

Solução amostra: reconstituir o conteúdo de um frasco ampola em volume de água destilada, exatamente medido, correspondente àquele indicado no frasco do diluente. Transferir quantitativamente a solução reconstituída para balão volumétrico de capacidade adequada e diluir com água de modo a obter solução a cerca de 0,3 mg/mL de cefoxitina ($C_{16}H_{17}N_3O_7S_2$). Utilizar essa solução em, no máximo, 5 horas

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL das *Soluções padrão e amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de cefoxitina ($C_{16}H_{17}N_3O_7S_2$) na solução injetável reconstituída, a partir das respostas obtidas para as *Soluções padrão e amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, entre 2 °C e 8 °C.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente..

CENTELA

Centellae folium

Centella asiatica (L.) Urban – APIACEAE; 09898

A droga vegetal é constituída pelas folhas secas. Contém, no mínimo, 2,0% de asiaticosídeo, em relação ao material dessecado.

DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA

As lâminas foliares são membranáceas, raramente papirácias, verde-acinzentadas na face adaxial e verde-pálidas na face abaxial, glabras a tomentosas em ambas as faces, cobertas de tricomas hialinos de até 2 mm, pluricelulares, unisseriados, formados por duas a cinco células. A célula inferior é oriunda de uma só célula basal. Lâmina ovada a orbicular-reniforme, palminérvea, com cinco a nove nervuras, base cordada a truncada, ápice arredondado, obtuso a truncado, margem levemente sinuada a crenado-dentada, medindo 1,5 cm a 7 cm de comprimento e 1 cm a 6 cm de largura. A venação é pouco densa, actinódroma. As nervuras de primeira ordem são, longitudinalmente, retilíneas. As nervuras de segunda ordem apresentam ângulo de divergência moderada. As ramificações das nervuras secundárias e terciárias terminam no epitema dos hidatódios. As aréolas são pentagonais ou poligonais, com vênula simples, curvada ou ramificada só uma vez e disposta ao acaso. Pecíolo de até 15 cm de comprimento, alargado na porção basal e canaliculado na face adaxial, viloso-tomentoso, castanho-esverdeado a castanho-avermelhado.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA

Em vista frontal, a face adaxial da epiderme mostra células poligonais de paredes retas a curvas, estômatos projetados,

paracíticos, raros anisocíticos, índice estomático igual a 18, e hidatódios; a cutícula é estriada. A face abaxial apresenta células também poligonais, de maior tamanho do que as da face adaxial, estômatos projetados, paracíticos e índice estomático igual a 12; a cutícula é fortemente estriada. Ambas as faces da epiderme apresentam tricomas simples, unisseriados, retorcidos, geralmente tricelulares (duas a cinco células), bastante escassos na face adaxial. Em secção transversal, as faces mostram-se constituídas por células retangulares achatadas, alternadas com células quadrangulares papilosas; a projeção dos estômatos pode ser melhor observada e a cutícula é fina. O mesofilo apresenta estrutura dorsoventral, com uma a três camadas de parênquima paliádico frouxo e parênquima esponjoso ocupando mais da metade do mesofilo, formado por células oblongas no sentido horizontal; nestes parênquimas encontram-se drusas de oxalato de cálcio. Raros canais secretores (ductos) encontram-se dispostos junto ao floema. Na nervura mediana, observam-se, via de regra, dois canais secretores, dispostos na região do parênquima fundamental, um voltado para a face adaxial e outro para a abaxial, próximos ao sistema vascular e raramente no floema; o colênquima, do tipo lacunar e presente em ambas as faces, está representado por uma a três camadas celulares, especialmente na face adaxial. O sistema vascular é colateral, em arco aberto, com várias fibras em zona externa ao floema. O pecíolo é fistuloso e, em secção transversal, mostra contorno circular, com duas arestas opostas na face adaxial, separadas por uma pequena região levemente côncava, conferindo-lhe aspecto canaliculado. A epiderme apresenta células quadrangulares, algo papilosas, com estômatos paracíticos e tricomas simples, pluricelulares, unisseriados, com célula basal bem mais curta do que as demais. A cutícula é fina e estriada. Subepidermicamente ocorre um colênquima angular, contínuo, onde se alterna uma camada predominante de células com estreitas regiões de duas a três camadas, ou nas arestas até cinco. Abaixo deste, situa-se um clorênquima, contendo sete feixes vasculares colaterais, dispostos em círculo, separados por largas faixas de parênquima fundamental, ocorrendo um feixe menor em cada aresta. Ao redor do floema, no parênquima fundamental, podem ocorrer células amilíferas. Em cada feixe vascular há um envoltório de fibras, restrito ao floema. No pecíolo, também se observam canais secretores: um internamente ao colênquima, geralmente e regularmente nas regiões em que ocorre maior número de camadas deste, um com menor frequência disposto por toda a estrutura, na região aproximadamente equidistante dos feixes vasculares e da epiderme, dois opostos entre si, em um mesmo feixe vascular, ambos muito próximos ao xilema, e um por feixe vascular nas arestas. O parênquima medular é inexistente, por ser o pecíolo fistuloso. Nas proximidades da fistula encontram-se drusas de oxalato de cálcio, nas células do parênquima fundamental.

DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DO PÓ

O pó atende a todas as exigências estabelecidas para a espécie, menos os caracteres macroscópicos. São característicos: tricomas ou porções deles, unisseriados; drusas de oxalato de cálcio e porções de células epidérmicas, com estômatos paracíticos.

IDENTIFICAÇÃO

A. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada (5.2.17.1)*, utilizando sílica-gel GF₂₅₄ com espessura de 250 µm, como suporte, e mistura de clorofórmio, ácido acético glacial, metanol e água (60:32:12:8), como fase móvel. Aplicar, separadamente, à placa, em forma de banda, 20 µL da *Solução (1)* e 5 µL da *Solução (2)*, preparadas como descrito a seguir.

Solução (1): ferver 3 g da amostra em 30 mL de mistura de etanol e água (1:1). Filtrar e concentrar até secura. Retomar em 0,5 mL de metanol.

Solução (2): dissolver 1 mg de asiaticosídeo em 1 mL de metanol.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa e secar em capela por 5 minutos. Nebulizar com anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C a 105 °C durante 10 minutos. Nebulizar, novamente, com anisaldeído SR e aquecer em estufa entre 100 °C a 105 °C por 10 minutos. A mancha principal de coloração acastanhada obtida com a *Solução (1)*, com Rf de aproximadamente 0,50, corresponde em posição àquela obtida com a *Solução (2)*, referente ao asiaticosídeo. Observa-se também uma mancha secundária de coloração violeta, com Rf aproximado de 0,90.

B. Transferir 1 g da droga em pó ou fragmentada para tubo de ensaio, adicionar 10 mL de água destilada e ferver por 2 minutos. Resfriar e agitar, vigorosamente, por 15 segundos. Em seguida, adicionar gotas de ácido clorídrico a 10% (p/v). A espuma formada é persistente, o que caracteriza a presença de saponinas.

ENSAIOS DE PUREZA

Material estranho (5.4.2.2). No máximo 2%.

Água (5.4.2.3). No máximo 6%.

Cinzas totais (5.4.2.4). No máximo 11%.

ÍNDICE DE ESPUMA

Proceder conforme descrito em *Determinação de índice de espuma (5.4.2.10)*. Pesar 1 g da droga pulverizada, transferir para tubo de ensaio e ferver por 2 minutos. Utilizar 100 mL de água destilada. No máximo 100.

DOSEAMENTO

Asiaticosídeo

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 200 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 µm a 10 µm), mantida à temperatura ambiente; fluxo da *Fase móvel* de 0,5 mL/minuto.

Eluente A: acetonitrila.

Eluente B: solução aquosa de ácido fosfórico a 0,5% (v/v).

Gradiente da Fase móvel: adotar o sistema de gradiente descrito na tabela a seguir:

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Eluente A (%)</i>	<i>Eluente B (%)</i>	<i>Eluição</i>
0 – 40	25 → 50	75 → 50	gradiente linear

Solução amostra: extrair 5 g da droga seca em pó com 150 mL de metanol em aparelho de Soxhlet durante 4 horas. Evaporar o solvente em banho-maria até cerca de 50 mL. Filtrar em funil de vidro sinterizado (G4). Transferir o filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com metanol.

Solução de referência (1): dissolver 30 mg de asiaticosídeo em 5 mL de metanol.

Solução de referência (2): diluir a *Solução de referência (1)* em metanol de modo a obter solução a 80% (v/v).

Solução de referência (3): diluir a *Solução de referência (1)* em metanol de modo a obter solução a 60% (v/v).

Solução de referência (4): diluir a *Solução de referência (1)* em metanol de modo a obter solução a 40% (v/v).

Solução de referência (5): diluir a *Solução de referência (1)* em metanol de modo a obter solução a 20% (v/v).

Procedimento: injetar, separadamente, 10 µL da *Solução amostra* e das *Soluções de referência (1), (2), (3), (4) e (5)*. Determinar a área sob o pico referente ao asiaticosídeo (tempo de retenção de 30 a 40 minutos). Estabelecer uma curva analítica com os valores obtidos com as *Soluções de referência (1), (2), (3), (4) e (5)*. Determinar a área sob o pico do asiaticosídeo na *Solução amostra* e, utilizando a curva analítica, determinar o teor de asiaticosídeo na amostra.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

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

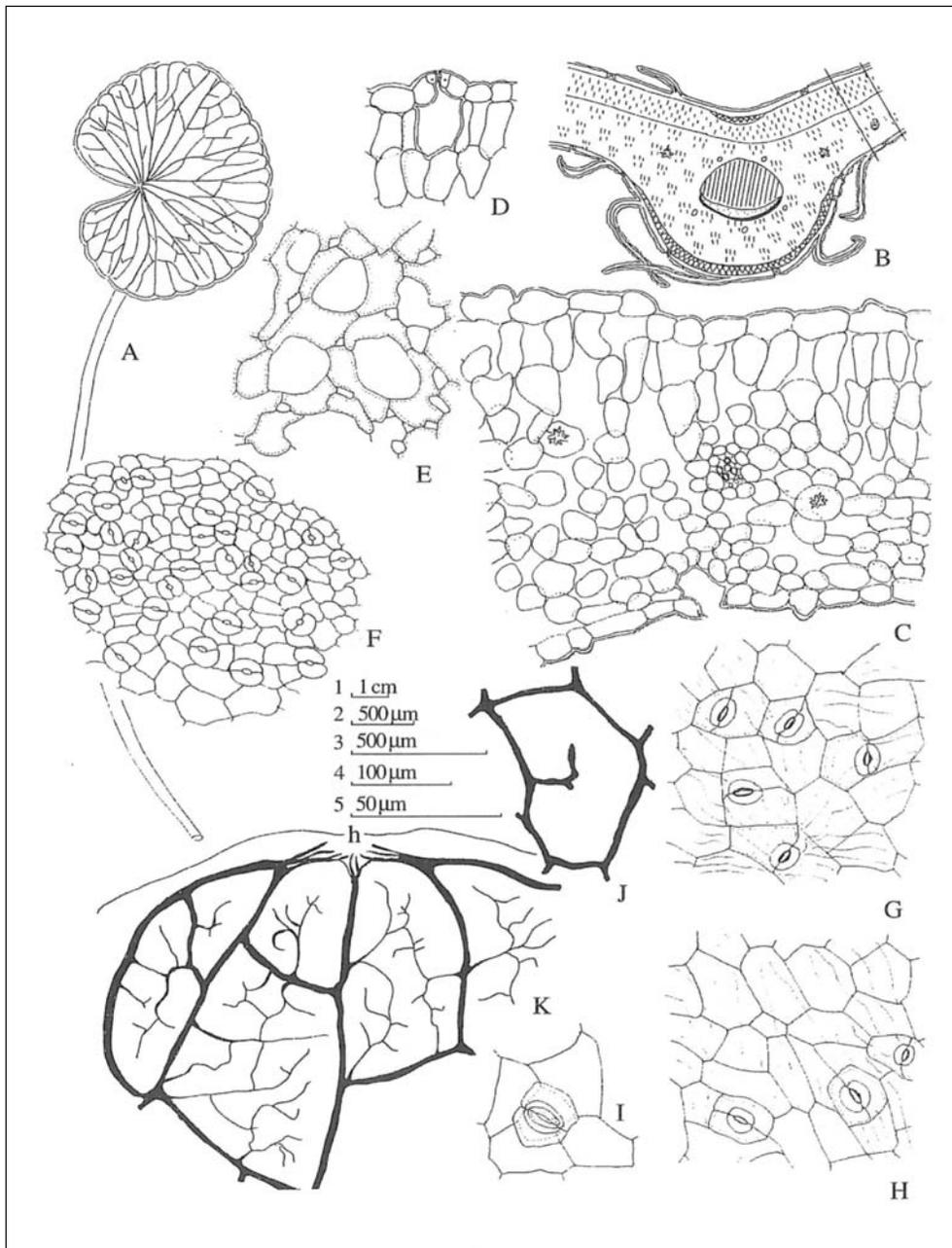


Figura 1 – Aspectos macroscópicos e microscópicos de *Centella asiatica* (L.) Urban

Complemento da legenda da **Figura 1**. As escalas correspondem em **A** a 1 cm (régua 1); **K** a 500 μm (régua 2); **B**, **F** e **J** a 500 μm (régua 3); **C**, **D**, **E**, **G** e **H** a 100 μm (régua 4); **I** a 50 μm (régua 5).

A – aspecto da folha. **B** – esquema da secção transversal da folha na nervura mediana. **C** – secção transversal da folha na região do limbo na porção indicada em **B**. **D** – detalhe de secção transversal da folha com estômato e câmara subestomática. **E** – aspecto do parênquima. **F** – hidatódio na epiderme adaxial. **G** – epiderme adaxial. **H** – epiderme abaxial. **I** – detalhe de estômato paracítico. **J** – arquitetura foliar: aréola. **K** – arquitetura foliar: margem e hidatódio.

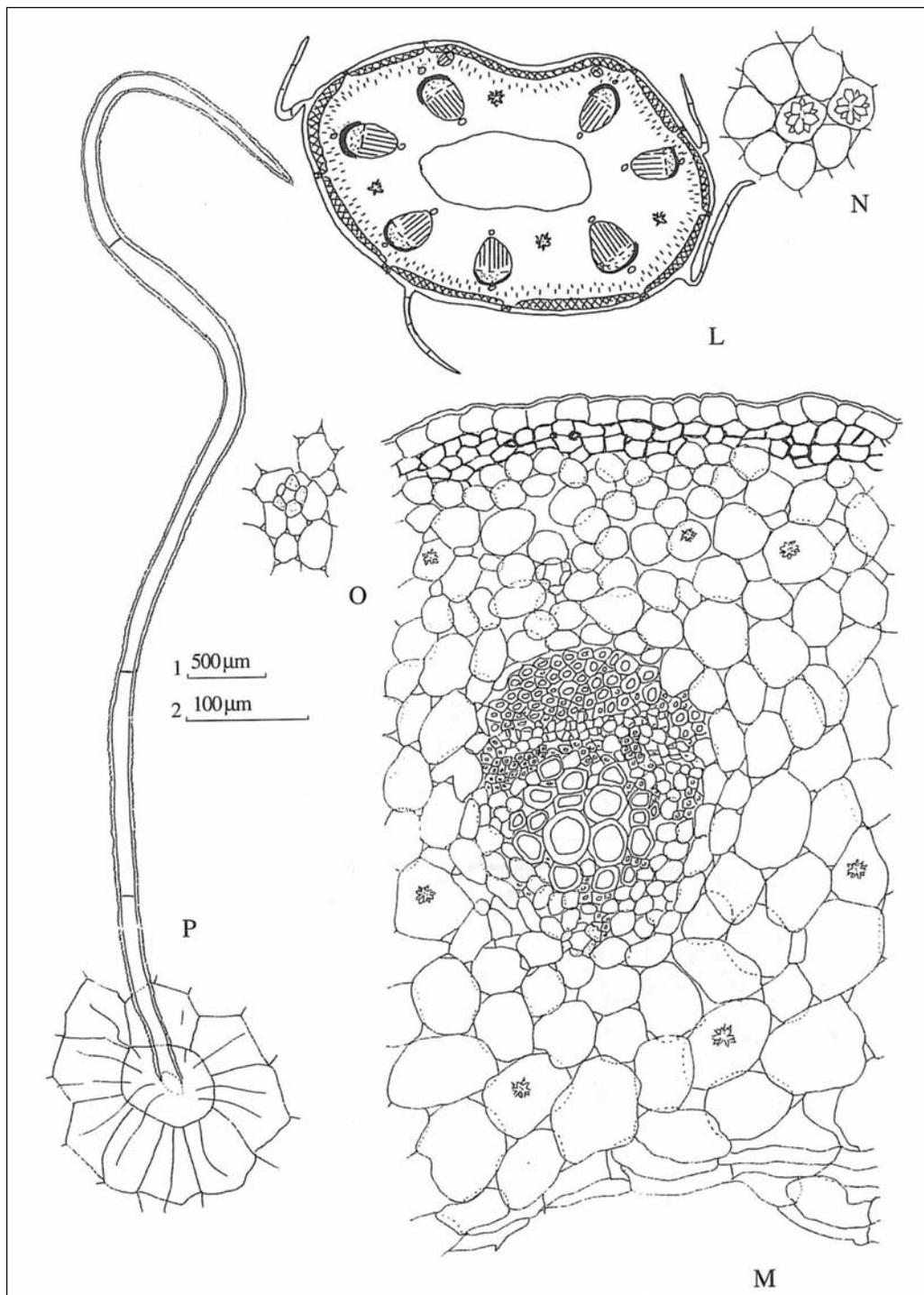


Figura 2 – Aspectos microscópicos de *Centella asiatica* (L.) Urban

Complemento da legenda da **Figura 2**. As escalas correspondem em **L** a 500 μm (régua 1); **M** a **P** a 100 μm (régua 2).

L – esquema do peciolo em secção transversal. **M** – detalhe de uma porção transversal do peciolo. **N** – drusas de oxalato de cálcio. **O** – canal secretor. **P** – tricoma simples multicelular.