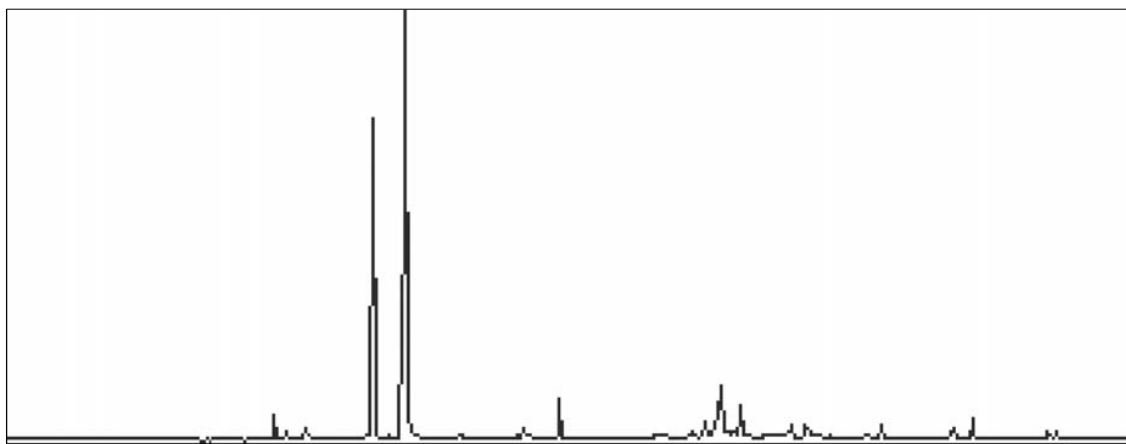


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Melissa officinalis* L., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama.

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

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 álcool etílico a 50% (v/v) e aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante 30 minutos. Esfriar e filtrar. Lavar o filtro com 10 mL de álcool etílico a 50% (v/v). Transferir o filtrado e a solução de lavagem para balão volumétrico de 200 mL, completar o volume com álcool etílico a 50% (v/v) e homogeneizar.

Solução amostra: em um balão volumétrico de 10 mL, transferir 1 mL da *Solução estoque*, 2 mL de ácido clorídrico 0,5 M, 2 mL de uma solução preparada dissolvendo 10 g de nitrito 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: em um balão volumétrico de 10 mL, 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. Calcular o teor de derivados hidroxicinâmicos totais, expressos em ácido rosmarínico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TDHC} = \frac{A \times 2000}{m \times 400}$$

em que,

TDHC = teor de derivados hidroxicinâmicos totais, expressos em ácido rosmarínico % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

2000 = fator de diluição;

400 = coeficiente de absorção específica do ácido rosmarínico;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

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.

Eluente (A): água e ácido trifluoracético (100:0,1).

Eluente (B): acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,1).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) %</i>	<i>Eluente (B) %</i>	<i>Eluição</i>
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	Isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,1 g da droga seca e pulverizada (800 µm) (5.2.11) e colocar em tubo de centrifuga fechado. Adicionar 5 mL de álcool etílico a 40% (v/v) e levar ao banho de ultrassom durante 10 minutos. Centrifugar por cinco minutos a $42 \times g$. Separar e transferir o sobrenadante para balão volumétrico de 10 mL. Extrair novamente o resíduo da droga com 4 mL de álcool etílico a 40% (v/v) em banho de ultrassom durante cinco minutos. Centrifugar e transferir o sobrenadante para o mesmo balão volumétrico, completar o volume para 10 mL com álcool etílico a 40% (v/v) e homogeneizar. Diluir 50 µL da solução resultante em 0,3 mL de água. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução estoque: dissolver 10 mg de ácido rosmarínico em álcool metílico, transferir, quantitativamente, para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com álcool metílico 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 álcool metílico, 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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, em porcentagem, considerando a perda por dessecação.

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 xileno no tubo graduado. Utilizar planta seca rasurada e não contundida. Proceder imediatamente à determinação do óleo volátil, a partir de 20 g da droga rasurada. Destilar durante quatro horas. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

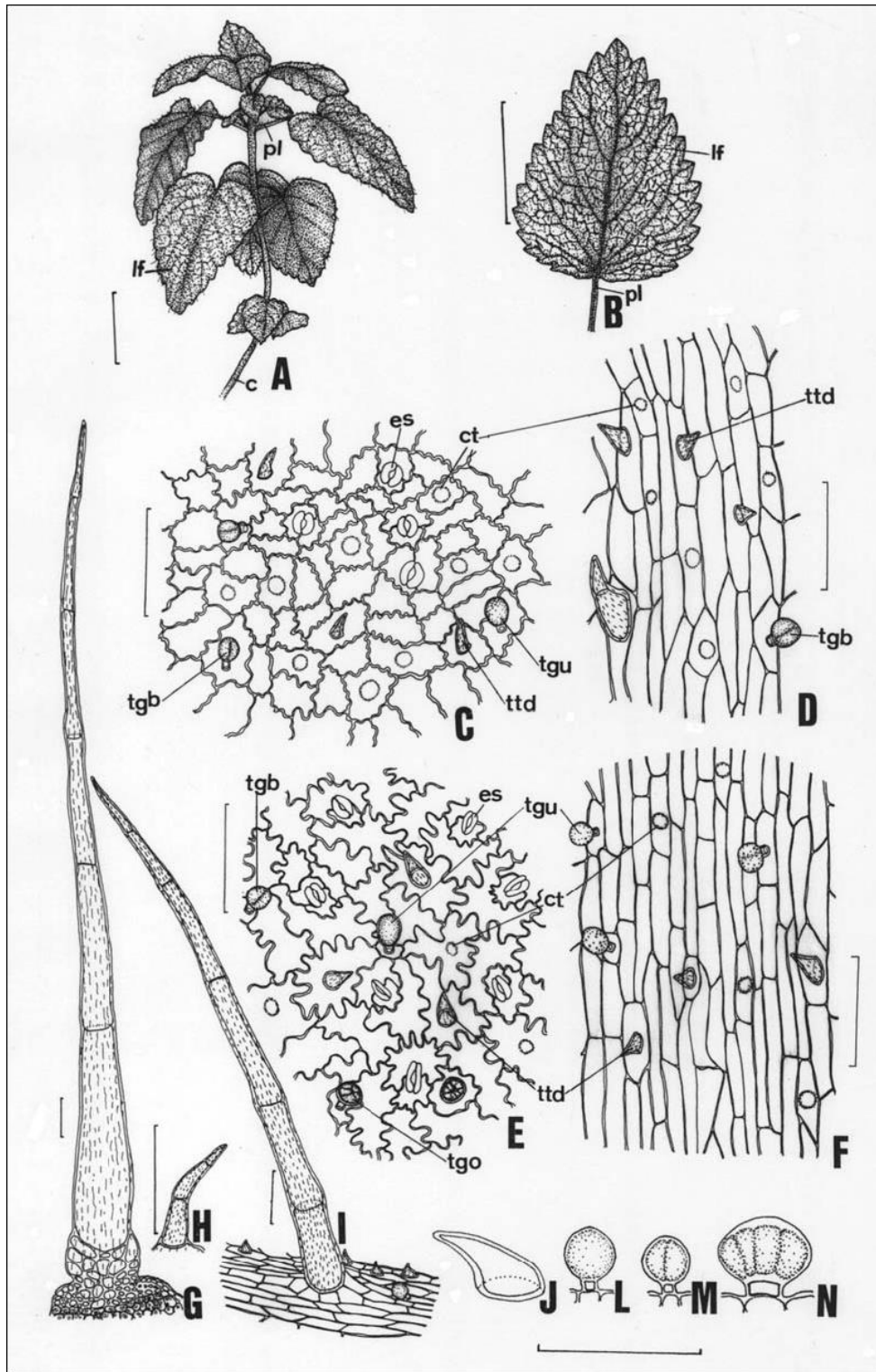


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Melissa officinalis* L.

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.

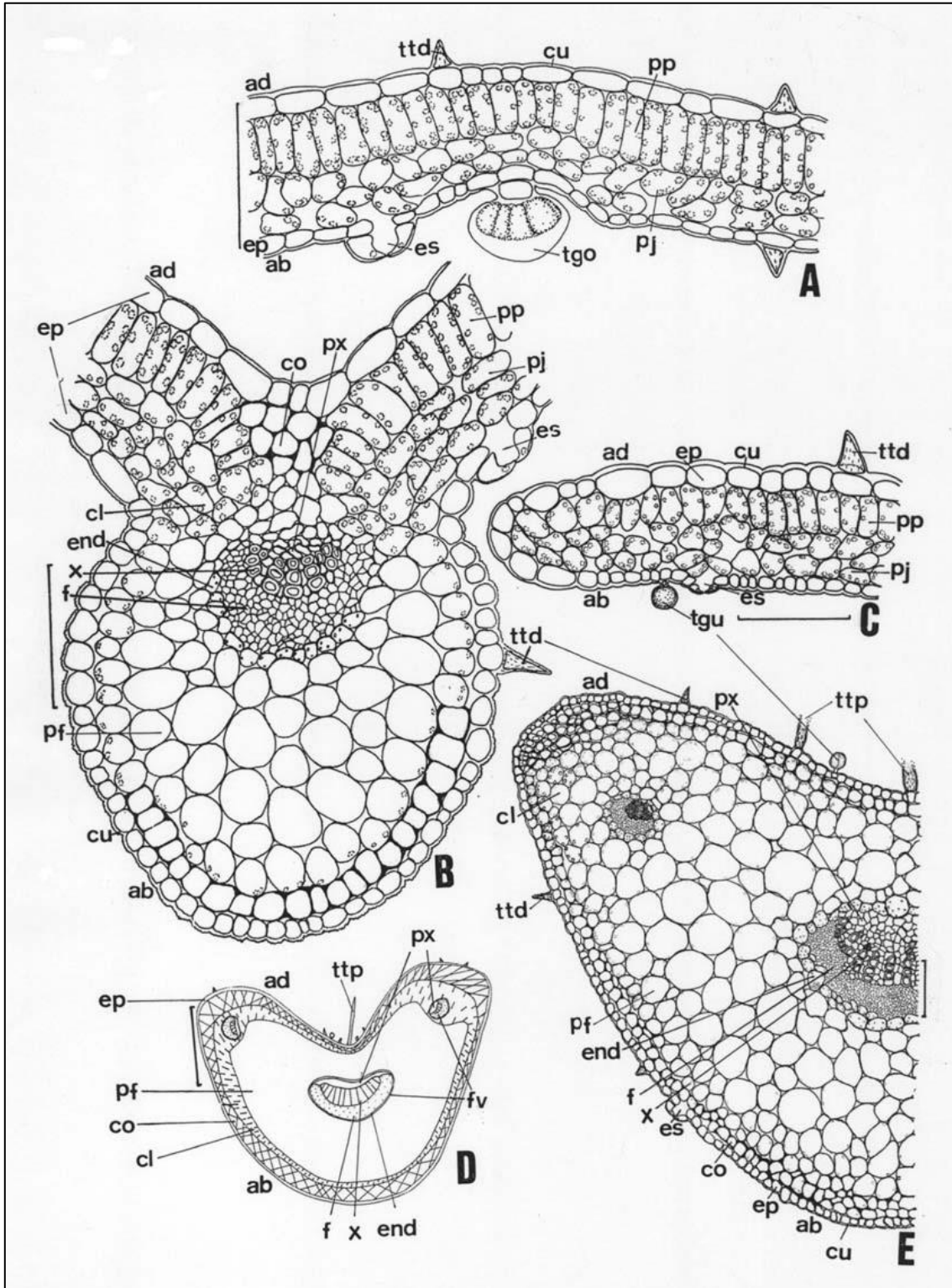


Figura 3 – Aspectos microscópicos em *Melissa officinalis* L.

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 (ttt); 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 (ttt); 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 (ttt). **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 (ttt); 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 (ttt); tricoma tector pluricelular unisseriado, tipo 3 (ttt), 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, que 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 dessas. 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

A amostra satisfaz 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, álcool metílico 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 álcool etílico como líquido extrator. Filtrar e aplicar na cromatoplaça.

Solução referência: dissolver 10 mg de cafeína em 2 mL de álcool etílico absoluto.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, 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 cromatoplaça e deixar secar ao ar por alguns minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar com solução de iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR. Adicionalmente nebulizar com solução aquosa de nitrito de sódio a 5% (p/v).

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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.

Solução branco: ácido sulfúrico a 2,5% (v/v).

Procedimento: medir a absorvância das soluções em 271 nm, empregar cubetas de 1 cm, utilizando a *Solução branco* 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 de filtro. Desprezar os primeiros 50 mL do filtrado.

Solução amostra para polifenóis totais: transferir 5 mL do filtrado da *Solução estoque* 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, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância da solução (A_1) a 715 nm, exatamente três 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 da *Solução estoque* 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, diluir para 50 mL

com carbonato de sódio SR e homogeneizar. 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, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância dessa solução a 715 nm (A_3), exatamente três 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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times 13,12}{A_3 \times m}$$

em que,

TT = teor de taninos totais expressos em pirogalol % (p/p);

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

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*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

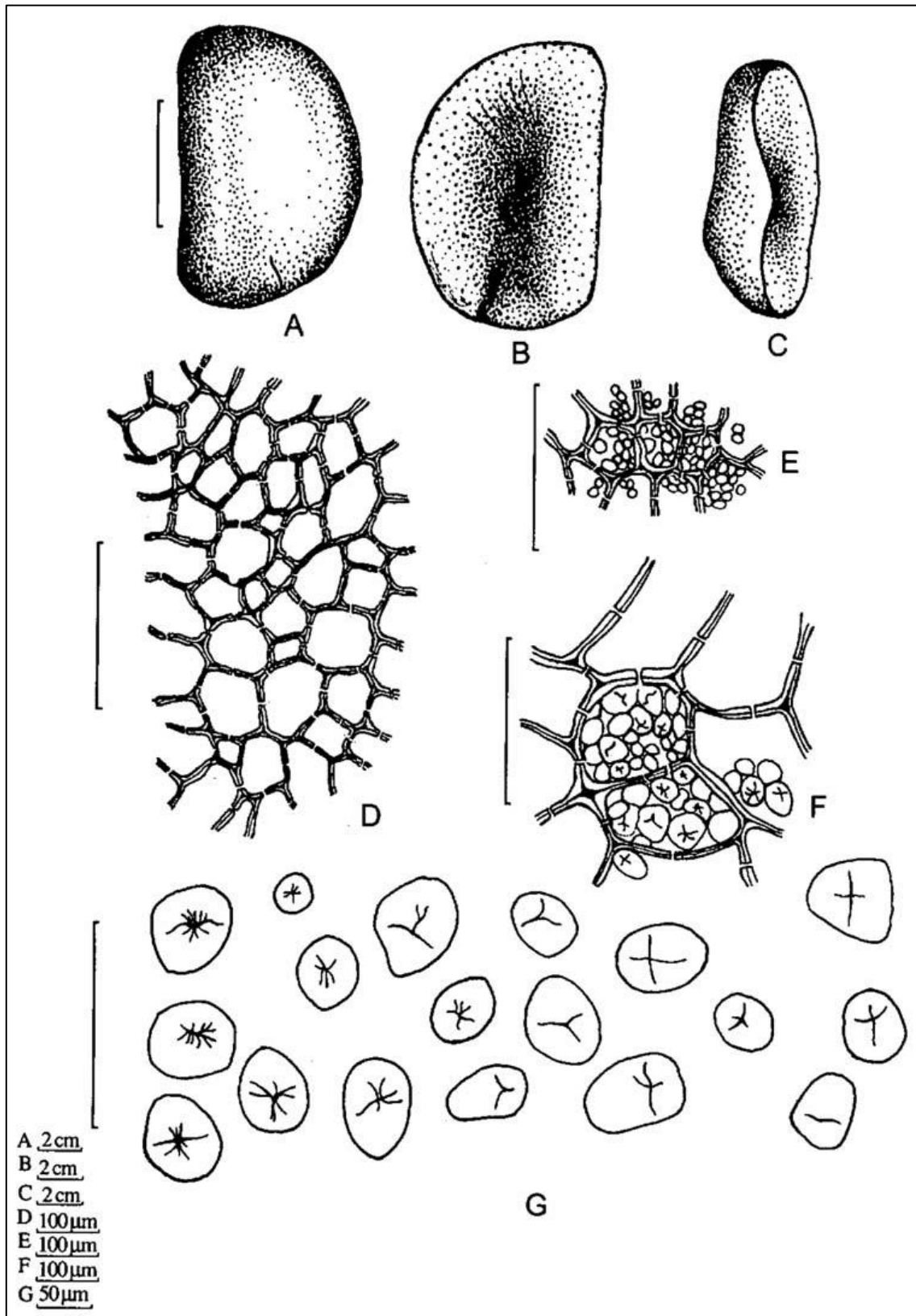


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Cola nitida* (Vent.) Schott & Endl.

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.

NOZ-VÔMICA, semente

Strychni semen

A droga vegetal consiste de sementes secas de *Strychnos nux-vomica* L., contendo, no mínimo, 0,5% de estriquinina ($C_{21}H_{22}N_2O_2$, 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 xilemáticos 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

A amostra satisfaz 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: álcool butílico, água e ácido acético glacial (70:20:10).

Solução amostra: pesar 1 g da droga vegetal pulverizada e adicionar 20 mL de álcool etílico a 70% (v/v). Levar ao banho-maria durante 15 minutos. Filtrar e evaporar em banho-maria até seca, a temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 5 mL de álcool metílico. Filtrar em unidade filtrante 0,45 μm e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de estriquinina em álcool metílico, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de brucina em álcool metílico, 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 álcool etílico absoluto (v/v), e, em seguida, com iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR. Deixar a placa secar ao ar durante cinco minutos. Examinar sob a luz visível.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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 (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* 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 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 1,0 g da droga vegetal pulverizada 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. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico. 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, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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.

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:

$$TE = \frac{A_a \times C_r}{A_r \times m_a} \times FD_a \times 100$$

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 g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

m_a = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;

FD_a = fator de diluição da *Solução amostra* (10); e

100 = fator de conversão para teor em %, (g/ 100 g).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

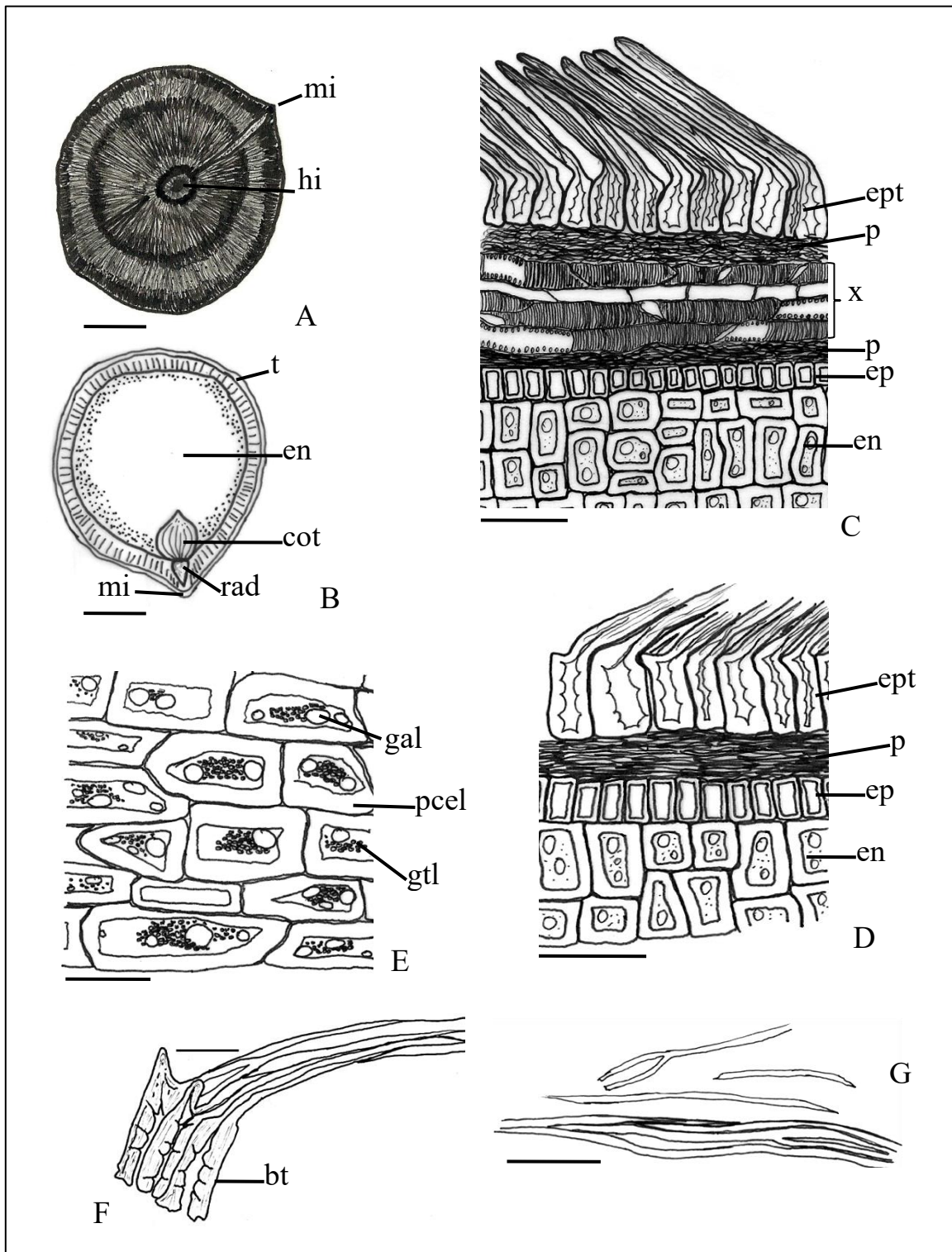


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Strychnos nux-vomica* L.

As escalas correspondem em **A** e **B** a 1 cm; em **C** e **D** a 200 μm ; em **F** e **G** a 100 μm ; em **E** a 50 μm .

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 endospermático 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 pontuações simples. **G** - fragmento da porção estendida do tricoma da epiderme do tegumento.

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 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, penínérvea, 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 anticlinais 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 sete a nove estratos de células com projeções brachiformes relativamente longas. No mesofilo são comuns idioblastos com cristais rômnicos e com 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 três 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

A amostra satisfaz 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 braciiformes 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 pulverizada, 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 rotaevaporador sob pressão reduzida até resíduo. Suspender o resíduo com 1 mL de álcool metílico.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de epicatequina e dissolver em 2 mL de álcool metílico.

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de 4'-*O*-metilgalocatequina e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

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 álcool metílico.

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	
4- <i>O</i> -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
Solução referência	Solução amostra

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. Determinar as concentrações relativas por integração manual ou eletrônica pelo método de normalização.

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,

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;
 tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n + 1” carbonos.

TESTES

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

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. 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 pulverizada (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) (5.2.11) 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 totais, expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

em que,

TT = teor de taninos totais expressos em pirogalol % (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, considerando a perda por dessecação;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

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 (250 µm) (5.2.11), 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 álcool metílico, completar o volume com solução de ácido acético a 5% (v/v) em álcool metílico 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 álcool metílico 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. Calcular o teor de flavonoides totais, expressos em quercetina, na amostra, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TQ = \frac{A \times 625}{m \times 500}$$

em que,

TQ = teor de flavonoides totais expressos em quercetina % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

625 = fator de diluição;

500 = coeficiente de absorção específica da quercetina;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

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, no tubo graduado. 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. Medir o volume e expressar o rendimento por 100 g de droga (v/p).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

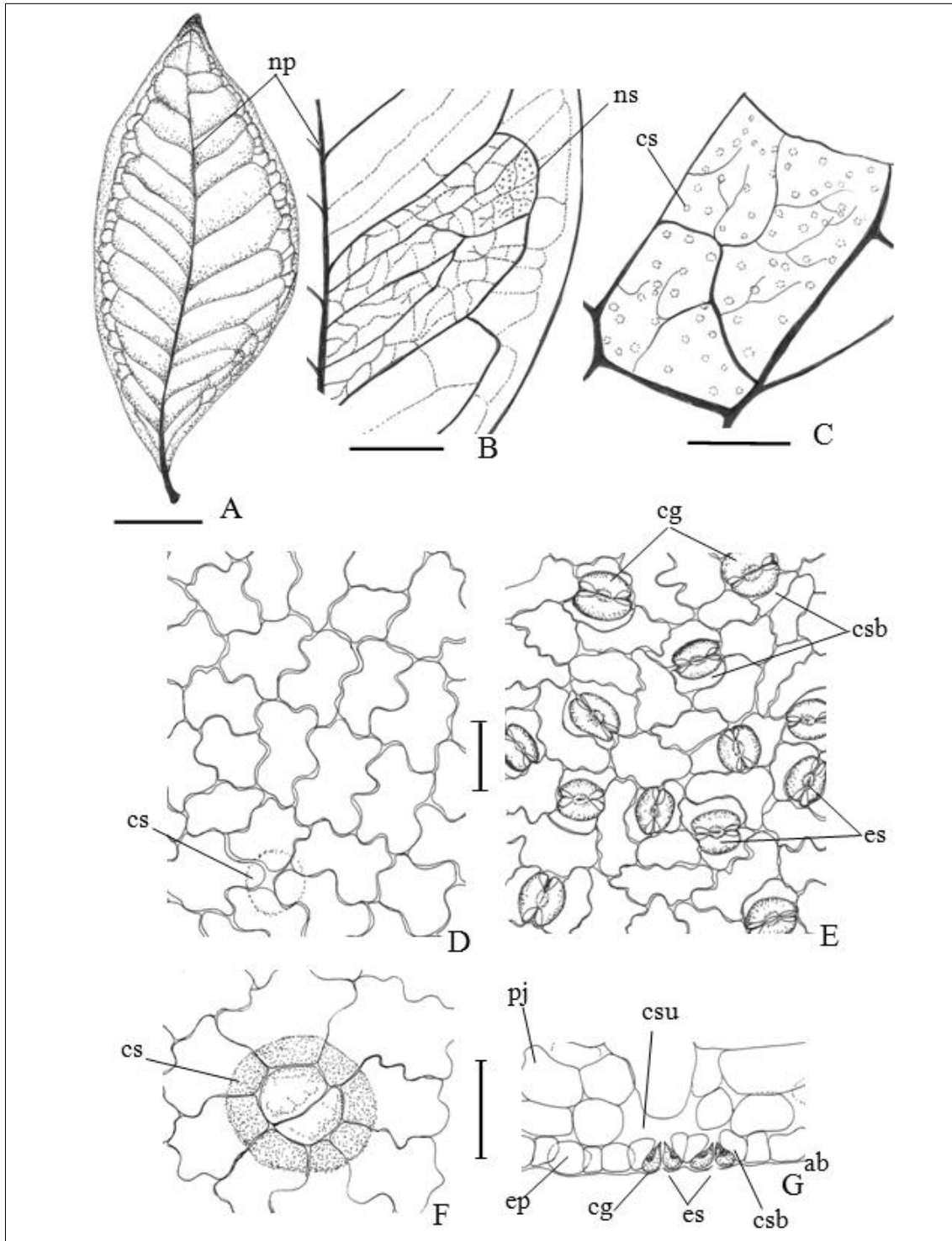


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Eugenia uniflora* L.

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).

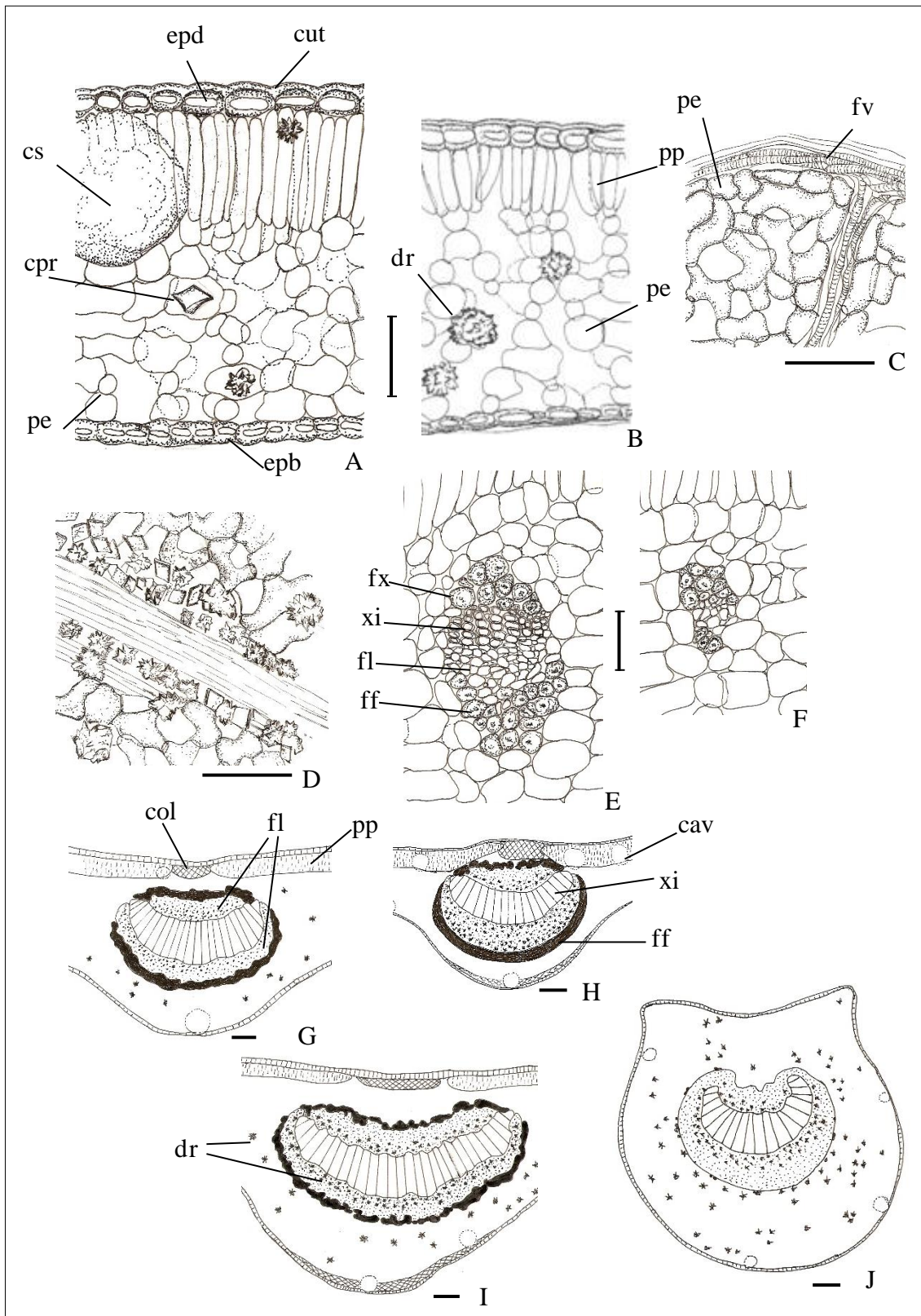


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Eugenia uniflora* L.

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 mesófilo 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 pó 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).

PLANTAGO, testa
Plantaginis ovatae seminis tegumentum

A droga vegetal consiste da testa das sementes de *Plantago ovata* Forssk. (syn. *Plantago ispaghula* Roxb. ex Fleming), que intumescer e toma consistência coloidal quando misturada com água.

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 desse 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 mucilaginosa, 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: coloração castanha-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 cloreto de metileno. 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 deve ser, no máximo, 5%.

Índice de intumescência. Transferir 200 mg da droga pulverizada (250 μm) (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 com pancreatina pH 6,8*. Diluir com o fluido simulado até 25 mL, agitar mecanicamente a proveta durante um minuto e repetir o processo de agitação a cada 30 minutos durante oito 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 pulverizada e ≥ 7 mL para a droga não pulverizada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

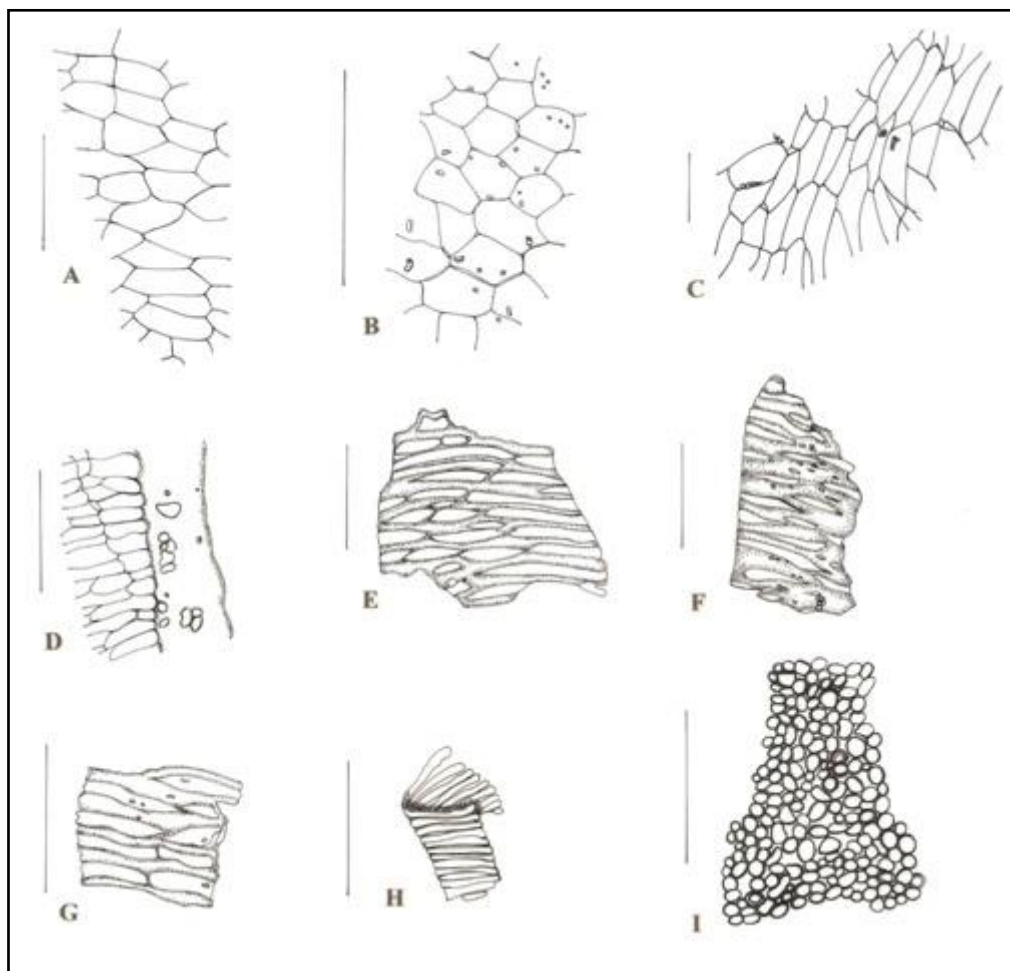


Figura 1 – Aspectos microscópicos do pó do tegumento da semente de *Plantago ovata* Forssk.

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.

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, 6,0% 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. Essa 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, que 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 desses 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

A amostra satisfaz 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 álcool butílico, água e ácido acético glacial (50:40:10).

Solução amostra: pesar 1 g da droga em pó, adicionar 10 mL de álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
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</i>	<i>Solução amostra</i>

<i>Parte superior da placa</i>		
Escina: zona de coloração azulada fraca Zona de coloração azulada	Escina: zona de coloração azulada 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 2,0%. Referentes aos vestígios de caules aéreos.

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

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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool butílico, 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 álcool butílico, ácido clorídrico 0,1 M e clorofórmio (180:90:30). A fase inferior é desprezada. Evaporar a fase orgânica a resíduo em rotaevaporador, 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:

$$\text{TAO} = \frac{A \times 463,2}{m_1 \times m_2}$$

em que,

TAO = teor de saponinas expressos em derivados do ácido oleanólico % (p/p);

A = absorvância medida na *Solução amostra*;

m_1 = massa em gramas da solução após centrifugação;

m_2 = 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.

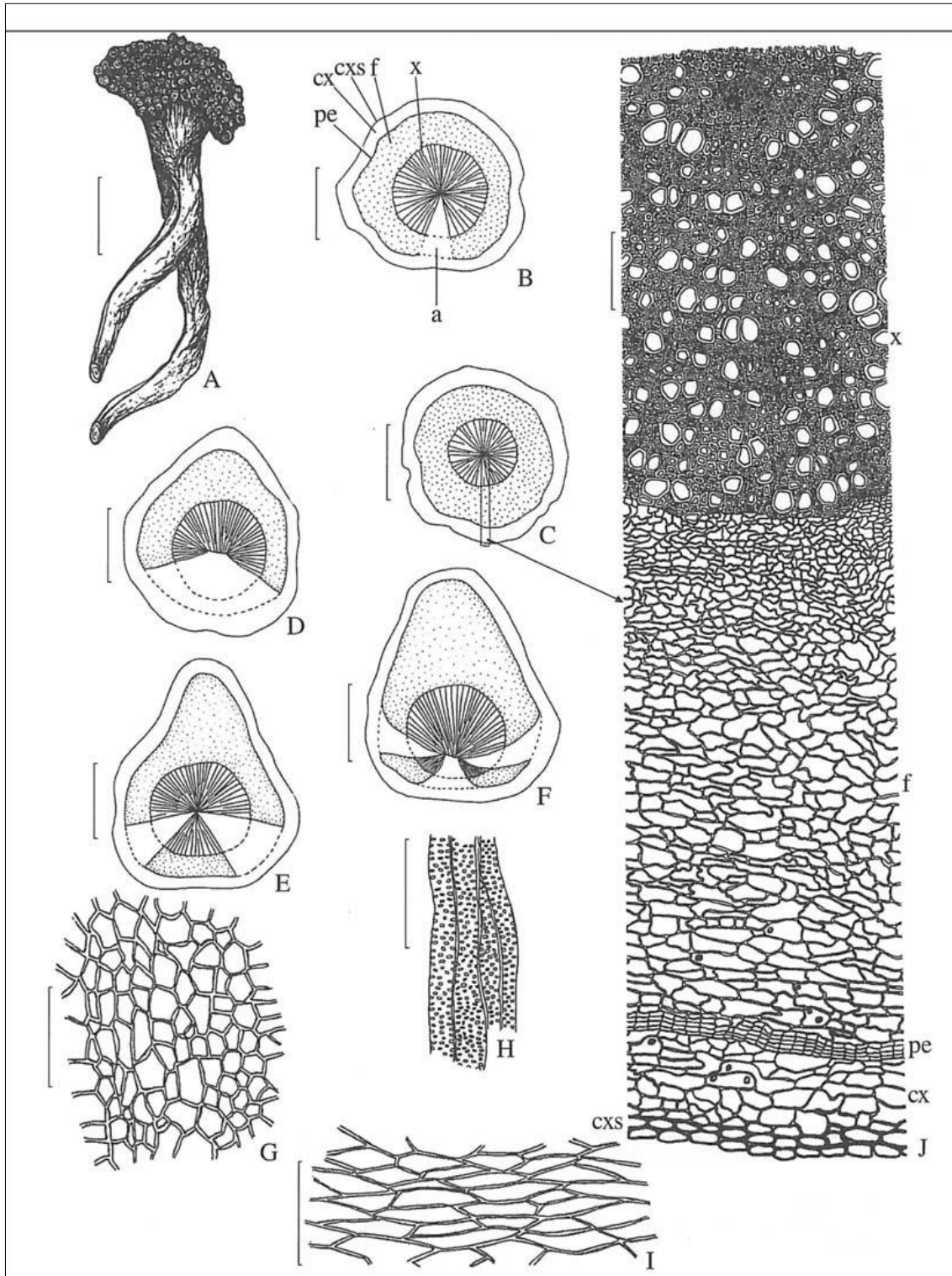


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó da raiz em *Polygala senega* L.

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, esses 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 bífidos 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 dois terços 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, exibe 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 dois terços 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

A amostra satisfaz 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 pontoado, 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 desse tecido encontra-se o parênquima cortical, formado por três a seis estratos celulares. O floema apresenta fibras dispostas periféricamente. 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 pulverizada para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de álcool metílico 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 álcool metílico durante 30 minutos, resfriar e filtrar, lavando o resíduo com 5 mL de álcool metílico. Reunir os filtrados, completar o volume para 25 mL com álcool metílico, homogeneizar e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 10 mg de vitexina-2-ramnosídeo em 2 mL de álcool metílico.

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 uma solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em álcool metílico, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool metílico. Deixar a placa secar ao ar livre durante 30 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

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

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 pulverizada para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de álcool metílico 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 álcool metílico durante 30 minutos, resfriar e filtrar, lavando o resíduo com 5 mL de álcool metílico. Reunir os filtrados, completar o volume para 25 mL com álcool metílico, homogeneizar e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver separadamente 10 mg de filantina e de nirantina em 2 mL de álcool metílico.

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 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 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
	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 pulverizada (800 µm) (5.2.11), 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, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância da solução (A_1) em 715 nm, exatamente três 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, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância da solução (A_2) em 715 nm, exatamente três 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, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância da solução (A_3) 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 expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times 13,12}{A_3 \times m}$$

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*;

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

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.

Eluente (A): ácido trifluoracético a 0,05%.

Eluente (B): ácido trifluoracético a 0,05% em álcool metílico.

Tempo (minutos)	Eluente (A) (%)	Eluente (B) (%)	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 pulverizada (800 μm) (5.2.11) e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 10 mL de água e aquecer, em manta, sob refluxo 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 unidade filtrante de 0,45 μm .

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de ácido gálico SQR no *Eluente* (A) 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 o *Eluente* (A) e homogeneizar. Diluir alíquotas de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL e 7 mL dessa solução a 10 mL utilizando o *Eluente* (A) obtendo assim, soluções com concentrações de 2,0 $\mu\text{g/mL}$, 4,0 $\mu\text{g/mL}$, 6,0 $\mu\text{g/mL}$, 10,0 $\mu\text{g/mL}$ e 14,0 $\mu\text{g/mL}$. Filtrar as soluções em unidade filtrante 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 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 em porcentagem, considerando o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

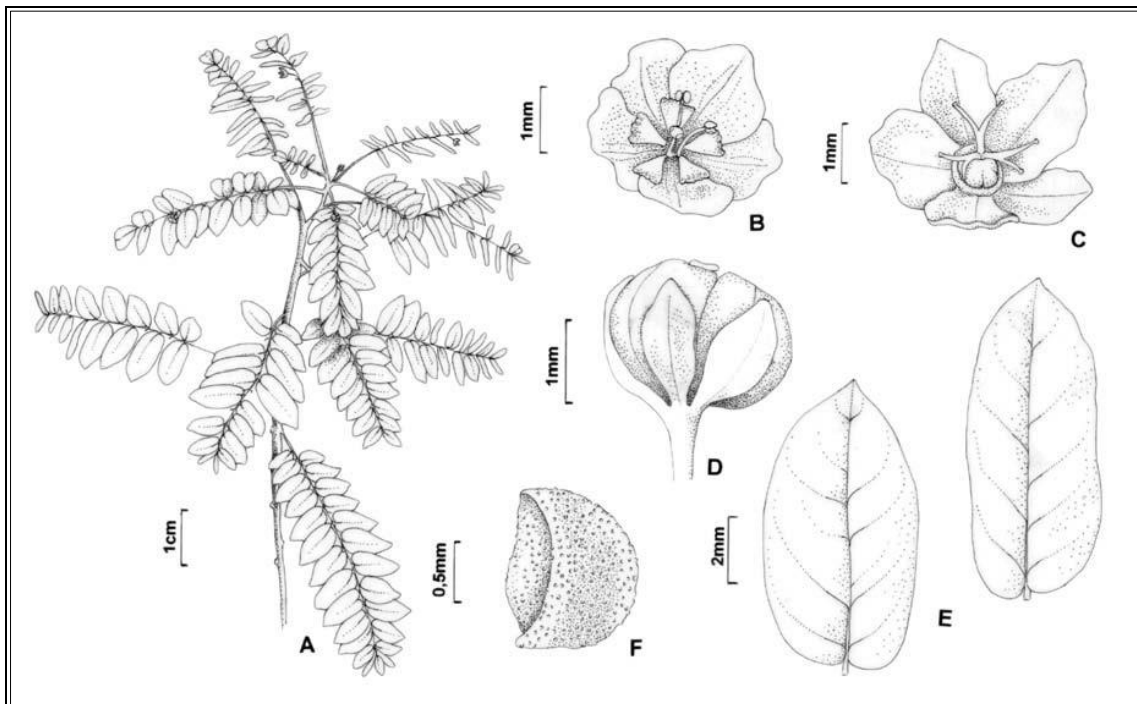


Figura 1 – Aspectos macroscópicos em *Phyllanthus niruri* L.

A – hábito. **B** – flor masculina com cinco 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.

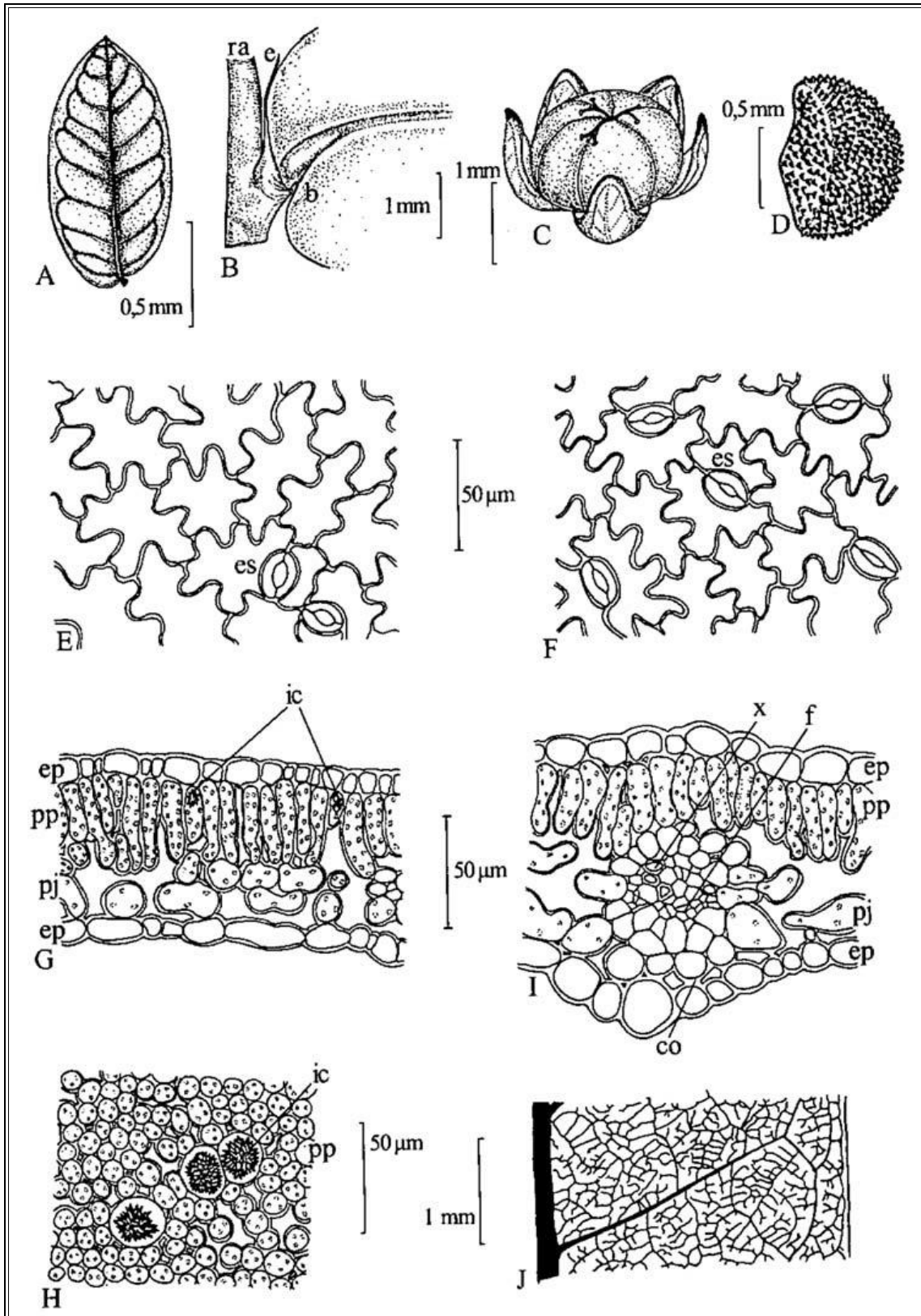


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus niruri* L.

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 paliçádico (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.

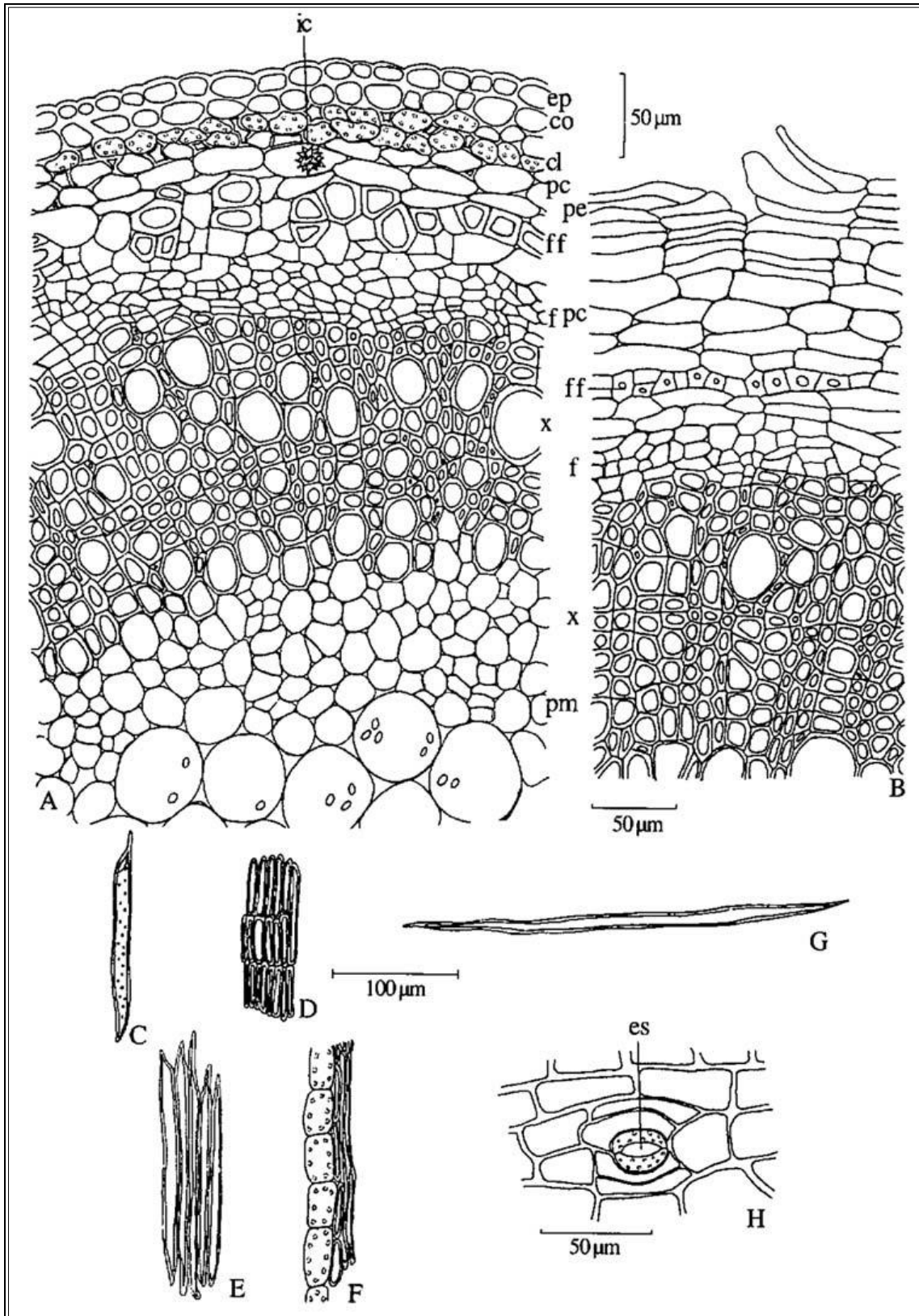


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus niruri* L.

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 clorenquimáticas 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 bífidos 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, exibe 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

A amostra satisfaz 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 periféricamente. 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 pulverizada para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de álcool metílico 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 álcool metílico durante 30 minutos, resfriar e filtrar, lavando o resíduo com 5 mL de álcool metílico. Reunir os filtrados. Completar o volume para 25 mL com álcool metílico, homogeneizar, e filtrar em membrana de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 10 mg de rutina em 2 mL de álcool metílico.

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 álcool metílico. Deixar a placa secar ao ar livre durante 30 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

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

Parte superior da placa	
Rutina: zona de fluorescência alaranjada	Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência amarela Zona de fluorescência laranja Zona de fluorescência alaranjada
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 pulverizada para balão de fundo redondo, adicionar 10 mL de álcool metílico 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 álcool metílico durante 30 minutos. Filtrar o extrato, lavando o resíduo com 5 mL de álcool metílico agrupando-o ao primeiro. Completar o volume para 25 mL com álcool metílico, 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 álcool metílico.

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 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 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 pulverizada (800 µm) (5.2.11), 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, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância da solução (A_1) em 715 nm, exatamente três 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 e homogeneizar. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL do reagente de Folin-Denis, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância da solução (A_2) em 715 nm, exatamente três 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 e homogeneizar. A 5 mL dessa solução, adicionar 2 mL de reagente de Folin-Denis, diluir para 50 mL com carbonato de sódio SR e homogeneizar. Medir a absorvância da solução (A_3) em 715 nm, exatamente três 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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times 13,12}{A_3 \times m}$$

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*;

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

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.

Eluente (A): ácido trifluoracético a 0,05% (v/v).

Eluente (B): ácido trifluoracético a 0,05% em álcool metílico (v/v).

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

0 - 8	100	0	isocrática
8 - 15	100 → 50	0 → 50	gradiente linear
15 - 20	50	50	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,75 g da droga seca e pulverizada (800 µm) (5.2.11) e transferir para balão de fundo redondo. Adicionar 30 mL de água e aquecer, em manta, sob refluxo 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 unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de ácido gálico no *Eluente (A)* para obter solução a 400 µg/mL.

Soluções para curva analítica: transferir 2 mL da *Solução referência* para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com o *Eluente (A)* e homogeneizar. Diluir alíquotas de 2 mL e 5 mL dessa solução a 25 mL utilizando o *Eluente (A)* 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 o *Eluente (A)*, 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. Filtrar em unidade filtrante 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, em porcentagem, considerando o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

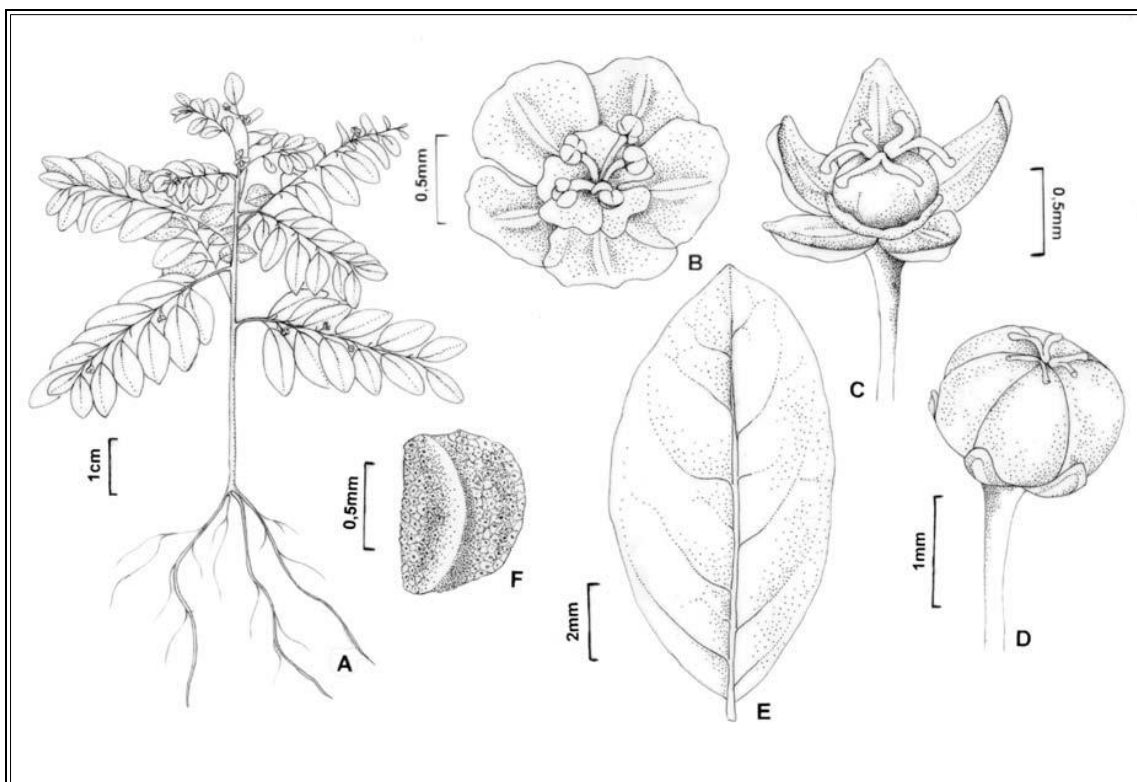


Figura 1 – Aspectos macroscópicos em *Phyllanthus tenellus* Roxb.

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.

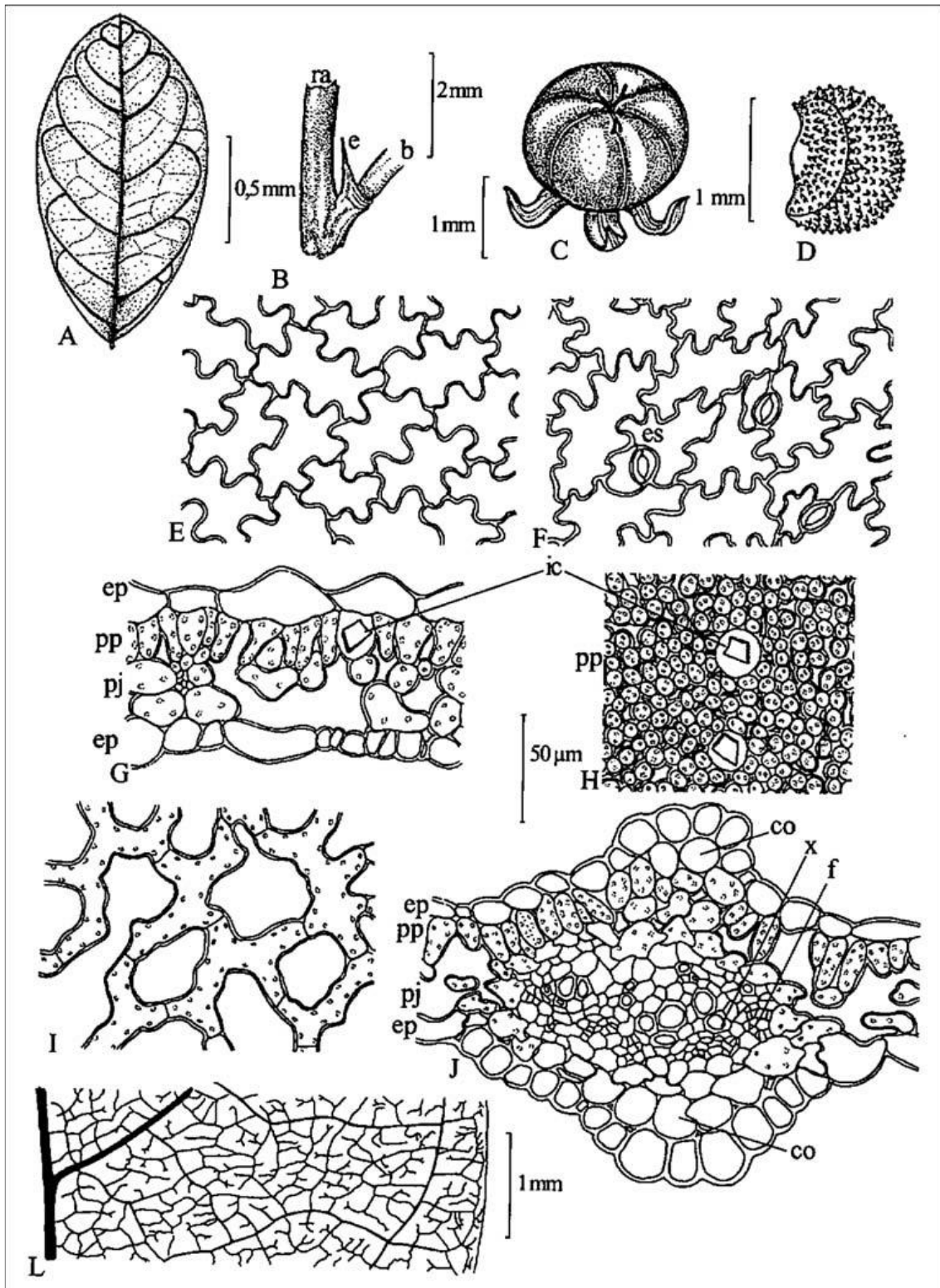


Figura 2 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus tenellus* Roxb.

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.

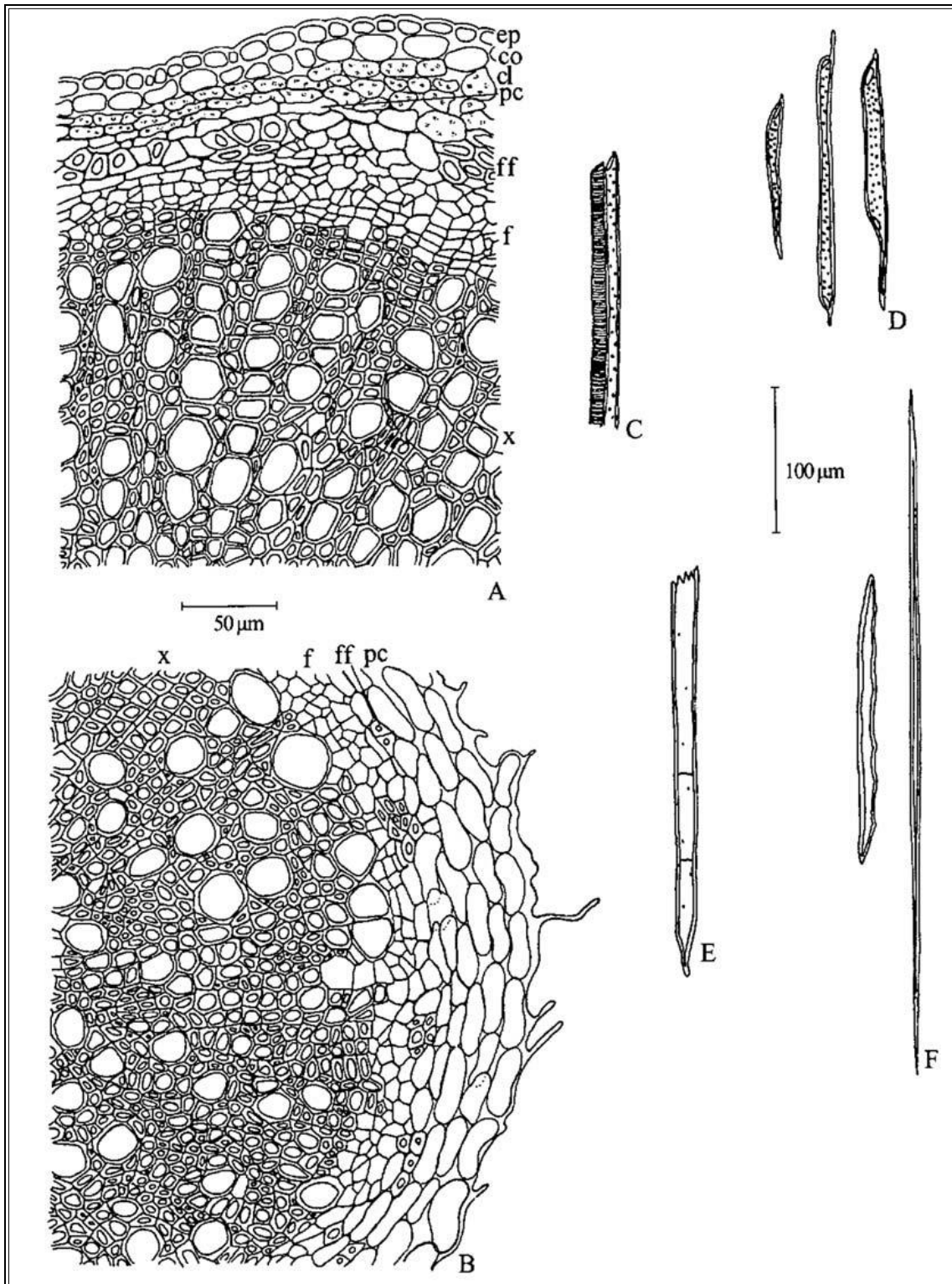


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Phyllanthus tenellus* Roxb.

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

Quillaiæ 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 essa 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 essa 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 esclereídes. 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

A amostra satisfaz 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: álcool etílico, clorofórmio e água (40:30:5).

Solução amostra: a 1 g da droga pulverizada, adicionar 20 mL de álcool etílico a 50% (v/v) e agitar durante 20 minutos. Filtrar e concentrar o filtrado à secura em banho-maria à temperatura não superior a 50 °C. Dissolver o resíduo em 5 mL de álcool metílico.

Solução referência: pesar 0,1 g de saponina purificada e dissolver em 5 mL de álcool metílico, de modo a obter solução a 2,0% (p/v). 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 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.

<i>Parte superior da placa</i>	
	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 cinco 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 álcool etílico a 45% (v/v) em um recipiente hermeticamente fechado por 24 horas, mantendo sob agitação constante durante as primeiras seis horas, e deixar em repouso por 18 horas. Filtrar e completar o volume para 100 mL com álcool etílico 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 álcool etílico 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.

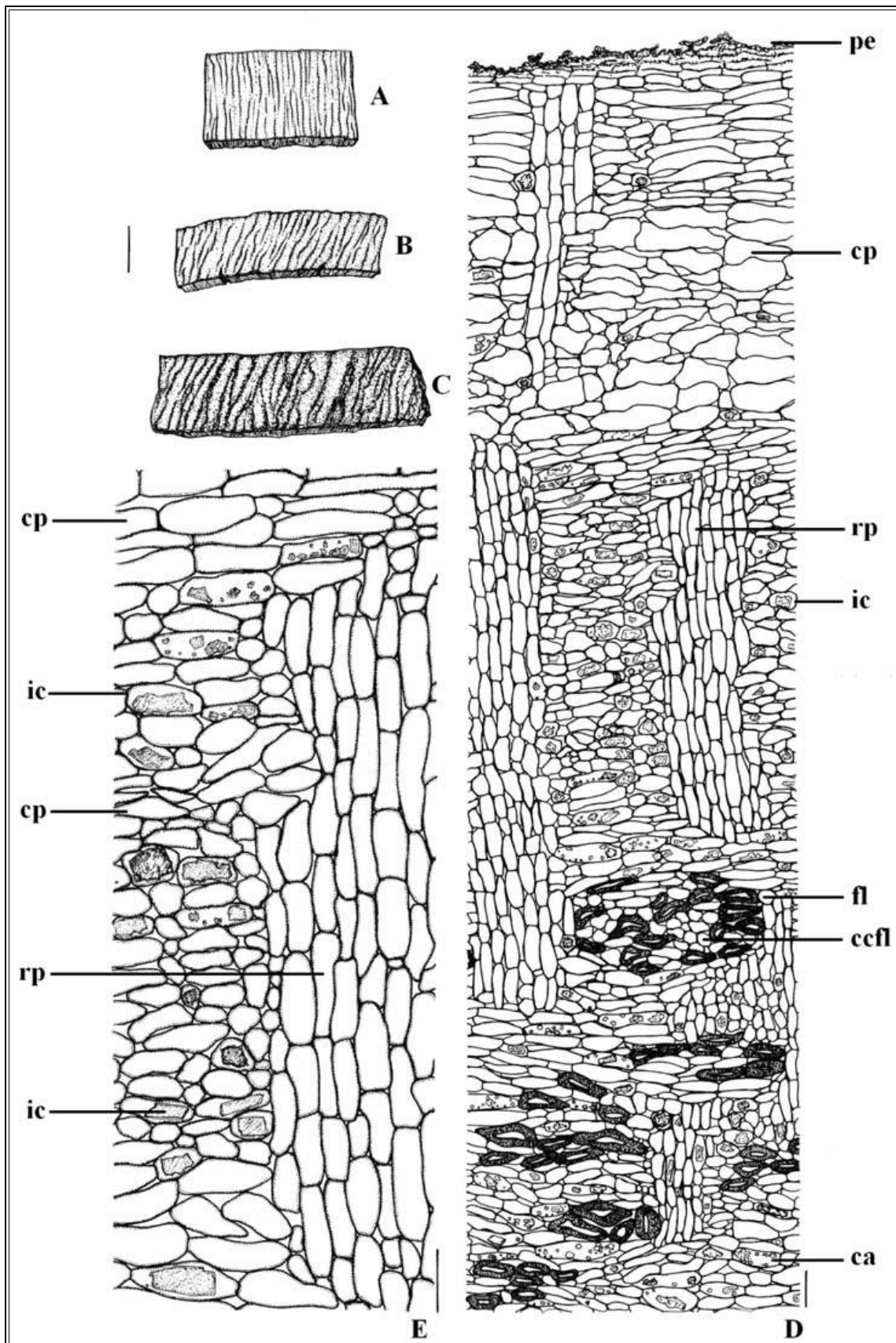


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Quillaja saponaria* Molina

As escalas correspondem em **A** a 1 cm; em **B** e **C** a 50 µm; em **D** a 150 µm; em **E** a 50 µm.

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**).

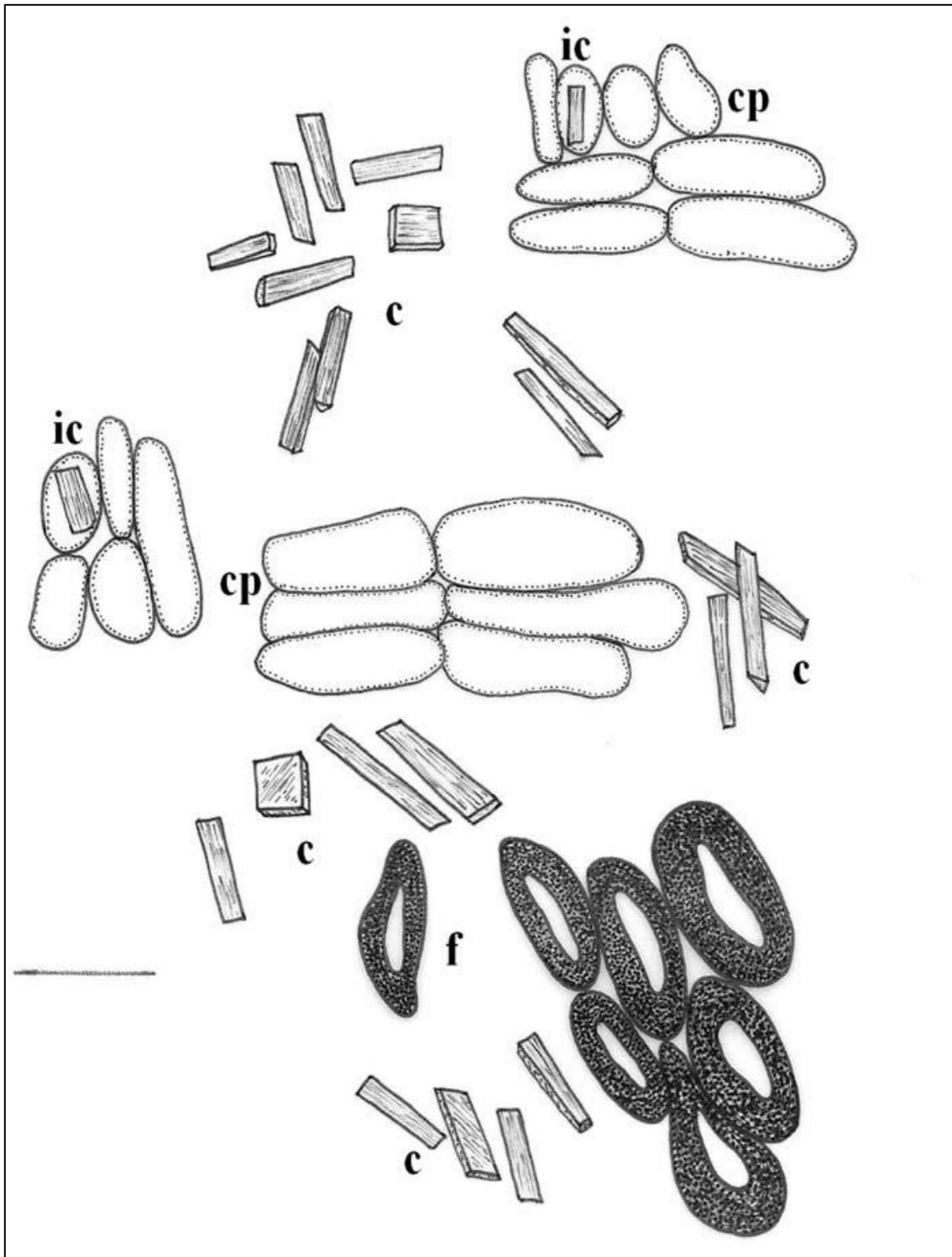


Figura 2 – Aspectos microscópicos do pó em *Quillaja saponaria* Molina

A escala corresponde a 50 μm .

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 (C₂₀H₂₄N₂O₂, 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 contêm 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

A amostra satisfaz 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 0,5 g a 1 g de casca de quina-amarela 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 álcool etílico.

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 *secura* em banho-maria. Dissolver o resíduo em 1 mL de álcool etílico absoluto.

Solução referência: dissolver, separadamente, 17,5 mg de quinina, 0,5 mg de quinidina e 10 mg de cinchonina em 5 mL de álcool etílico 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 álcool etílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
	Zona de fluorescência azul
	Zona de fluorescência azul clara
Cinchonina: zona de fluorescência azulada	Zona de fluorescência azul
Quinidina: zona de fluorescência azulada	Zona de fluorescência azul
Quinina: zona de fluorescência azul intenso	Zona de fluorescência azul intenso
<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 8,0%.

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

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) (5.2.11), 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 álcool etílico 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.

Solução branco: ácido clorídrico 0,1 M.

Procedimento: medir as absorvâncias da *Solução amostra*, *Solução referência (1)* e *Solução referência (2)* em 316 nm e 348 nm, utilizando a *Solução branco* 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;

A_{316} = absorvância medida para a *Solução amostra* em 316 nm;

A_{348} = 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;

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.

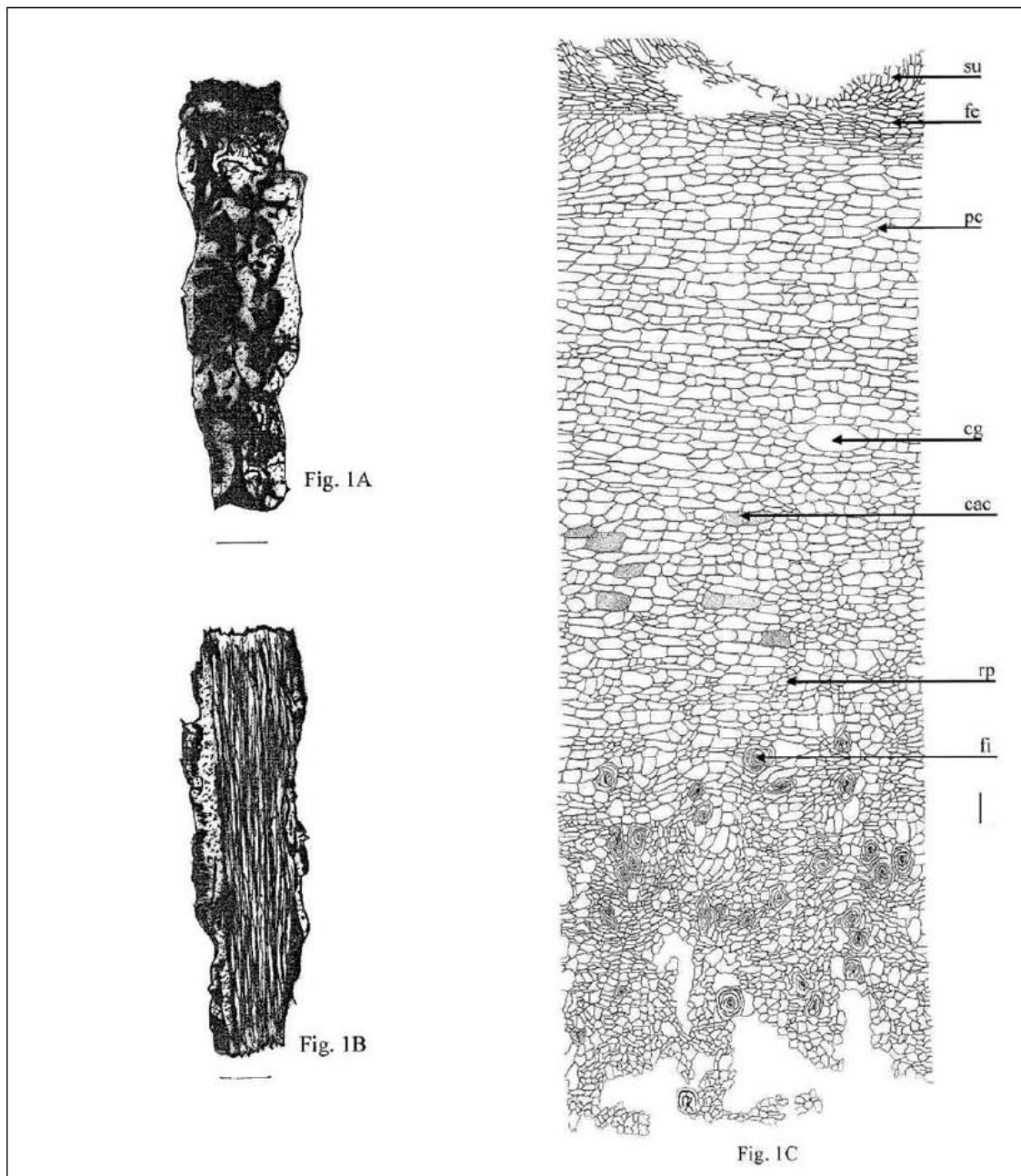


Figura 1 - Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Cinchona calisaya* Wedd.

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).

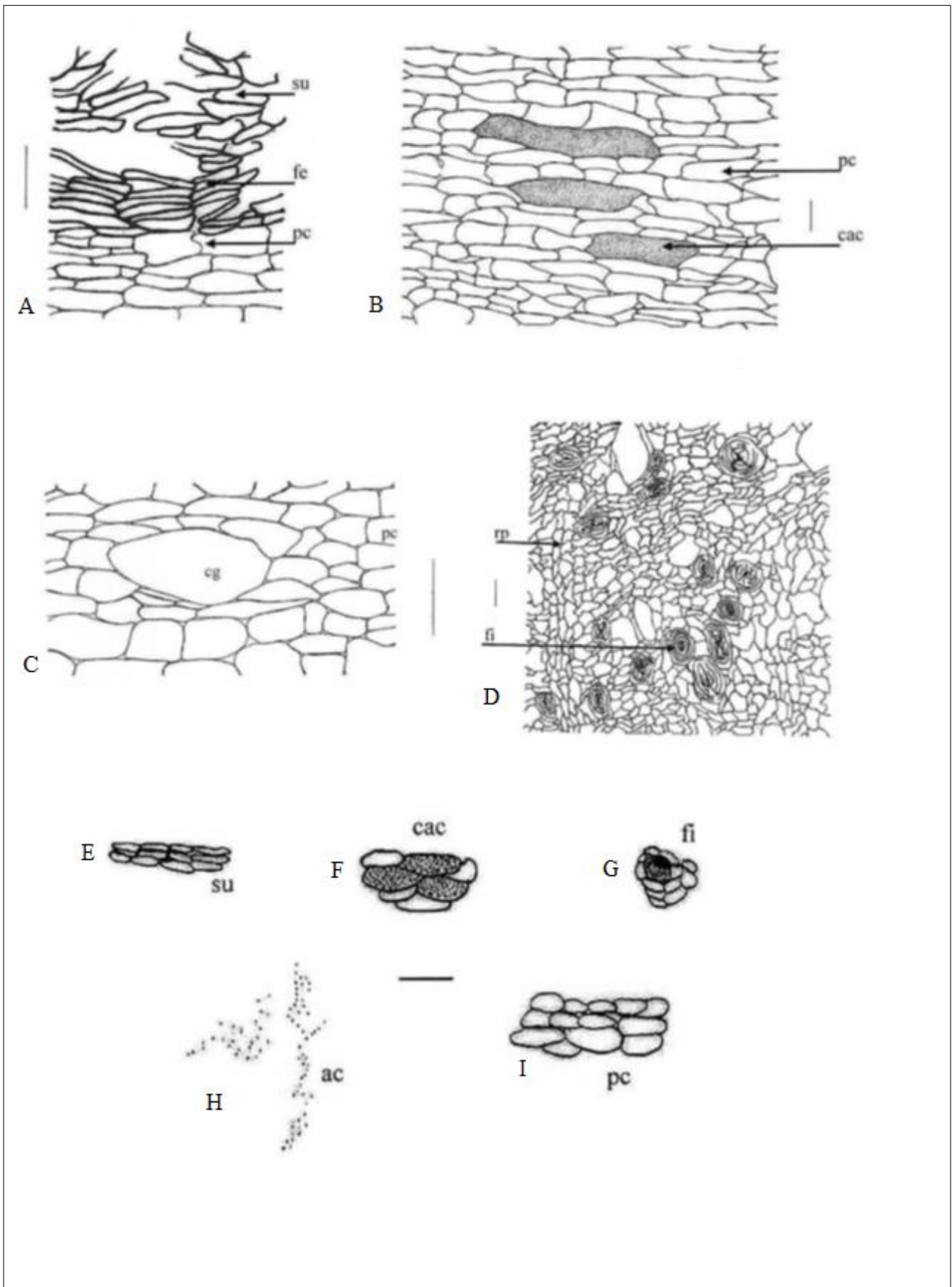


Figura 2 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Cinchona calisaya* Wedd.

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

crystalina; 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, 5,0% 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 duas a três 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. Esse 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

A amostra satisfaz 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 pulverizada, acrescentar 100 mL de álcool etílico a 70% (v/v) e aquecer, sob refluxo, por 10 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, filtrar e eliminar o álcool etílico em rotaevaporador 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 rotaevaporador sob pressão reduzida até resíduo. Retomar o resíduo com 5 mL de álcool metílico.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 2 mL de álcool metílico.

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 álcool metílico.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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 2,0%.

Água (5.4.1.4). No máximo 12,0%.

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

Cinzas insolúveis em ácido (5.4.1.5.3). No máximo 2,0%.

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

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) (5.2.11) 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 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 do filtrado 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 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 totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 utilizada no ensaio, considerando o teor de água determinado;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

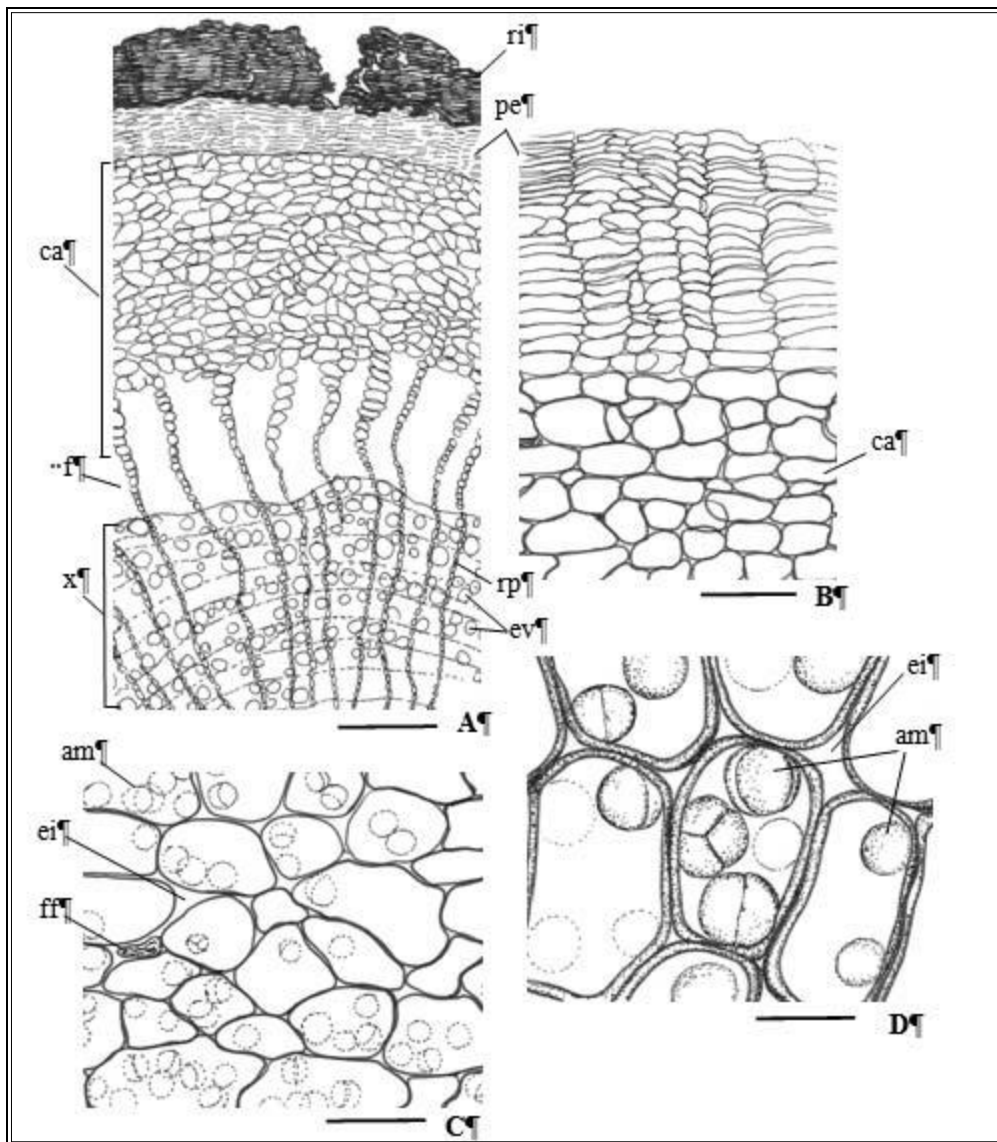


Figura 1 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson

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).

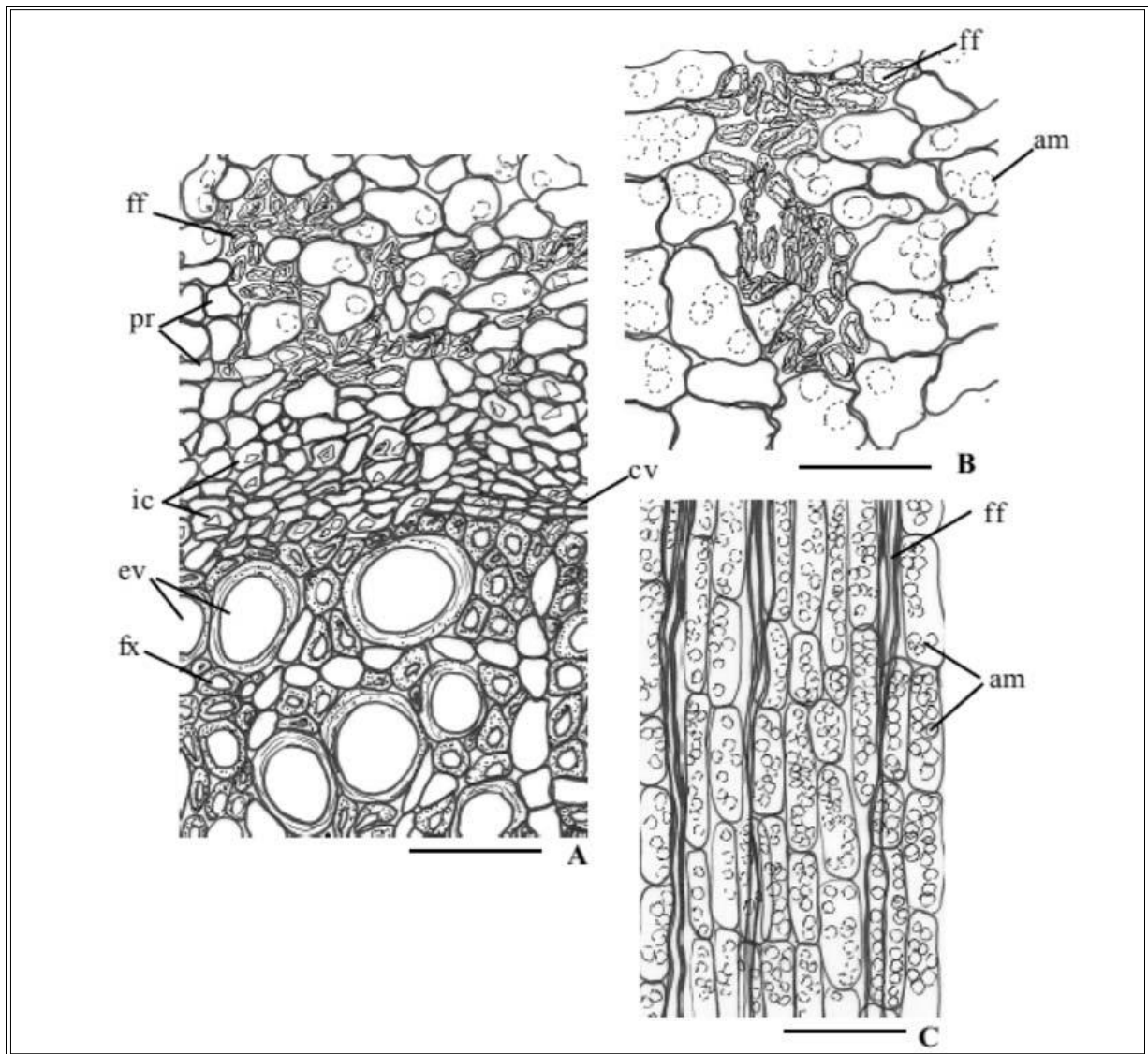


Figura 2 – Aspectos microscópicos *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson

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).

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 mm de diâmetro; a casca pode faltar parcialmente e observam-se, nessas 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 dois a oito 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

A amostra satisfaz 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: álcool butílico, ácido acético e água (40:10:10).

Solução amostra: ferver sob refluxo 1 g da droga seca e pulverizada com 5 mL de álcool metílico 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 álcool metílico.

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 solução de iodeto de potássio e subnitrito 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
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 5,0%.

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.

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 pulverizada e realizar extração com 100 mL de álcool etílico, sob refluxo durante quatro horas, protegendo sempre da luz. Após a extração, completar o volume com álcool etílico, 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 álcool etílico e homogeneizar.

Solução amostra (1): transferir, volumetricamente, 25 mL da *Solução amostra estoque* para balão de fundo redondo e levar a secura em rotaevaporador com banho-maria em temperatura a cerca de 40 °C. Adicionar, volumetricamente, 5 mL de álcool etílico 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 rotaevaporador com banho-maria em temperatura a cerca de 40 °C. Adicionar, volumetricamente, 5 mL de álcool etílico, 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 álcool etílico e levar ao ultrassom. Aquecer se necessário. Aguardar o resfriamento da solução, completar o volume com álcool etílico e homogeneizar. Transferir, volumetricamente, 5 mL dessa solução para balão volumétrico de 100 mL, completar o volume com álcool etílico 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.

Solução branco: utilizar álcool etílico e água (2:1).

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 a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular a massa de alcaloides do grupo reserpina-rescinamina, como reserpina, em mg, segundo a expressão:

$$MAL = 5 \times \frac{(A_1 - A_2)}{(S_1 - S_2)}$$

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 referência (1)*;

S_2 = absorvância medida para a *Solução referência (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;

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

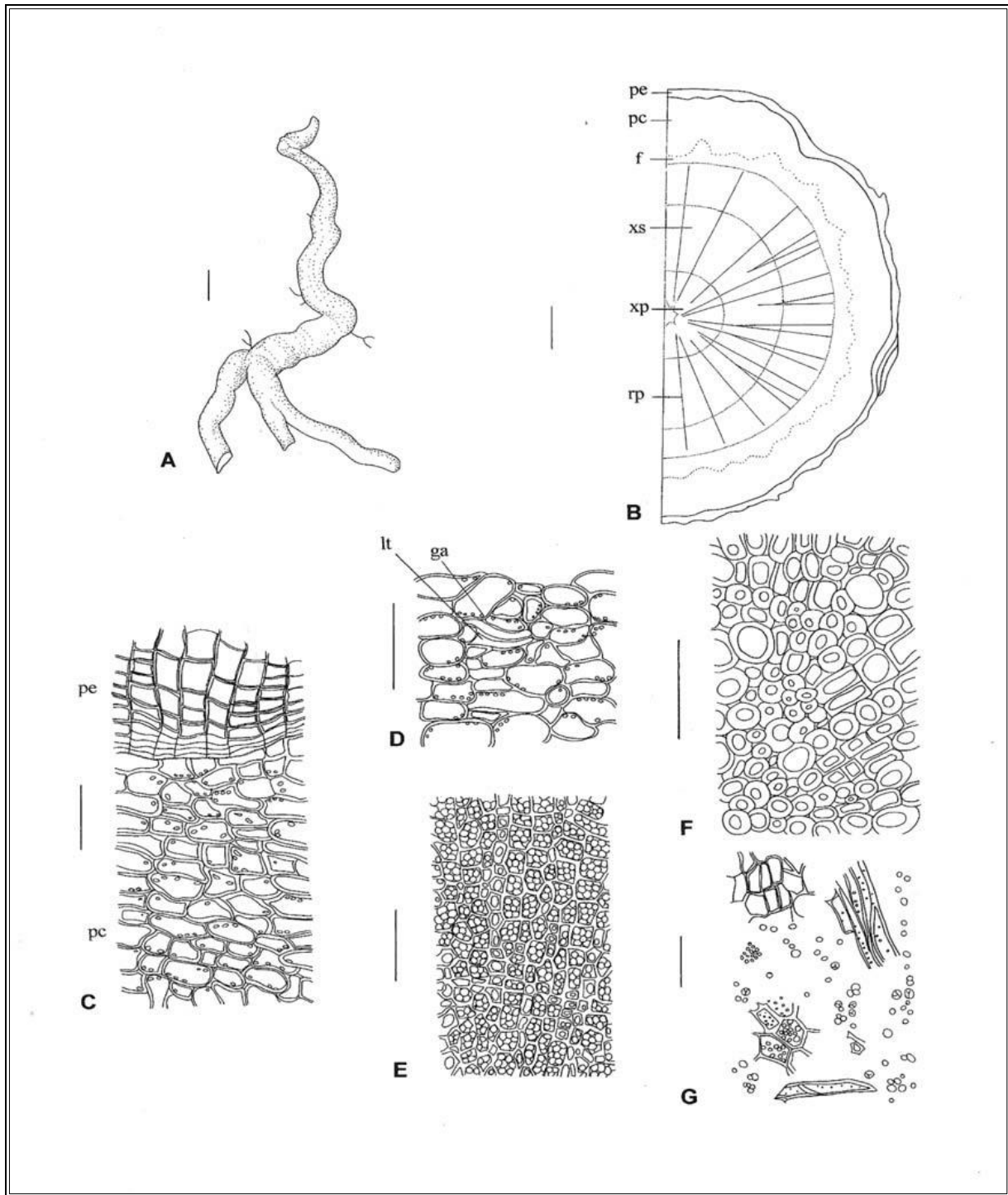


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz

As escalas correspondem: em A a 100 mm, em B e G a 100 μm , e de C a F a 50 μm .

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).

ROMÃ, pericarpo
Punicae granati pericarpium

A droga é constituída por porções secas do pericarpo do fruto de *Punica granatum* L., contendo, no mínimo, 5,0 % de polifenóis totais, expressos em ácido elágico (C₁₄H₆NO₈, 302,20).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

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

B. Descrição microscópica

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

C. Descrição microscópica do pó

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

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

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

Fase móvel: tolueno, acetato de etila e ácido fórmico (4:8:2).

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

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

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

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

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

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

Parte superior da placa 1		Parte superior da placa 2	
Ácido Elágico: zona de fluorescência	zona de fluorescência	Ácido Elágico: zona de coloração preta	zona de coloração preta
Punicalaginas: zona de fluorescência	zona de fluorescência	Punicalaginas: zona de coloração preta	zona de coloração preta
	zona de fluorescência		
	zona de fluorescência		
	zona de fluorescência		
<i>Solução Referência</i>	<i>Solução Amostra</i>	<i>Solução Referência</i>	<i>Solução Amostra</i>

TESTES

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

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

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

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

Polifenóis totais, expressos em ácido elágico

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

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

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

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

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

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

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

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

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

em que,

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

C_p = concentração da solução de referência de ácido elágico em g/mL, considerando pureza do padrão;

$\Sigma A_{\alpha\beta}$ = somatório das áreas dos picos correspondentes as punicalaginas α e β no cromatograma obtido com a solução amostra;

A_{ae} = área do pico correspondente ao ácido elágico no cromatograma obtido com a solução amostra;

A_p = área do pico correspondente ao ácido elágico no cromatograma obtido com a *solução de referência*;

FR = Fator de resposta para as punicalagina (3)

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

FD = Fator de diluição da amostra (125).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

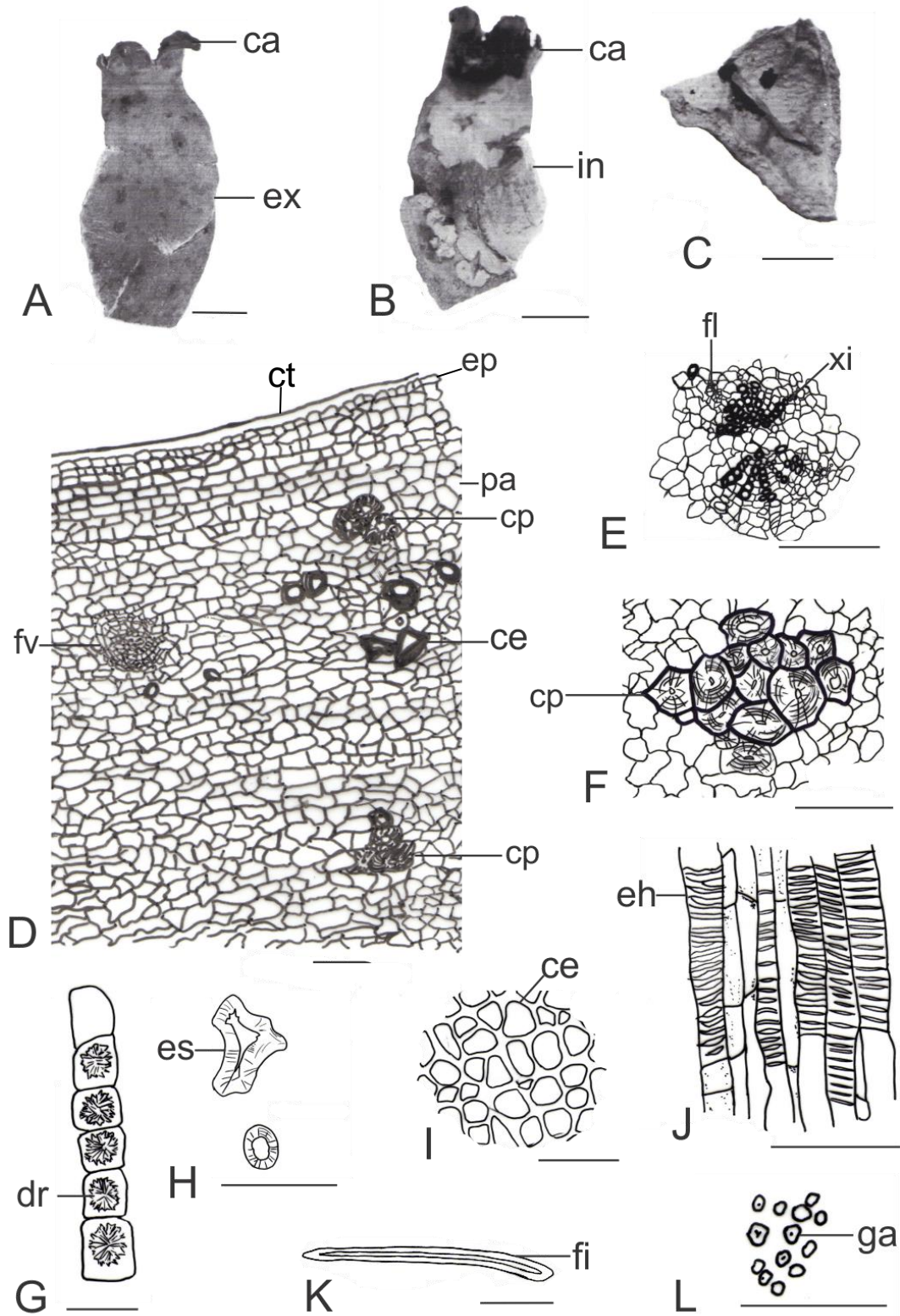


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos e microscópicos do pó em *Punica granatum* L.

As escalas correspondem em A-C a 1 cm; em D-L a 50 µm.

A – representação esquemática da superfície externa (ex) da casca, em vista frontal contendo cálice persistente (ca). **B** – representação esquemática da superfície interna (in) da casca, em vista frontal contendo cálice persistente (ca). **C** – representação esquemática da superfície interna da casca, em vista frontal. **D** – representação histológica da casca, em secção transversal, mostrando célula esclerenquimática (pa); células parenquimáticas (cp); cutícula (ct); epiderme (ep); feixes vasculares (fv); grupo de células pétreas (cp). **E** – fragmento do parênquima contendo feixe vascular: floema (fl) e xilema (xi). **F** – fragmento de parênquima contendo grupo de células pétreas (cp). **G** – Grupo de células contendo drusas (dr). **H** – Esclereídes isoladas (es). **I** – fragmento contendo células epidérmicas (ce) em vista frontal. **J** – fragmento de

parênquima contendo elementos de vaso com espessamento helicoidal (eh). **K** – fibra (fi) isolada em vista longitudinal.
L – Grãos de amido (ga).

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, em que 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

A amostra satisfaz 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) (5.2.11), 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 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 365 nm. Nebulizar a placa com hidróxido de potássio a 10% (p/v) em álcool metílico para a visualização de zonas vermelho a violeta.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Emodina: zona de fluorescência alaranjada	Zona de fluorescência alaranjada
	Zona de fluorescência alaranjada
	Zona de fluorescência alaranjada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>
	Zona de fluorescência alaranjada
	Zona de fluorescência alaranjada

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 álcool metílico (80:20).

Solução amostra: pesar 0,2 g da droga pulverizada e adicionar 2 mL de álcool metílico. Aquecer sob refluxo, por 15 minutos. Esfriar e filtrar.

Solução referência: solução de raponticina a 1 mg/mL em álcool metílico.

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 álcool metílico.

Solução branco: usar álcool metílico.

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 515 nm, imediatamente após o seu preparo, utilizando *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de derivados hidroxiantracênicos, expressos em réina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TDHC} = \frac{A \times 300}{m \times 440}$$

em que,

TDHC = teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em réina % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

300 = fator de diluição;

440 = coeficiente de absorção específica da réina;

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

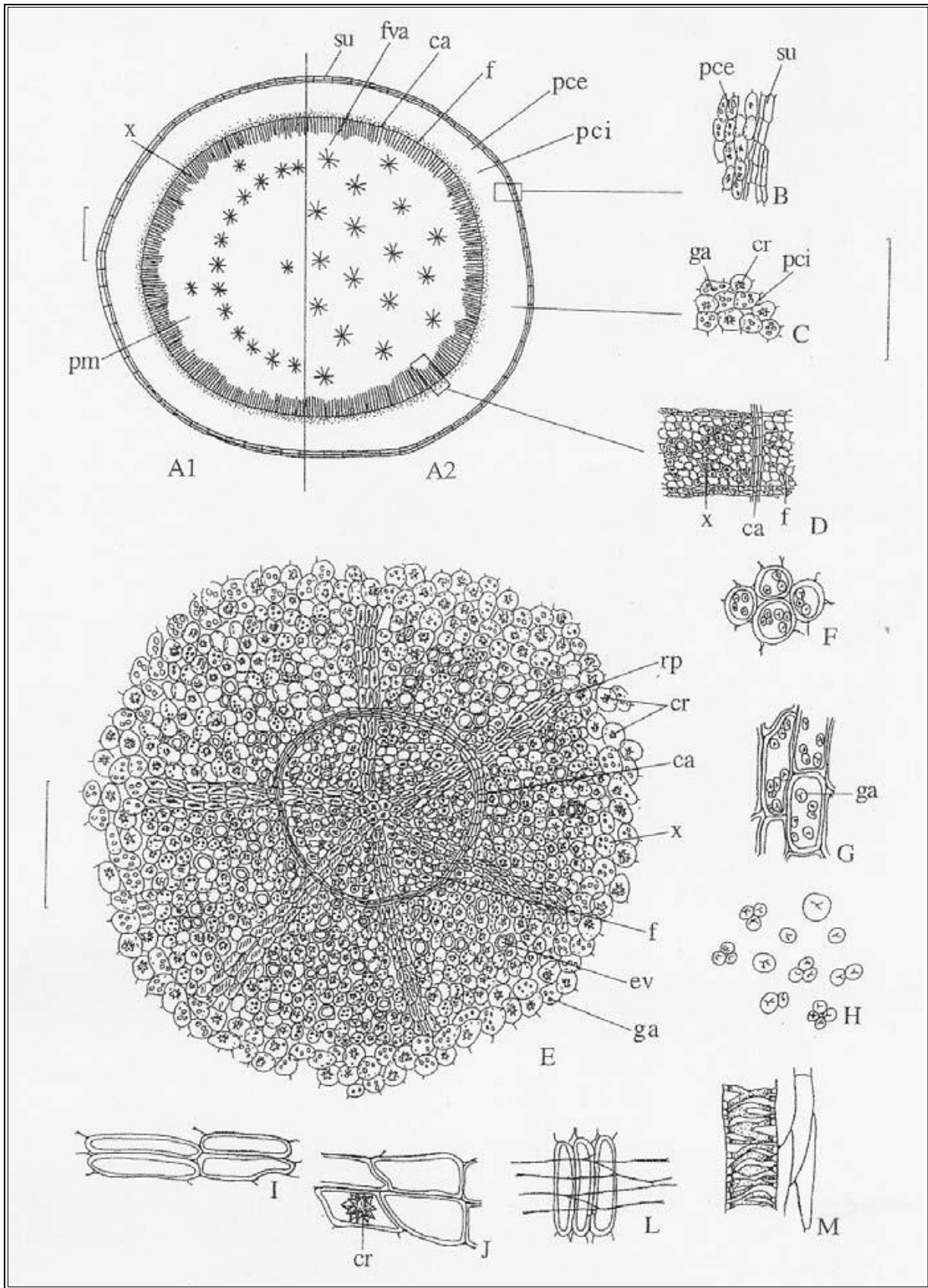


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Rheum palmatum* L. (A1) e *Rheum officinale* Baill. (A2)

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-DO-BRASIL, flor

Sambucus australis flos

A droga vegetal consiste de flores secas de *Sambucus australis* Cham. & Schltl., contendo, no mínimo, 2,0% de flavonoides totais, expressos em quercetina e, no mínimo, 0,8% 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 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 mm de comprimento e 1,5 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 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 essa 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para as flores dessa 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 pulverizada (355 µm) (5.2.11) para um béquer e adicionar 5 mL de álcool metílico. Sonicar por 10 minutos. Centrifugar a 1000 × g por cinco 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 álcool metílico.

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 cinco 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% 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: nos esquemas a seguir há as sequências de 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, aparecerem.

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
Solução referência	Solução amostra

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de coloração azul fluorescente	Zona de coloração azul-fluorescente intensa
Hiperosídeo: zona de coloração amarelo escuro	Duas zonas de coloração azul-fluorescente intensa 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
Solução referência	Solução amostra

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 rotina, sendo que todos apresentam espectro de absorção no ultravioleta semelhante à rutina.

TESTES

Matéria estranha (5.4.1.3). No máximo, 8,0% de pedicelos grosseiros e outros materiais estranhos. No máximo, 15% da amostra com coloração alterada (enegrecida).

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

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

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) (5.2.11) 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 álcool metílico 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 álcool metílico.

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, expressos como quercetina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TF = \frac{A \times 156,25}{m \times 500}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais, expressos em quercetina % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

156,25 = fator de diluição;

500 = coeficiente de absorção específica da quercetina;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

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.

Eluente (A): água, acetonitrila e ácido trifluoracético (95:5: 0,01).

Eluente (B): acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,01).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) %</i>	<i>Eluente (B) %</i>	<i>Eluição</i>
0 – 7	90 → 70	10 → 30	gradiente linear
7 – 8	70 → 0	30 → 100	gradiente linear
8 – 11	0	100	isocrática
11 – 12	0 → 90	100 → 10	gradiente linear
12 – 18	90	10	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da droga seca e pulverizada (800 µm) (5.2.11), colocar em frasco de vidro e agitar por turbólise, velocidade 3, durante cinco minutos, com 5 mL de álcool etílico 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. Diluir 50 µL em 0,95 mL de mistura de acetonitrila e água (1:9). Homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 5 mg de rutina SQR em 10 mL de álcool metílico.

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 álcool metílico, 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 cinco minutos para a rotina. 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, em porcentagem, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

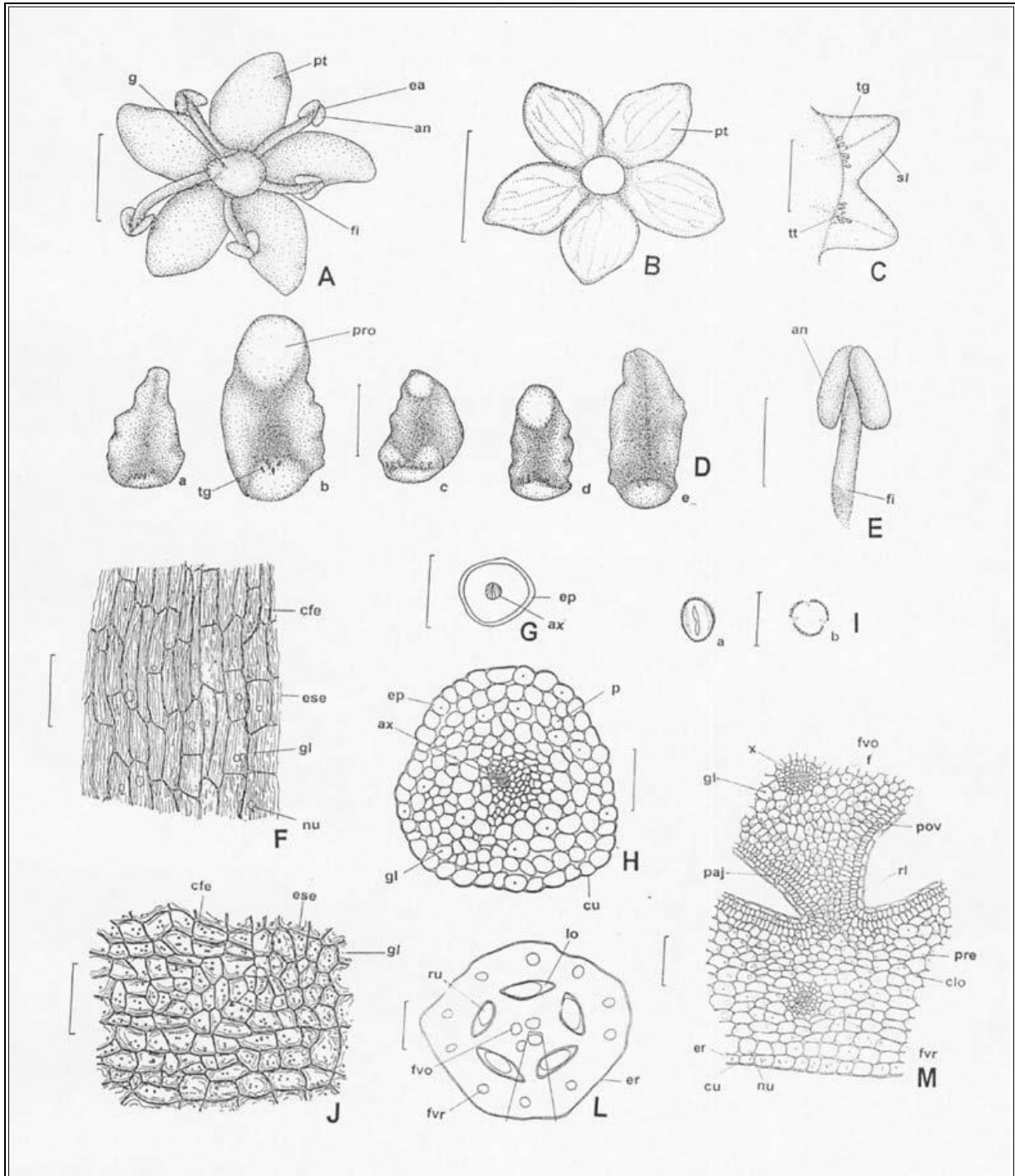


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schltdl.

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); cutícula estriada (cu); epiderme (ep); gota lipídica (gl); parênquima (p). **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); cloroplastídeo (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).

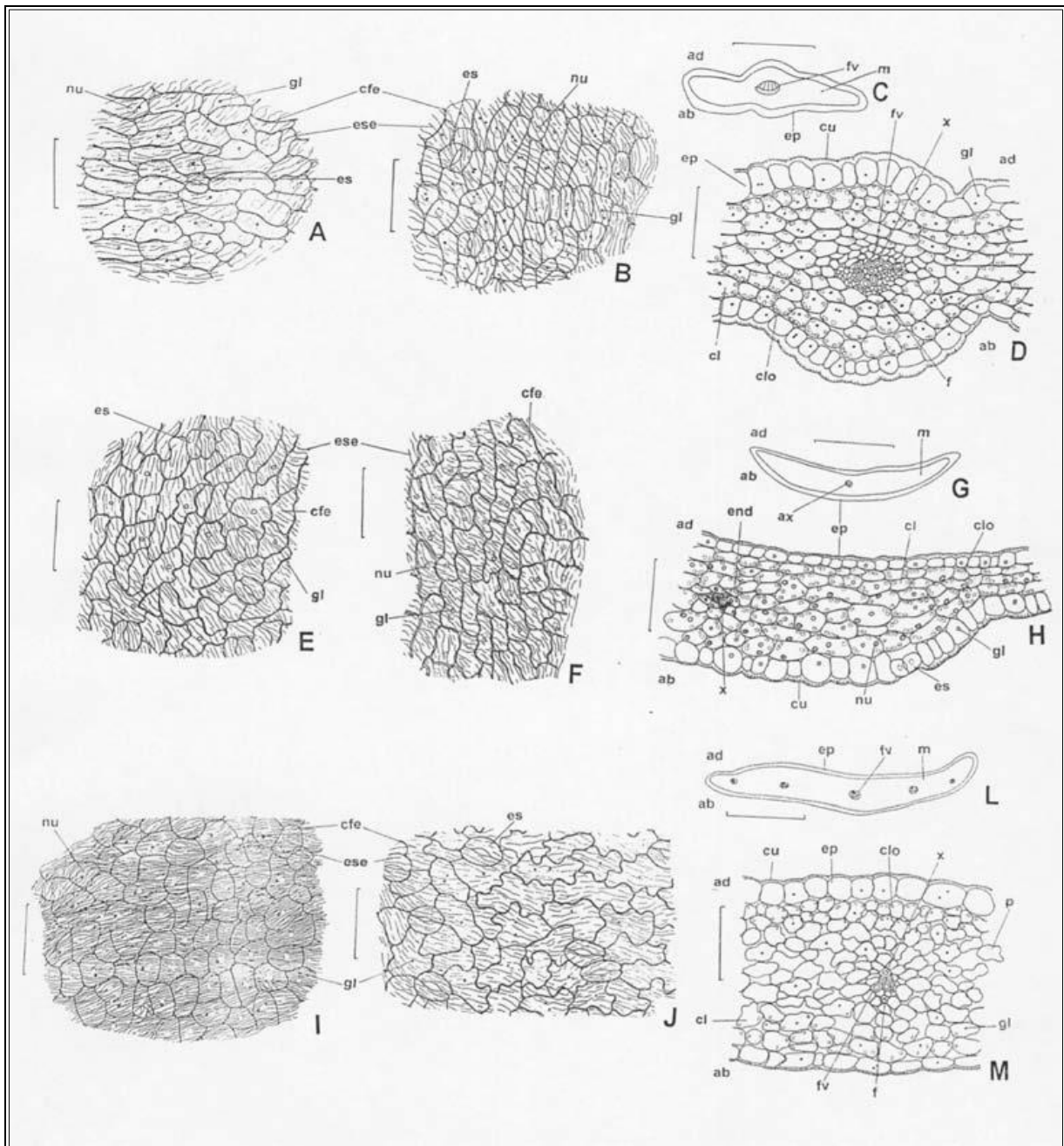


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schltdl.

As réguas correspondem em **A, B, D, E, F, H, I, J** e **M** a 100 µm; em **C** e **G** a 400 µm; em **L** a 800 µm.

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).

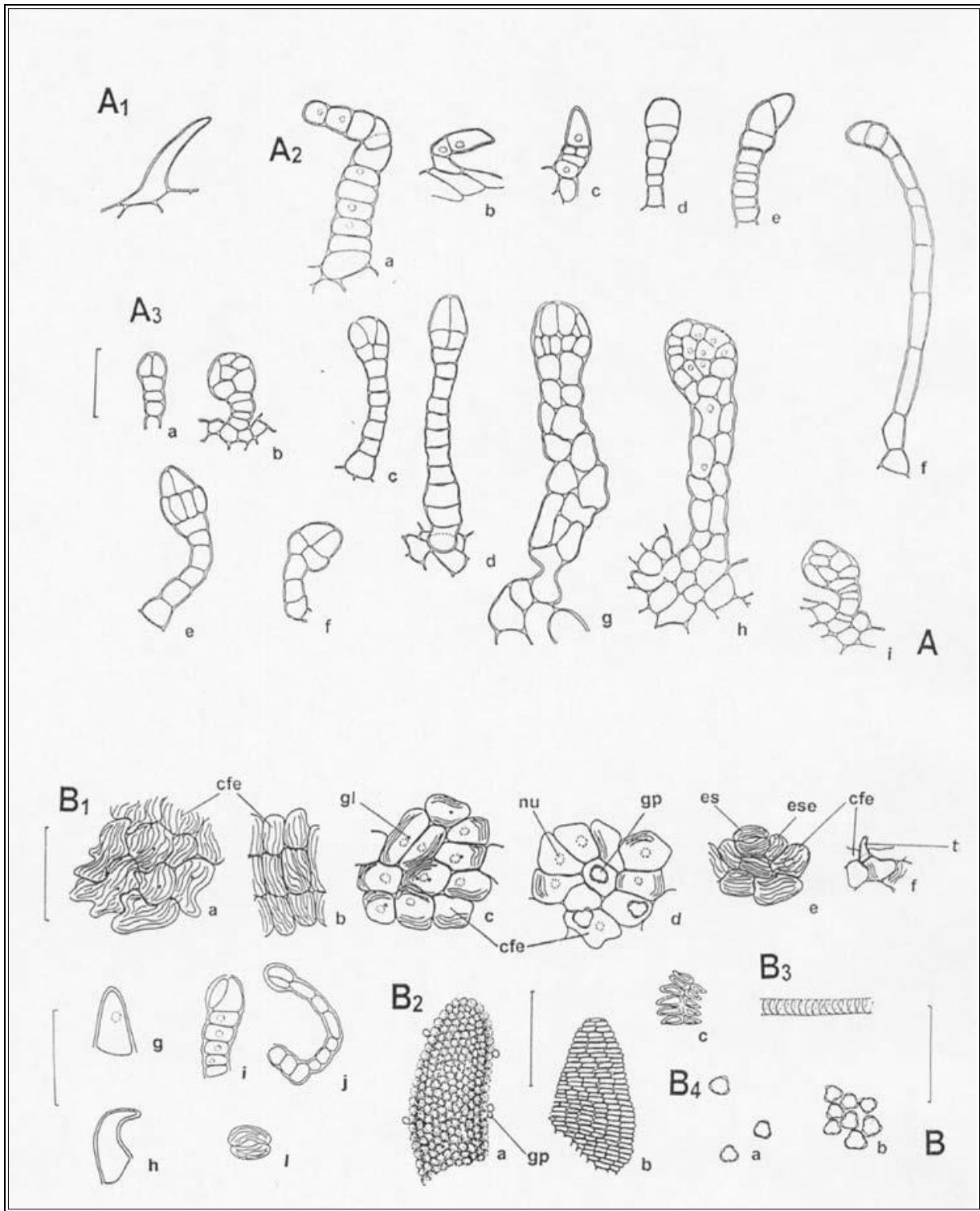


Figura 3 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus australis* Cham. & Schltdl.

As régua 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).

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, 1,0% 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 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 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 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 hipoestomáticas, anfiestomáticas e anfi-hipoestomáticas 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 essa 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para as flores dessa 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 desses; 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 pulverizada (355 µm) **5.2.11**) para um béquer e adicionar 5 mL de álcool metílico. Sonicar por 10 minutos. Centrifugar a 1000 × g por cinco 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 álcool metílico.

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 cinco 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% 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: nos esquemas a seguir há as sequências de 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, aparecerem.

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
Solução referência	Solução amostra

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de coloração azul fluorescente	Zona de coloração azul-fluorescente intensa
Hiperosídeo: zona de coloração amarelo escuro	Duas zonas de coloração azul-fluorescente intensa 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
Solução referência	Solução amostra

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, 8,0% de pedicelos grosseiros e outros materiais estranhos, e, no máximo, 15% da amostra com cor alterada (enegrecida).

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* No máximo 11,0%.

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

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

DOSEAMENTO

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) e colocar em balão de fundo redondo de 100 mL. Acrescentar 0,25 mL de solução aquosa de metenamina 0,5% (v/v), 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 álcool metílico, completar o volume com solução de ácido acético a 5% (p/v) em álcool metílico 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 álcool metílico 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:

$$TF = \frac{A \times 156,25}{m \times 500}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais, expressos em quercetina % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

156,25 = fator de diluição;

500 = coeficiente de absorção específica da quercetina;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

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.

Eluente (A): água, acetonitrila e ácido trifluoracético (95:5: 0,01).

Eluente (B): acetonitrila e ácido trifluoracético (100:0,01).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) %</i>	<i>Eluente (B) %</i>	<i>Eluição</i>
0 – 7	90 → 70	10 → 30	gradiente linear
7 – 8	70 → 0	30 → 100	gradiente linear
8 – 11	0	100	isocrática
11 – 12	0 → 90	100 → 10	gradiente linear
12 – 18	90	10	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,25 g da droga seca e pulverizada (800 µm) (5.2.11) e colocar em frasco de vidro. Agitar, por turbólise, velocidade 3, durante cinco minutos com 5 mL de álcool etílico 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. Diluir 50 µL em 950 µL de mistura de acetonitrila e água (1:9) e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 5 mg de rutina SQR em 10 mL de álcool metílico.

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 álcool metílico, 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 cinco 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, em porcentagem, considerando a perda por dessecação.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

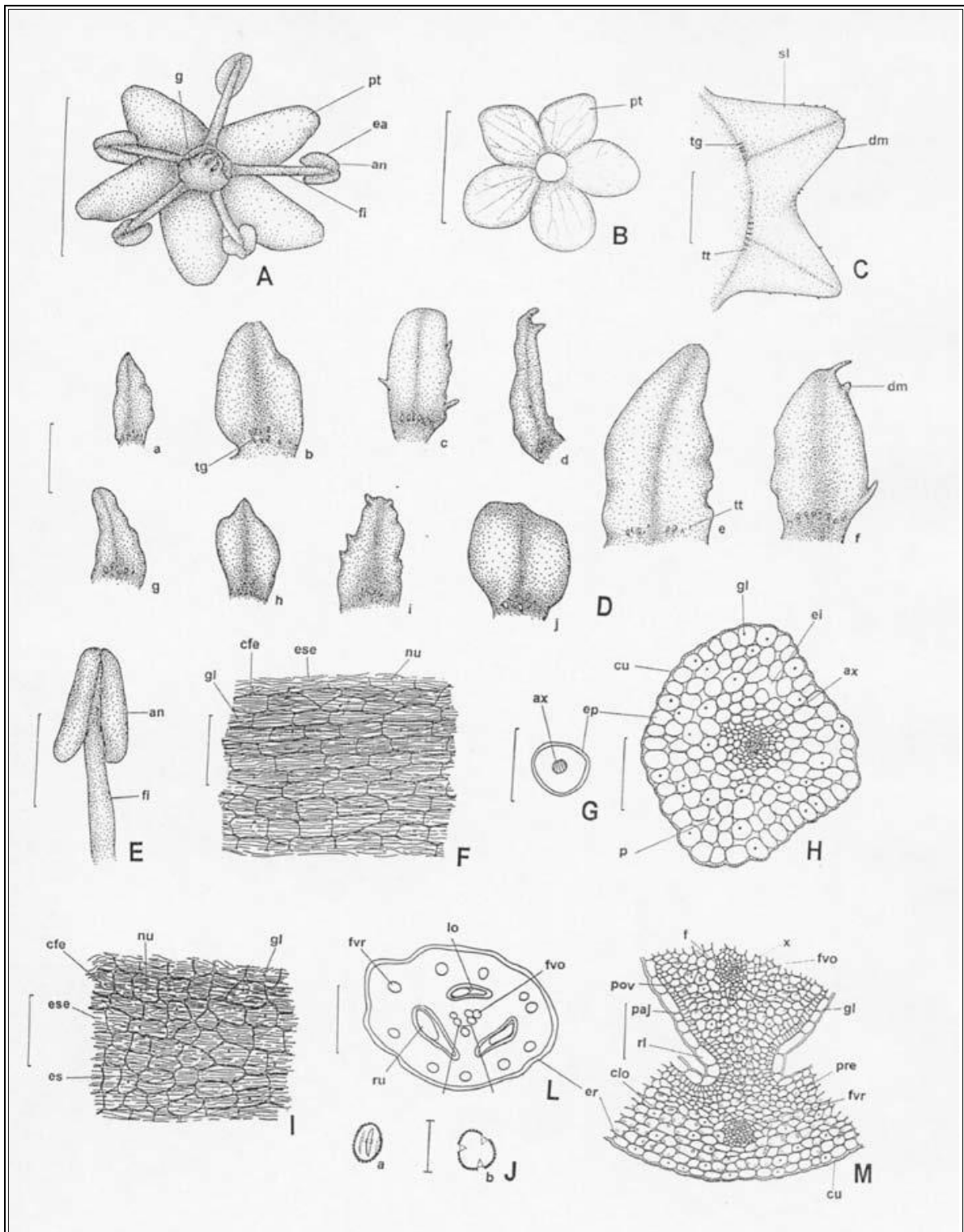


Figura 1 - Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.

As régua 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 µm; em **J** a 30 µm; em **L** a 400 µm.

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).

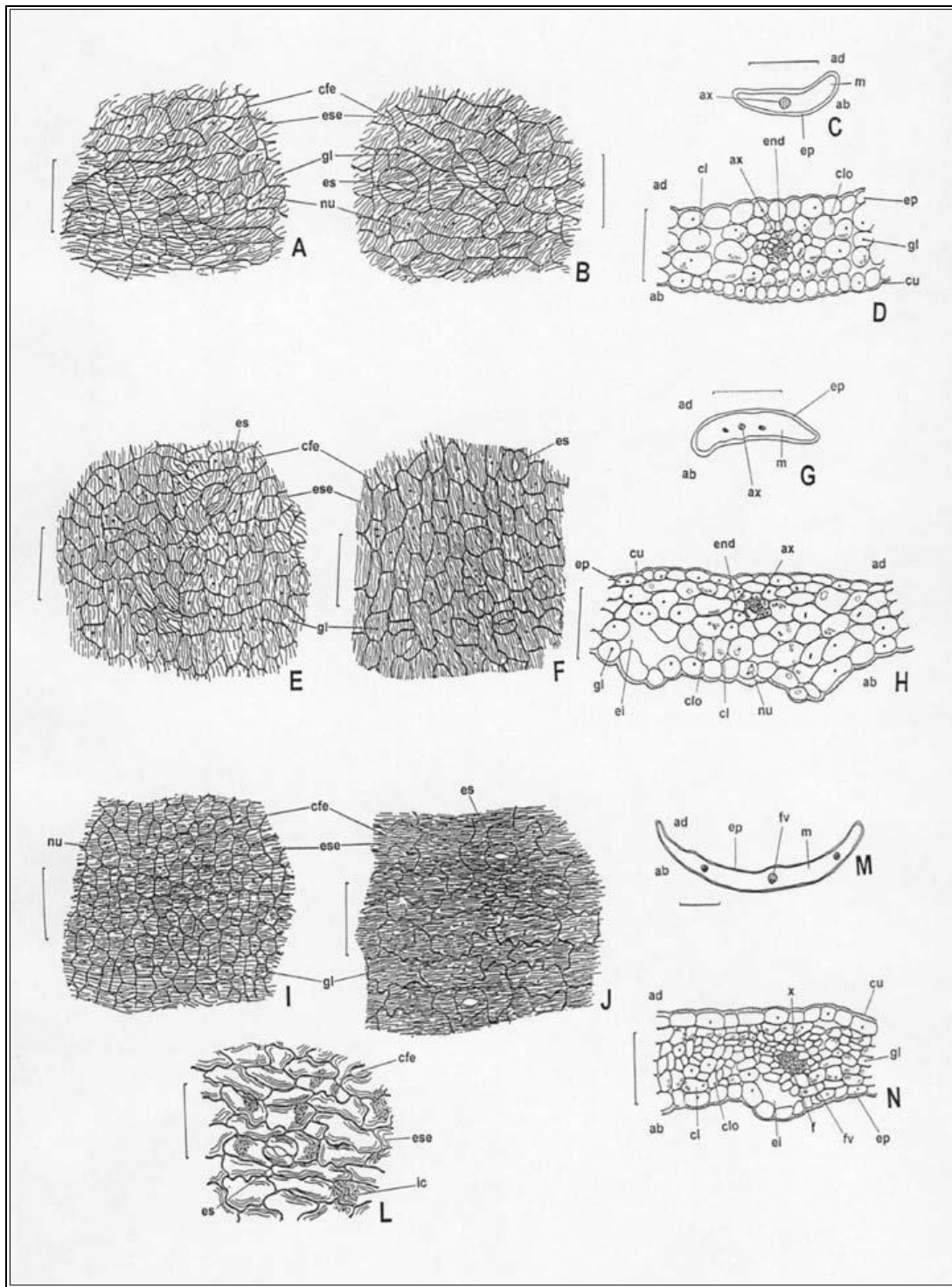


Figura 2 - Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.

As réguas correspondem em **A, B, D, E, F, H, I-L e N** a 100 µm; 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).

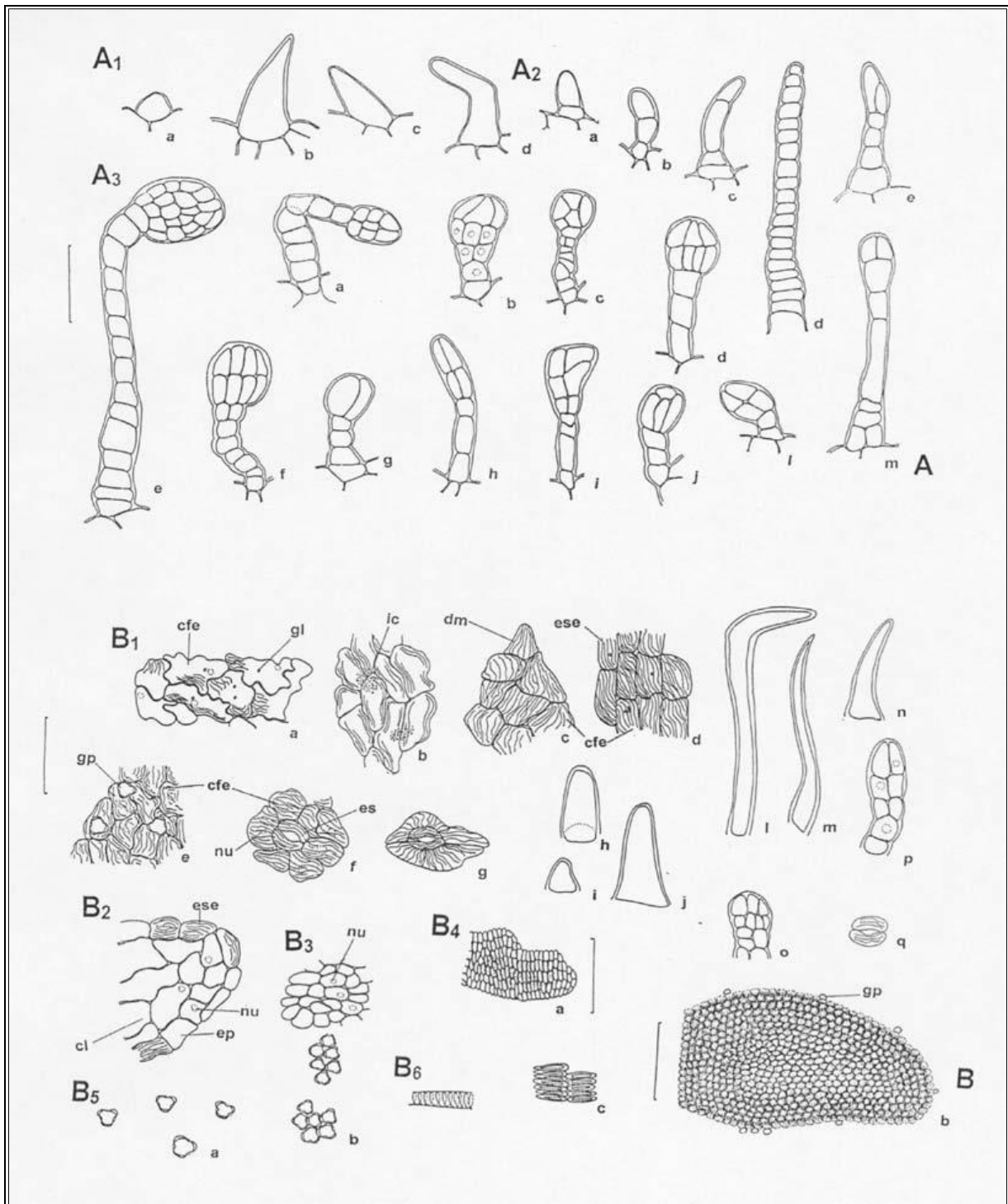


Figura 3 - Aspectos microscópicos e macroscópicos do pó em *Sambucus nigra* L.

As régulas correspondem em A e B (B1 - B3, B4c-B6) a 100 µm; em B (B4a e b) a 400 µm.

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.

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

A amostra satisfaz 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, álcool metílico e água (77:13:10).

Solução amostra (1): aquecer 0,5 g da amostra pulverizada (500 µm) (5.2.11), com 10 mL de álcool metílico, 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 álcool metílico.

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 álcool metílico e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C, durante 10 a 15 minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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, 3,0% de ramos com diâmetro superior a 10 mm. No máximo, 2,0% de outros materiais estranhos.

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

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 pulverizada (355 µm) (5.2.11) juntar 25 mL de álcool metílico e aquecer sob refluxo, durante 30 minutos. Esfriar e filtrar. Retomar o resíduo com 25 mL de álcool metílico e tratar como descrito anteriormente. Reunir os filtrados e evaporar sob pressão reduzida até *secura*. Suspender o resíduo com 2 mL de álcool metílico, adicionar 2 mL de hidróxido de sódio 0,1 M e aquecer em banho-maria, sob refluxo, durante uma 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 álcool metílico e água (1:1) e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 seis 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, em porcentagem, considerando o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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; cloroplastídio (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); cloroplastídio (clo); idioblasto cristalífero (ic). **G** – detalhe de porção do parênquima, mostrando agrupamento de células pétreas, em secção transversal; cloroplastídio (clo); célula pétrea (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 pétrea (cp); idioblasto cristalífero (ic); parênquima (p); pontoação (pto).

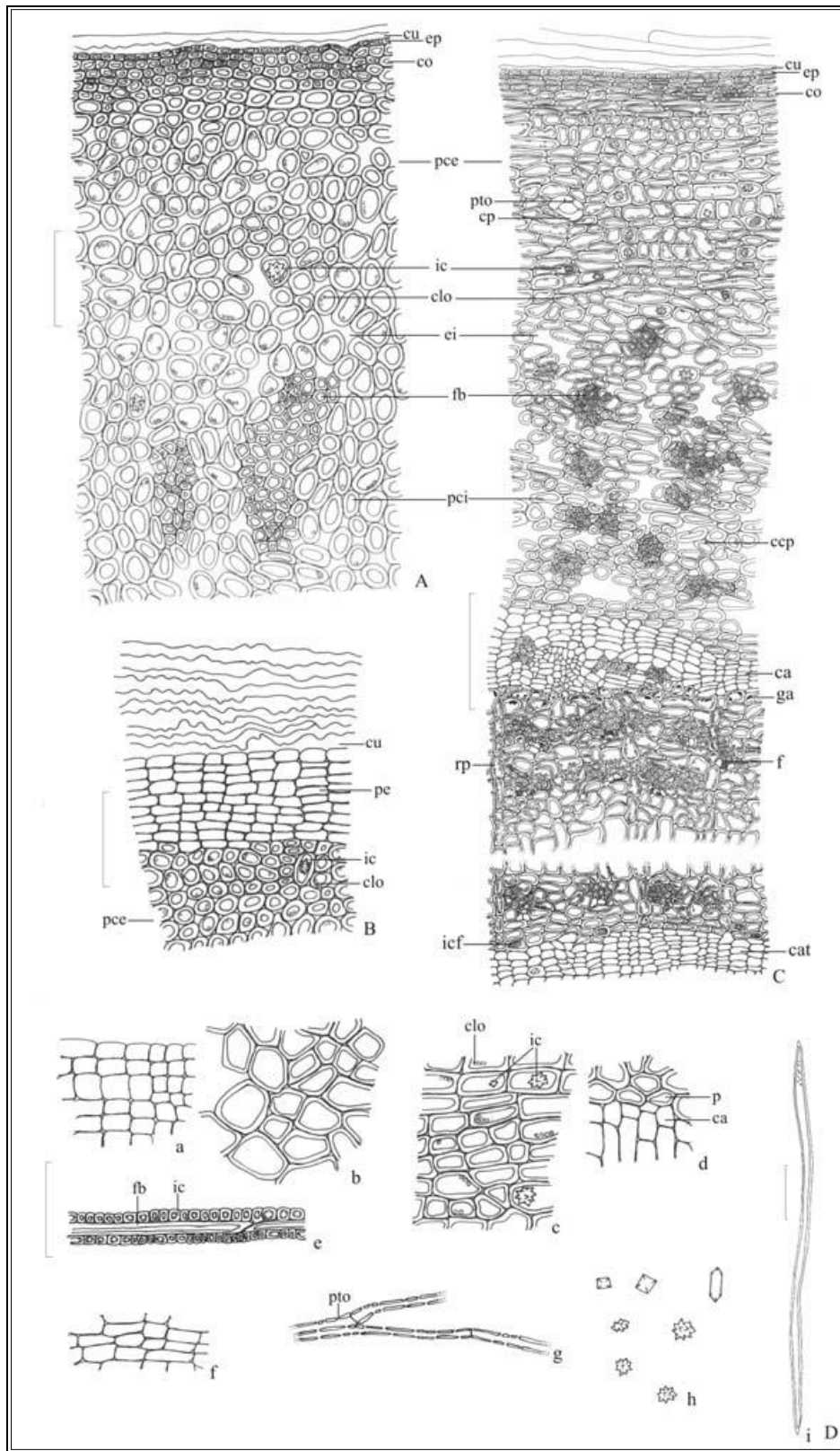


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Salix alba* L.

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 pética (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 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 μm de comprimento. Em vista frontal, a epiderme apresenta células poligonais de paredes anticliniais espessas e retas, cobertas por cutícula lisa. Os tricomas tectores são unicelulares, cônicos, geniculados, com cutícula verrucosa, com 100 a 350 μm 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. Nesse 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, que apresenta externamente células contendo monocristais prismáticos. Gotas lipídicas ocorrem em todos os tecidos.

C. Descrição microscópica do pó

A amostra satisfaz 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 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 pulverizada 5 mL de mistura de álcool etílico 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 álcool metílico 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Senosídeo A: zona de coloração castanho-avermelhado	Zona de coloração castanho-avermelhado Zona de coloração castanho-avermelhado Zona de coloração castanho-avermelhado
Senosídeo B: zona de coloração castanho-avermelhado	Zona de coloração 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.

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 0,15 g da droga pulverizada (180 µm) (5.2.11) 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 $700 \times g$. 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 μ L 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 álcool metílico. Filtrar se necessário.

Solução branco: álcool metílico

Procedimento: medir a absorvância da *Solução amostra* em 515 nm imediatamente após o seu preparo, utilizando a *Solução branco* para ajuste do zero. Calcular o teor de derivados hidroxiantracênicos, calculado como senosídeo B, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TSB} = \frac{A \times 187,5}{m \times 240}$$

em que,

TSB = teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

187,5 = fator de diluição;

240 = coeficiente de absorção específica do senosídeo B;

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

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 μ m); fluxo da *Fase móvel* de 0,9 mL/minuto.

Eluente (A): água e ácido trifluoracético (100:0,08).

Eluente (B): acetonitrila.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) %</i>	<i>Eluente (B) %</i>	<i>Eluição</i>
0 – 12	86	14	isocrática
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	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da droga seca e pulverizada (180 µm) (5.2.11) 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 10 mg da mistura de senosídeo A SQR e senosídeo B SQR em 10 mL de álcool metílico.

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 álcool metílico, 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 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, em porcentagem, considerando o teor de água determinado.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

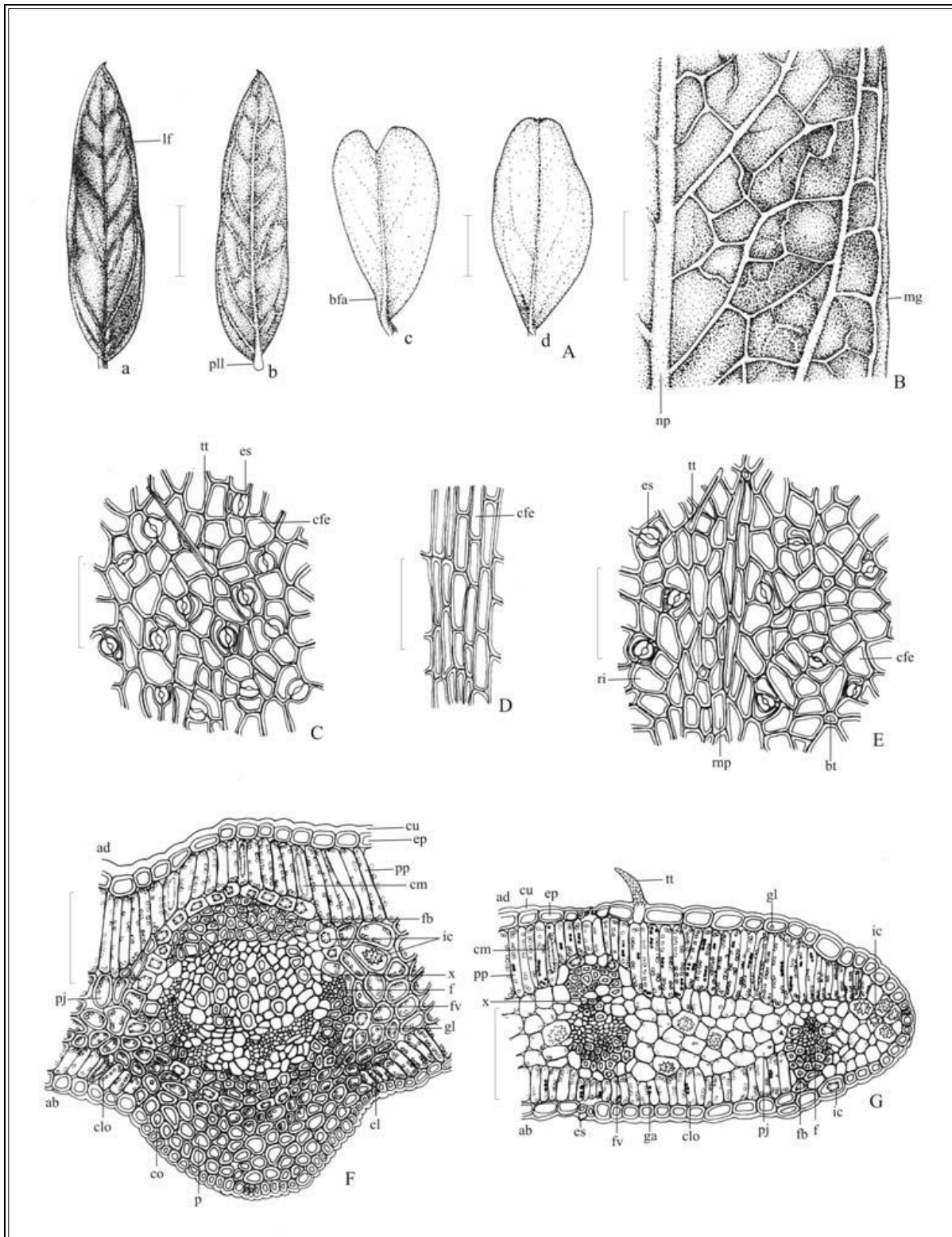


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

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 (mvp); 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); cloroplastídeo (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); cloroplastídeo (clo); grão de amido (ga); feixe vascular (fv); estômato (es); face abaxial (ab); xilema (x); parênquima paliçádico (pp); célula contendo mucilagem (cm).

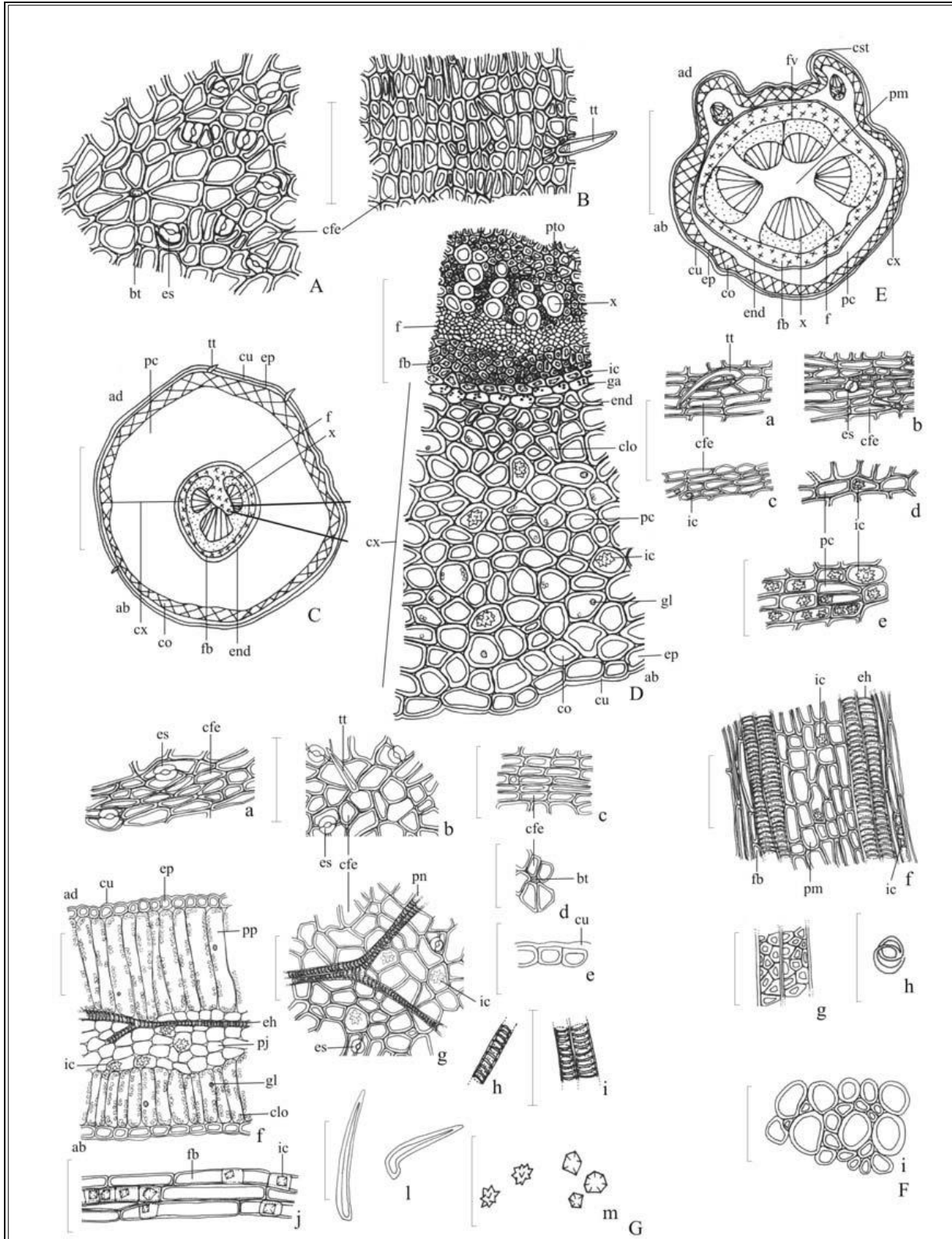


Figura 2 – Aspectos microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

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**: pontuação (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 paliádico (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.

SENE, fruto
Sennae fructus

A droga vegetal consiste de frutos secos de *Senna alexandrina* Mill. (syn. *Cassia acutifolia* Delile, *Cassia angustifolia* Vahl, *Cassia senna* L.), 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 cm de comprimento e até 2,5 cm de largura. Cada legume contém cinco a oito sementes achatadas, duras, de coloração castanha-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 dessas 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. Esses 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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 pulverizada em 5 mL da mistura de álcool etílico 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 álcool metílico 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Senosídeo A: zona de coloração castanho-avermelhado	Zona de coloração castanho-avermelhado
Senosídeo B: zona de coloração castanho-avermelhado	Zona de coloração castanho-avermelhado
<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 2,0%.

Perda por dessecação (5.2.9.1). Método gravimétrico. No máximo 12,0%.

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

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

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

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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 seca em banho-maria. Suspender o resíduo em álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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*;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação.

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 µm); fluxo da *Fase móvel* de 0,9 mL/minuto.

Eluente (A): água e ácido trifluoracético (100:0,08).

Eluente (B): acetonitrila.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 – 12	86	14	isocrática
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	isocrática

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,2 g da droga seca e pulverizada 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 45 × g. 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 µm. Diluir 50 µL da solução resultante em 150 µL 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 álcool metílico 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 álcool metílico a 50% (v/v), com no mínimo cinco concentrações, na faixa entre 45 µg/mL e 85 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Curva analítica (2) (para o senosídeo B): a partir da *Solução referência estoque* construir curva analítica para o senosídeo B em álcool metílico a 50% (v/v), com no mínimo cinco concentrações, na faixa entre 100 µg/mL a 150 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL de cada solução da *Curva analítica (1)* e da *Curva analítica (2)*, e 10 µL 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:

$$TS = \frac{C_a \times 20}{m \times 100000} \times 100$$

em que,

TS = teor de senosídeo A ou B em % (g/100 g)

C_a = concentração do senosídeo A ou B (µg/mL) encontrada na *Solução amostra* a partir das curvas analíticas, considerando a pureza da substância de referência;

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;

20 = fator de diluição.

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g);
 1000000 = fator de conversão de µg para g.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

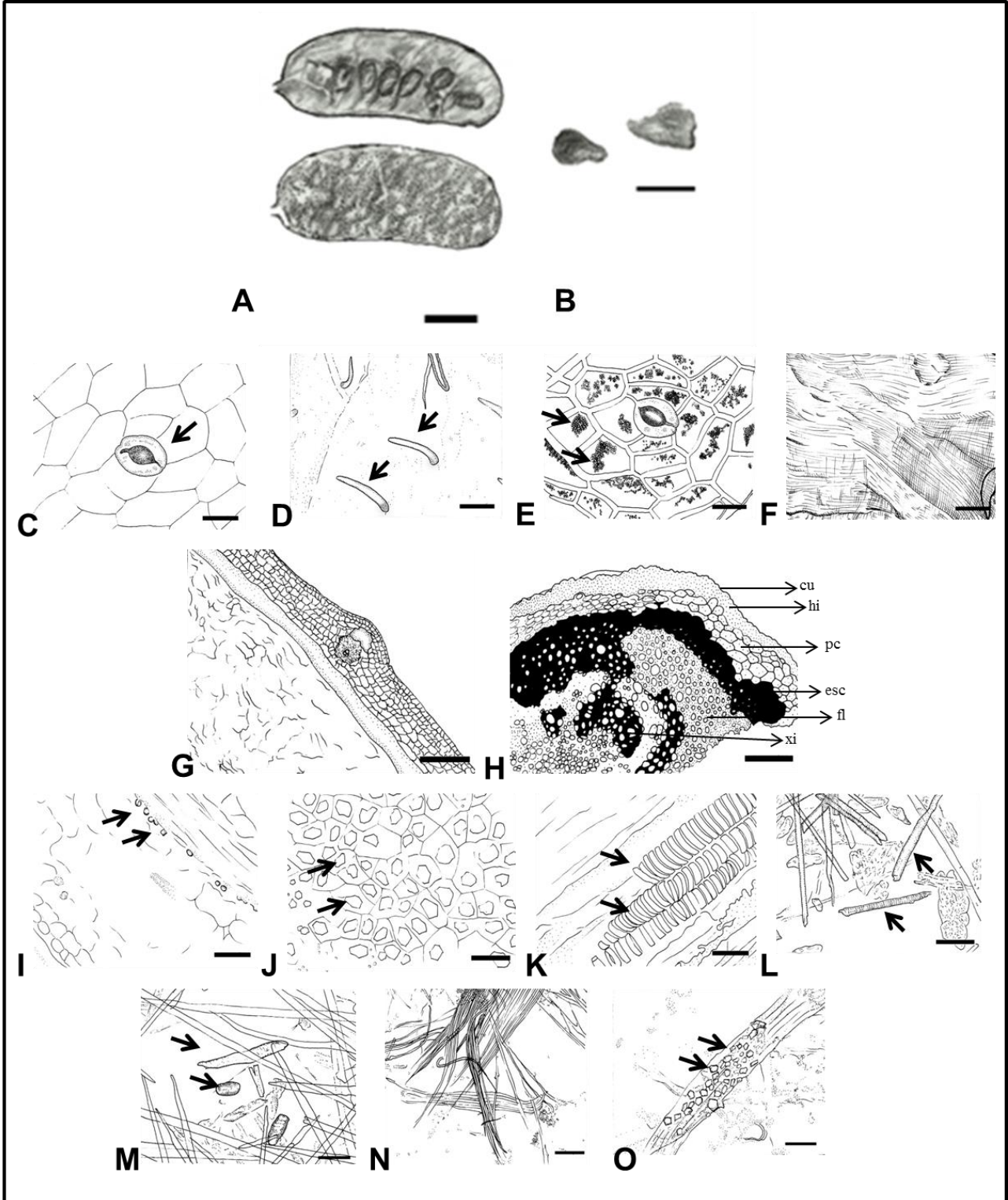


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Senna alexandrina* Mill.

As escalas correspondem em A a 1 cm; B a 0,5 cm; C, D e E a 25 µm; F, G e H a 100 µm; I, J, K, L, M, N e O a 25 µm.

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).

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, 7,0% de arbutina anidra (C₁₂H₁₆O₇, 272,25).

IDENTIFICAÇÃO

A. Descrição macroscópica

Folhas inteiras, coriáceas, rígidas e quebradiças, obovaladas, oblongo-espauladas ou elípticas, de 1,2 a 3 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 hipostomática, 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 onze células subsidiárias, cujas células-guarda têm tamanho muito maior (cerca de 40 µm a 50 µm 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 anticlinalis 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 dessa 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

A amostra satisfaz a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São características: 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 monoclínicos 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 µm) (5.2.11) e 5 mL da mistura de água e álcool metílico (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 álcool metílico.

Solução referência (2): preparar uma solução a 2,5 mg/mL de arbutina em álcool metílico.

Revelador (1): solução de 2,6-dicloroquinona-4-clorimida 10 g/L em álcool metílico.

Revelador (2): solução de carbonato de sódio 20 g/L.

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 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido gálico: zona de coloração castanho-enegracida	Zonas de coloração castanho-enegracida
	Zonas de coloração castanho-enegracida
Arbutina: zona de coloração azul	Zonas de coloração azul
<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 2,0%.

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

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 10,0%.

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 álcool metílico (90:10).

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 0,800 g da droga vegetal seca e pulverizada (250 µm) (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, completar o volume e homogeneizar. Filtrar em papel de filtro, descartando os primeiros 10 mL do filtrado. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver 50 mg de arbutina na *Fase móvel* e diluir em balão volumétrico de 50 mL com a *Fase móvel*, completar o volume e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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*, completar o volume e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 quatro minutos. Calcular o teor de arbutina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_a \times m_r \times FD_a}{A_r \times m_a \times FD_r} \times 100$$

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 utilizada, considerando a perda por dessecação;

m_r = massa em gramas da arbutina, utilizada para preparação da *Solução referência (1)*, considerando a pureza da substância de referência.

FD_a = fator de diluição da *Solução amostra* (50);

FD_r = fator de diluição da *Solução referência (1)* (50);

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g).

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.

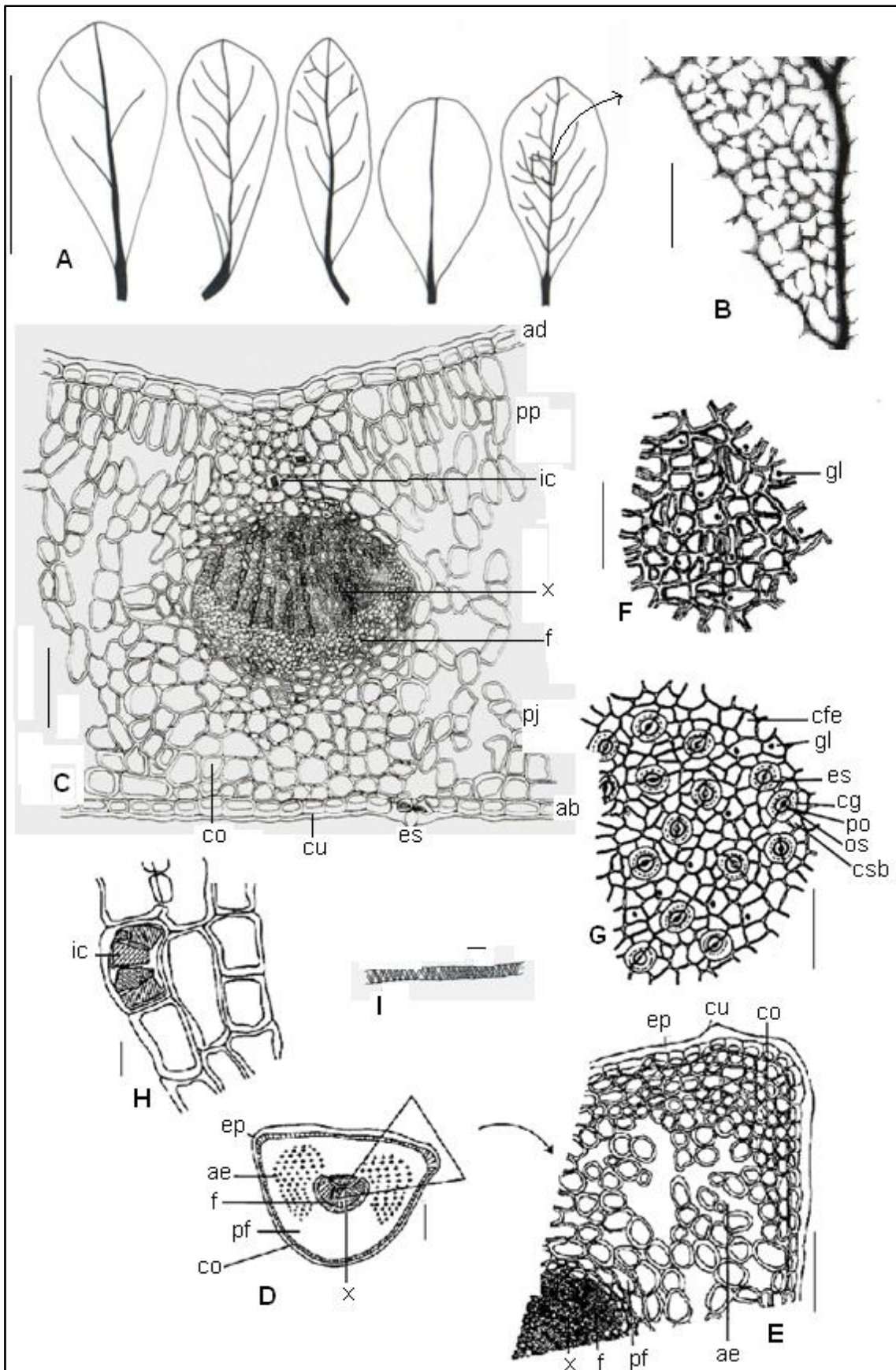


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.

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-espatalada 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 paliçádico (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 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 suber e a medula pode apresentar células pétreas com paredes espessadas e pontoações simples. O rizoma mostra contorno irregular e uma organização tecidual mais complexa devido à distribuição dos feixes vasculares em direção às raízes e estolões. A epiderme e a exoderme são parcialmente substituídas por periderme pouco desenvolvida. O parênquima cortical é rico em amido e gotículas de substância resinosa e apresenta células pétreas. A endoderme é nítida e contém gotículas de óleo essencial. O parênquima medular contém amido e apresenta espaços intercelulares de vários tamanhos separados por septos transversais; células pétreas também estão presentes.

C. Descrição microscópica do pó

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

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄.

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

Solução amostra: pesar, com exatidão, cerca de 1 g da droga vegetal e adicionar 10 mL de álcool metílico. Levar ao ultrassom durante 10 minutos. Filtrar. Secar o extrato em banho-maria até resíduo, em temperatura não superior a 60 °C. Suspender o resíduo em 1 mL de álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

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

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

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

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

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

TESTES

Perda por dessecação (5.2.9.1). *Método gravimétrico.* No máximo 12,0%.

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

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

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

Metais pesados (5.4.5). Cumpre o teste.

Resíduos de agrotóxicos (5.4.3). Cumpre o teste.

Aflatoxinas (5.4.4). Cumpre o teste

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

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

DOSEAMENTO

Óleos voláteis

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

Ácidos sesquiterpênicos

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

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

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

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

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

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido valerênico em álcool metílico, para obter uma solução a 100 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

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

em que,

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

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

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

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

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

m = massa em gramas da amostra utilizada, considerando a perda por dessecação;

10 = fator de diluição;

100 = fator de conversão para teor em % (g/100 g).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

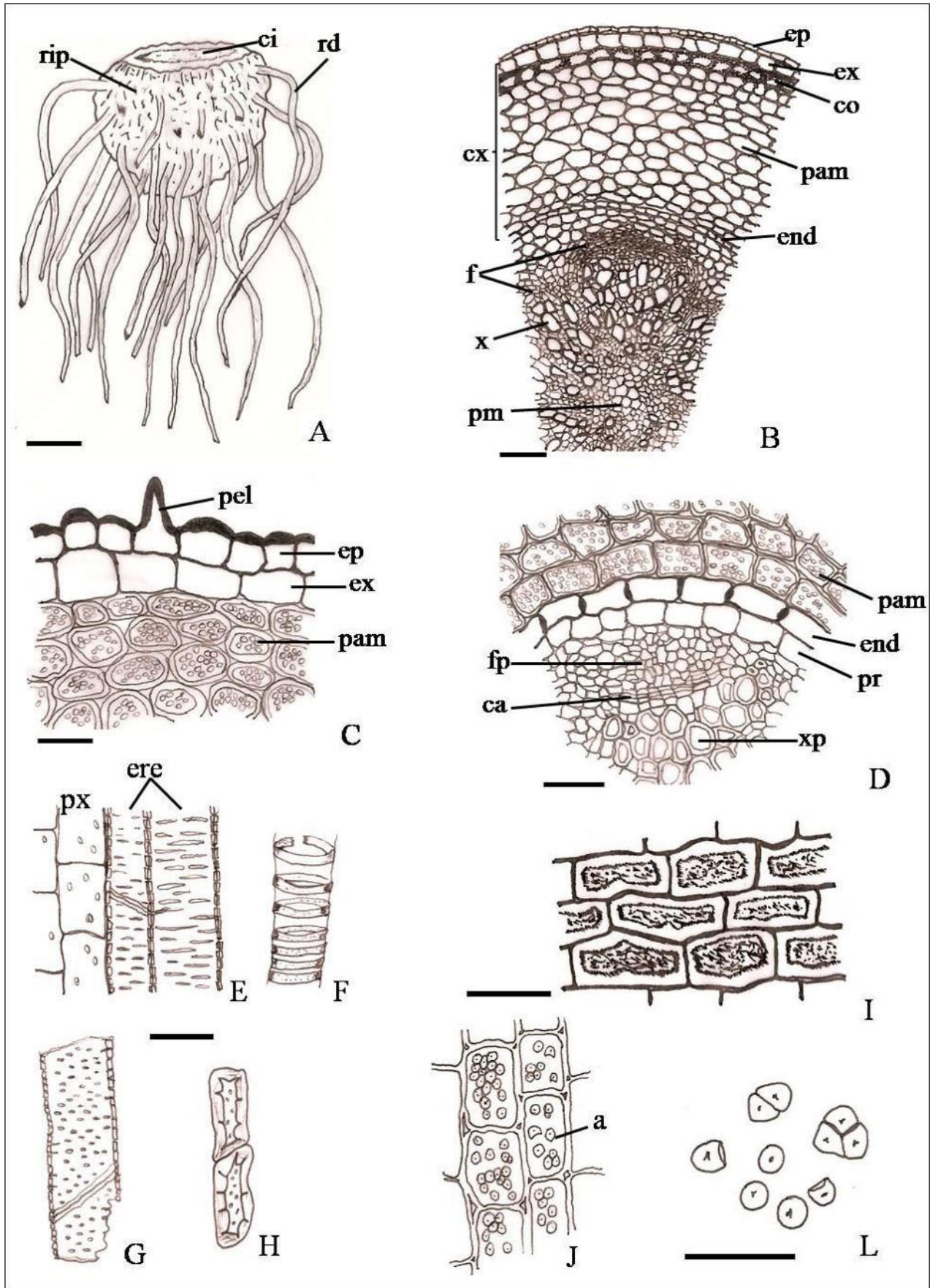


Figura 1 – Aspectos macroscópicos, microscópicos e microscópicos do pó em *Valeriana officinalis* L.

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 daparede anticlinal da endoderme (end); periciclo (pr); floema primário (fp); xilema primário (xp); câmbio vascular (ca). **Ea 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.

PREPARAÇÕES VEGETAIS – TINTURAS

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% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de aconitina em álcool metílico, 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Aconitina: zona de coloração laranja	Zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,896 a 0,903.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método II. 65% (v/v) a 68% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 1,6% (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 amônio 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 amônio 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. Suspender o resíduo em 5 mL de álcool etílico 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 álcool etílico absoluto. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com álcool etílico 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;

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.

ANGICO, tintura
Anadenantherae tinctura

A tintura é obtida a partir de cascas secas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, contendo, no mínimo, 1,0% 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 álcool etílico a 70% (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 álcool metílico.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

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 em capela de exaustão. Nebulizar a placa vanilina a 1% (p/v) em álcool etílico e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de coloração rósea-avermelhada
	Zona de 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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 65% (v/v) a 69% (v/v).

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

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

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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 tintura utilizada;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

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.

Eluente (A): água e ácido fosfórico a 85% (99:1).

Eluente (B): álcool metílico e ácido fosfórico a 85% (99:1).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>lução</i>
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	isocrática

Solução amostra: pipetar 50 µL do tintura 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

$$TC = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times 10 \times 100$$

em que,

TC = teor de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

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 tintura utilizada, determinada pela densidade;

10 = fator de diluição.

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 *trans*-anetol (C₁₀H₁₂O, 148,20).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool etílico.

Solução referência: adicionar 30 µL de *trans*-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 três minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 70% (v/v) a 74% (v/v).

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

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

Trans-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 álcool metílico, água e ácido trifluoroacético (95:5:0,06).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente medida de *trans*-anetol em álcool metílico, para obter solução a 0,02 µL/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução amostra: diluir 130 µL de tintura em 50 mL de álcool metílico. 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. O tempo de retenção do *trans*-anetol na amostra é de aproximadamente seis minutos. Calcular o teor de *trans*-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 *trans*-anetol % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

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, tintura
Schinus terebinthifolii tinctura

A tintura é obtida a partir de cascas secas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, contendo, no mínimo, 1,0% 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% (p/v), por maceração ou percolação utilizando álcool etílico 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 álcool metílico.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra*, 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 *Solução referência (1)* com cloreto férrico a 1% (p/v); e a placa contendo *Solução referência (2)* com vanilina a 1% (p/v) em álcool etílico e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido gálico: zona de coloração azul acinzentada	Zona de coloração marron Zona de coloração azul-acinzentada
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução amostra</i>

<i>Parte superior da placa</i>	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada 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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 66% (v/v) a 70% (v/v).

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

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

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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 tintura utilizada;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

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.

Eluente (A): ácido trifluoracético a 0,05%.

Eluente (B): ácido trifluoracético a 0,05% em álcool metílico.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 6,4 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de catequina em água, para obter solução a 26 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

$$TC = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times 10 \times 100$$

em que,

TC = teor de ácido gálico ou de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência (1)* ou (2) em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

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 datintura, determinada a partir da densidade;

10 = fator de diluição.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BÁLSAMO-DE-TOLU, tintura *Balsamum toluatanum 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 álcool etílico a 80% (v/v) 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 álcool etílico.

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 cloreto de metileno.

Revelador: dissolver 1 g de vanilina em 100 mL de álcool metílico. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico 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. 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 cinco minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
	Zona de coloração violeta
Benzoato de benzila: zona de coloração azul	Zona de coloração azul
Cinamato de benzila: zona de coloração azul	Zona de coloração azul
	Zona de coloração amarelada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,880 a 1,100.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 76% a 84% (p/v).

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

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 álcool etílico SV, durante uma hora. Evaporar o álcool etílico 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 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 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 cloreto de metileno em corrente de ar na capela. Dissolver a quente o resíduo com 10 mL de álcool etílico 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% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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, álcool metílico e cloreto de metileno (98,5:1:0,5).

Solução amostra: diluir 0,2 mL da tintura para 10 mL de álcool metílico. Diluir 0,04 mL da solução anterior para 2 mL de álcool metílico.

Solução referência: dissolver 1 mg de vanilina em 1 mL de álcool metílico.

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 a seguir estão representadas as zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem ocasionalmente estar presentes.

<i>Parte superior da placa</i>	
Vanilina: zona de fluorescência azul-violeta	Zona de fluorescência azul-violeta Zona de fluorescência azul-violeta Zona de fluorescência azul-violeta Zona de fluorescência azul-violeta Zona de fluorescência azul-violeta Zona de fluorescência azul-violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9081 a 0,9214.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 64% (v/v) a 67% (v/v).

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

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

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.

Eluente (A): água e ácido acético glacial (99,5:0,5).

Eluente (B): álcool metílico e ácido acético glacial (99,5:0,5).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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 álcool metílico. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de vanilina em álcool metílico, para obter solução a 40 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 minutos e 30 segundos. Calcular o teor de vanilina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TV = \frac{C_r \times A_a \times 5 \times 100}{A_r \times m}$$

em que,

TV = teor de vanilina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

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 utilizada, determinada a partir da densidade; e

5 = fator de diluição.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

BELADONA, tintura

Atropa belladonna tinctura

A tintura é preparada a partir das folhas de *Atropa belladonna* Solanaceae, contendo entre 0,025 e 0,033 % de atropina ($C_{17}H_{23}NO_3$, 289,37).

PREPARAÇÃO

A tintura é obtida a partir de 10% (p/v) por maceração ou percolação utilizando etanol a 70% (v/v) como líquido extrator.

CARACTERÍSTICAS

Líquido límpido, de cor castanho-esverdeada. Observa-se turvação após diluição em três volumes de água.

IDENTIFICAÇÃO

A. 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: transferir, com pipeta volumétrica, 30 mL da tintura para balão de fundo redondo de 50 mL. Eliminar o solvente em evaporador rotatório sem a temperatura ultrapassar 40 °C. Transferir o extrato seco para funil de separação de 125 mL, utilizando uma alíquota de 10 mL e duas alíquotas de 5 mL de ácido clorídrico a 5%, com auxílio de ultrassom. Reunir os extratos aquosos ácidos e lavar com três porções de 10 mL de cloreto de metileno, usando os primeiros 10 mL para limpar o resíduo do balão de fundo redondo de 50 mL. Desprezar as fases orgânicas das lavagens. Alcalinizar o extrato aquoso com hidróxido de amônio a 25% até pH 10. Extrair os alcaloides com seis porções de 10 mL de cloreto de metileno. Reunir as fases orgânicas e secá-las com 10 g de sulfato de sódio anidro. Filtrar em papel filtro para uma cápsula de porcelana, lavar o sulfato de sódio do papel filtro com 5 mL de cloreto de metileno. Evaporar o solvente até secura em banho maria, sem a temperatura ultrapassar 40 °C. Solubilizar o extrato seco de alcaloides em 0,5 mL álcool metílico.

Solução referência 1: solução a 10 mg/mL de atropina em álcool metílico.

Solução referência 2: solução a 3 mg/mL de bromidrato de escopolamina em álcool metílico.

Revelador: Misturar volumes iguais de solução de iodeto de potássio a 40% (p/v) em água e de solução preparada dissolvendo 0,85 g de subnitrito de bismuto em mistura de 10 mL de ácido acético glacial e 40 mL de água. Diluir 1 volume dessa mistura com 2 volumes de ácido acético glacial e 10 volumes de água imediatamente antes do uso. (solução de iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR - Reagente de Dragendorff)

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 15 µL da *Solução amostra* e das *Soluções referência 1 e 2*. Desenvolver o cromatograma por 10 cm. Remover a cromatoplaça, deixar secar ao ar por 15 minutos. Após, deixar em estufa, em temperatura entre 100 °C e 105 °C durante 15 minutos. Deixar esfriar e nebulizar com o *Revelador* até o aparecimento de manchas alaranjadas.

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

Parte Superior da placa	
	zona de coloração laranja
Escopolamina: zona de coloração laranja	zona de coloração laranja
Atropina: zona de coloração laranja	zona de coloração laranja
	zona de coloração laranja
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

B. Proceder conforme descrito em *Doseamento* para atropina

Procedimento: Injetar 10 µL da *Solução amostra*.

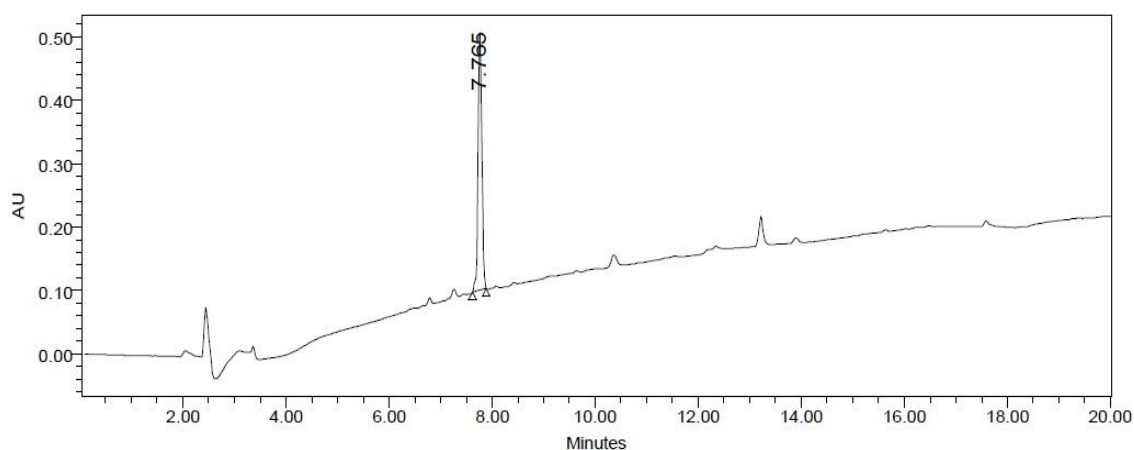


Figura 1 – Perfil ilustrativo da *Solução amostra* de *Atropa beladonna tinctura*.

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,8900 a 0,9600.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Entre 64 e 69% (v/v). Proceder conforme descrito em *Método por destilação, Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool*.

Álcool metílico e 2-propanol (5.3.3.8). No máximo, 0,05% (v/v) de álcool metílico e 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

Atropina

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 150 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 0,7 mL/minuto.

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

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

Gradiente de fase móvel: adotar sistema de gradiente linear, conforme tabela a seguir.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0	95	5	isocrática
15	0	100	gradiente linear
20	0	100	isocrática

Nota: entre as corridas é necessário realizar um equilíbrio de 10 minutos com proporção dos solventes da *Fase móvel A:B* igual a 95:5 (este equilíbrio deve ser realizado entre as corridas e não inserido no gradiente de fase móvel descrito acima).

Solução amostra: transferir, com pipeta volumétrica, 5 mL da tintura para balão de fundo redondo de 25 mL. Eliminar o solvente em evaporador rotatório sem a temperatura ultrapassar 40 °C. Transferir o extrato seco do balão para funil de separação de 50 mL, utilizando três alíquotas de 5 mL de ácido clorídrico a 5%, com auxílio de ultrassom. Reunir os extratos aquosos e lavar com três porções de 10 mL de cloreto de metileno, usando os primeiros 10 mL para limpar o resíduo do balão de fundo redondo de 25 mL. Desprezar as fases orgânicas das lavagens. Alcalinizar o extrato aquoso com hidróxido de amônio a 25% até pH 10. Extrair os alcaloides com cinco porções de 10 mL de cloreto de metileno. Reunir as fases orgânicas e secá-las com 10 g de sulfato de sódio anidro. Filtrar em papel filtro para uma cápsula de porcelana, lavar o sulfato de sódio do papel filtro com 5 mL de cloreto de metileno. Evaporar o solvente até *secura* em banho maria, sem a temperatura ultrapassar 40 °C. Solubilizar o resíduo da cápsula de porcelana contendo os alcaloides com álcool metílico transferindo-o para balão volumétrico de 10 mL. Filtrar através de membrana 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 12,5 mg de atropina em álcool metílico, e completar o volume para 25 mL com o mesmo solvente. Pipetar, 1,25 mL desta solução e completar o volume para 5 mL com o mesmo solvente.

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução referência* e da *Solução amostra* em triplicata, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. O tempo de retenção para a atropina é de cerca de 7,7 minutos. O resultado é expresso pela média das determinações em porcentagem e em gramas de droga vegetal, considerando a determinação de água, segundo a expressão:

$$\% \text{ atropina} = \frac{C_p \times A_a}{A_p \times m} \times \text{FD} \times 100$$

em que,

C_p = concentração de atropina na *Solução referência*, em g/mL, considerando pureza do padrão;

A_a = área sob o pico correspondente à atropina no cromatograma obtido com a *Solução amostra*;

A_p = área sob o pico correspondente à atropina no cromatograma obtido com a *Solução referência*;

m = massa da amostra, em gramas, utilizada na preparação da *Solução amostra* considerando a densidade; e

FD = Fator de diluição da amostra (10).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente hermeticamente fechado ao abrigo da luz e 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, 4,0% (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 álcool etílico a 80% (v/v) 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 álcool etílico.

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 cinamato de metila.

Procedimento: saturar previamente a cuba com papel de filtro de 15×15 cm impregnado com a *Fase móvel* por 20 minutos. 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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm.

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

Parte superior da placa	
Cinamato de metila: zona de fluorescência violeta	Zona de fluorescência violeta
Ácido benzoico: zona de fluorescência violeta	
Ácido cinâmico: zona de fluorescência violeta	Zona de fluorescência violeta
	Zona de fluorescência violeta intensa
Vanilina: zona de fluorescência violeta	
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,8480 a 0,9060.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool etílico. 76% (v/v) a 84% (v/v).*

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

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 álcool etílico SV. Aquecer, sob refluxo, em banho-maria, durante 30 minutos. Deixar esfriar, lavar o condensador com 20 mL de álcool etílico a 96%. Titular o excesso de hidróxido de potássio com ácido clorídrico 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 álcool etílico 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, 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% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 60% (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, álcool metílico e dietilamina (80:10:10).

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 álcool metílico.

Solução referência: dissolver 2 mg de boldina SQR em 5 mL de álcool metílico.

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com solução de 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
	Zona de coloração marron-amarelado Zona de coloração amarelo-alaranjado Zona de coloração laranja Zona de coloração laranja Zona de coloração castanha
Boldina: zona de coloração castanha	Zona de coloração castanha
<i>Solução referênc</i> ia	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método por destilação, Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool etílico. $60 \pm 5\%$ (p/v).

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 2,0%.

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

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 *Eluente A* e *Eluente B* (16:84), preparadas como descrito a seguir.

Eluente (A): mistura de 0,2 mL de dietilamina e 99,8 mL de acetonitrila.

Eluente (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 rotaevaporador 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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, expressos em boldina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TA = \frac{(\Sigma A) \times m_r}{A_r}$$

em que,

TA = teor de alcaloides totais expressos em boldina % (p/p);

ΣA = soma das áreas sob os picos correspondentes aos seis alcaloides identificados no cromatograma obtido com a *Solução amostra*;

m_r = massa em gramas de boldina SQR na *Solução referência*, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente à boldina na *Solução referência*.

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% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (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, 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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade, exatamente pesada, de rutina em álcool metílico, para obter a concentração de 250 µg/mL.

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

Solução referência (3): dissolver uma quantidade, exatamente pesada, de ácido cafeico em álcool metílico, 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 álcool metílico, seguido de uma solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool etílico, aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente cinco minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)*, a *Solução referência (3)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de fluorescência azul-claro	Zona de fluorescência azul-claro Zona de fluorescência azul
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul-claro	Zona de fluorescência amarelo-esverdeada Zona de fluorescência azul-claro
Rutina: zona de fluorescência marron-amarelada	Zona de fluorescência amarelo-esverdeada Zona de fluorescência marron-amarelada Zona de fluorescência amarelo-esverdeado
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9122 a 0,9500.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método II. 60% (v/v) a 64% (v/v).

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

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

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 álcool metílico. Completar o volume do balão volumétrico de 25 mL com a solução de ácido acético a 5% (v/v) em álcool metílico 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 álcool metílico 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:

$$TF = \frac{A \times 1,25}{m}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeo % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

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.

CAMOMILA, tintura
Matricariae flos tinctura

A tintura é obtida a partir de capítulos florais secos de *Matricaria chamomilla* L., contendo, no mínimo, 0,025% de apigenina-7-*O*-glicosídeo (C₂₁H₂₀O₁₀, 432,38).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool etílico.

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 álcool metílico. 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 um minuto.

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	
Camazuleno: zona de coloração vermelho-rosada	Zona de coloração vermelho-rosada
Acetato de bornila: zona de coloração azul-violácea	Zona de coloração azul-violeta
Levomenol: zona de coloração violácea	Zona de coloração violácea
	Zona de coloração violácea
	Zona de coloração amarelo-esverdeada
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9010 a 0,9500.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 60% (v/v) a 70% (v/v).

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

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.

Eluente (A): água e ácido fórmico (99,5:0,5).

Eluente (B): álcool metílico e ácido fórmico (100:0,08).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) %</i>	<i>Eluente (B) %</i>	<i>Eluição</i>
0 - 3	75 → 50	25 → 50	gradiente linear
3 - 20	50	50	isocrática
20 - 23	50 → 0	50 → 100	gradiente linear
23 - 30	0	100	isocrática
30 - 31	0 → 75	100 → 25	gradiente linear
31 - 40	75	25	isocrática

Diluyente: mistura do *Eluente (A)* e *Eluente (B)* (75:25).

Solução amostra: diluir 25 µL da tintura em 975 µL do *Diluyente*. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver 1,0 mg de apigenina-7-glicosídeo em 10,0 mL de álcool metílico. Diluir 250 µL até 2 mL com o *Diluyente*. 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. Calcular o teor, em porcentagem, de apigenina-7-*O*-glicosídeo total, segundo a expressão:

$$TA = \frac{A_a \times m_r \times FD_a}{A_r \times m_a \times FD_r} \times 100$$

em que,

TA = teor de apigenina-7-*O*-glicosídeo % (p/p);

A_a = área sob o pico correspondente à apigenina-7-*O*-glicosídeo na *Solução amostra*;

A_r = área sob o pico correspondente à apigenina-7-*O*-glicosídeo na *Solução referência*;

m_a = massa em gramas da tintura, determinada a partir da densidade;

m_r = massa em gramas de apigenina-7-*O*-glicosídeo na *Solução referência*, considerando a pureza da substância de referência;

FD_a = fator de diluição da *Solução amostra* (1);

FD_r = fator de diluição da *Solução referência* (80);

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g).

Adequabilidade do sistema: preparar uma solução contendo 50 µg/mL de rutina em álcool metílico. 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 dois 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-DO-CEILÃO, tintura
Cinnamomi corticis tinctura

A tintura é obtida a partir de cascas secas de *Cinnamomum verum* J.Presl (syn. *Cinnamomum zeylanicum* Blume), contendo, no mínimo, 0,25% (p/p) de aldeído *trans*-cinâmico.

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 20% (p/v), por percolação, utilizando álcool etílico a 70% (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 dois 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 fosfomolíbídico a 200 g/L em álcool etílico, examinar à luz do dia e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco a 10 minutos.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *solução referência* e a *Solução amostra*, após o exame sob a luz ultravioleta e após nebulização com solução de ácido fosfomolíbídico, na ordem. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

Parte superior da placa	
<i>trans</i> -2-Metoxi-cinamaldeido: zona de fluorescência azul-clara	Zona de fluorescência azul-clara Zona de fluorescência azul
Solução referência	Solução amostra

Parte superior da placa	
Eugenol: zona de coloração azul Aldeido <i>trans</i> -cinamico: zona de coloração azul-escuro	Zona de coloração azul de fraca intensidade Zona de coloração azul-escuro
<i>trans</i> -2-Metoxi-cinamaldeido: zona de coloração esverdeada fraca	Zona de coloração acastanhada fraca Zona de coloração azul acinzentado
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,87 a 0,092.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool etílico.* 64% (v/v) a 70% (v/v).

Álcool metílico e álcool isopropílico (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 álcool metílico (1:1).

Solução amostra: transferir analiticamente, 1,0 mL da tintura de canela-do-ceilão para balão volumétrico de 25 mL, completa o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 1,0 mL da solução para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com álcool metílico 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 álcool metílico 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 álcool metílico, 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 álcool metílico 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;

m = massa em miligramas da tintura utilizada, 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. Gray (syn. *Rhamnus purshiana* DC.), contendo, no mínimo, 0,75% de glicosídeos hidroxiantracênicos, dos quais, no mínimo, 60% são cascarosídeos, expressos como cascarosídeo A (C₂₇H₃₂O₁₄, 580,54).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (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, álcool metílico 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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, de aloína em álcool metílico, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade, pesada com exatidão, de emodina em álcool metílico, 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 álcool etílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente cinco minutos. Examinar sob a luz visível.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência (1)*, a *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*, após nebulização com solução de hidróxido de potássio 5% e exame sob a luz ultravioleta e após o aquecimento e exame sob a luz visível, na ordem. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
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>

<i>Parte superior da placa</i>	
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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método II. 60% (v/v) a 64% (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

Solução estoque: medir 10,0 mL da tintura e transferir para um balão volumétrico de 100 mL. Completar o volume com água e homogeneizar. 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 etílico (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 três minutos). 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 da *Solução estoque* 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 álcool metílico 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 quatro 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 etílico (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 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 álcool metílico.

Solução branco: álcool metílico.

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e 515 nm, utilizando a *Solução branco* 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 para a *Solução amostra*;

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

Cascarosídeos

Solução amostra: diluir a fase aquosa da *Solução estoque* em um balão volumétrico de 50 mL com água e homogeneizar. Utilizar 20 mL dessa solução.

Solução branco: álcool metílico.

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e em 515 nm, utilizando *Solução branco* 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:

$$TC = \frac{A \times 6,95}{m}$$

em que,

TC = teor de cascarosídeos % (p/p);

A = absorvância medida em 515 nm para a *Solução amostra*;

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.

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.

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 (C₂₁H₂₀O₆, 368,39).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por maceração ou percolação, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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, álcool etílico e ácido acético glacial (95:5:0,5).

Solução amostra: diluir 1 mL de tintura de cúrcuma em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência: dissolver 5 mg de curcumina SQR, demetoxicurcumina SQR e bisdemetoxicurcumina SQR em 5 mL de álcool metílico.

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 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	
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
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,883 a 0,898.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método por destilação, Método II. 63% (v/v) a 66% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 1,2% (p/p). Determinar em 2.0 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 expressos em curcumina, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TC = \frac{0,0426 \times A}{m}$$

em que,

TC = teor de derivados de dicinamoilmetano expressos em curcumina % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

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.

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 ($C_{16}H_{20}O_9$, 356,33).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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, álcool metílico e água (77:15:8).

Solução amostra: diluir 1 mL da tintura em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência (1): preparar uma solução a 280 µg/mL de gentiopicrosído em álcool metílico.

Solução referência (2): preparar uma solução a 1200 µg/mL de amarogentina em álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a cromatoplaca com solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante um minuto e examinar sob a luz visível.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Amarogentina: zona de coloração castanho-enegracida	Zona de coloração castanho-enegracida
Gentiopicrosídeo: zona de coloração castanho-enegracida	Zona de coloração castanho-enegracida
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,910 a 0,9200.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 95 (v/v) a 105% (v/v).

Índice de amargor (5.4.1.10). No mínimo 1000.

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo, 5,0% (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

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 octadecilsilanizada (4 µm), mantida a temperatura de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,7 mL/minuto.

Eluente (A): água e ácido trifluoracético (100:0,006).

Eluente (B): acetonitrila.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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	isocrática

Solução amostra: diluir 1,25 mL da tintura de genciana para 10 mL com uma mistura de álcool metílico e água (1:1). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de gentiopicrosído em álcool metílico de modo a obter solução a 32 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 gentiopicrosído. O tempo de retenção médio é de aproximadamente nove minutos. Calcular o teor de gentiopicrosído, 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);

C_r = concentração da *Solução referência* em gramas/mL, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente ao gentiopicrosído na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente ao gentiopicrosído na *Solução amostra*;

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

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

GUARANÁ, tintura
Paullinae 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 (C₈H₁₀N₄O₂, 194,19).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por maceração ou percolação, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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 (70:30:5).

Solução amostra: tintura de guaraná.

Solução referência: solução a 1 mg/mL de catequina em álcool metílico.

Revelador: dissolver 1 g de vanilina em 100 mL de álcool metílico. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico 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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR e aquecer a 105 °C durante três minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Catequina: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração pardo-castanha
<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, álcool metílico e água (10:1.4:1).

Solução amostra: diluir a amostra de tintura de guaraná em álcool metílico na proporção 1:1 (v/v).

Solução referência: solução a 100 µg/mL de cafeína em álcool metílico.

Revelador (1): solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em álcool etílico.

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 álcool etílico e, a seguir, com iodo SR.

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	
Cafeína: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração pardo-castanha
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,8990 a 0,9150.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool etílico.* 66% (v/v) a 70% (v/v).

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

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, álcool metílico e ácido trifluoracético (70:30:0,005).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de cafeína em álcool metílico para obter solução a 130 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução amostra: diluir 0,3 mL da tintura de guaraná a 10 mL com uma solução de álcool metílico e água (1:1). 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. O tempo de retenção médio para o pico da cafeína é de cerca de 8 minutos e 30 segundos. 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, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente à cafeína na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente à cafeína na *Solução amostra*;

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.

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 álcool etílico 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 mL de álcool metílico.

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 2 mL de álcool metílico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar em capela de exaustão. A seguir, nebulizar a placa com cloreto férrico a 1% (p/v) em álcool metílico.

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

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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 58% (v/v) a 62% (v/v).

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 1,2%.

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.

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, 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 0,100 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 totais, expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 tintura;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente 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 Wardlew., 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 álcool etílico 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 arroxeadado 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, álcool metílico e hidróxido de amônio (85:14:1).

Solução amostra: tintura de jaborandi.

Solução referência: dissolver 10 mg de cloridrato de pilocarpina em álcool metílico, completar o volume para 2 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, 40 µL da *Solução amostra* e 2 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplaca, 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Pilocarpina: zona de coloração castanho-avermelhada	Zona de coloração castanho-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método por destilação, Líquidos com mais de 30% de álcool etílico. (65 ± 5)% (v/v).

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 0,8%.

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.

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 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:

$$AT = \frac{(V_{\text{ácido}} - v) \times 0,4166}{m}$$

em que,

AT = alcaloides totais expressos em pilocarpina % (p/p);

$V_{\text{ácido}}$ = volume em mililitros de ácido clorídrico 0,02 M utilizado;

v = volume em mililitros de hidróxido de sódio 0,02 M utilizado;

m = massa em gramas da tintura utilizada.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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* [syn. *Citrus aurantium* L. subsp. *amara* (L.) Engler], contendo, no mínimo, 0,25% de naringina (C₂₇H₃₂O₁₄, 580,54).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 10% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool metílico.

Revelador (1): dissolver 1 g de difenilborato de aminoetanol em álcool metílico e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

Revelador (2): solução de macrogol 400 5% em álcool metílico.

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 difenilborato de aminoetanol SR (reagente natural A) e, a seguir, com solução de macrogol 400 a 5% em álcool metílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm após, no mínimo, duas horas.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Naringina: zona de fluorescência verde-escuro	Zona de fluorescência verde-escuro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9030 a 0,9180.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 95% (v/v) a 105% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo, 4,5% (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 de (22 ± 2) °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Eluente (A): água-ácido fórmico (100:0,1)

Eluente (B): álcool metílico

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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 0,3 mL de tintura de laranja amarga em 5 mL com uma mistura de álcool metílico e água (1:1). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de naringina em solução de álcool metílico e água (1:1), de modo a obter solução com 0,225 mg/mL. 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 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, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente à naringina na *Solução referência*;

A_a = área correspondente à naringina 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.

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% (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (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: álcool butílico, 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 álcool metílico, filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de estriquinina em álcool metílico, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de brucina em álcool metílico, 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 álcool etílico, e, a seguir com reagente de iodeto de potássio e subnitrito de bismuto SR. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por cinco minutos e examinar sob a luz visível.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método II. 57% (v/v) a 60% (v/v).

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

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, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Transferir 1,0 mL dessa solução para um balão volumétrico de 5 mL, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar a solução em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução amostra: homogeneizar a tintura em banho de ultrassom por cinco 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.

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:

$$TE = \frac{A_a \times C_r}{A_r \times m_a} \times FD_a \times 100$$

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 g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

m_a = massa em gramas da tintura, determinada a partir da densidade;

FD_a = fator de diluição da *Solução amostra* (5);

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 álcool etílico a 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 álcool metílico.

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 em capela de exaustão. A seguir, nebulizar a placa com cloreto férrico 1% em álcool metílico (p/v).

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 63% a 67%.

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 1,9%.

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.

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, completar o volume com água e homogeneizar. 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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_3}$$

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 tintura utilizada;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

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 (C₁₅H₂₂O₂, 234,34).

PREPARAÇÃO

A tintura é preparada a 20% (p/v), pela maceração ou percolação, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

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

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 15 µL da *Solução 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 SR, aquecer entre 100 °C a 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 (1)*, a *Solução referência (2)*, e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

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
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9044 a 0,9166.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 50% de álcool etílico.* 62% (v/v) a 64% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 5,0% (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 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.

Eluente (A): solução de ácido fosfórico 5 mL/L e acetonitrila (80:20).

Eluente (B): acetonitrila e solução de ácido fosfórico 5 mL/L (80:20).

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

Solução amostra: transferir 5,0 mL da tintura para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido valerênico em álcool metílico, para obter uma solução a 50 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

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

em que,

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

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

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

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

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

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

10 = fator de diluição;

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

PREPARAÇÕES VEGETAIS – EXTRATOS FLUIDOS

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 álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver o ácido clorogênico em álcool metílico, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver a luteolina-7-O-glicosídeo em álcool metílico, 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 a 5% (p/v) em álcool etílico. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente cinco minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

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

<i>Parte superior da placa</i>		
	Luteolina-7- <i>O</i> -glicosídeo: zona de fluorescência amarelada	Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência amarelada
Ácido clorogênico: zona de fluorencência azul		Zona de fluorescência azul 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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Método II.* 56% (v/v) a 60% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 16,0% (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

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.

Eluente (A): mistura de água, acetonitrila e ácido fosfórico (92,6:7:0,4).

Eluente (B): mistura de acetonitrila e ácido fosfórico (99,6:0,4).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) %</i>	<i>Eluente (B) %</i>	<i>Eluição</i>
0 – 17	100	0	Isocrática
17 – 50	100 → 80	0 → 20	gradiente linear
50 – 51	80 → 0	20 → 100	gradiente linear
51 – 61	0	100	Isocrática
61 – 62	0 → 100	100 → 0	gradiente linear
62 – 72	100	0	Isocrática

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 álcool metílico 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 álcool metílico.

Solução referência: transferir 5,0 mL da *Solução estoque* para balão volumétrico de 20 mL, adicionar 5 mL de álcool metílico 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:

$$TA = \frac{A_a \times m_r \times FD_a}{A_r \times m_a \times FD_r} \times 100$$

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_r = massa em gramas do ácido clorogênico, considerando a pureza da substância de referência;

m_a = massa em gramas do extrato fluido utilizado, determinada a partir da densidade;

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g);

FD_a = fator de diluição da *Solução amostra* (200); e

FD_r = fator de diluição da *Solução referência* (200).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 álcool etílico a 90% (v/v) suficiente para obter um extrato com concentração final de aproximadamente 20% de álcool etílico.

CARACTERÍSTICAS

Líquido marrom escuro.

IDENTIFICAÇÃO

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

Fase estacionária: sílica-gel F₂₅₄.

Fase móvel: álcool butílico, água e ácido acético glacial (70:20:10).

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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido glicirrizínico em álcool metílico a 70%, para obter a concentração de 1000 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 anisaldeído SR, aquecer 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 avermelhada
	Zona de coloração amarelada
	Zona de coloração amarelada
Ácido glicirrizínico: zona de coloração violeta	Zona de coloração violeta
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,125 a 1,140.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método I. 20,0 (v/v) a 20,8(v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 40,0% (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.

Eluente (A): água e ácido acético (91,4:8,6).

Eluente (B): acetonitrila.

Adotar sistema de eluição isocrático com proporção constante de 70% do *Eluente (A)* e 30% do *Eluente (B)*.

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*. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

$$TA = \frac{A_1 \times C_r \times FD_a \times 100 \times 822,94}{A_2 \times m \times 839,97}$$

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, considerando a pureza da substância de referência;

m = massa, em gramas do extrato fluido utilizado, determinada a partir da densidade;

822,94 = massa molecular do ácido glicirrizínico;

839,97 = massa molecular do glicirrizinato de amônio;

FD_a = fator de diluição da *Solução amostra* (500);

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g).

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, 0,7% 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 álcool etílico a 70% (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, 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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido clorogênico, em álcool metílico 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 com solução de difenilborato de aminoetanol a 1% (p/v) em álcool metílico, e a seguir com solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool etílico. Aquecer a placa entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente cinco minutos e deixar a placa secar ao ar por cinco minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método II. 36% (v/v) a 40% (v/v).

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

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.

Eluente (A): água e ácido fosfórico (99,5:0,5).

Eluente (B): acetonitrila e ácido fosfórico (99,6:0,4).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 – 1	92	8	isocrática
1 – 20	92 → 75	8 → 25	gradiente linear
20 – 33	75	25	isocrática
33 – 35	75 → 0	25 → 100	gradiente linear
35 – 36	75 → 92	100 → 8	gradiente linear
36 – 40	92	8	isocrática

Solução amostra: homogeneizar a amostra em banho de ultrassom por cinco 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 álcool metílico. Completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: pesar, com exatidão, cerca de 12 mg de ácido clorogênico. Transferir para balão volumétrico de 100 mL e diluir com álcool metílico. Transferir 1,2 mL dessa solução para balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com álcool metílico. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm .

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 ao ácido clorogênico. Calcular o teor de ácido clorogênico, em porcentagem, segundo a expressão:

$$\text{TAC} = \frac{A_a \times m_r}{A_r \times m_a}$$

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_a = massa em gramas do extrato fluido utilizado, determinada a partir da densidade;

m_r = massa em gramas de ácido clorogênico, considerando a pureza da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ANGICO, extrato fluido
Anadenantherae extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de cascas secas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, contendo, no mínimo, 5,0% 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 álcool etílico a 70% (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 0,2 mL do extrato fluido para 10 mL de álcool metílico.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

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 placa e deixar secar ao ar. Nebulizar a placa com vanilina a 1% (p/v) em álcool etílico e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 66% (v/v) a 70% (v/v).

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

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

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, 5,0 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 0,1 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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 do extrato fluido utilizado;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

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.

Eluente (A): água e ácido fosfórico a 85% (99:1).

Eluente (B): álcool metílico e ácido fosfórico a 85% (99:1).

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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	isocrática

Solução amostra: pipetar 50 µL do extrato fluido, transferir para um balão volumétrico de 10 mL e completar 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

$$TC = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times 10 \times 100$$

em que,

TC = teor de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

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 do extrato fluido, determinada a partir da densidade;

10 = fator de diluição.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

AROEIRA, extrato fluido
Schinus terebinthifolii extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de cascas secas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, contendo, no mínimo, 7,0% 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 álcool etílico a 70% (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 0,2 mL do extrato fluido para 10 mL em álcool metílico.

Solução referência (1): pesar cerca de 1 mg de ácido gálico e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência (2): pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 1 mL de álcool metílico.

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 álcool etílico e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução amostra*, a *Solução referência (1)* e a *Solução referência (2)*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem

<i>Parte superior da placa</i>	
Ácido gálico: zona de coloração azul-acinzentado	Zona de coloração azul-acinzentado Zona de coloração azul-acinzentado
<i>Solução referência (1)</i>	<i>Solução amostra</i>

<i>Parte superior da placa</i>	
Catequina: zona de coloração rósea-avermelhada	Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada Zona de coloração rósea-avermelhada
<i>Solução referência (2)</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9305 a 1,0160.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 68% (v/v) a 71% (v/v).

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

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

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 totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 do extrato fluido;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

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 μ m), mantida à temperatura de 24 °C; fluxo da *Fase móvel* de 0,8 mL/minuto.

Eluente (A): ácido trifluoracético a 0,05%.

Eluente (B): ácido trifluoracético a 0,05% em álcool metílico.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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	isocrática

Solução amostra: transferir, com auxílio de uma pipeta, 0,080 mL do extrato fluido para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com água e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 μ m.

Solução referência (1): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de ácido gálico em água, para obter solução a 7,2 μ g/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 μ m.

Solução referência (2): dissolver quantidade, pesada com exatidão, de catequina em água, para obter solução a 40 μ g/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 μ m.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 μ L da *Solução referência (1)* 20 μ L da *Solução referência (2)* e 20 μ L 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:

$$TC = \frac{C_r \times A_a}{A_r \times m} \times 10 \times 100$$

em que,

TC = teor de ácido gálico ou de catequina % (p/p);

C_r = concentração da *Solução referência (1)* ou (2) em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

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 do extrato fluido, determinado a partir da densidade;

10 = fator de diluição.

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 álcool etílico a 70% (v/v) 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, álcool metílico e dietilamina (80:10:10).

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 álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência: dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de boldina em álcool metílico, 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 365 nm. Nebulizar a placa com iodobismutato de potássio aquo-acético. Deixar secar a placa ao ar por cinco minutos. Nebulizar a placa com nitrito de sódio SR. Após 30 minutos examinar sob a luz visível.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de 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, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
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>

<i>Parte superior da placa</i>	
Boldina: zona de coloração marron	Zona de coloração verde
	Zona de coloração marron
	Zona de coloração marron
	Zona de coloração marron
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0459 a 1,0592.

Álcool etílico (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.

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 35,0% (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 cloreto de metileno. 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 cloreto de metileno. Filtrar e reunir as soluções orgânicas. Evaporar a solução até resíduo, em rotaevaporador, com temperatura não superior a 50 °C. Dissolver o resíduo em 5 mL de *Fase móvel*. Levar ao ultrassom por cinco minutos. Transferir a solução quantitativamente para balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 dois 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. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

$$TA = \frac{\Sigma A_1 \times m_r \times FD_a}{A_r \times m_a \times FD_r} \times 100$$

em que,

TA = teor de alcaloides totais expressos em boldina % (p/p);

ΣA_1 = soma das áreas sob os picos correspondentes aos seis alcaloides identificados no cromatograma obtido com a *Solução amostra*;

m_a = massa em gramas do extrato fluido, determinada a partir da densidade;

m_r = massa em gramas de boldina na *Solução referência*, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente à boldina na *Solução referência*;

FD_a = fator de diluição da *Solução amostra* (10);

FD_r = fator de diluição da *Solução referência* (1000);

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g).

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 álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de rutina em álcool metílico, para obter a concentração de 250 µg/mL.

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

Solução referência (3): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de ácido cafeico em álcool metílico, 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 a 5% (p/v) em álcool etílico. Aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente cinco minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução amostra*, *Solução referência (1)*, *Solução referência (2)*, *Solução referência (3)*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

Parte superior da placa	
Ácido cafeico: zona de fluorescência azul-claro	Zona de fluorescência azul-claro Zona de fluorescência azul
Ácido clorogênico: zona de fluorescência azul-claro	Zona de fluorescência amarelo-esverdeada Zona de fluorescência azul-claro
Rutina: zona de fluorescência marron-amarelada	Zona de fluorescência amarelo-esverdeada Zona de fluorescência marron-amarelada Zona de fluorescência amarelo-esverdeado
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9660 a 0,9970.

Álcool etílico (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).

Álcool metílico e álcool isopropílico (5.4.2.2.1). 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

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 álcool metílico. Completar o volume com a solução de ácido acético a 5% (v/v) em álcool metílico 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 álcool metílico 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:

$$TF = \frac{A \times 1,25}{m}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeo % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas do extrato fluido utilizado, determinada a partir da densidade.

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 (syn. *Cinnamomum zeylanicum* Blume) 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 álcool etílico 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 GF₂₅₄.

Fase móvel: tolueno e álcool metílico (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 dois 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 cinco a 10 minutos.

Resultados: nos esquemas há as sequências de 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, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
<i>trans</i> -2-Metoxi-cinalamdeido: zona de fluorescência azul-clara	Zona de coloração azul-clara Zona de coloração azul-clara
Solução referência	Solução amostra

<i>Parte superior da placa</i>	
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-cinalamdeido: zona de coloração acastanhada	Zona de coloração acastanhada Zona de coloração azul-acinzentado
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,89 a 0,94.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método por destilação, Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool. 65% (v/v) a 75% (v/v).

Álcool metílico e álcool isopropílico (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 álcool metílico (1:1).

Solução amostra: transferir, analiticamente, 1,0 mL do extrato fluido de canela-do-ceilão para balão volumétrico de 25 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Transferir 0,20 mL da solução para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de aldeído *trans*-cinâmico em álcool metílico 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 álcool metílico 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 álcool metílico 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. Filtrar 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;

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.

CÁSCARA-SAGRADA, extrato fluido
Rhamni purshianae extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de cascas secas de *Frangula purshiana* (DC.) A.Gray (syn. *Rhamnus purshiana* DC.), contendo, no mínimo, 8,0% de glicosídeos hidroxiantracênicos, dos quais, no mínimo, 60% são cascarosídeos, expressos como cascarosídeo A (C₂₇H₃₂O₁₄, 580,54).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (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, álcool metílico 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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de aloína em álcool metílico, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de emodina em álcool metílico, 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 álcool etílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. 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 (1)*, *Solução referência (2)* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem

<i>Parte superior da placa</i>	
Emodina: zona de coloração vermelha	Zona de coloração vermelha
Aloina: zona de coloração amarela	Zona de coloração amarela
	Zonas de coloração amarela
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9198 a 0,9231.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método II. 57% (v/v) a 62% (v/v).

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

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

Solução estoque: transferir, volumetricamente, 1,0 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 etílico (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 três minutos). 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 da *Solução estoque* para uma cápsula de porcelana. Evaporar o solvente em banho-maria até resíduo. Dissolver o resíduo em 0,3 a 0,5 mL de álcool metílico 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 quatro 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 etílico (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 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 5g/L em álcool metílico.

Solução branco: álcool metílico

Procedimento: medir a absorvância em 440 nm e em 515 nm, utilizando *Solução branco* 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 para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas do extrato fluido utilizado, 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 álcool metílico 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 para a *Solução amostra*; e
m = massa em gramas do extrato fluido de cáscara 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 álcool etílico a 70% (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: álcool butílico, 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 álcool metílico e filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de escina em álcool metílico, para obter a concentração de 5000 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 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.

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

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9930 a 0,9962.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 63% (v/v) a 65% (v/v).

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

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 rotaevaporador 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 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 (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, completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Solvente A: clorofórmio, ácido clorídrico 0,1 M e álcool *n*-propílico (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 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;

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.

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 álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool metílico, filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de ácido clorogênico em álcool metílico, para obter a concentração de 100 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade pesada, com exatidão, de hiperosídeo em álcool metílico, para obter a concentração de 250 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 difenilborato de aminoetanol SR, e a seguir com solução de macrogol 400 a 5% (p/v) em álcool etílico. Aquecer entre 100 °C e 105 °C por aproximadamente cinco minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Método II.* 61% (v/v) a 64% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 8,5% (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

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 cratogeomys e completar o volume com álcool etílico a 60% (v/v).

Solução amostra: transferir 5 mL da *Solução estoque* para um balão de fundo redondo de 50 mL e secar em rotaevaporador, em temperatura não superior a 60 °C. Solubilizar o resíduo em 8 mL de uma mistura de álcool metílico 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 álcool metílico 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 rotaevaporador, em temperatura não superior a 60 °C. Solubilizar o resíduo em 8 mL da mistura de álcool metílico 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 álcool metílico 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 expressos em hiperosídeo, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TF = \frac{A \times 1,235}{m}$$

em que,

TF = teor de flavonoides totais expressos em hiperosídeo % (p/p);

A = absorvância medida para a *Solução amostra*;

m = massa em gramas do extrato fluido utilizado, determinado a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 gentiopicrosídeo (C₁₆H₂₀O₉, 356,33).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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, álcool metílico e água (77:15:8).

Solução amostra: diluir 0,1 mL de extrato fluido em 1 mL de álcool metílico.

Solução referência (1): preparar uma solução a 280 µg/mL de gentiopicrosídeo em álcool metílico.

Solução referência (2): preparar uma solução a 1200 µg/mL de amarogentina em álcool metílico.

Revelador: misturar, na ordem, 0,5 mL de anisaldeído, 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de álcool metílico e 5 mL de ácido sulfúrico.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, 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 cromatoplaca e deixar secar ao ar por 15 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a cromatoplaca com o *Revelador*, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante um minuto e examinar sob a luz visível.

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

Parte superior da placa	
Amarogentina: zona de coloração castanho-enegrecida	Zona de coloração castanho-enegrecida
Gentiopicrosído: zona de coloração castanho-enegrecida	Zona de coloração castanho-enegrecida
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,049 a 1,080.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 24% a 28% (v/v).

Índice de amargor (5.4.1.10). No mínimo 10 000.

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 30,0% (p/p). Determinado em 3,0 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

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 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.

Eluente (A): água e ácido trifluoracético (100:0,006).

Eluente (B): acetonitrila.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente (A) (%)</i>	<i>Eluente (B) (%)</i>	<i>Eluição</i>
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	isocrática

Solução amostra: diluir 150 µL de extrato fluido em 10 mL da mistura de álcool metílico e água (1:1). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de gentiopicosídeo em álcool metílico de modo a obter solução na concentração de 0,32 mg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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 gentiopicosídeo. O tempo de retenção médio é de aproximadamente nove minutos. Calcular o teor de gentiopicosídeo, 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);

Cr = concentração da *Solução referência* em g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

Ar = área sob o pico correspondente ao gentiopicosídeo na *Solução referência*;

Aa= área sob o pico correspondente ao gentiopicosídeo na *Solução amostra*;

m = massa em gramas do extrato fluido, determinado a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 ($C_8H_{10}N_4O_2$, 194,19).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por maceração ou percolação, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool etílico absoluto na proporção de 1:10 (v/v).

Solução referência: solução a 1 mg/mL de catequina em álcool metílico.

Revelador: dissolver 1 g de vanilina em 100 mL de álcool metílico. Adicionar 4 mL de ácido clorídrico 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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Nebulizar a placa com vanilina sulfúrica SR, aquecer a 105 °C durante três minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Catequina: zona de coloração pardo-castanho	Zona de coloração pardo-castanho
<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, álcool metílico e água (10:1,4:1).

Solução amostra: diluir a amostra de extrato fluido de guaraná em álcool metílico na proporção 1:10 (v/v).

Solução referência: solução a 100 µg/mL de cafeína em álcool metílico.

Revelador (1): solução de ácido clorídrico a 25% (v/v) em álcool etílico.

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 álcool etílico e, a seguir, com iodo SR.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Cafeína: zona de coloração pardo-castanha	Zona de coloração castanha
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9920 a 1,020.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool etílico. 55% (v/v) a 65% (p/v).*

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

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

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, álcool metílico e ácido trifluoracético (70:30:0,005).

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de cafeína em álcool metílico, para obter solução a 130 µg/mL. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução amostra: diluir 30 µL de extrato fluido para 10 mL com uma mistura de álcool metílico e água (1:1). 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. O tempo de retenção relativo para o pico da cafeína é de cerca de 8 minutos e 30 segundos. 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, considerando a pureza da substância de referência;

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 do extrato fluido, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

HAMAMELIS, extrato fluido

Hamamelidis extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir de folhas secas de *Hamamelis virginiana* L., contendo, no mínimo, 3,0% 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 álcool etílico a 70% (v/v) 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 (60:20:20:15).

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 álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

Solução referência (1): dissolver uma quantidade exatamente pesada de ácido gálico em álcool metílico, para obter a concentração de 1000 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de hamamelitanino em álcool metílico, 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 cinco minutos. Examinar sob a luz visível.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Método II, Líquidos com mais de 30% de álcool etílico.* 38% (v/v) a 44% (v/v).

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

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, completar o volume para 250 mL com

água e homogeneizar. 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 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 carbonato de sódio SR e homogeneizar. 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 de filtro com 125 mm de diâmetro. Diluir 5 mL desse 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 SR e homogeneizar. 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, 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 SR e homogeneizar. 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 totais expressos em pirogalol, em porcentagem, segundo a expressão:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 do extrato fluido utilizado, determinada a partir da densidade;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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* [syn. *Citrus aurantium* L. subsp. *amara* (L.) Engler], contendo, no mínimo, 2,0% de naringina (C₂₇H₃₂O₁₄, 580,54).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool etílico.

Solução referência: preparar uma solução a 10 mg/mL de naringina em álcool metílico.

Revelador (1): dissolver 1 g de difenilborato de aminoetanol em álcool metílico e completar o volume para 100 mL com o mesmo solvente.

Revelador (2): solução de macrogol 400 a 5% em álcool metílico.

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 difenilborato de aminoetanol SR (reagente natural A) e, a seguir, com solução de macrogol 400 a 5% em álcool metílico. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm após, no mínimo, duas horas.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Naringina: zona de fluorescência verde-escuro	Zona de fluorescência verde-escuro
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0500 a 1,0850.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 25% (v/v) a 40% (v/v).

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

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.

Eluente (A): água e ácido fórmico (100:0,1).

Eluente (B): álcool metílico.

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

(minutos)			
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 para 25 mL com uma mistura de álcool metílico e água (1:1). Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade pesada, com exatidão, de naringina em solução de álcool metílico e água (1:1), de modo a obter solução com concentração de 0,250 mg/mL. 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 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 porcentagem, 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, considerando a pureza da substância de referência;

A_r = área sob o pico correspondente à naringina na *Solução referência*;

A_a = área sob o pico correspondente à naringina na *Solução amostra*;

m = massa em gramas do extrato fluido utilizado, determinada a partir da densidade.

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 nitida* (Vent.) Schott & Endl. (syn. *Cola vera* K.Schum.), contendo, no mínimo, 0,6% (p/v) de cafeína ou, no mínimo, 1,0% (p/v) de metilxantinas, expressos como cafeína (C₈H₁₀N₄O₂, 194,19).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação, utilizando álcool etílico a 70% (v/v) 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, álcool metílico e água (77:13:10).

Solução amostra: extrato fluido

Solução referência (1): dissolver 25 mg de cafeína em 10 mL de álcool etílico a 60%.

Solução referência (2): dissolver 10 mg de teobromina em 10 mL de uma mistura de água, álcool metílico e álcool etílico (1:2:2), aquecendo se necessário.

Revelador (1): álcool etílico e ácido clorídrico concentrado (1:1).

Revelador (2): dissolver 1 g de iodo e 1 g de iodeto de potássio em 100 mL de álcool etílico.

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 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
<p>Cafeína: zona de coloração castanho-avermelhada</p> <p>Teobromina: zona de atenuação de fluorescência</p>	<p>Zona de coloração castanho-avermelhada</p>
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9755 a 0,9785

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 65% a 75% (p/v). *Método por destilação, Tratamentos especiais, Líquidos com mais de 30% de álcool.*

Álcool metílico e álcool isopropílico (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 álcool etílico 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.

Solução branco: ácido sulfúrico a 2,5% (v/v).

Procedimento: determinar a absorvância das *Soluções para curva analítica* e da *Solução amostra* em 271 nm utilizando cubetas de 1 cm e *Solução branco* 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);

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.

Eluente (B): álcool metílico.

Solução amostra: transferir, analiticamente, 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.

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. Transferir, quantitativamente, alíquotas de 1,0 mL, 3,0 mL, 5,0 mL e 7,0 mL dessa solução e diluir com a *Fase móvel* em balões volumétricos de 10 mL, obtendo-se as concentrações de 1,6 µg/mL, 4,8 µg/mL, 8,0

$\mu\text{g/mL}$ e $11,2 \mu\text{g/mL}$ que juntamente com a solução de concentração de $16 \mu\text{g/mL}$ obtida são as *Soluções para curva analítica*. Filtrar as soluções em unidade filtrante de $0,45 \mu\text{m}$

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, $10 \mu\text{L}$ das *Soluções para curva analítica* e $10 \mu\text{L}$ 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:

$$\text{TC} = C \times 0,08333$$

em que,

TC = teor de cafeína % (p/v);

C = concentração de cafeína em $\mu\text{g/mL}$ obtida a partir da curva analítica.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 (C₂₁H₂₂N₂O₂, 334,42).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (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: álcool butílico, 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 álcool metílico 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 álcool metílico, para obter a concentração de 500 µg/mL.

Solução referência (2): dissolver uma quantidade exatamente pesada de brucina em álcool metílico, 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 álcool etílico, e a seguir com solução de iodobismutato de potássio aquo-acético. Remover a cromatoplaça e deixar secar ao ar por cinco minutos e examinar sob a luz visível.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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). 0,985 a 1,000.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). *Método II.* 52% (v/v) a 56% (v/v).

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

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 (7 g/L) pH 3,0 ajustado com ácido fosfórico, acetonitrila e dietilamina (900:100:20).

Solução referência: pesar 15 mg de estriquinina. Transferir para balão volumétrico de 10 mL, dissolver com a *Fase móvel*, completar o volume com a *Fase móvel* e homogeneizar. Filtrar a solução em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução amostra: homogeneizar a amostra em banho de ultrassom por cinco 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.

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:

$$TE = \frac{A_a \times C_r}{A_r \times m_a} \times FD_a \times 100$$

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 g/mL, considerando a pureza da substância de referência;

m_a = massa em gamas do extrato fluido, determinada a partir da densidade;

FD_a = fator de diluição da *Solução amostra* (5);

100 = fator de conversão para teor em % (g/ 100 g).

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

RATÂNIA, extrato fluido
Ratanhiae extracta fluida

O extrato fluido é obtido a partir das raízes de *Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson (syn. *Krameria triandra* Ruiz & Pav.), contendo, no mínimo, 1,5% de taninos totais, expressos em pirogalol (C₆H₆O₃, 126,11).

PREPARAÇÃO

O extrato fluido é preparado na proporção droga:solvente 1:1 (p/v), por percolação ou maceração, utilizando álcool etílico a 70% (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 1 mL do extrato fluido para 5 mL de álcool metílico.

Solução referência: pesar cerca de 1 mg de catequina e dissolver em 2 mL de álcool metílico.

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 álcool etílico e, em seguida, nebulizar com ácido clorídrico.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
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 Zona de coloração rósea-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,9687 a 0,9688.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). 63% (v/v) a 66% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 5,0% (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

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 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 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 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:

$$TT = \frac{(A_1 - A_2) \times m_2 \times 62,5}{A_3 \times m_1}$$

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 do extrato fluido utilizado;

m_2 = massa em gramas de pirogalol, considerando a pureza da substância de referência.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 álcool etílico a 70% (v/v) 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 álcool metílico e proceder à análise cromatográfica.

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

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

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de banda, 15 µL da *Solução 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 SR, aquecer 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 amostra*, *Solução referência (1)* e *Solução referência (2)*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

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
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,0048 a 1,0079.

Álcool etílico (5.3.3.8.1). Método II, Líquidos com mais de 50% de álcool. 51% (v/v) a 53% (v/v).

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

Resíduo seco (5.4.2.2.2). No mínimo 24,0% (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 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.

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

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

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

Solução amostra: transferir 5,0 mL do extrato fluido para um balão volumétrico de 10 mL, completar o volume com álcool metílico e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

Solução referência: dissolver quantidade exatamente pesada de ácido valerênico em álcool metílico, para obter uma solução a 50 µg/mL e homogeneizar. Filtrar em unidade filtrante de 0,45 µm.

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:

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

em que,

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

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

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

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

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

m = massa em gramas do extrato fluido, determinada a partir da densidade.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

ÓLEOS, GORDURAS E CERAS

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 anisaldeído e aquecer em estufa entre 100 °C e 105 °C durante 10 minutos.

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

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
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,894 a 0,912.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,460 a 1,476.

Rotação óptica (5.2.8). -5° a +8°.

Índice de acidez (5.2.29.7). No máximo 1,0%.

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: diluir 0,2 mL do óleo volátil de alecrim em 10 mL de 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 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 gas 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.

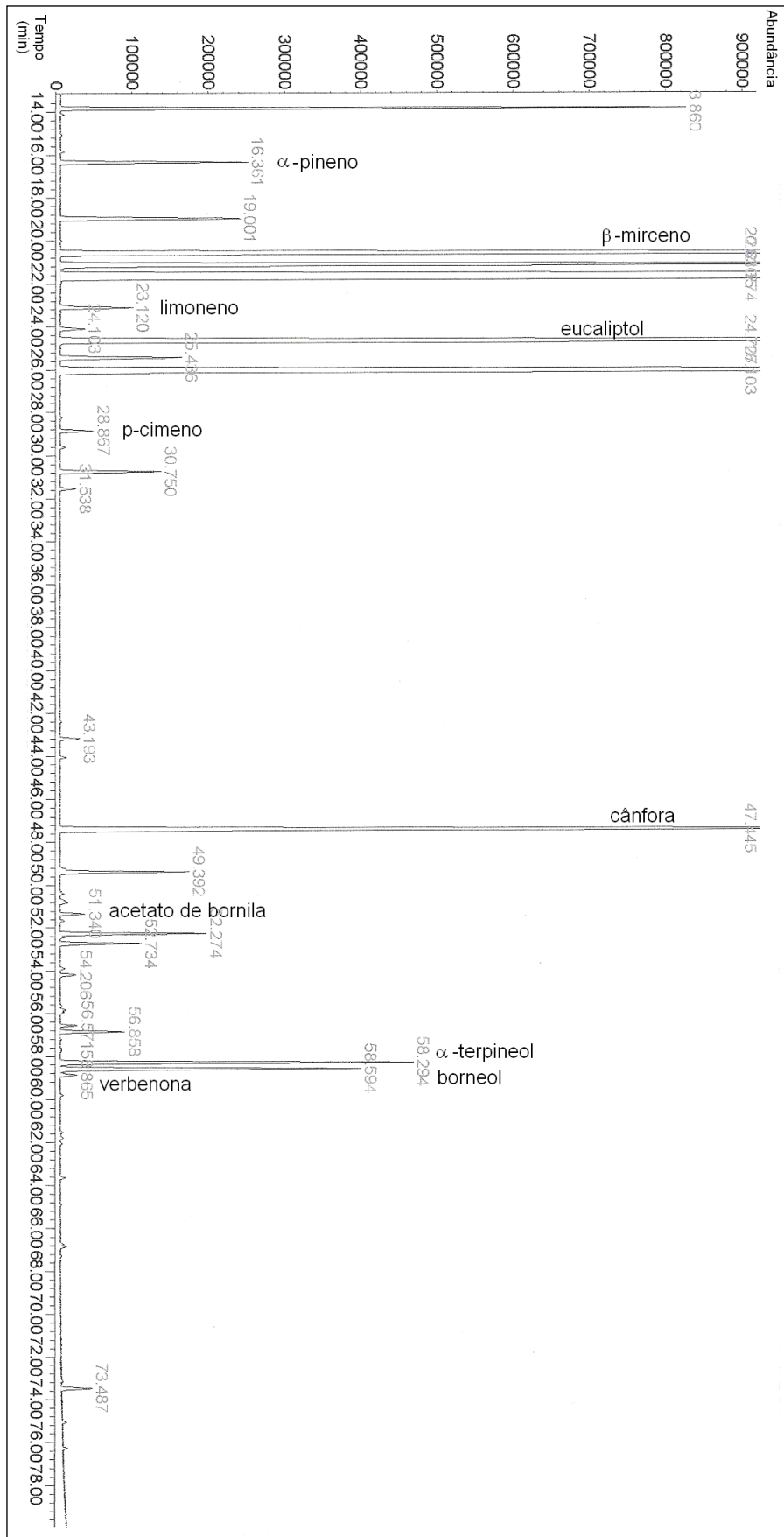


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Rosmarinus officinalis* L. por cromatografia gasosa acoplada a detector de massas.

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.

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 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 mL com o mesmo solvente. Transferir 1,0 mL dessa solução e completar o volume para 5 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 álcool metílico 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 cinco a 10 minutos. Examinar sob a luz visível nos primeiros 10 minutos.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de 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 cromatoplasma, com *Revelador (1 e 2)*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
<i>trans</i> -Anetol: zona de atenuação de fluorescência	Zona de muito intensa de atenuação de fluorescência Zona de atenuação de fluorescência
Anisaldeído: zona de atenuação de fluorescência	Zona de atenuação de fluorescência
Solução referência	Solução amostra

<i>Parte superior da placa</i>	
<i>trans</i> -Anetol: zona de coloração castanha	Zona de coloração castanha Zona de coloração cinzenta
Anisaldeído: zona de coloração amarela Linalol: zona de coloração castanha*	Zona de coloração amarela Zona de coloração castanha* Zona de coloração cinzenta
Solução referência	Solução amostra

* o linalol é visualizado quando é utilizado o *Revelador* (2).

TESTES

Temperatura de congelamento (5.2.4). 15 °C a 19 °C.

Densidade relativa (5.2.5). 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 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 detector 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 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, no máximo 1,5%; estragol, 0,5 a 5,0%; α -terpineol, no máximo 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%.

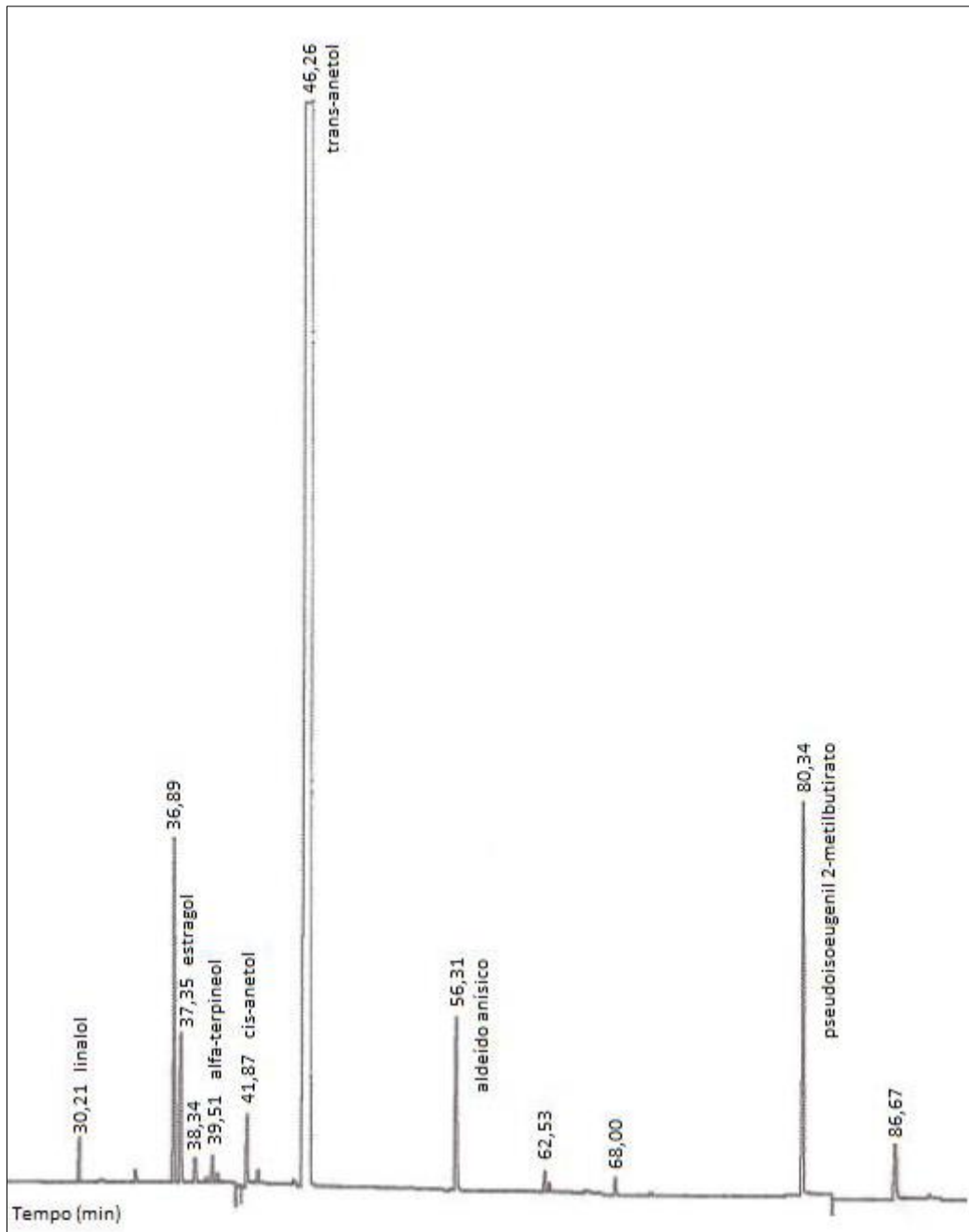


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Pimpinella anisum* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 α -bisabolol e 10 mg de acetato de bornila em 5 mL de tolueno.

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 cinco a 10 minutos.

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

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-avermelhado
Acetato de bornila: zona de coloração castanho-amarelada a verde-acinzentado	Zona de coloração acastanhado
α -Bisabolol: zona de coloração violeta-avermelhado a violeta-azulada	Zona de coloração violeta-avermelhada a violeta-azulada
	Zona de coloração acastanhada
Solução referência	Solução amostra

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 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 ciclohexano. 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

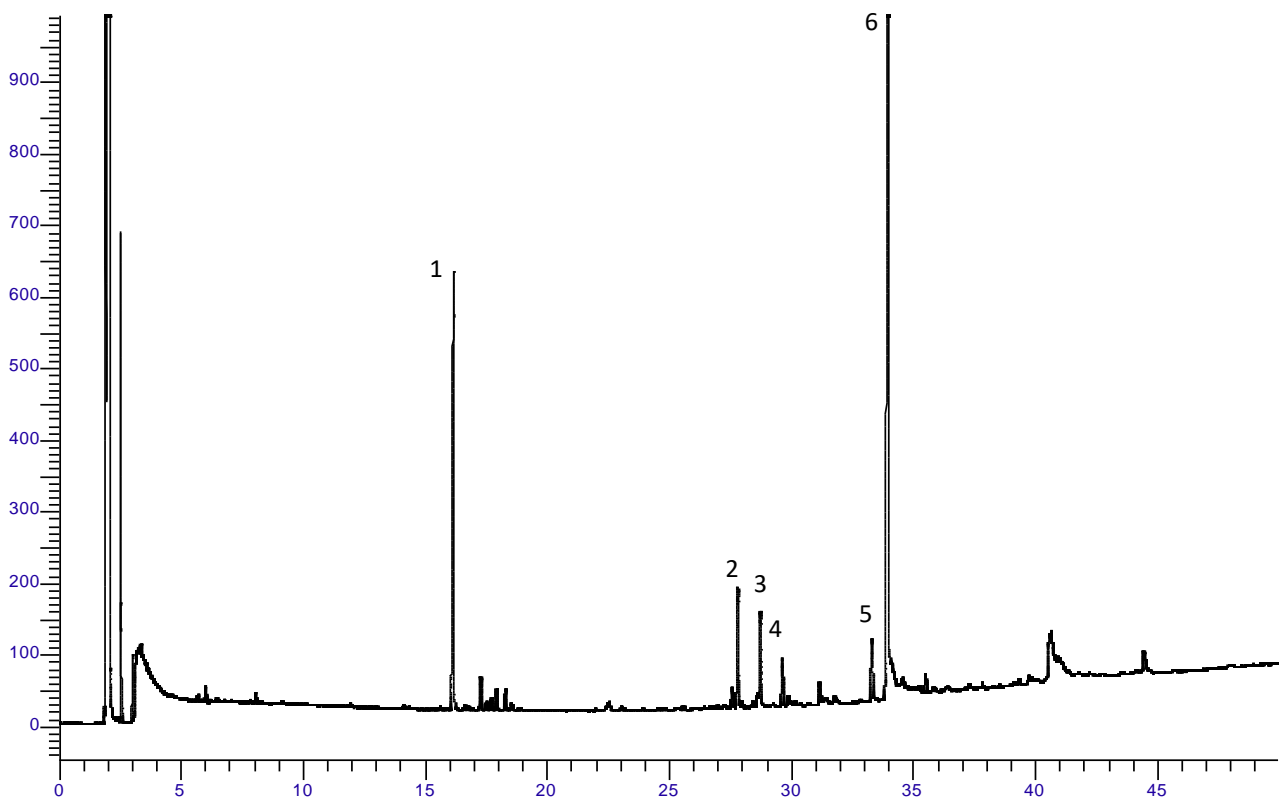


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Matricaria chamomilla* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- (*Z*)- β -farneseno, 2- óxido de bisabolol B, 3- bisabolona, 4- α -bisabolol, 5- camazuleno, 6- óxido de bisabolol A.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 (syn. *Cinnamomum aromaticum* Nees).

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: tolueno e álcool metílico (90:10).

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 cromatoplasmas, separadamente, em forma de banda, 10 µL da *Solução referência* e 2 µL da *Solução amostra*. Desenvolver o cromatograma. Remover a cromatoplasma e deixar secar ao ar. Examinar a primeira placa sob a luz ultravioleta em 254 nm, nebulizar a placa com solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco a 10 minutos. Nebulizar a segunda placa com solução de hidróxido de potássio a 10% em álcool metílico, deixar secar a temperatura ambiente e examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de 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 solução de anisaldeído e com a segunda placa após a nebulização com solução de hidróxido de potássio a 10% em álcool metílico, 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 solução de anisaldeído e é de fraca intensidade para amostras autênticas.

<i>Parte superior da placa</i>	
Aldeído <i>trans</i> -cinâmico: zona de coloração cinza-escuro Cumarina: zona de coloração cinza-escuro	Zona de fluorescência azul intensa
Solução referência	Solução amostra

<i>Parte superior da placa</i>	
Aldeído <i>trans</i> -cinâmico: zona de coloração azul intensa Eugenol: zona de coloração verde	Zona de coloração azul intensa Zona de coloração verde
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Rotação óptica (5.2.8). -1° a $+1^{\circ}$.

Densidade relativa (5.2.5). 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 detector por ionização de chama, utilizando 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 – 75	60 → 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, no máximo 0,5%; *trans*-2-metoxi cinamaldeído, 3,0% a 15%; cumarina, 1,5% a 4,0%.

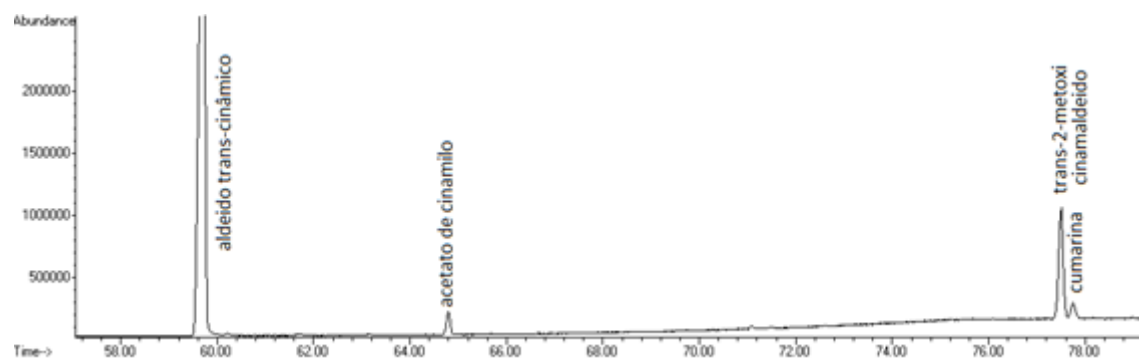


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl por cromatografia a gás acoplada a detector de massas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CANELA-DO-CEILÃO, óleo
Cinnamomi zeylanici folium aetheroleum

O óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas de *Cinnamomum verum* J.S.Presl (syn. *Cinnamomum zeylanicum* Blume).

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: tolueno e álcool metílico (90:10).

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 cromatoplacas, em forma de banda, separadamente, 2 µL da *Solução amostra* e 10 µL da *Solução referência*. Desenvolver os cromatogramas. Remover as cromatoplacas e deixar secar ao ar por 15 minutos. Nebulizar a primeira placa com solução de anisaldeído, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco a 10 minutos. Nebulizar a segunda placa com solução de hidróxido de potássio 10% em álcool metílico, secar a temperatura ambiente e examinar sob a luz UV em 365 nm.

Resultados: no esquema a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução amostra* e com a *Solução referência*. Na segunda cromatoplaça nenhuma banda fluorescente para a *Solução amostra* deve ser visualizada. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
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 (5.2.5). 1,030 a 1,059.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,527 a 1,540.

Rotação óptica (5.2.8). -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, no máximo 1,0%; linalol, 1,5 a 3,5%; β-cariofileno, 1,5 a 7,0%; safrol, no máximo 3,0%; aldeído *trans*-cinâmico, no máximo 3,0%; acetato de cinamilo, no máximo 2,0%; eugenol, 70,0 a 85,0%; e cumarina, no máximo 1,0%.

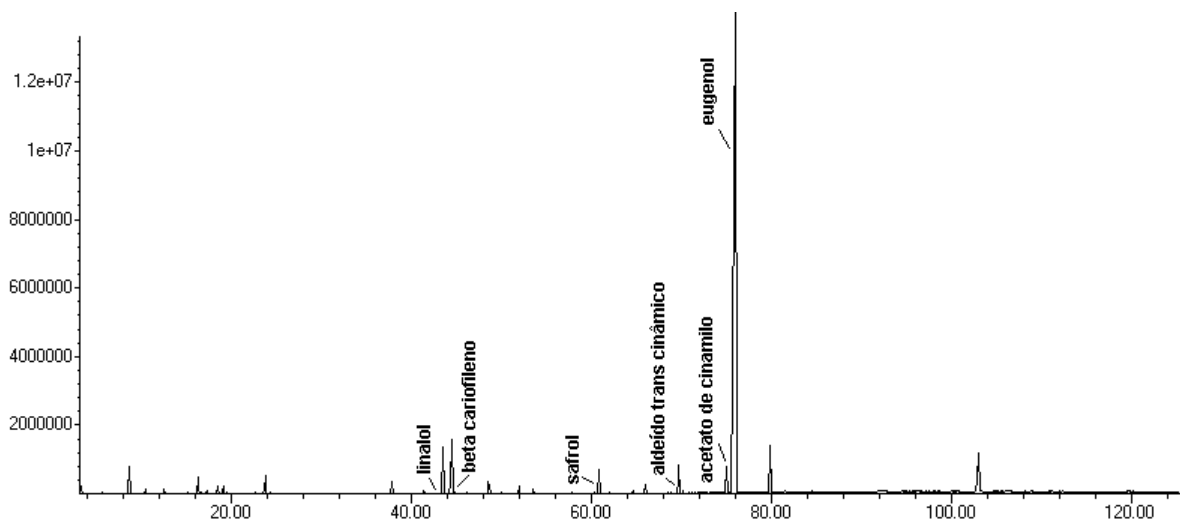


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cinnamomum verum* J.S.Presl por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CAPIM-LIMÃO, óleo
Cymbopogonis citrati aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas frescas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, contendo, no mínimo, 60,0% 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: tolueno e acetato de etila (93:7).

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 álcool metílico. 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 cinco a 10 minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Citral: zona de fluorescência azul escura	Zona de fluorescência azul-escura
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,875 a 0,930.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,480 a 1,493.

Rotação óptica (5.2.8). $-3,10^\circ$ 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 → 250
Injetor		220
Detector		250

Solução amostra: diluir 5 μL do óleo volátil de capim-limão em 1 mL de hexano.

Solução referência: diluir 1 μL de citral em 1 mL 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.

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 60,0%.

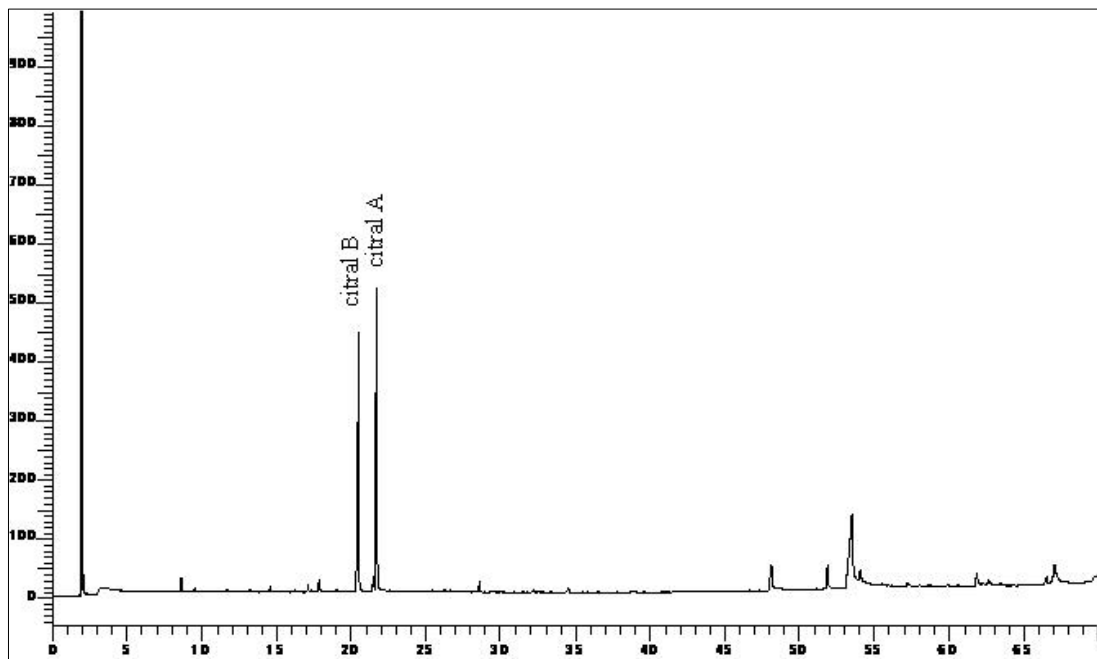


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

CERA DE CARNAÚBA

Carnaubae cera

Cera obtida das folhas de *Copernicia prunifera* (Mill.) H.E.Moore [syn. *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 álcool etílico.

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 dois a cinco minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Acetato de mentila: zona de coloração azul-escuro	Zona de coloração azul-escuro
Timol: zona de coloração avermelhada	Zona de coloração azul (triacontanol)
Mentol: zona de coloração azul-escuro	Zona de coloração azul de menor intensidade
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em água e álcool etílico. 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 álcool etílico 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 álcool etílico 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 álcool etílico a 95% e 20 mL de solução de hidróxido de potássio 0,5 M em álcool etílico. Adaptar o balão ao condensador de refluxo e aquecer em banho-maria, por três 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;

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, óleo
Coriandri aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de frutos secos de *Coriandrum sativum* L., contendo, no mínimo, 65,0% 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 álcool metílico 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*, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 10 a 15 minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Acetato de geranila: zona de coloração rosa-violácea	Zona de coloração rosa-violácea
Linalol: zona de coloração rosa-violácea	Zona de coloração rosa-violácea
	Zona de coloração rosa-violácea de menor intensidade
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,860 a 0,880.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,462 a 1,470.

Rotação óptica (5.2.8). +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%.

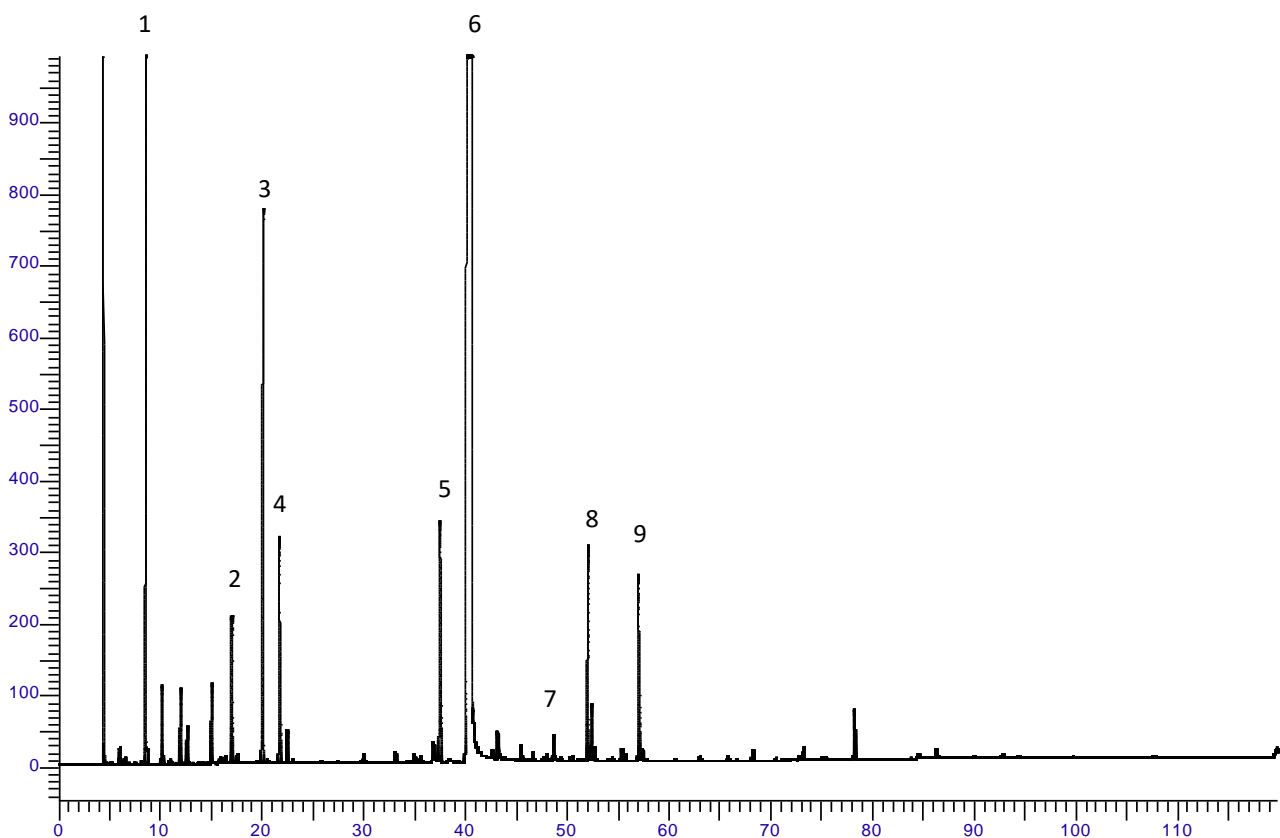


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Coriandrum sativum* L., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α -pineno, 2- limoneno, 3- γ -terpineno, 4- *p*-cimeno, 5- cânfora, 6- linalol, 7- α -terpineol, 8- acetato de geranila, 9- geraniol.

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 μ L 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 μ L 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;

A_R = área sob o pico correspondente ao (*R*)-linalol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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, 75,0% 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.

Procedimento: aplicar na cromatoplaca, separadamente, em forma de banda, 20 µL da *Solução amostra* e 15 µL da *Solução referência*. Desenvolver o cromatograma. Deixar em repouso por cinco minutos. Desenvolver novamente 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 solução de anisaldeído, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco a 10 minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Eugenol: zona de extinção de fluorescência	Zona de extinção de fluorescência
Acetato de eugenila: zona de extinção de fluorescência	Zona de extinção de fluorescência
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

<i>Parte superior da placa</i>	
Eugenol: zona de coloração castanho-violeta	Zona de coloração violeta-avermelhada
Acetato de eugenila: zona de coloração castanho-violeta	Zona de coloração castanho-violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 1,030 a 1,063.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,528 a 1,537.

Rotação óptica (5.2.8). -2° a 0°.

Solubilidade em álcool etílico. 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 álcool etílico a 70%, até completa dissolução do óleo. A seguir, continuar a adição de álcool etílico a 70% com frações de 0,5 mL até completar 20 mL, agitando energicamente a cada adição de álcool etílico. A amostra é solúvel em dois volumes de álcool etílico 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 (°C)
Coluna	0 – 8	60
	8 – 48	60 → 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 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 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%.

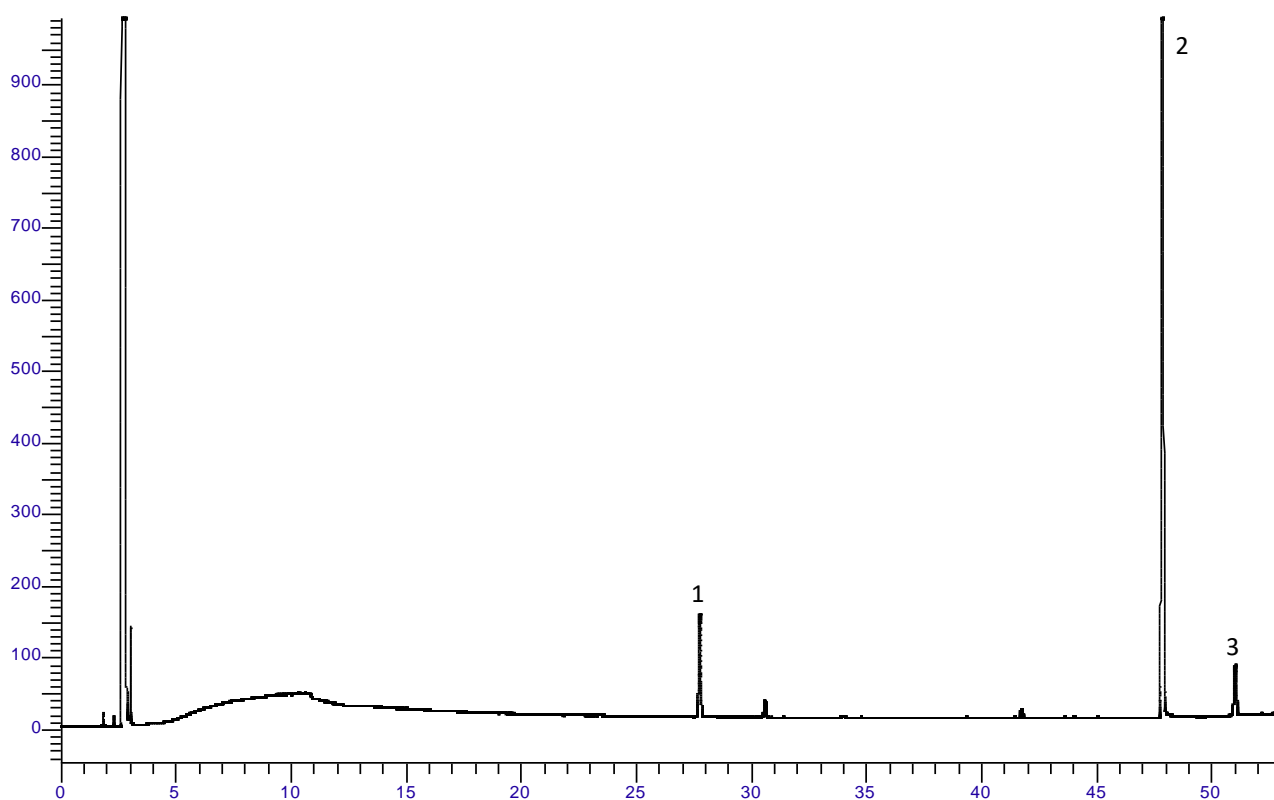


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1– β -cariofileno, 2– eugenol e 3– acetato de eugenila.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

EUCALIPTO, óleo
Eucalypti aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de folhas ou ramos terminais frescos de *Eucalyptus globulus* Labill., contendo, no mínimo, 70,0% 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: tolueno e acetato de etila (90:10).

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.

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 solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco a 10 minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
1,8-Cineol: zona de coloração marron-avermelhada	Zona de coloração marron-avermelhada
α -Terpineol: zona de coloração marron-avermelhada	Zona de coloração marron-avermelhada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,906 a 0,927.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,458 a 1,470.

Rotação óptica (5.2.8). 0° a +10°.

Solubilidade em álcool etílico. 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 álcool etílico a 80%, até completa dissolução do óleo. A seguir, continuar a adição de álcool etílico a 80% em frações de 0,5 mL até completar 20 mL, agitando, energicamente, a cada adição de álcool etílico. A amostra é solúvel em cinco volumes de álcool etílico 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 álcool etílico*. Agitar, energicamente, e titular imediatamente com solução hidróxido de potássio 0,5 M em álcool etílico 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 dois 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 álcool etílico a 60% SV. A quantidade de hidróxido de potássio 0,5 M em álcool etílico a 60% SV utilizada na segunda titulação não é superior a 2 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 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 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, 70,0%; e cânfora, no máximo, 0,1%.

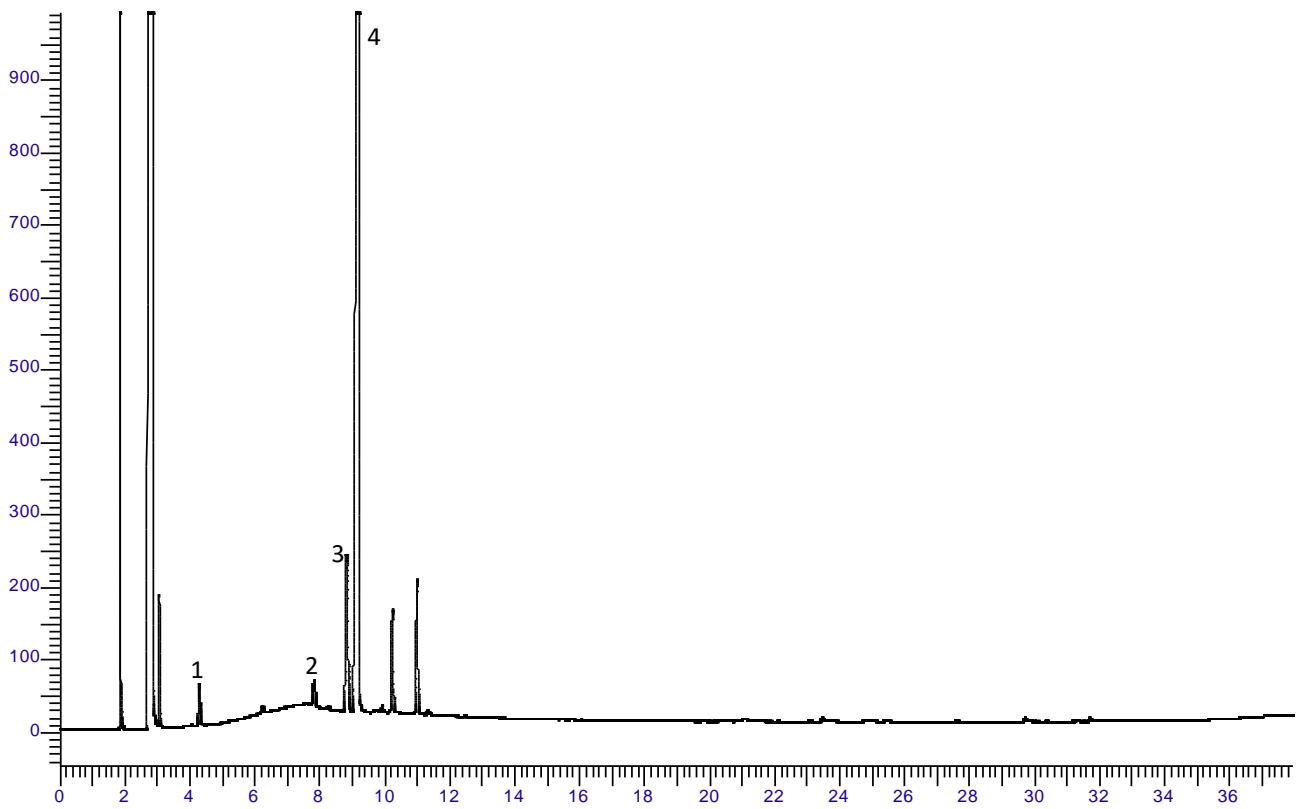


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Eucalyptus globulus* Labill., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1 - α -pineno, 2 - α -felandreno, 3 - limoneno, 4 - 1,8-cineol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 (syn. *Eucalyptus citriodora* Hook.), contendo, no mínimo, 60,0% de citronelal (C₁₀H₁₈O, 154,25).

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: tolueno e acetato de etila (90:10).

Solução amostra: diluir 0,01 g da amostra a ser examinada em 1 mL de tolueno.

Solução referência: diluir 0,6 µL de citronelol e 0,6 µL de citronelal em 300 µL 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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco a 10 minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Citronelal: zona de coloração violácea	Zona de coloração violácea
Citronelol: zona de coloração violácea	Zona de coloração violácea
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,850 a 0,910.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,452 a 1,475.

Rotação óptica (5.2.8). -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%.

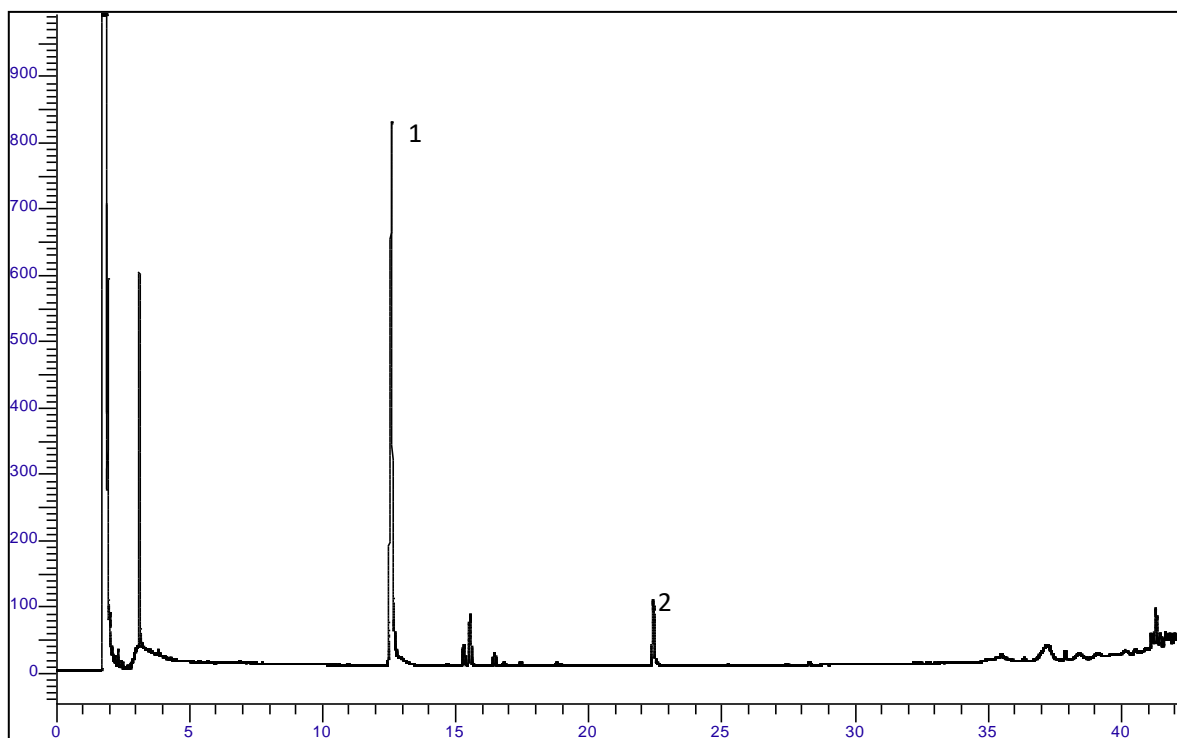


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson, por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1 - citronelal, 2 – citronelol.

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 cinco minutos. Nebulizar a placa com o *Revelador (2)* e aquecer a 110 °C em estufa por cinco minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
<i>trans</i> -Anetol: zona de coloração azul-escuro	Zona de coloração azul-escuro
Fenchona: zona de coloração azulada	Zona de coloração azulada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,961 a 0,975.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,528 a 1,539.

Rotação óptica (5.2.8). +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%.

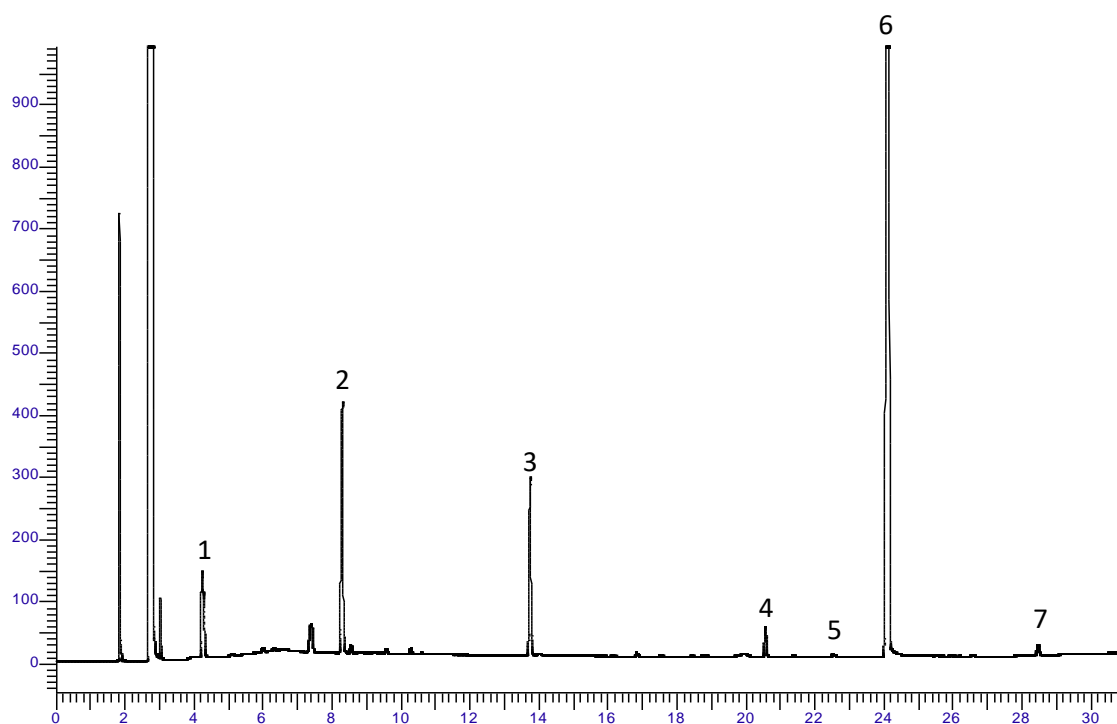


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Foeniculum vulgare* Mill., por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α -pineno, 2- limoneno, 3- fenchona, 4-estragol, 5- *cis*-anetol, 6- *trans*-anetol e 7- anisaldeído.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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.

Fase móvel (2): acetona, ácido acético e cloreto de metileno (50:40:20).

Solução amostra: diluir 20 µL de óleo de girassol em 3 mL de cloreto de metileno. Diluir 1 µL desta solução em 20 µL de cloreto de metileno.

Solução referência: diluir 20 µL de óleo de milho em 3 mL de cloreto de metileno. Diluir 1 µL dessa solução em 20 µL de cloreto de metileno.

Revelador: dissolver 10 g de ácido fosfomolibdico em 100 mL de álcool etílico.

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 três minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Óleo de milho: zona de coloração azulada	Zona de coloração azulada
Óleo de milho: zona de coloração azulada	Zona de coloração azulada
Óleo de milho: zona de coloração azulada	Zona de coloração azulada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Solubilidade. Muito pouco solúvel em álcool etílico 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.

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, 30,0% 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: 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 mentila, 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 em 254 nm. Nebulizar a placa com abundância com vanilina sulfúrica SR. 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 a seguir há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*, após o exame sob a luz ultravioleta, nebulização com vanilina sulfúrica SR e aquecimento durante um minuto e durante mais três minutos, na ordem. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
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>

<i>Parte superior da placa</i>	
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

Rotação óptica (5.2.8). -16° a -34°.

Densidade relativa (5.2.5). 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 5,0 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, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

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%.

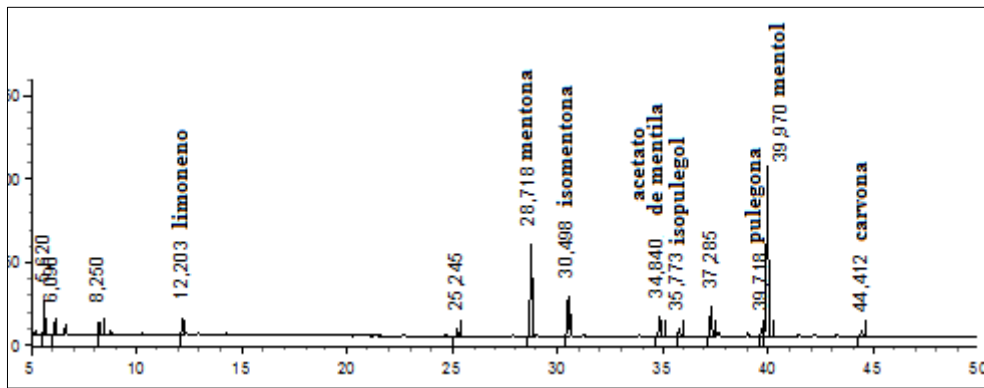


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Mentha arvensis* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

HORTELÃ-PIMENTA, óleo
Menthae piperitae aetheroleum

Óleo volátil obtido, por hidrodestilação, a partir das partes aéreas, recentemente coletadas, de *Mentha* × *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 cinco a 10 minutos. Examinar imediatamente sob a luz visível.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Acetato de mentila: zona de coloração violeta-azulado	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

Densidade relativa (5.2.5). 0,900 a 0,916.

Índice de refração (5.2.6). 1,457 a 1,467.

Rotação óptica (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 \rightarrow 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 de menor peso molecular;

tr_x = tempo de retenção do constituinte “x” (intermediário a tr_z e tr_{z+1});

tr_z = tempo de retenção do alcano com “n” carbonos;

tr_{z+1} = tempo de retenção do alcano com “n + 1” carbonos.

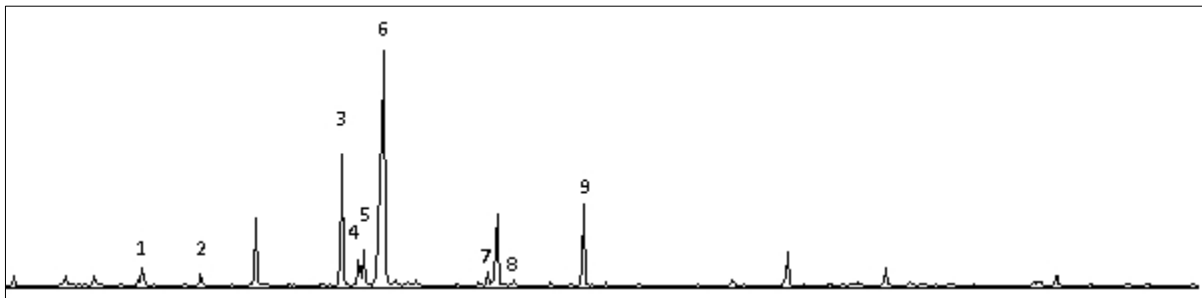


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo, obtido com o óleo volátil de *Mentha x piperita* L. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama.

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.

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* [syn. *Citrus aurantium* L. subsp. *amara* (L.) Engler], contendo, no mínimo, 92,0% de limoneno (C₁₀H₁₆, 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: tolueno e acetato de etila (85:15).

Solução amostra: diluir 4 µL da amostra em álcool etílico 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 álcool etílico e completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente.

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. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante 10 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de 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, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
Antranilato de metila: zona de fluorescência azul	Zona fraca de fluorescência azul
Bergapteno: zona de fluorescência amarela-esverdeada	
Solução referência	Solução amostra

<i>Parte superior da placa</i>	
Acetato de linalila: zona de fluorescência amarelo-acastanhado	Zona fraca de fluorescência laranja-acastanhado Zona fraca de fluorescência amarelo-acastanhado
Antranilato de metila: zona de fluorescência azul	Zona de fluorescência azul Zona de fluorescência fraca vermelho-acastanhado
Linalol: zona de fluorescência laranja Bergapteno: zona de fluorescência amarelo-esverdeado	Zona de fluorescência laranja Zonas de fluorescência azul e marron-avermelhado
Solução referência	Solução amostra

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,848 a 0,860.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,473 a 1,476.

Rotação óptica (5.2.8). +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 quatro 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%.

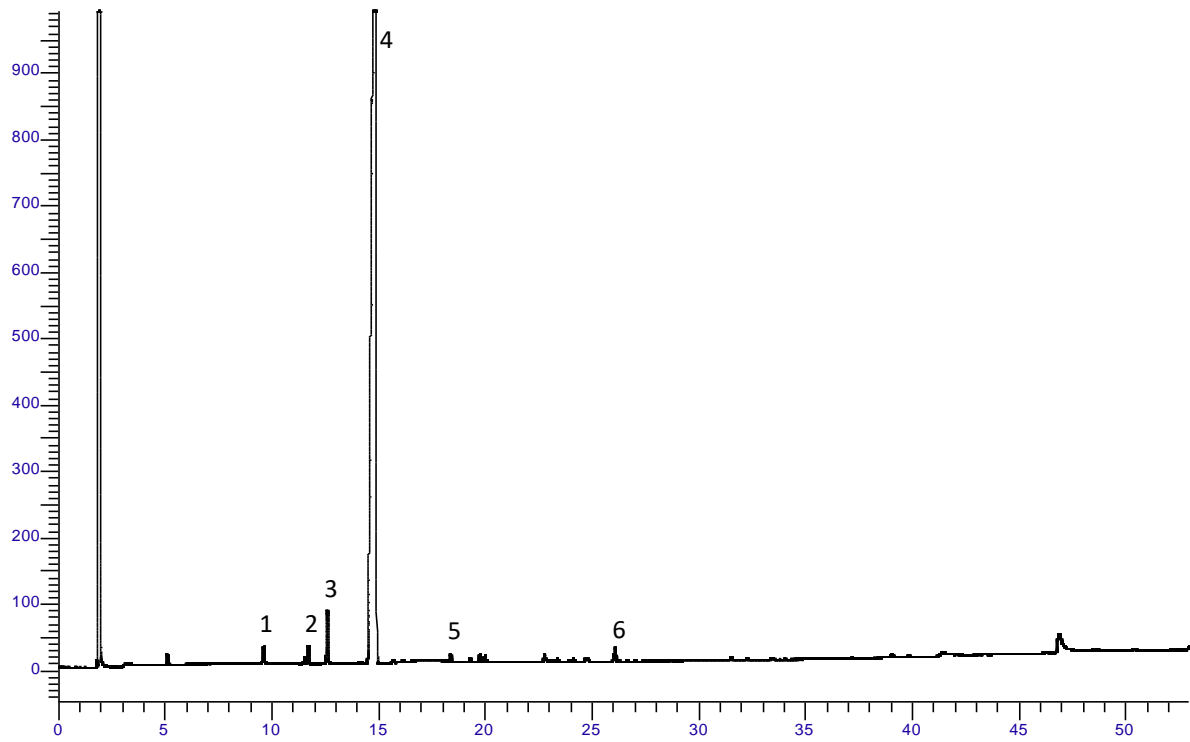


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium* por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α -pineno, 2- β -pineno, 3- mirceno, 4- limoneno, 5- linalol, 6- acetato de linalila.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

LARANJA-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 (syn. *Citrus aurantium* L. var. *sinensis* L.), contendo, no mínimo, 92,0% de limoneno (C₁₀H₁₆, 136,24).

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: tolueno e acetato de etila (85:15).

Solução amostra: diluir 0,2 mL da amostra em 1 mL de álcool etílico.

Solução referência: dissolver 2 mg de bergapteno, 10 µL de linalol e 20 µL de acetato de linalila em 10 mL de álcool etílico.

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 cinco a 10 minutos. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: nos esquemas a seguir 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.

<i>Parte superior da placa</i>	
Bergapteno: zona de fluorescência amarela-esverdeada	Outras zonas de fluorescência azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

<i>Parte superior da placa</i>	
Acetato de linalila: zona de fluorescência amarela-esverdeada	Zonas de fluorescência castanha Zonas de fluorescência amarela-acastanhada
Linalol: zona de fluorescência laranja	Zonas de fluorescência laranja
Bergapteno: zona de fluorescência esverdeada fraca	Zonas de fluorescência laranja-acastanhada Zonas de fluorescência azul
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,842 a 0,850.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,470 a 1,476.

Rotação óptica (5.2.8). +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 de filtro de dimensões 3 × 3 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 quatro 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 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 e homogeneizar.

Solução referência (2): diluir 5 µL de β-pineno em 10 mL de acetona e homogeneizar. Diluir 0,5 mL dessa solução em 10 mL de acetona e homogeneizar.

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 × 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, completar o volume para 10 mL com o mesmo solvente e homogeneizar.

Procedimento: aplicar na cromatoplaça, separadamente, em forma de bandas, 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. Examinar sob a luz ultravioleta em 254 nm. Examinar sob a luz ultravioleta em 365 nm.

Resultados: nos esquemas a seguir há as sequências de 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, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
<p>Citral: zona de atenuação de fluorescência</p> <p>Citropteno: zona de atenuação de fluorescência</p>	<p>Zona de atenuação de fluorescência</p> <p>Zona de atenuação de fluorescência</p> <p>Zona de atenuação de fluorescência</p> <p>Zona de atenuação de fluorescência</p> <p>Zona de atenuação de fluorescência</p>
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

<i>Parte superior da placa</i>	
<p>Citropteno: zona de fluorescência azul brilhante</p>	<p>Zona de fluorescência amarela</p> <p>Zona de fluorescência azul</p> <p>Zona de fluorescência azul brilhante</p> <p>Zona de fluorescência azul brilhante</p> <p>Zona de fluorescência laranja</p>
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,850 a 0,858.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,473 a 1,476.

Rotação óptica (5.2.8). +57° a +70°.

Óleos fixos e óleos voláteis resignificados. Colocar uma gota da amostra em papel de 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 quatro horas. Resfriar em dessecador e pesar.

Espectro no ultravioleta. Dissolver 0,250 g da amostra em álcool etílico, misturar, completar o volume para 100 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 registo 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.

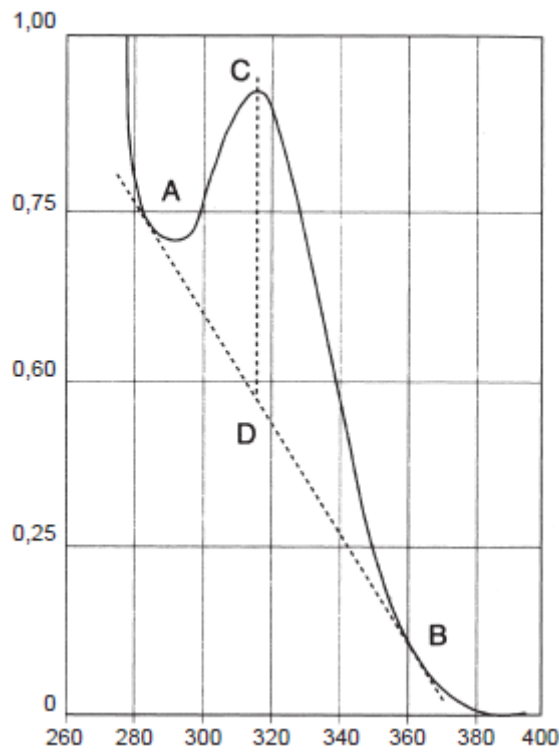


Figura 1 – Espectro de absorvância no ultravioleta do pericarpo fresco de *Citrus × limon* (L.) Osbeck.

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 geraniol 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 geraniol.

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 geraniol, 0,1 a 0,8%.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 álcool etílico 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, completar o volume com álcool etílico a 95% em balão de 1000 mL e homogeneizar. 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 álcool etílico. Adaptar o balão ao condensador de refluxo e aquecer em banho-maria, por uma 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;

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, 30,0% 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: heptano e acetato de etila (80:20).

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.

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 solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco a 10 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.

<i>Parte superior da placa</i>	
1,8-Cineol: zona de coloração rosa	Zonas de coloração rosa
Terpinen-4-ol: zona de coloração rosa	Zonas de coloração rosa
α -Terpineol: zona de coloração rosa	Zona de coloração rosa
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,885 a 0,906.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,475 a 1,482.

Rotação óptica (5.2.8). +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, no máximo 3,5%; α -terpineno, 5,0% a 13,0%; limoneno, 0,5 a 4,0%; 1,8-cineol, no máximo 15,0%; γ -terpineno, 10,0% a 28,0%; *p*-cimeno, 0,5% a 12,0%; terpinoleno, 1,5% a 5,0%; terpinen-4-ol, no mínimo 30,0%; aromadendreno, no máximo 7,0%; e α -terpineol, 1,5% a 8,0%.

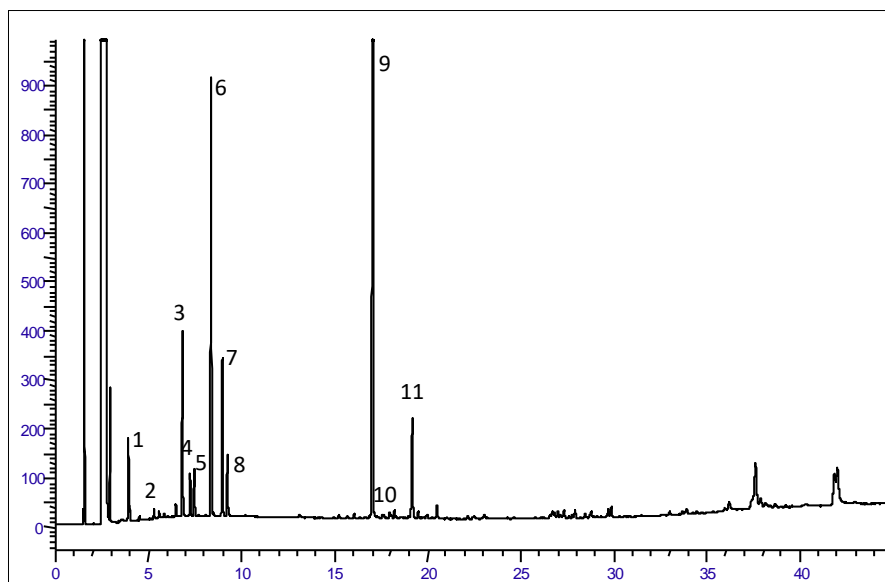


Figura 1 – Cromatograma ilustrativo obtido com o óleo volátil de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α -pineno, 2- sabineno 3- α -terpineno, 4- limoneno, 5- 1,8-cineol, 6- γ -terpineno, 7- *p*-cimeno, 8- terpinoleno, 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-MOSCADA, óleo
Myristicae fragrans aetheroleum

Óleo volátil obtido por hidrodestilação, a partir de sementes desprovidas de arilo e tegumento, secas e pulverizadas 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: tolueno e acetato de etila (95:5).

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.

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 há as sequências de zonas obtidas com a *Solução referência* e a *Solução amostra*. Outras zonas podem, ocasionalmente, aparecerem.

<i>Parte superior da placa</i>	
	Zonas de coloração violácea
	Zonas de coloração castanho
Miristicina: zona de coloração rosa a castanho-avermelhada	Zona de coloração castanho-avermelhado
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,885 a 0,905.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,475 a 1,485.

Rotação óptica (5.2.8). +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 18,0%; 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, no máximo 2,5%; miristicina, 5,0 a 12,0%.

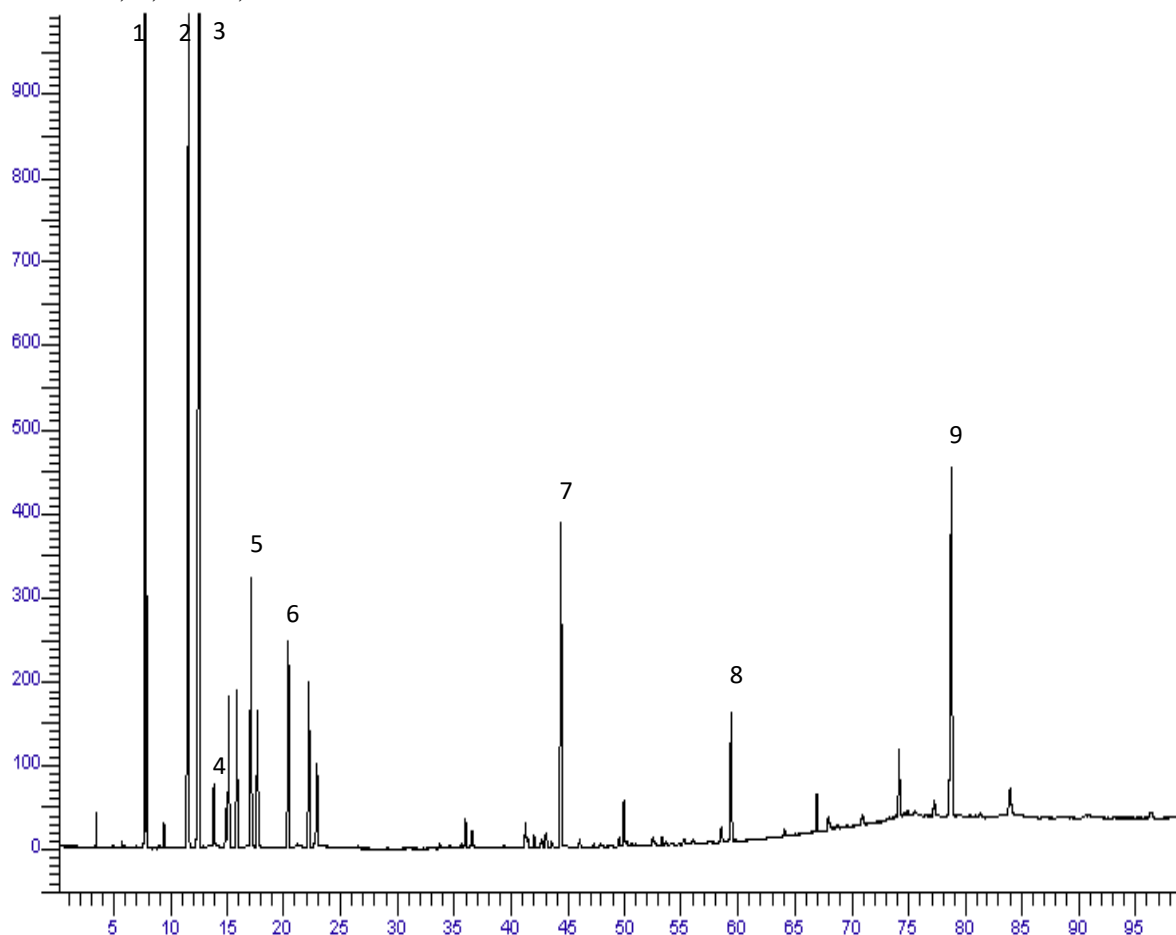


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Myristica fragans* Houtt. por cromatografia a gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- α-pineno, 2- β-pineno, 3- sabineno, 4- 3-careno, 5- limoneno, 6- γ-terpineno, 7- terpinen-4-ol, 8- safrol e 9- miristicina.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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

Fase estacionária: sílica-gel octadecilsilanizada (RP-18).

Fase móvel (1): éter etílico.

Fase móvel (2): acetona, ácido acético e cloreto de metileno (50:40:20).

Solução amostra: diluir 20 µL de óleo em 3 mL de cloreto de metileno e homogeneizar. Diluir 1 µL dessa solução em 20 µL de cloreto de metileno.

Solução referência: diluir 20 µL de óleo de milho em 3 mL de cloreto de metileno. Diluir 1 µL dessa solução em 20 µL de cloreto de metileno.

Revelador: dissolver 10 g de ácido fosfomolibdico em 100 mL de álcool etílico.

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 três minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Óleo de milho: zona de coloração azulada	Zonas de coloração azulada
Óleo de milho: zona de coloração azulada	Zonas de coloração azulada
Óleo de milho: zona de coloração azulada	Zonas de coloração azulada
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Solubilidade. Praticamente insolúvel em álcool etílico 95%. Muito solúvel em 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, diluir a 50 mL em balão volumétrico e homogeneizar. 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 5,0%;

Ácido oleico: 56% a 85,0%;

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 um 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.) W.Watson, contendo, no mínimo, 60,0% 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: tolueno e acetato de etila (90:10).

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.

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 vanilina sulfúrica SR, aquecer entre 100 °C e 105 °C durante durante a 10 minutos.

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

<i>Parte superior da placa</i>	
Acetato de geranila: zona de coloração azul-violeta	Zonas de coloração azul-violeta
a-Terpineol: zona de coloração azul-violeta	Zonas de coloração azul-violeta
<i>Solução referência</i>	<i>Solução amostra</i>

TESTES

Densidade relativa (5.2.5). 0,880 a 0,900.

Índice de refração (5.2.29.4). 1,472 a 1,477.

Rotação óptica (5.2.8). +2,3° a +3°.

Índice de acidez (5.2.29.7). 0,5 a 3. Determinar em 5 g de amostra.

Solubilidade em álcool etílico. 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 álcool etílico a 60% ou de álcool etílico absoluto, até completa dissolução do óleo. A seguir, continuar a adição de álcool etílico a 60% ou álcool etílico absoluto com frações de 0,5 mL até completar 20 mL, agitando energicamente a cada adição de álcool etílico. A amostra é solúvel em qualquer proporção de álcool etílico absoluto e em cinco volumes de álcool etílico 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 µm. 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 hexano.

No cromatograma obtido com a *Solução amostra*, verificar a presença dos componentes conforme segue: geraniol, no mínimo 60,0%; β-cariofileno, 0,5 a 5,0%; citronelol, 1,0 a 3,0%; mirceno, 0,1 a 0,4%; citral, no máximo 4,0% (citral A e citral B); linalol, 1,0 a 5,0%; e acetato de geranila, 10,0 a 18,0%.

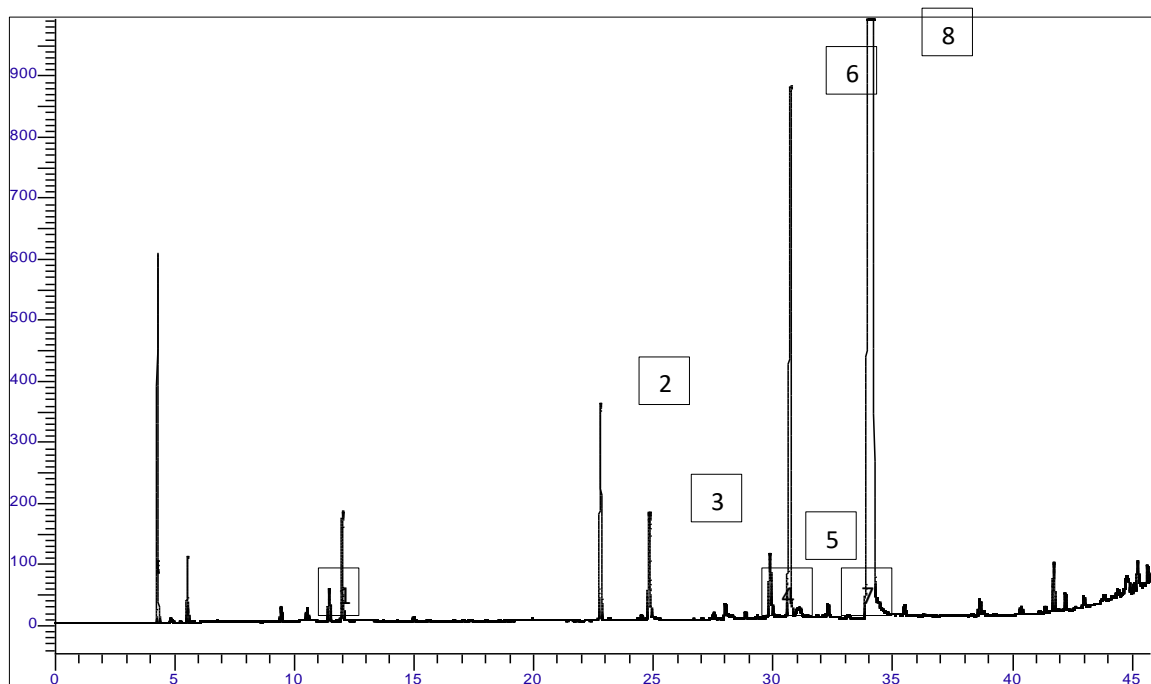


Figura 1 - Cromatograma ilustrativo obtido com óleo volátil de *Cymbopogon martini* (Roxb.) Will. Watson por cromatografia à gás acoplada a detector por ionização de chama. 1- mirceno, 2- linalol, 3- β-cariofileno, 4- citral b, 5- citral a, 6- acetato de geranila, 7- citronelol e 8- geraniol.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

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 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 por 15 minutos. Nebulizar a placa com solução de anisaldeído e aquecer entre 100 °C e 105 °C durante cinco a 10 minutos. Examinar sob a luz do dia.

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